Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia
Facoltà di Medicina e Chirurgia

Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia

Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche
Materno-Infantili e dell'Adulto
Unità Operativa di Neonatologia
Direttore: Prof. Alberto Berardi

INFEZIONI TARDIVE DA STREPTOCOCCO DI GRUPPO B NELLA REGIONE EMILIA-ROMAGNA, VENTI ANNI DI SORVEGLIANZA AREA BASED

RELATORE:
PROF. Alberto Berardi

TESI DI LAUREA DI:
Natalia Giglio

Anno Accademico 2024/2025

INDICE

1. INTRODUZIONE 1

1.1 EPIDEMIOLOGIA 1

1.2 MICROBIOLOGIA E PATOGENESI 2

1.2.1 Aspetti microbiologici 2

1.2.2 Meccanismo patogenetico 3

1.3 MODALITA' DI TRASMISSIONE 4

1.3.1 Fonti materne 5

1.3.2 Fonti non materne 6

1.4 FATTORI DI RISCHIO 7

1.5 PRESENTAZIONE CLINICA 10

1.6 DIAGNOSI 11

1.7 TERAPIA E GESTIONE DEL NEONATO 14

1.7.1 Terapia antibiotica 14

1.7.2 Terapia di supporto 16

1.8 PROGNOSI 17

1.8.1 Decesso 17

1.8.2 Esiti a lungo termine 17

1.8.3 Infezioni ricorrenti 18

1.9 PREVENZIONE 20

1.9.1 Vaccinazione materna 20

1.9.2 Prevenzione delle infezioni nosocomiali e dell'alterazione del microbiota intestinale 21

1.9.3 Latte materno 22

1.9.4 Prevenzione nei gemelli 22

2. OBIETTIVI DELLO STUDIO 23

3. MATERIALI E METODI 24

3.1 DISEGNO DELLO STUDIO 24
3.2 DEFINIZIONI 26
3.3 ANALISI STATISTICA 27
4. RISULTATI 29
4.1 POPOLAZIONE GENERALE 29
4.2 POPOLAZIONE MATERNA 31
4.3 POPOLAZIONE NEONATALE 33
4.3.1 Caratteristiche demografiche 33
4.3.2 Caratteristiche cliniche 33
4.4 SEVERITÀ DI MALATTIA 35
4.5 FATTORI ASSOCIATI AD OUTCOME SFAVOREVOLI 39
4.5.1 Fattori materni 39
4.5.2 Fattori neonatali 39
5. DISCUSSIONE 42
6. CONCLUSIONE 49
7. BIBLIOGRAFIA 50

1. INTRODUZIONE

Lo Streptococco di gruppo B (GBS), noto anche come *Streptococcus Agalactiae*, è un diplococco Gram-positivo beta-emolitico presente come microrganismo commensale a livello della mucosa gastrointestinale e del tratto genitale. In particolare la colonizzazione asintomatica vagino-rettale si osserva nel 10-35% delle donne in gravidanza (1–3).
Oltre a poter causare una malattia invasiva nella madre, associata a morbidità e mortalità materna (4,5), l'infezione da GBS rimane ad oggi la principale causa di sepsi e meningiti neonatali (6–9).

Le infezioni neonatali da GBS vengono distinte in precoci (GBS EOD, *Early-Onset Disease*), se esordiscono dalla nascita al sesto giorno di vita, e tardive (GBS LOD, *Late-Onset Disease*), se esordiscono tra 7 e 89 giorni di vita (2). L'esordio dell'infezione oltre i 3 mesi di vita (*Ultra Late-Onset GBS Disease*) è rara e si manifesta principalmente nei neonati pretermine o lattanti con immunodeficit (8).

1.1 EPIDEMIOLOGIA

L'incidenza della sepsi precoce, che deriva principalmente della trasmissione verticale di GBS dalla madre al neonato durante o subito prima il parto (10), è ampiamente diminuita grazie alla somministrazione della profilassi antibiotica intrapartum (IAP, *Intrapartum antibiotic prophylaxis*), ad oggi standard of care per la prevenzione delle infezioni precoci (11,12).
Tuttavia, il peso delle infezioni invasive da GBS a livello mondiale rimane significativo (13). Secondo lo studio di Seale et al., a livello globale nel 2015 circa 320.000 neonati sono stati colpiti da GBS, e 90.000 dei quali deceduti (14).

Nonostante la IAP sia riuscita a ridurre in maniera significativa i casi di EOD, la profilassi antibiotica non ha mostrato effetti rilevanti sull'incidenza delle LOD (rimasta stabile negli ultimi due anni, con un media di 0.3 casi per 1000 nati vivi) (12). Per tale motivo, ad oggi, si ipotizza che in alcuni casi l'infezione sia acquisita dopo il parto, mentre in altri è la conseguenza di una colonizzazione acquisita per via verticale alla nascita (15,16).

Data la marcata riduzione delle infezioni precoci, le infezioni tardive sono oggi divenute la forma predominante della malattia da GBS nei primi anni di vita; in particolare, nel 2020 rappresentavano il 57% di tutti i casi di GBS neonatale (17,18).

Il tasso di mortalità associato alla LOD si attesta intorno al 7%, con variazione dal 4% nei paesi ad alto reddito al 12% di paesi a basso reddito, quale l'Africa (7). La mortalità raddoppia nei pretermine (EG <37 settimane) rispetto ai nati a termine (7.8% vs 3.4%). La mortalità triplica in caso di meningite, (9.7% vs 3.5%) (12).

1.2 MICROBIOLOGIA E PATOGENESI

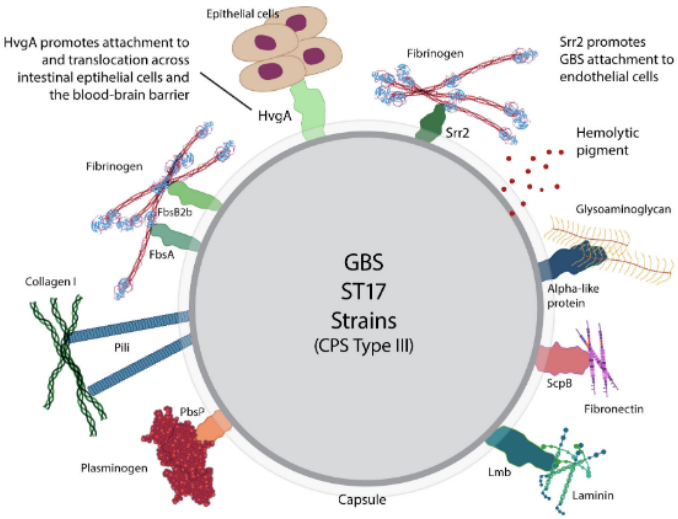
1.2.1 Aspetti microbiologici

La patogenesi molecolare dell'infezione da GBS è complessa e multifattoriale (19): GBS produce numerose tossine (ad esempio beta emolisina/citolisina e fattore CAMP) che agiscono direttamente sui tessuti causando danni citotossici, esprime molteplici fattori di virulenza che promuovono l'adesione e l'evasione immunitaria, secerne proteasi (come il c5a peptidasi) e, infine, evade la risposta immunitaria dell'ospite mediante la capsula polisaccaridica di superficie (17).

Sulla base dei polisaccaridi capsulari, che sono i principali fattori di virulenza del batterio, il GBS viene classificato in 10 sierotipi (Ia, Ib, II–IX): Ia, Ib, II, III e V rappresentano il 98% dei sierotipi responsabili della colonizzazione materna e delle infezioni nei neonati. Specificamente, dai dati di sorveglianza degli Stati Uniti nel periodo 2006-2015, emerge che il principale sierotipo responsabile delle infezioni tardive sia il sierotipo III (56% dei casi), seguito dal Ia (20%) (17).
La diffusione del sierotipo III è attribuibile alla prevalenza di una singola linea clonale, denominata *clonal complex 17* (CC17), trasmessa a livello mondiale. La selezione e successiva espansione di questo clone ipervirulento CC17 sono avvenute a seguito dell'acquisizione di geni di resistenza (come il gene tet(M)) a causa della forte pressione selettiva esercitata dall'uso diffuso delle tetracicline (introdotte nel 1948). Il clone CC17, altamente stabile e poco soggetto a ricombinazione genetica, è caratterizzato da un particolare repertorio di proteine di superficie che ne aumentano l'adesività e la capacità

di invasione, contribuendo alla sua elevata patogenicità (20). Specificamente, l'ipervirulenza del ceppo CC17 è attribuita a due proteine di superficie esclusive, HvgA e Srr2, che potenziano la capacità adesiva e invasiva di GBS delle cellule epiteliali intestinali e delle cellule epiteliali dei plessi coroidei ed endoteliali della barriera emato-encefalica. Questo conferisce al ceppo un tropismo meningeo e una maggiore tendenza a causare meningiti neonatali. (16,21,22).

Figura 1: Fattori di virulenza di GBS (CC17) (Manuel et al. - 2024)



1.2.2 Meccanismo patogenetico

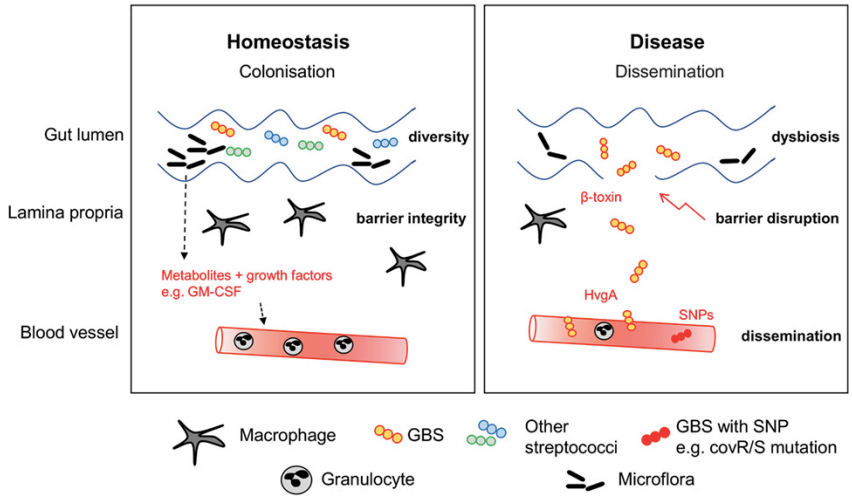
GBS è un batterio che può colonizzare, in maniera asintomatica, il tratto gastrointestinale e genitourinario della madre (1): la colonizzazione del sito vagino-rettale è un pre-requisito perché avvenga l'esposizione al batterio del neonato, in utero o durante il passaggio del canale del parto, da cui può svilupparsi l'infezione precoce (16,23).
Se la trasmissione verticale dell'EOD GBS è ormai piuttosto nota, i meccanismi alla base della trasmissione delle LOD rimangono ancora poco chiari.

Ad oggi sappiamo che la LOD può insorgere dopo la colonizzazione delle superfici mucosali da parte del batterio al momento del parto oppure dopo il parto, da fonti materne o non (16).
Nello specifico, da uno studio prospettico pubblicato nel 1987, è emerso che la colonizzazione intestinale del neonato è un importante fattore di rischio per l'insorgenza dell'infezione tardiva (24). È stato inoltre dimostrato che la colonizzazione intestinale è

ancora presente dopo 12 settimane di vita nel 40% dei neonati colonizzati alla nascita e può preludere all'infezione (25).

Dopo l'adesione alle superfici muco-cutanee, GBS invade l'epitelio, raggiungendo poi il circolo sanguigno. Nonostante ciò i fattori che promuovono il passaggio dalla colonizzazione alla malattia invasiva non sono ancora ben conosciuti (16); infatti, pur essendo la colonizzazione mucosale molto frequente (10% dei neonati sono colonizzati da GBS nelle prime settimane di vita) solo una piccolissima parte di essi (< 0.1%) sviluppa una LOD (26).
Sebbene sia tuttora poco chiaro il motivo, si ritiene che alla base dello sviluppo dell'infezione invasiva ci sia uno squilibrio tra i fattori di virulenza del GBS (HvgA o β tossina) e il sistema immunitario dell'ospite, con anche un ruolo regolatorio del microbiota nell'inibire il passaggio da colonizzazione a malattia invasiva (27,28).

Figura 2: Colonizzazione mucocutanea e disseminazione di GBS (Kolter et al. - 2017)



1.3 MODALITA' DI TRASMISSIONE

Rispetto alle infezioni precoci, la cui modalità di trasmissione madre-feto del patogeno è piuttosto nota, le modalità di trasmissione delle infezioni tardive non sono ancora del tutto chiarite e si ipotizza che l'acquisizione del GBS sia multifattoriale.

1.3.1 Fonti materne

La trasmissione materna, perinatale o postnatale, è la modalità principale.

Anche nel caso delle LOD la trasmissione verticale da parte di madre colonizzata ha un ruolo: nello studio di Dillon il 50% dei neonati era colonizzato alla nascita dallo stesso sierotipo che colonizzava la madre e che era causa della patologia invasiva (24); altri studi dimostrano che le madri con screening prenatale positivo per GBS hanno un aumentato rischio di avere figli con LOD (29,30).

L'acquisizione di GBS dalla madre può però avvenire anche nel periodo postpartum, si parla della cosiddetta <<delayed vertical trasmission>> (17): uno studio di coorte di Berardi et al. mette in evidenza come al momento della diagnosi dell'infezione neonatale, una buona percentuale di madri (59,2%) era portatrice di GBS nel sito vagino-rettale, nonostante alcune di loro fossero risultate negative allo screening prenatale (31), ipotizzando quindi che la colonizzazione materna possa avvenire anche dopo il parto.

Un altro motivo per cui la trasmissione può essere ritardata è che la profilassi antibiotica intrapartum, pur riducendo efficacemente l'entità della colonizzazione materna e quindi prevenendo la trasmissione perinatale, non riesce a eradicare completamente il batterio dal reservoir materno; esso rimane dunque una fonte di infezione (30,32,33), che quindi può essere contratta dopo la nascita una volta terminata la soppressione da parte della IAP (34).
Altro aspetto emerso sulla IAP è che, nonostante non abbia effetto nel ridurre l'incidenza delle LOD, essa potrebbe modificare il tempo di insorgenza e la severità dell'infezione: uno studio prospettico condotto in Italia in cui sono stati coinvolti 100 casi di LOD afferma che i neonati esposti a profilassi antibiotica siano alla diagnosi più grandi rispetto a quelli non esposti e che la IAP sia associata a una minore severità di malattia, ipotizzando che l'esposizione alla profilassi antibiotica possa modificare la via di trasmissione, da verticale a orizzontale (15).

Altra discussa fonte di trasmissione materna postnatale riportata è il latte materno, con o senza mastite in atto (35–40). L'associazione con l'insorgenza di LOD però rimane

ancora controversa (41) e poco chiara siccome la letteratura si basa su case reports e non esistono studi condotti su grandi popolazioni che forniscono evidenze più solide (31).
Una revisione di casi in letteratura suggerisce che il latte materno potrebbe essere responsabile di ripetute trasmissioni di GBS al neonato, favorendo la traslocazione intestinale e la successiva infezione (40). Tuttavia due studi caso-controllo non hanno riscontrato un'associazione significativa tra allattamento al seno e un rischio aumentato di GBS LOD (42,43).
È inoltre importante sottolineare che la colonizzazione del latte materno è di gran lunga più frequente (fino al 3.5% delle donne ha un latte contenente GBS) dell'effettiva incidenza di LOD nei bambini allattati al seno (< 0.5 per 1000 nati vivi) (34,44,45).
Quindi, nonostante la teorica possibilità di trasmissione di GBS con il latte materno, i benefici dell'allattamento sembrano di gran lunga superiori. Infatti, il latte materno e il colostro contengono anticorpi naturali che proteggono da patogeni invasivi e alte concentrazioni di molecole (come gli HMO, *human milk oligosaccharides*) con attività protettiva antimicrobica e antibiofilm, contro anche GBS (46–48). Inoltre, il latte materno è una delle fonti principali di trasmissione della flora non patogena del tratto gastrointestinale del neonato, sostanziale per lo sviluppo del tessuto linfoide associato alla mucosa intestinale (27).

1.3.2 Fonti non materne

Nelle LOD, tuttavia, una parte dei casi (circa 1/3) non è associata alla colonizzazione materna, suggerendo anche una modalità di trasmissione da fonti comunitarie o nosocomiali (34).

La trasmissione nosocomiale può avvenire attraverso le mani degli operatori sanitari e sarebbe quindi potenzialmente evitabile con misure di controllo e prevenzione; anche se oggi è diventata una modalità meno frequente rispetto a decenni fa, quando il tempo di ospedalizzazione delle madri e dei neonati dopo il parto era di diversi giorni (49–51).
Per quanto ad oggi venga considerata rara (52), la trasmissione di GBS nelle unità di terapia intensiva neonatale potrebbe essere più comune del previsto (16). I cluster ospedalieri di GBS possono essere difficili da identificare a causa dei lunghi intervalli tra i casi e della mancanza di sovrapposizione dei ricoveri dei bambini affetti; per questo

motivo, anche un singolo caso di LOD ospedaliero dovrebbe essere considerato secondario a una potenziale trasmissione nosocomiale e meritevole di indagini tempestive e maggiori sforzi di prevenzione (16,53). Una recente revisione sistematica ha messo in evidenza i fattori che potrebbero contribuire a sostenere un focolaio di patologie invasive da GBS, tra cui l'affollamento, la disinfezione inadeguata delle superfici e attrezzature, il mancato rispetto delle misure per la prevenzione delle infezioni, la vicinanza delle culle e l'elevato rapporto paziente-infermiere (54).

1.4 FATTORI DI RISCHIO

Sebbene i fattori di rischio per le infezioni tardive rimangano ancora parzialmente noti, la loro ricerca e identificazione è importante per poter implementare delle strategie di prevenzione contro GBS LOD, ad oggi la forma di malattia da GBS più comune in alcuni paesi sviluppati (16).

Mediante la conduzione di studi di coorte e caso-controllo sono stati indicati come possibili fattori di rischio:

- Nascita pretermine.
  È uno dei fattori di rischio principali, con un significativo aumento del rischio di LOD al diminuire dell'età gestazionale (30,55).
  Nello studio basato sulla sorveglianza condotta negli Stati Uniti nel periodo 2006-2015 quasi il 42% dei casi sono prematuri (EG < 37 settimane) e l'incidenza annuale nei nati pretermine è sei volte maggiore rispetto a quella dei nati a termine (12). Inoltre, dallo stesso studio emerge che il tasso di mortalità nei prematuri sia maggiore (7.8% vs 3.4% nei nati a termine).
  Invece, in uno studio di coorte prospettico italiano in cui sono stati considerati 100 casi di LOD (il cui 33% nati pretermine), è stato osservato che il rischio di contrarre una LOD nei piccoli prematuri (EG < 34 settimane) è aumentato di circa 16 volte rispetto a quello dei nati a termine (15).
  L'aumentata incidenza nei prematuri è principalmente attribuita all'immaturità del loro sistema immunitario, poiché il trasferimento degli specifici anticorpi IgG

materni attraverso la placenta avviene per lo più a partire dalla 34 settimana gestazionale (56).

Si deve anche considerare che il miglioramento della sopravvivenza dei grandi prematuri avvenuto negli ultimi anni è inevitabilmente associato a un periodo di ospedalizzazione più prolungato, che predispone a un aumentato rischio di trasmissione nosocomiale dell'infezione (16), oltre al fatto che la prematurità è caratterizzata da un'alterazione del microbiota intestinale, a causa dei ripetuti trattamenti antibiotici, che contribuiscono ad aumentare questo rischio (57).

- Colonizzazione materna da GBS.

  La positività allo screening prenatale per GBS è associata significativamente alle LOD: dallo studio di Pintye et al. risulta che il rischio di infezione tardiva nei nati da madre con screening prenatale positivo è 2 volte più alto (30), mentre nello studio di Lin et al. è stato dimostrato che una madre con coltura positiva per GBS ha un rischio significativo di avere un bambino affetto da LOD (aumento del rischio di 4.15) (55).

  Sapendo che la trasmissione verticale è possibile anche post partum, la positività del tampone eseguito al momento della diagnosi di LOD è un fattore di rischio: lo studio prospettico di Berardi et al. ha dimostrato che le madri dei neonati affetti da LOD avevano più probabilità di essere portatrici del batterio al momento della diagnosi dell'infezione neonatale rispetto al momento dello screening prenatale e che circa il 66% delle madri era risultata positiva allo screening prenatale e/o a quello eseguito al momento della diagnosi (15).

  La colonizzazione materna sembra essere il principale fattore di rischio nei nati a termine, i quali sono più a lungo a stretto contatto con la madre dopo la dimissione, rispetto ai nati pretermine il cui il rischio di trasmissione materna è più basso, in quanto ricoverati (16).

- Giovane età materna.

  L'età materna < 20 anni è un fattore di rischio indipendente associato alle GBS LOD (58,30). Il meccanismo sottostante a questa associazione non è ancora chiaro; tuttavia, le madri adolescenti sono caratterizzate da una maggiore colonizzazione del sito vagino-rettale, una minore efficienza del sistema

immunitario e una maggiore incidenza di co-infezioni e ciò potrebbe contribuire alla trasmissione del batterio (16).

- Etnia africana.

  In diversi studi condotti principalmente negli USA emerge che l'incidenza dei casi di GBS LOD sia più alta nei neonati di madre africana/afroamericana rispetto a quelli nati da madre caucasica: in una sorveglianza condotta dal 1999 al 2005 l'incidenza complessiva risulta il doppio, nello studio di Nanduri et al. l'incidenza annuale è quasi 3 volte maggiore, mentre nello studio caso-controllo di Lin et al. il rischio di infezione aumenta del 3.70 (12,55,59).

- Esposizione a HIV.

  Alcuni studi in letteratura suggeriscono una maggiore suscettibilità all'infezione tardiva da GBS nei neonati esposti o infettati da HIV: in uno studio caso-controllo condotto in Sud Africa si osserva una incidenza di GBS LOD quasi 5 volte superiore nei neonati HIV esposti rispetto a quelli non esposti (60) mentre uno studio basato su un sorveglianza ospedaliera in Soweto ha messo in evidenza la maggiore incidenza di patologia invasiva da GBS in caso di esposizione di HIV, con un rischio aumentato di circa tre volte nel caso delle LOD (61).

- Parto gemellare.

  Da uno studio condotto su i casi di malattia invasiva da GBS con recidiva e quelli che si sono verificati contemporaneamente tra gemelli provenienti da UK/Irlanda e Germania/Svizzera, è emerso che, in caso di parto gemellare, avere un fratello affetto è un fattore di rischio per l'altro fratello, la cui incidenza di infezione aumenta al 17%, dieci volte superiore rispetto al rischio legato alla sola colonizzazione materna (62).

  Un aumento del rischio di circa 8 volte, in caso di parto gemellare, è stato evidenziato anche da una revisione sistematica pubblicata nel 2022 sui fattori di rischio associata alle LOD. Tuttavia, gli autori sottolineano come l'associazione dimostrata possa essere condizionata dalla prematurità e dal basso peso gestazionale (63).

In effetti, i parti gemellari sono associati a tassi di parti pretermine più alti e la prematurità è un noto fattore di rischio per le GBS LOD. Inoltre, l'aumentato rischio in caso di gemellarità, potrebbe essere attribuito alla condivisione dei gemelli sia delle fonti di esposizione materne (come il latte), sia di quelle non materne, oltre che dell'assistenza, degli ambienti ospedalieri e della stessa suscettibilità genetica alle infezioni (16).

1.5 PRESENTAZIONE CLINICA

Nel caso delle LOD l'età media all'esordio è compresa tra i 27 e 41 giorni. I neonati affetti da infezione tardiva presentano uno spettro clinico più eterogeneo rispetto a quelli affetti da EOD, caratterizzati da una predominanza dei sintomi respiratori (17,64).

La manifestazione più comune è la batteriemia e/o sepsi, che si riscontra nel 92-94% dei casi (12,64) e che rimane isolata, senza focus di infezione in circa il 60% dei casi (12,15). In questo caso il bambino mostra più frequentemente febbre (segno clinico più comunemente riscontrato in caso di LOD (64,65)), letargia, irritabilità, scarsa alimentazione, tachipnea e/o apnea (8).

Altrettanto comune è la meningite, che si osserva dal 24-36% circa dei casi (64,12,15,66,7) e che può manifestarsi con segni aspecifici (come irritabilità, vomito, scarsa alimentazione) e meno frequentemente presentando all'esordio segni indicativi di un coinvolgimento del SNC (per esempio fontanella tesa e/o convulsioni) (8).
La meningite da GBS si verifica soprattutto nei bambini con età ≤ 3 mesi, manifestandosi principalmente con febbre, alterazione dello stato di coscienza e riduzione dell'appetito; perciò in caso di riscontro di questi sintomi e segni, sebbene aspecifici, dovrebbe far sorgere il sospetto di infezione del SNC in un bambino di questa fascia di età (65).
Lo studio multicentrico del progetto europeo DEVANI ha messo in evidenza la presenza di segni neurologici (letargia, irritabilità, convulsioni, fontanella tesa, crisi apnoiche) nel 52% dei casi (37 su 71 casi di LOD analizzati), confermando che la GBS LOD è una malattia neurotropa (64).

Nello stesso studio è emerso che, in caso di LOD, la meningite è l'unico fattore predittivo per un outcome sfavorevole, quali sequele neurologiche precoci o decesso, rispetto alle EOD in cui l'esito avverso non è associato alla diagnosi di meningite, ma è associato alla prematurità e alla presenza di sintomi cardiocircolatori.

Anche altri patogeni, come *Haemophilus influenzae di tipo B, Streptococcus pneumoniae e Neisseria meningitidis,* possono essere responsabili della meningite nei neonati. Il ruolo di questi microrganismi è però significativamente diminuito grazie all'introduzione di vaccini coniugati altamente efficaci, rendendo lo Streptococco di gruppo B il principale patogeno responsabile di meningite nei neonati (67,68).
Inoltre, tra i decessi correlati alla meningite, l'infezione da GBS è la prima causa eziologica (68).

Quadri infettivi focali come polmonite (il cui rischio è maggiore in caso di infezione precoce), artrite settica, osteomielite (spesso subacuta e apiretica), cellulite, adeniti o infezioni delle vie urinarie sono meno comuni e spesso sono caratterizzati da sintomi e segni clinici che aiutano a identificare il sito dell'infezione (8,17). La localizzazione del GBS a livello dei tessuti molli, ossa e articolazioni è quasi esclusivo dell'infezione a esordio tardivo (66).

Inoltre, nel 3-10% dei casi l'infezione può progredire verso un quadro fulminante con shock settico e fino al 30% dei neonati affetti possono necessitare di ricovero in terapia intensiva (17).

1.6 DIAGNOSI

Dopo una valutazione accurata dei segni clinici presentati dal bambino, è necessario condurre una serie di indagini di laboratorio al fine di diagnosticare l'infezione da GBS.

Emocoltura

Ad oggi per fare diagnosi è necessario isolare il GBS da sangue, liquor o altri siti normalmente sterili. Pertanto, l'emocoltura rappresenta il gold standard diagnostico, con

una sensibilità nel rilevare batteriemia fino al 98% (69,70). È raccomandato raccogliere almeno 1mL di volume di sangue (diviso in due flaconi, uno per germi aerobi e uno per germi anaerobi) per riuscire a identificare anche livelli di batteriemia ridotti, riducendo al minimo il numero di falso negativi (71). L'utilizzo di due flaconi di coltura separati ottimizza la rilevazione di specie anaerobie rare e, inoltre, consente la crescita della maggior parte dei patogeni neonatali, compreso GBS, che può svilupparsi anche in condizioni anaerobiche (69).

Analisi e coltura del liquido cefalo-rachidiano *(CSF, cerebrospinal fluid)*

Considerato l'elevato rischio di meningite, che spesso si presenta in maniera aspecifica o con segni classici che compaiono solo nelle fasi avanzate di malattia (72), in caso di sospetto di LOD si dovrebbe eseguire una rachicentesi prima di iniziare la terapia antibiotica empirica, purché ciò non comprometta le condizioni cliniche del neonato né ritardi l'inizio del trattamento stesso.
Tuttavia, questa procedura è frequentemente trascurata tra le indagini nella valutazione iniziale e il prelievo del campione dopo l'inizio della terapia (> 50% dei casi (73)) riduce significativamente la possibilità di isolare il patogeno causale nelle colture del CSF e può rendere difficile interpretare i risultati della conta delle cellule.
Inoltre, è importante considerare che fino all'8% dei neonati con qualche forma di GBS LOD presenta una emocoltura negativa, percentuale che sale al 30% nei casi di meningite confermata dalla coltura del CSF. (17,27,69,70)

Nessun segno clinico o esame laboratoristico è sufficientemente accurato da sostituire la puntura lombare; pertanto, ad oggi la positività dell'esame colturale è il gold standard per la diagnosi di meningite. Le alterazioni all'esame chimico-fisico e citologico del CSF (pleocitosi con elevata proporzione di neutrofili, iperproteinorrachia, ipoglucorrachia) possono suggerire la presenza di un processo infettivo.
Nei neonati con colture pretrattate o parametri liquorali difficili da interpretare può essere utile utilizzare dei metodi diagnostici aggiuntivi, come RT-PCR per patogeni (70).

Se la diagnosi di meningite viene confermata, spesso è indicato eseguire un esame di neuroimaging per valutare la presenza di complicanze intracraniche, quali ventricoliti, ascessi cerebrali, infarti (8).

Urinocoltura

Nel sospetto di una sepsi tardiva (LOS, *Late-Onset Sepsis*), la valutazione dovrebbe includere un'urinocoltura. Nonostante l'indicazione, l'inclusione di questa procedura è variabile e si verifica in una percentuale di casi compresa tra il 7% e il 50%. La variabilità nell'esecuzione dell'esame può essere attribuita a diversi fattori: assenza di sospetto clinico di infezione delle vie urinarie, difficoltà tecniche nella raccolta del campione sterile (che dovrebbe avvenire preferibilmente tramite cateterismo uretrale o puntura sovrapubica) e/o condizioni di instabilità del neonato che rendono complesso ottenere il campione. (70)

Emocromo con formula leucocitaria

L'emocromo con formula leucocitaria ha delle limitazioni nella diagnosi di LOS: i parametri possono essere normali nei soggetti infetti e i singoli indici – quali numero totale di globuli bianchi, conta assoluta di neutrofili, conta piastrinica – non possiedono sensibilità e specificità sufficienti per fornire da soli una diagnosi valida e affidabile (70). Pertanto, l'emocromo può supportare il sospetto ma non può sostituire altre indagini diagnostiche.

Markers infiammatori

Numerosi marcatori sono stati studiati per supportare la diagnosi di sepsi neonatale, anche se quello ideale non è stato ancora identificato.

La proteina C reattiva (PCR) è una proteina di fase acuta principalmente prodotta dal fegato in risposta a stimoli infiammatori, che includono non solo infezioni, ma anche altre condizioni patologiche non infettive. Una singola misurazione della PCR in un neonato sintomatico, al momento della valutazione, ha scarsa efficacia diagnostica e non consente né di escludere né di confermare l'infezione in modo affidabile. Tuttavia, tre misurazioni seriali di PCR eseguite nei giorni successivi aumentano la sensibilità al 98% e il valore predittivo negativo al 99%, rappresentando un utile supporto nel decidere se interrompere la terapia antibiotica, in associazione alla valutazione clinica e risultati colturali.

Anche la procalcitonina (PCT) è una proteina di fase acuta sintetizzata a livello epatico e come biomarcatore presenta cinetiche più rapide e in media una sensibilità e specificità superiori rispetto alla PCR (92% e 80%), ma non è ancora adeguato se usato da solo. Anche in questo caso valori seriati nel tempo possono essere utili come supporto decisionale.

Oltre alla PCR e PCT, sono stati valutati altri biomarcatori per la diagnosi di LOS: citochine pro-infiammatorie (IL6, IL8, TNFα) e marcatori di superficie cellulare (es. CD64, CD11b). Questi hanno dimostrato una moderata efficacia diagnostica, tuttavia il loro impiego nella pratica clinica rimane limitato poiché non disponibili nella maggior parte dei laboratori ospedalieri e non utilizzati di routine in diversi centri.

Il ricorso di tecniche di machine learning potrebbe in futuro ottimizzare l'uso diagnostico dei biomarcatori, favorendo combinazioni più performanti rispetto ai singoli markers (70).

Altre indagini diagnostiche

La valutazione del neonato deve essere personalizzata in base alla presentazione clinica: in caso di sospetto di infezione ossea e/o articolare, è opportuno eseguire indagini diagnostiche aggiuntive, come radiografie, risonanze magnetiche e/o esami colturali su liquido articolare o materiale osseo prelevato (8).

1.7 TERAPIA E GESTIONE DEL NEONATO

Il trattamento della malattia neonatale da Streptococco di gruppo B si basa sulla terapia antibiotica e sulla terapia di supporto.

1.7.1 Terapia antibiotica

In caso di sospetto di LOD è raccomandato iniziare tempestivamente una terapia antibiotica empirica ad ampio spettro, che varia in base all'età postnatale e alla gravità del quadro clinico.

Per i neonati da 8 a 28 giorni di vita precedentemente sani e non critici, senza evidenza di meningite, la terapia empirica raccomandata è costituita dall'associazione penicillina ad ampio spettro (es. ampicillina) più aminoglicoside (come gentamicina) per via parenterale. In alternativa alla gentamicina si può usare una cefalosporina (ad esempio cefotaxime o cefepime), sebbene il regime a base di gentamicina sia generalmente preferito per ridurre il rischio di antibiotico resistenza.
Per i lattanti tra i 29 e i 90 giorni di vita, con le stesse condizioni, l'utilizzo del ceftriaxone è indicato.

Nel caso di sospetta meningite o infezione severa con grave compromissione delle condizioni generali si dovrebbe usare la combinazione ampicillina + cefotaxime (se la meningite è sospettata, la gentamicina non si dovrebbe utilizzare). In aggiunta si dovrebbe aggiungere vancomicina per espandere la copertura antibiotica verso ceppi di Streptococco Pneumoniae β-lattamici resistenti.

Per i nati pretermine ospedalizzati da più di 72 ore, la terapia empirica deve essere adattata tenendo conto di diversi fattori, come l'epidemiologia ospedaliera locale e la presenza di cateteri venosi centrali. In questi casi si raccomanda l'associazione vancomicina e aminoglicoside. (8,34)

Nel momento in cui GBS viene confermato tramite esame colturale su sangue e su liquor, la terapia antibiotica di prima linea consiste nell'utilizzo della penicillina G (o ampicillina come accettabile alternativa). Sebbene GBS continui a mostrare sensibilità agli antibiotici beta-lattamici, sono stati segnalati, in alcuni paesi, rari isolati di GBS con mutazioni nelle proteine leganti penicillina (PBP) che comportano ridotta sensibilità. Inoltre, negli ultimi anni è stato osservato un aumento dei livelli di resistenza agli antibiotici comunemente usati come seconda linea di trattamento (ad esempio gentamicina, eritromicina, clindamicina). Per questo motivo, l'approccio ottimale sarebbe mirare la terapia in base alla suscettibilità agli antibiotici, utilizzando i risultati dell'antibiogramma (8,17,34).

I dosaggi dell'antibiotico variano a seconda dell'età gestazionale e della presenza di meningite.

La durata del trattamento dipende dal sito dell'infezione e dalla sua gravità. Per sepsi senza focolaio di infezione o infezione delle vie urinarie è raccomandata una terapia parenterale della durata di 10 giorni. In presenza di meningite non complicata la durata della terapia è di 14 giorni, mentre in caso di meningite complicata deve essere prolungata oltre i 14 giorni.
Terapie più lunghe sono necessarie in caso di osteomielite o artrite settica (3-4 settimane) e in presenza di ventricolite o endocardite (almeno 4 settimane) (8,27).

1.7.2 Terapia di supporto

Oltre alla terapia antibiotica, è fondamentale garantire l'adeguata terapia di supporto al neonato e/o bambino piccolo. Tale terapia può comprendere il supporto respiratorio (con ossigenoterapia e/o ventilazione meccanica) e/o cardiocircolatorio (mediante somministrazione di liquidi e farmaci inotropi), il trattamento dei disturbi dell'equilibrio idro-salino e acido-base, la trasfusione di emocomponenti, il monitoraggio e il controllo della temperatura corporea e dei livelli glicemici e, se necessario, l'utilizzo della fototerapia.
Questi interventi di supporto aggressivi diventano necessari in caso di sepsi fulminante o shock settico, condizioni che devono essere riconosciute e trattate tempestivamente (34,70).

Se durante la terapia nei bambini con meningite dovessero insorgere dei deficit focali o dovessero persistere segni neurologici, è consigliato eseguire una ulteriore rachicentesi in aggiunta a indagini di neuroimaging seriati (ecografia transfontanellare e RM encefalo, se alterazioni dubbie) (8,27).

Infine, si raccomanda di eseguire un esame neurologico e test audiologici alla dimissione. In caso di alterazioni sarà necessario predisporre un attento follow-up per monitorare lo sviluppo neuro-evolutivo del bambino (27).

1.8 PROGNOSI

1.8.1 Decesso

Seppur non frequentemente, l'infezione tardiva da GBS può portare al decesso.
A livello globale il tasso di mortalità in caso di GBS LOD è stimato intorno al 5-7%, minore nei paesi ad alto reddito e maggiore nei paesi africani (4% vs 12%) (7,12). La mortalità varia in base all'età gestazionale: nei nati pretermine aumenta rispetto ai nati a termine (7.8% vs 3.4%). Anche la presenza di meningite aumenta il rischio di morte: nei casi identificati come meningite il tasso di mortalità è triplicato (9.7% vs 3.5%) (12).
Secondo un importante studio caso controllo che ha analizzato i casi di malattia invasiva da GBS in Danimarca e nei Paesi Bassi, il tasso di mortalità nei primi 3 mesi di vita nei bambini affetti da malattia invasiva da GBS [sepsi, meningite e polmonite (solo nella coorte danese)] è maggiore (di circa 1,4 volte in Danimarca e di circa 4,5 volte nei Paesi Bassi) rispetto a quello dei bambini non affetti. In particolare, il maggiore eccesso di mortalità è stato riscontrato nei casi di GBS con meningite (74).

1.8.2 Esiti a lungo termine

Nei neonati sopravvissuti a una forma invasiva di GBS, soprattutto a una meningite, il rischio di avere una compromissione dello sviluppo neurologico, dal punto di vista intellettivo-cognitivo, visivo, motorio e/o uditivo, aumenta (17). Circa la metà dei sopravvissuti potrebbe presentare, a distanza di anni, sequele nel neurosviluppo di severità variabile (da medio-moderato a grave) (67,75,76).
Nel 2017 è stata condotta una revisione sistematica della letteratura con lo scopo di quantificare il rischio di compromissione del neurosviluppo nei sopravvissuti a una meningite da GBS: la meta-analisi ha evidenziato come il 32% dei sopravvissuti presentasse una sequele dopo 18 mesi di follow up, di cui il 18% era medio-grave (77).

Le caratteristiche cliniche, presenti al ricovero, che possono correlare con il decesso o con una grave compromissione sono letargia, distress respiratorio, coma e semicoma, convulsioni, fontanella tesa, leucopenia, acidosi, alterazioni nel liquido cefalorachidiano e necessità di ventilazione e/o supporto pressorio.

Alla dimissione i segnali predittivi sono uno screening uditivo fallito, esame neurologico anomalo e imaging cerebrale anomalo (come infarcimento, encefalomalacia, idrocefalo) dopo la fine della terapia antibiotica. (67).

La meningite da GBS a esordio tardivo può essere complicata anche da malattie cerebrovascolari, tra cui stroke arterioso ischemico e/o trombosi venosa dei seni cerebrali (63).

I neonati estremamente pretermine (EG 22-28 settimane) presentano di per sé un rischio significativamente più elevato di mortalità e compromissione del neurosviluppo: grandi studi di coorte hanno dimostrato che fino al 25-50% dei sopravvissuti nati prima della 28^ settimana presenta deficit neurologici e cognitivi di vario grado in età scolare (78,79). In questo contesto, Puopolo et al. hanno evidenziato che l'infezione invasiva da GBS nei grandi prematuri si associa a un incremento del rischio di morte o di deficit del neurosviluppo (valutati a un'età corretta di 18-26 mesi) rispetto sia ad altre infezioni sia ai neonati non infetti. Specificamente, lo studio distingue le EOD e le LOD e rileva che la GBS LOD non si associa a un aumento del rischio di deficit neurocognitivi, pur mantenendo un impatto significativo sulla mortalità tardiva nei sopravvissuti oltre i 30 giorni di vita (80).

Per questo motivo, ancora oggi, la meningite da GBS rimane una sostanziale causa di mortalità e morbilità a lungo termine che rende necessario il follow up continuo e l'individuazione di strategie di prevenzione efficaci (67).

1.8.3 Infezioni ricorrenti

L'infezione, seppur raramente (0.5-3% dei casi), può ripresentarsi dopo un accurato trattamento antibiotico della prima infezione, soprattutto nei neonati pretermine e/o con basso peso alla nascita.

La recidiva è strettamente associata alle LOD e spesso è causata dallo stesso sierotipo di GBS che ha provocato l'infezione primaria (8,34). Sebbene la patogenesi rimanga ancora poco chiara, la forte concordanza tra il ceppo di GBS responsabile dell'infezione primaria

e della recidiva suggerisce che la colonizzazione persistente della mucosa, nonostante la terapia antibiotica o la trasmissione dalla stessa fonte esogena (come la madre), siano fattori cruciali (81,82).
L'utilizzo della rifampicina, al fine di eradicare la colonizzazione del patogeno nella madre e nei neonati al termine di un trattamento antibiotico per via parenterale efficace, non si è dimostrato valido (83).
Il ruolo del latte materno come causa della recidiva rimane ancora controverso. Sebbene i neonati con recidiva da GBS presentino alte percentuali di allattamento al seno e in molti casi sia stato identificato GBS nel latte materno, suggerendo il latte come possibile veicolo di trasmissione, dalla revisione sistemica condotta da Miselli et al. emerge che un neonato su quattro che ha interrotto l'allattamento al seno dopo la prima recidiva da GBS ha sperimentato ulteriori recidive, suggerendo che il latte materno infetto non sia l'unica causa (82).

La maggiore incidenza delle infezioni ricorrenti nei prematuri (2/3 dei casi totali) potrebbe essere attribuita a un'alterazione della flora intestinale, a una bassa trasmissione di anticorpi e ad alterazioni transitorie dell'immunità, che li rendono più vulnerabili. Inoltre, i prematuri con recidive da GBS presentano un rischio maggiore di decesso e lesioni cerebrali, sebbene non sia sempre semplice determinare se gli outcome sfavorevoli siano dovuti alle infezioni ricorrenti o alla prematurità in sé. (82)

Lo studio di Freudenhammer et al. (62) ha messo in evidenza un incremento del rischio di recidiva associato a un trattamento antibiotico più corto (<10 giorni), specificando però che il risultato è in disaccordo con uno studio precedente. Quest'ultimo mostra che non c'è differenza nel tasso di ricorrenza tra un ciclo corto (≤ 8 giorni) e uno prolungato di antibiotici tra i bambini affetti da un'infezione non complicata, perciò nel complesso il rischio di recidiva e di fallimento del trattamento è molto basso, anche nel caso in cui la terapia antibiotica duri meno di 8 giorni (82,84).
Sembra che il rischio di recidiva non sia prevenibile prolungando il trattamento antibiotico raccomandato (8).

1.9 PREVENZIONE

L'attuale principale strategia di prevenzione contro la malattia neonatale da Streptococco di gruppo B è la profilassi antibiotica intrapartum (IAP), risultata efficace nella riduzione dell'incidenza delle infezioni ad esordio precoce. L'efficacia della IAP è particolarmente evidente nei paesi ad alto reddito, dato che l'implementazione è più fattibile e comune grazie alla presenza di un sistema sanitario strutturato. Nei contesti caratterizzati da risorse sanitarie limitate, l'IAP è scarsamente adottata o del tutto assente (14).

Considerando le modalità di trasmissione e i fattori di rischio delle infezioni tardive da GBS e il fatto che l'incidenza delle LOD è rimasta sostanzialmente stabile nonostante l'adozione universale dello screening prenatale e la somministrazione della IAP, sono state ipotizzate una serie di strategie preventive.

1.9.1 Vaccinazione materna

La strategia attualmente più promettente nella prevenzione delle infezioni da GBS, sia a esordio precoce che tardivo, è rappresentata dalla vaccinazione contro GBS delle donne nel II o III trimestre di gravidanza.
Un vaccino sicuro ed efficace permetterebbe di ridurre la colonizzazione materna da GBS, uno dei principali fattori di rischio di LOD, e conferirebbe un'immunità passiva al neonato nei primi tre mesi di vita, mediante il trasferimento di anticorpi IgG protettivi attraverso la placenta e/o latte materno (17,85). Solo attraverso questa strategia si potrebbero ottenere dei risultati significativi nella riduzione dei casi di LOD nei nati a termine, oltre a contribuire alla prevenzione di parti pretermine e morti fetali intrauterine associati a GBS (21).

Tenendo conto del fatto che oltre il 99% dei casi di malattia è causato da 6 sierotipi principali (Ia, Ib, II, III, IV e V), un vaccino glicoconiugato esavalente rappresenterebbe una soluzione ideale, in grado di coprire la quasi totalità dei casi (12). Studi clinici di fase 1/2 hanno dimostrato che questo tipo di vaccino è capace di indurre una risposta immunitaria robusta della durata di almeno 6 mesi negli adulti sani, supportando così la valutazione del suo utilizzo anche nelle donne in gravidanza (86).

Un ulteriore candidato, sempre in fase 2 di sperimentazione, è rappresentato da un vaccino glicoconiugato trivalente (mirato ai sierotipi Ia, Ib e III). Parallelamente sono in corso studi su vaccini basati su proteine antigeniche di superficie e subunità di pili, ovvero strutture altamente conservate tra i diversi sierotipi di GBS, che potrebbero ampliare la copertura vaccinale rispetto a quella garantita dai vaccini polisaccaridici tradizionali (85).

Nessuna strategia vaccinale, però, sarà efficace nel prevenire un'infezione tardiva nei prematuri gravi, dato che una ottimale trasmissione placentare di anticorpi avviene dopo la 34^ settimana gestazionale (16).

1.9.2 Prevenzione delle infezioni nosocomiali e dell'alterazione del microbiota intestinale

Per quanto riguarda la prevenzione delle infezioni nosocomiali è essenziale promuovere delle buone pratiche assistenziali, tra cui un'accurata igiene delle mani e una corretta gestione dei dispositivi invasivi, come i cateteri.

Considerando che l'alterazione del microbiota intestinale è riconosciuto come fattore di rischio per la trasmissione nosocomiale di patogeni e che una disbiosi precoce può predisporre allo sviluppo di LOD (55), è necessario anche limitare l'uso inappropriato di antibiotici nei neonati (34,85).

In questo contesto, è stato dimostrato che l'utilizzo di probiotici, soprattutto combinazioni di *Lactobacillus spp*. e *Bifidobacteria,* riduce il rischio di sepsi tardive nei nati pretermine ricoverati in terapia intensiva neonatale, grazie alla loro capacità di sopprimere la crescita eccessiva e la traslocazione di agenti patogeni nell'intestino, prevenendo così infezioni invasive (87,88).
Poiché un microbiota intestinale sano svolge un ruolo importante nel garantire un equilibrio nella risposta immunitaria e nello sviluppo della barriera intestinale durante il periodo perinatale, è altrettanto importante favorire la sua maturazione attraverso strategie non farmacologiche, come l'allattamento al seno (34).

1.9.3 Latte materno

Un aspetto ancora controverso riguarda la gestione e la prevenzione dei casi di GBS LOD associati al latte materno contaminato.

Ad oggi, in caso di insorgenza di LOD, la ricerca di GBS nel latte materno non è raccomandato (42). Tuttavia, alcuni autori suggeriscono che lo screening si potrebbe prendere in considerazione in caso di mastite, neonati pretermine, infezione ricorrente o malattia concomitante in gemelli (41,62). Nel caso di positività per GBS, le opzioni raccomandate includono la temporanea sospensione dell'allattamento o la pastorizzazione del latte. Inoltre, per tentare di eradicare la colonizzazione del latte materno, può essere considerato un trattamento antibiotico materno con amoxicillina per 7-10 giorni; se inefficace, valutare l'impiego di rifampicina per 7 giorni (34,41,85).

1.9.4 Prevenzione nei gemelli

Infine, per quanto riguarda i parti gemellari: essendo un fattore di rischio, nel caso in cui un gemello dovesse sviluppare una infezione invasiva è raccomandata l'osservazione attenta dell'altro fratello, così da riconoscere precocemente i segni di malattia e iniziare tempestivamente un trattamento empirico. Non ci sono evidenze che supportano un trattamento antibiotico profilattico nei gemelli asintomatici (8,85).

2. OBIETTIVI DELLO STUDIO

Questo studio si propone di descrivere le caratteristiche, in termini di demografia, clinica ed outcome, dei neonati colpiti da GBS LOD e delle loro madri nella regione Emilia-Romagna, nel periodo 2003-2022.

Inoltre, lo studio mira ad analizzare la severità della malattia e il suo andamento nel tempo, nonché a individuare eventuali fattori di rischio associati a esiti avversi, in particolare lesioni cerebrali e decesso.

3. MATERIALI E METODI

3.1 DISEGNO DELLO STUDIO

Si tratta di uno studio prospettico, osservazionale, multicentrico e area based che ha visto il coinvolgimento di diversi centri di cura della regione Emilia-Romagna, in particolare: l'Azienza Ospedaliera-Universitaria di Modena, l'Ospedale Maggiore "Carlo Alberto Pizzardi" di Bologna, l'IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna - Policlinico di Sant'Orsola, l'Ospedale "M. Bufalini" di Cesena, l'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Ferrara "Arcispedale Sant'Anna", l'Ospedale S. Maria della Scaletta di Imola, l'Ospedale di Sassuolo, l'Ospedale "B. Ramazzini" di Carpi, l'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma, l'Ospedale "Guglielmo da Saliceto" di Piacenza, l'Ospedale "Santa Maria delle Croci" di Ravenna - AUSL Romagna, l'Arcispedale "S. Maria Nuova" di Reggio Emilia e l'Ospedale "Infermi" di Rimini – AUSL Romagna.

Per il presente studio sono stati inclusi neonati che hanno avuto una positività per Streptococco di gruppo B all'emocoltura o alla coltura del liquor tra il 7° e l'89° giorno di vita, nati tra il 1° Gennaio 2003 e il 31 Dicembre 2022.

Per ogni caso di GBS LOD è stato utilizzato un modulo standardizzato per raccogliere i dati relativi alle caratteristiche materne e neonatali. La raccolta dei dati è avvenuta mediante la consultazione delle cartelle cliniche dei punti nascita (nidi, reparti di Neonatologia, TIN) o dei reparti di pediatria o di quelle presenti negli archivi dei centri coinvolti nello studio.
I dati ricavati sono stati raccolti in forma anonima in un foglio in formato Excel ad accesso controllato, assegnando a ciascun neonato un codice numerico.
In caso di incompletezza dei dati i singoli centri sono stati ricontattati per ottenere le informazioni mancanti.

I dati materni raccolti e successivamente analizzati sono:

- Età materna;
- Tipo di parto: spontaneo, taglio cesareo elettivo, taglio cesareo non elettivo;
- Eventuale esecuzione di una profilassi antibiotica intrapartum (se sì, è stato specificato se completa o incompleta/inadeguata);

- Esito del tampone vagino-rettale (TVR) per Streptococco di gruppo B: positivo, negativo, non eseguito/non noto;
- Fattori di rischio materni: prematurità, febbre materna intrapartum (TC > 38°C), rottura delle membrane maggiore o uguale 18 ore, batteriuria da GBS nella gravidanza attuale;
- Stato della coltura del latte materno: positivo, negativo, non eseguita/non nota;
- Eventuale presenza di mastite materna in atto o pregressa;
- Esito del tampone vaginale/vagino-rettale all'esordio dei sintomi del neonato: positivo, negativo, non eseguito/non noto;
- Esito dell'urinocoltura all'esordio dei sintomi del neonato: positivo, negativo, non eseguito/non noto.

Invece i dati neonatali raccolti e successivamente analizzati sono:

- Caratteristiche neonatali: età gestazionale alla nascita, sesso, peso alla nascita, apgar al 5° minuto, etnia (caucasica, africana, asiatica, araba o altro), gemellarità, malformazioni;
- Esito dell'emocoltura: positiva, negativa, non eseguita;
- Esecuzione di rachicentesi, eventuale esito dell'esame colturale del liquido cefalorachidiano e della biologia molecolare per GBS;
- Parametri bioumorali all'esordio dei sintomi: proteina C reattiva, conta leucocitaria, conta dei neutrofili e conta piastrinica;
- Giorni di vita all'esordio dei sintomi e quante ore prima del ricovero sono iniziati;
- Se alla diagnosi dell'infezione era ricoverato o era già stato dimesso (se sì, da quanti giorni);
- Eventuale esecuzione di RX torace;
- Eventuale somministrazione di cristalloidi/colloidi e/o catecolamine;
- Eventuale utilizzo di ventilazione meccanica non invasiva o invasiva (se sì per quanti giorni);
- Diagnosi finale: sepsi, meningite o infezione focale;
- Giorni totali del ricovero e della terapia antibiotica;
- Esito dell'infezione: guarito, esiti neurologici, decesso;
- Severità di malattia: lieve/moderata o severa.

3.2 DEFINIZIONI

Caso

Isolamento di GBS da un sito corporeo normalmente sterile (sangue o liquido cerebrospinale, *CSF*) in neonati di età compresa tra 7 e 89 giorni. (15)

Sepsi

Crescita di GBS da coltura di sangue associata a sintomi riconducibili a sepsi. (15)

Meningite

Presenza di sintomi clinici associati a: (1) positività all'esame colturale del liquor o (2) positività alla PCR del liquor. (15)

Infezione focale

Segni focali di infezioni, al di fuori delle vie respiratorie, associati a positività dell'esame colturale su sangue. (15)

Malattia severa

Definita dalla presenza di almeno uno dei seguenti elementi: necessità di ventilazione meccanica, supporto con catecolamine, convulsioni, meningite, lesioni cerebrali documentate alla dimissione ospedaliera o decesso (entro 7 giorni dall'emocoltura).

Outcome sfavorevole

Definiamo come outcome sfavorevole il decesso e/o una lesione cerebrale dimostrata all'imaging.

Neonati pretermine

Neonati nati prima della 37^ settimana gestazionale.

Pretermine tardivo (*late preterm*)

Include neonati nati tra la 34^ e la 36^ settimana + 6 giorni di gestazione.

Pretermine moderato (*moderate preterm*)

Include neonati nati tra la 28^ e la 33^ settimana + 6 giorni di gestazione.

Pretermine grave (*early preterm*)

Include neonati nati prima della 28^ settimana gestazionale.

Mastite da GBS

Infiammazione localizzata e dolorosa della mammella che si manifesta insieme a sintomi simil-influenzali materni e con isolamento di Streptococco di gruppo B nella coltura del latte. (15)

Screening prenatale per GBS

È raccomandato per tutte le partorienti tra la 36+0 e 37+6 settimane di gestazione e il metodo gold standard consiste nell'esecuzione di un tampone vagino-rettale. (17)

IAP (profilassi antibiotica intrapartum) completa

La profilassi antibiotica intrapartum è raccomandata per tutte le partorienti che hanno ottenuto un risultato positivo allo screening prenatale per GBS eseguito dopo la 36^ settimana gestazionale, con l'obiettivo di ridurre la carica batterica al momento del parto. Si definisce completa se effettuata con la somministrazione di penicillina, ampicillina o cefazolina per via endovenosa almeno 4 ore prima del parto. (17)

IAP incompleta/inadeguata

Si definisce incompleta/inadeguata se effettuata prima delle 4 ore del parto o se somministrati antibiotici non betalattamici

3.3 ANALISI STATISTICA

Le variabili numeriche sono state riportate utilizzando mediana e intervallo interquartile (IQR) oppure media e deviazione standard, mentre le variabili categoriche sono state descritte utilizzando frequenze assolute e percentuali.

Per indagare l'associazione tra le variabili demografiche e cliniche rispetto agli esiti avversi neonatali, sono stati utilizzati modelli di regressione univariata. Sono stati stimati modelli di regressione logistica per analizzare gli esiti dicotomici, e i risultati ottenuti sono stati espressi in termini di odds ratio (OR). Per gestire esiti categorici con più di 2 livelli, sono stati utilizzati modelli di regressione multinomiale, e le associazioni stimate sono state riportate come relative risk ratio (RRR). Per le analisi delle tendenze di incidenza nel tempo, sono stati utilizzati modelli di regressione Quasi-poisson per stimare i Rate Ratio (RR).

Per tutte le analisi il livello di significatività alfa è stato fissato a 0,05 e i risultati sono stati riportati con intervalli di confidenza (CI) al 95% e valori di p (p-value).

Tutte le analisi sono state eseguite utilizzando i software statistici R versione 4.3.2 (The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2023) e Medcalc - versione 9.3.0.0 per Windows.

4. RISULTATI

4.1 POPOLAZIONE GENERALE

Nel periodo dello studio (1° gennaio 2003 – 31 dicembre 2022) i nati totali della Regione Emilia-Romagna sono stati 728833, di cui 676709 a termine e 52124 pretermine. Tra 236 neonati totali (a termine, n=146, 61,9%; pretermine, n=90, 38,1%), sono stati registrati 247 episodi di LOD, di cui 147 (59,5%) nei nati a termine e 100 (40,5%) nei nati pretermine. Undici neonati (10 pretermine e 1 a termine) hanno avuto una ricorrenza dell'infezione.

L'incidenza di GBS LOD è stata complessivamente di 0,34 per 1000 nati, in particolare di 0,22 per 1000 nati nei neonati a termine e di 1,92 per 1000 nati nei prematuri, come è osservabile in Tabella 1.

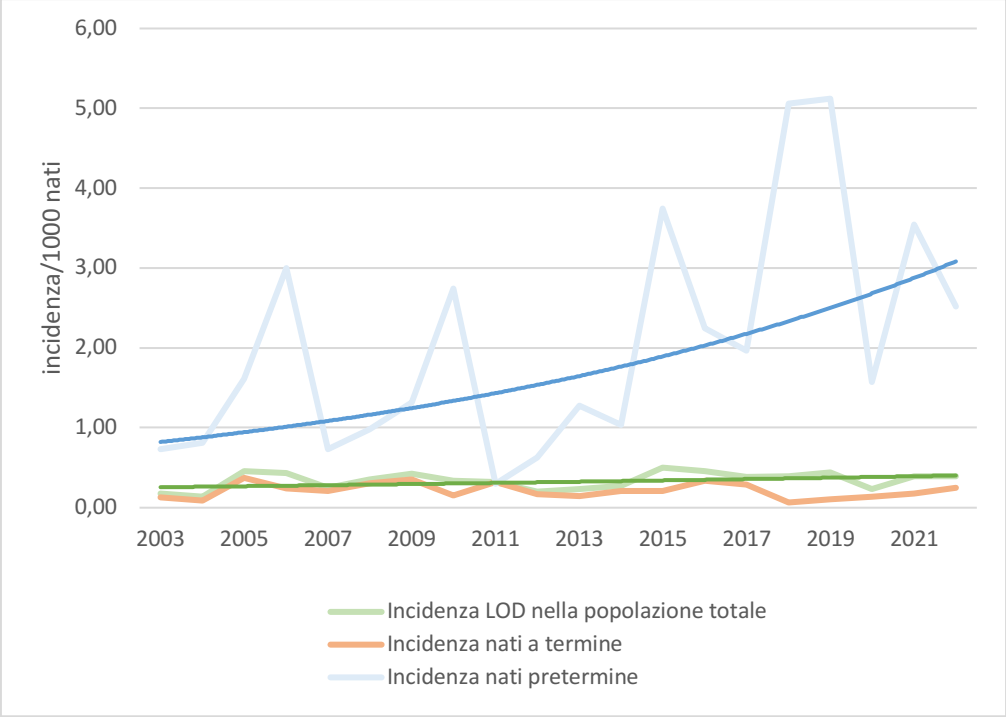
Tabella 1: Andamento dell'incidenza dei casi di GBS LOD suddivisi per anno

	CASI TOTALI	Incidenza/ 1000 nati	A TERMINE	Incidenza/ 1000 nati	PRETERMINE	Incidenza/ 1000 nati
2003	6	0,17	4	0,13	2	0,73
2004	5	0,14	3	0,09	2	0,81
2005	17	0,46	13	0,37	4	1,61
2006	17	0,43	9	0,24	8	3,00
2007	10	0,25	8	0,21	2	0,73
2008	15	0,36	12	0,31	3	0,98
2009	18	0,42	14	0,36	4	1,32
2010	14	0,33	6	0,15	8	2,74
2011	13	0,32	12	0,32	1	0,30
2012	8	0,20	6	0,17	2	0,63
2013	9	0,24	5	0,14	4	1,28
2014	10	0,27	7	0,21	3	1,04
2015	18	0,50	7	0,21	11	3,75
2016	16	0,46	11	0,34	5	2,25
2017	13	0,39	9	0,29	4	1,96
2018	13	0,39	2	0,06	11	5,06

2019	14	0,44	3	0,10	11	5,12
2020	7	0,23	4	0,14	3	1,57
2021	12	0,40	5	0,18	7	3,55
2022	12	0,39	7	0,25	5	2,52
TOT	247	0,34	147	0,22	100	1,92

Considerando la popolazione totale, nel corso dei vent'anni di osservazione non si è riscontrata una variazione significativa dell'incidenza di GBS LOD (RR 1,018, 95% CI 0,993-1,043, p = 0.174), come avviene anche per l'andamento dell'incidenza nei nati a termine. Osservando l'andamento dell'incidenza nei nati prematuri si è invece riscontrato un aumento significativo (RR 1,071, 95% CI 1,019-1,126, p = 0,014), come si osserva in Figura 3.

Figura 3: Andamento nel tempo dell'incidenza di GBS LOD



La mortalità è stata di 9 bambini su 236 (3,8%), di cui 3 erano a termine (2,1%) e 6 pretermine (6,7%).

4.2 POPOLAZIONE MATERNA

L'età materna media osservata nello studio è stata di 31,53 ± 5,66 anni e 7 madri presentavano un'età inferiore ai 20 anni.

In 138 episodi (55,9%) le madri hanno avuto un parto spontaneo mentre in 58 episodi (23,5%) le madri sono state sottoposte a un taglio cesareo elettivo e in 51 episodi (20,6%) a un taglio cesareo non elettivo.

In Tabella 2 troviamo i dati materni della popolazione in studio, in particolare quelli riguardanti i fattori di rischio materni (che, secondo le linee guida AAP, aumentano la probabilità di EOS nei neonati).

Tabella 2: Fattori di rischio materni

Fattori di rischio materni	Presenza del fattore di rischio	Assenza del fattore di rischio	Dati mancanti
Rottura delle membrane ≥18 ore, n (%)	23 (9,8)	212 (90,2)	12
Batteriuria da GBS, n (%)	6 (2,8)	211 (97,2)	30
Febbre materna intrapartum, n (%)	4 (1,7)	232 (98,3)	11

In Tabella 3 troviamo, inoltre, i dati riguardanti la somministrazione della IAP: questa è stata somministrata in 103 (42,2%) dei 244 episodi che avevano l'informazione disponibile (mancante in 3 casi).

Tabella 3: Somministrazione della IAP suddivisa per parto a termine e pretermine

IAP somministrata	Tutti (n=247)	Parto a termine (n=147)	Parto pretermine (n=100)	p value
IAP completa, n (%)	51 (20,9)	30 (20,7)	21 (21,2)	0,951
IAP incompleta/inadeguata, n (%)	52 (21,3)	23 (15,9)	29 (29,3)	0,018
Nessuna	141 (57,8)	92 (63,4)	49 (49,5)	0,042
Non noto, n	3	2	1	-

Abbreviazioni: IAP, profilassi antibiotica intrapartum.

Nella Tabella 4 troviamo i dati relativi all'esecuzione del tampone vagino-rettale (TVR) effettuato sia come screening prenatale sia al momento della diagnosi di LOD neonatale.

Tabella 4: Esiti del TVR prenatale e alla diagnosi di LOD

	Esito positivo	**Esito negativo**	**Non eseguito/ non noto**
TVR per GBS prenatale, n (%)	72 (40)	108 (60)	67
TVR per GBS alla diagnosi di LOD, n (%)	86 (54,4)	72 (45,6)	89

Abbreviazioni: TVR, tampone vagino-rettale.

In 119 episodi (48,2%) la madre ha avuto una coltura per GBS positiva almeno una volta.

Dei 247 episodi totali inclusi nello studio, per 118 erano disponibili entrambe le informazioni relative all'esito del TVR eseguito sia allo screening prenatale che al momento della diagnosi di LOD. Su questo sottogruppo è stata condotta una subanalisi, da cui è emerso che in 39 episodi (33,1%) le donne sono risultate persistentemente colonizzate mentre in 41 episodi (34,7%) sono risultate sempre negative. In 9 episodi (7,6%) le donne erano positive solo allo screening prenatale e in 29 (24,6%) solo al TVR eseguito alla diagnosi. Complessivamente, in 77 episodi (65,3%) le donne sono risultate positive almeno in un'occasione.

Le madri dei neonati affetti hanno presentato una probabilità maggiore di essere portatrici di GBS al momento della diagnosi (68 su 118 episodi di cui si avevano entrambe le informazioni) rispetto a quanto è risultato allo screening prenatale (48 su 118 casi) ($p = 0,013$).

In 197 episodi il neonato affetto assumeva latte materno esclusivo o misto e, tra questi, è stata eseguita la coltura del latte materno in 150 casi, risultata positiva in 32 casi (21,3%). Tra le 197 madri che allattavano, 5 (2,5%) presentavano mastite in atto e, in 4 di queste, è stato raccolto il campione per l'esame colturale, risultato positivo. 7 (3,6%) donne avevano una storia di mastite antecedente l'esordio della LOD.

4.3 POPOLAZIONE NEONATALE

4.3.1 Caratteristiche demografiche

I dati relativi all'età gestazionale e al peso sono riportati in Tabella 5.
Tra i 236 neonati con LOD 203 (82,2%) erano di etnia caucasica, 18 (7,3%) di etnia africana, 12 (4,9%) di etnia araba, 7 (2,8%) di etnia asiatica e 7 (2,8%) di altra etnia.
Undici bambini (4.7%, di cui 1 a termine e 10 pretermine) hanno presentato infezione ricorrente. Trenta (12,7%) sono nati da parto gemellare, 2 dei quali hanno presentato infezione ricorrente.

Tabella 5: Peso alla nascita ed età gestazionale suddivisi per nati a termine e pretermine

	Casi di LOD nei nati pretermine, n=100	**Casi di LOD nei nati a termine, n=147**	**Casi totali, n=247**
Peso alla nascita in gr, mediana (IQR)	1360 (975 – 1820)	3260 (2950 – 3540)	2752 (1590 - 3335)
Peso alla nascita in gr, media ± DS (range)	1442 ± 592 (520 – 3000)	3264 ± 501 (2080 – 5210)	2524 ± 1046 (520 – 5210)
Età gestazionale alla nascita in settimane, mediana (IQR)	30,0 (27,0 - 33,5)	39,0 (38,0 - 40,0)	38,0 (31,0 - 39,0)
Età gestazionale alla nascita in settimane, media ± DS (range)	30,1 ± 3,5 (22 – 36)	39 ± 1,2 (37 – 42)	35,4 ± 5 (22 - 42)

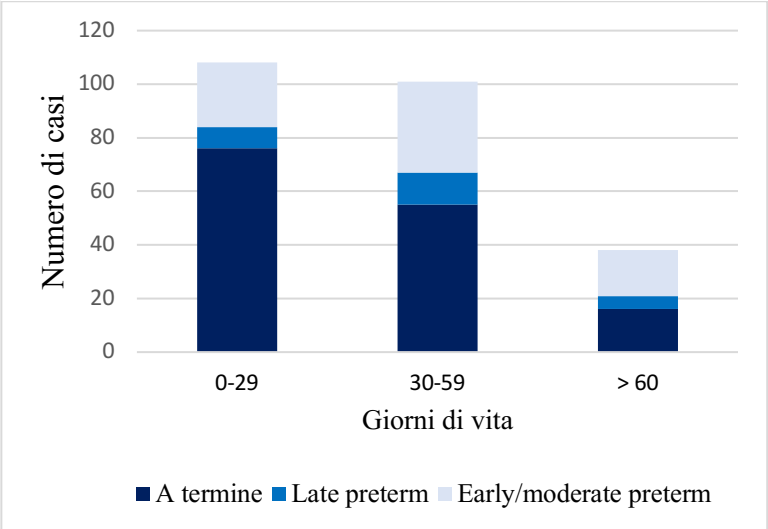
4.3.2 Caratteristiche cliniche

Dai dati emersi riguardo l'età alla diagnosi (vedi Tabella 6) si è osservato che nei nati a termine l'insorgenza dell'infezione è avvenuta più precocemente (mediana 8 giorni) rispetto ai nati prematuri ($p < .01$).

Tabella 6: Età alla diagnosi di LOD

Età alla diagnosi di LOD, *gg*	**Totale dei casi, n = 247**	**A termine, n = 147**	**Pretermine, n = 100**
Media ± DS	35,41 ± 20,78	32,50 ± 21,04	36,69 ± 19,71
Mediana (IQR)	34 (18 - 46)	28 (16 - 44,75)	36,5 (24,50 - 55,00)

Figura 4: Giorni di vita alla diagnosi di LOD



Su 247 episodi, 154 (62,3%) hanno presentato sepsi, 76 (30,8%) meningite e 17 (6,9%) infezione focale.

L'emocoltura è stata eseguita in tutti gli episodi, tranne in 3 bambini con meningite, ed è risultata positiva in 237 casi e negativa in 7 casi.
La rachicentesi è stata eseguita in 166 episodi e la coltura del liquido cefalorachidiano è risultata positiva in 64 episodi (38,8%). La biologia molecolare per GBS è stata eseguita in 39 episodi, di cui 22 (56,4%) con esito positivo (vedi tabella 7)

Tabella 7: Esiti di emocoltura, coltura del liquor e biologia molecolare

	Esame eseguito con esito positivo, n (%)	**Esame eseguito con esito negativo, n (%)**	**Esame non eseguito, n**
Emocoltura	237 (97,1)	7 (2,9)	3
Coltura del liquor	64 (38,8)	101 (61,2)	82
Biologia molecolare GBS	22 (56,4)	17 (43,6)	208

Dei 76 casi di meningite, 7 presentavano emocoltura negativa, 66 presentavano sia sepsi sia meningite e dei 3 casi restanti non è stata raccolta l'emocoltura.

In Tabella 8 troviamo i valori degli esami bioumorali svolti all'esordio dei sintomi, tra cui PCR, globuli bianchi, neutrofili e piastrine.

Tabella 8: Valori degli esami bioumorali

	N	Mancanti	Media ± DS	Mediana (IQR)
PCR all'esordio dei sintomi, *mg/dL*	245	2	4,71 ± 6,38	1,69 (0,5-7,2)
GB all'esordio dei sintomi, *GB/mm^3*	244	3	9824,73 ± 8906,45	8585 (4550-12947,5)
Neutrofili all'esordio dei sintomi, *PMN/mm^3*	230	17	5720,17 ± 4444,19	4815 (2181,5-8372,5)
PLT all'esordio dei sintomi, *PLT/mm^3*	237	10	379084,39 ± 229316,03	348000 (266000-456000)

Abbreviazioni: PCR, proteina C reattiva, GB, globuli bianchi, PLT, conta piastrinica.

Alla diagnosi dell'infezione, in 186 episodi (75,3%) il neonato era già stato dimesso, con una mediana dei giorni dalla dimissione di 14 giorni (IQR 0,5-34,75 giorni) e, in 61 episodi (24,7%) era ancora ricoverato. In 60 di questi 61 episodi (98,3%), il bambino era nato pretermine.

4.4 SEVERITÀ DI MALATTIA

Per quanto riguarda la severità di malattia, in 106 episodi (42,9%) l'infezione è stata classificata come malattia severa; nello specifico, in 60 (56,6%) episodi erano nati a termine e in 46 (43,3%) erano prematuri.

Figura 5: Severità della malattia divisa per casi a termine e pretermine

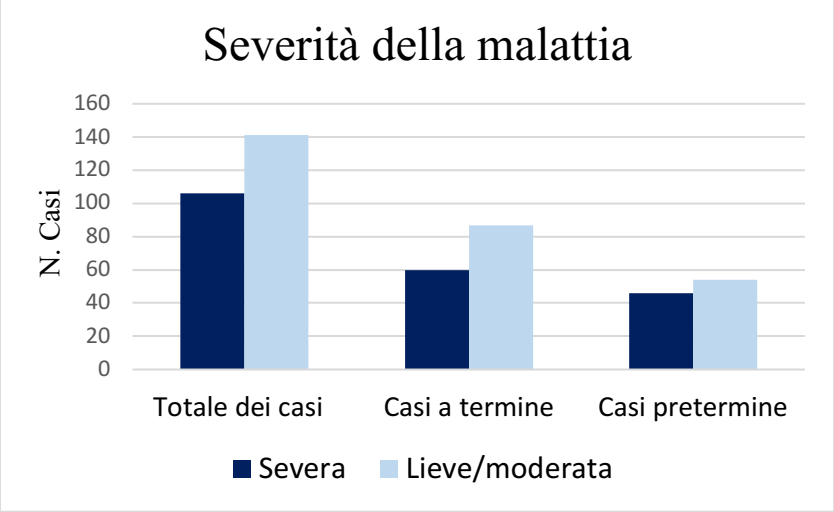
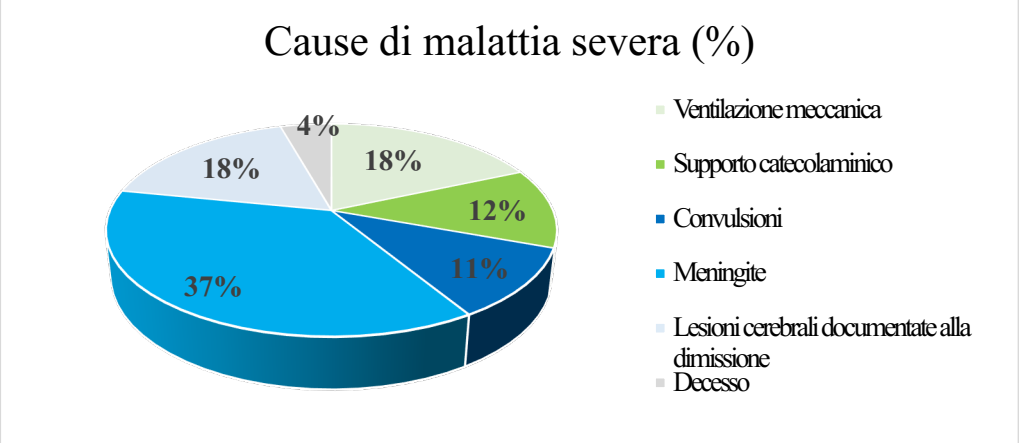


Figura 6: Cause di malattia severa



La Tabella 9 riporta dati nei nati a termine e pretermine riguardanti la ventilazione meccanica, l'uso di catecolamine, la presenza di convulsioni e di meningite, la presenza di lesioni cerebrali documentate alla dimissione e il decesso.

La ventilazione meccanica è stata eseguita in media per 5,98 ± 6,63 giorni.

Tabella 9: Ventilazione meccanica, supporto catecolaminico, presenza di convulsioni, meningite, lesioni cerebrali e decesso suddivisi per parto a termine e pretermine

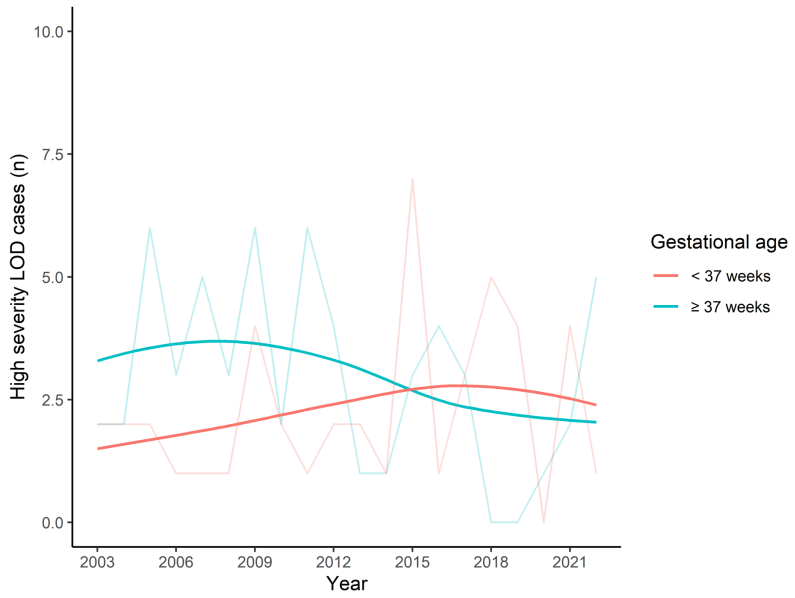
	Tutti (n=247)	**A termine (n=147)**	**Pretermine (n=100)**	**P value**
Ventilazione meccanica, *n (%)*	38 (15,4)	9 (6,1)	29 (29,0)	< 0,001
Supporto catecolaminico, *n (%)*	25 (10,1)	6 (4,1)	19 (19,0)	< 0,001
Convulsioni, *n (%)*	22 (8,9)	16 (10,9)	6 (6,0)	0,273
Meningite, *n (%)*‡	76 (45,8)	53 (53,5)	23 (34,3)	0,023
Lesioni cerebrali documentate alla dimissione, *n (%)*	36 (14,6)	24 (16,3)	12 (12,0)	0,446
Decesso, *n (%)*	9 (3,6)	3 (2,0)	6 (6,0)	0,164

‡ *% calcolate solo sui neonati che hanno eseguito rachicentesi (166, di cui 67 pretermine e 99 a termine)*

Negli episodi di LOD severa, l'insorgenza della malattia è risultata più significativamente precoce (mediana 30 giorni, IQR 15-40 giorni) rispetto a quelli con malattia lieve o moderata (mediana 35,5 giorni, IQR 20-47 giorni; p = 0.036).

La severità della LOD non è variata significativamente durante il periodo dello studio sia nella popolazione totale (p=0,812), che nei soli nati a termine (RR=0,962, 95% CI 0,917-1,015, p=0,182) o pretermine (RR 1,030, 95% CI 0,974-1,088, p=0,307).

Figura 5: Andamento nel tempo della severità di malattia



Non abbiamo trovato associazioni tra severità di malattia e somministrazione di IAP (Tabella 10) o tipo di parto (Tabella 11).

Tabella 10: Associazione tra IAP e malattia severa a seconda dell'epoca gestazionale

CASI	IAP	OR	95% CI		P value
Tutti	Nessuna	Ref.			
	Completa	1,017	1,936	0,534	0,959
	Incompleta	0,774	1,482	0,404	0,439
A termine	Nessuna	Ref.			
	Completa	0,682	2,022	0,230	0,490
	Incompleta	0,727	2,316	0,228	0,590
Pretermine	Nessuna	Ref			
	Completa	2,955	10,224	0,854	0,087
	Incompleta	Nc	-	-	-
Pretermine tardivo	Nessuna	Ref.			
	Completa	Nc	-	-	-
	Incompleta	0,682	8,503	0,055	0,766

Abbreviazioni: IAP, profilassi antibiotica intrapartum.

Tabella 11: Associazione tra tipo di parto e malattia severa a seconda dell'epoca gestazionale

CASI	PARTO	OR	95% CI		P value
Tutti	Naturale	Ref.			
	TC elettivo	0.580	1,103	0,305	0,097
	TC non elettivo	1,058	2,015	0,556	0,863
A termine	Naturale	Ref.			
	TC elettivo	0,375	1,105	0,127	0,075
	TC non elettivo	0,729	2,453	0,217	0,610
Pretermine	Naturale	Ref.			
	TC elettivo	0,521	1,482	0,183	0,222
	TC non elettivo	Nc	-	-	-
Pretermine tardivo	Naturale	Ref.			
	TC elettivo	0,938	16,369	0,054	0,965
	TC non elettivo	0,313	3,344	0,029	0,336

Abbreviazioni: TC, taglio cesareo

4.5 FATTORI ASSOCIATI AD OUTCOME SFAVOREVOLI

Nella popolazione osservata nello studio, in 202 episodi (81,8%) i piccoli sono stati dimessi senza evidenti lesioni cerebrali, in 36 episodi erano presenti lesioni documentate all'imaging (14,6%) e 9 sono deceduti (3,6%).

È stata analizzata l'associazione tra diverse caratteristiche materne e neonatali e il rischio di esiti avversi nei neonati con LOD, distinguendo tra esiti cerebrali e decesso.

4.5.1 Fattori materni

Nell'analisi delle caratteristiche materne non sono emerse associazioni significative.
Il tipo di parto, la febbre intrapartum, la rottura delle membrane ≥18 ore, il TVR (sia per quando eseguito come screening prenatale sia alla diagnosi di LOD neonatale), la IAP e la positività alla coltura materna non hanno influenzato significativamente lo sviluppo degli esiti.

4.5.2 Fattori neonatali

All'analisi di regressione logistica multinomiale univariata sono risultati associati al rischio di lesioni cerebrali i seguenti fattori neonatali (Tabella 12): meningite, convulsioni, peso alla nascita, giorni di vita all'esordio dei sintomi, PCR all'esordio dei sintomi, numero di ore trascorse tra l'insorgenza dei sintomi e il ricovero, somministrazione di catecolammine o catecolammine e colloidi, giorni totali di ricovero e durata complessiva della terapia antibiotica.

Tabella 12: Fattori associati a lesioni cerebrali all'analisi univariata

	RRR	95% CI	P value
Età gestazionale	1,03	0-96 - 1,12	0,385
Prematurità	0,73	0,34 - 1,53	0,401
Sesso maschile	0,71	0,35 - 1,46	0,358
Peso alla nascita	**1,00**	**1,00 - 1,00**	**< 0,001**
Parto gemellare	0,56	0,16 - 1,96	0,365
PCR all'esordio dei sintomi	**1,19**	**1,12 - 1,26**	**< 0,001**
GB totali all'esordio dei sintomi	1,00	1,00 - 1,00	0,143

Neutrofili totali all'esordio dei sintomi	1,00	1,00 - 1,00	0,148
PLT all'esordio dei sintomi	1,00	1,00 - 1,00	0,156
Giorni di vita all'esordio dei sintomi	**0,97**	**0,95 - 0,99**	**0,013**
Ore tra l'esordio dei sintomi e il ricovero	**1,04**	**1,02 - 1,07**	**0,001**
Convulsioni	**22,29**	**7,23 - 68,74**	**< 0,001**
RX patologico	1,35	0,46 - 3,95	0,587
Somministrazione di catecolammine	**11,12**	**1,77 - 69,92**	**0,010**
Somministrazione di colloidi/cristalloidi	2,47	0,82 - 7,41	0,106
Somministrazione di catecolammine e colloidi	**4,24**	**1,15 - 15,55**	**0,029**
Ventilazione meccanica convenzionale	2,08	0,81 - 5,39	0,129
Ventilazione meccanica non invasiva (CPAP)	1,64	0,51 - 5,30	0,409
Diagnosi di meningite (vs sepsi)	**14,11**	**5,77 - 34,50**	**< 0,001**
Diagnosi di infezione focale (vs sepsi)*	Nc	Nc	Nc
Giorni totali di ricovero	**1,02**	**1,01 - 1,03**	**0,001**
Giorni complessivi di terapia	**1,18**	**1,11 - 1,26**	**< 0,001**
Neonato ancora ricoverato al momento dell'esordio	0,62	0,25 - 1,59	0,323
Giorni trascorsi dalla dimissione all'esordio	0,99	0,97 - 1,01	0,165

**Non calcolabile perché nei 17 episodi di infezioni focale, nessuno ha sviluppato lesioni cerebrali*

Abbreviazioni: PCR, proteina C reattiva; GB, globuli bianchi; PLT, conta piastrinica; RX, radiografia; CPAP, Continuous Positive Airway Pressure

Sono invece risultati associati al rischio di decesso i seguenti fattori neonatali (Tabella 13): meningite, peso alla nascita, giorni di vita all'esordio dei sintomi, conta leucocitaria e dei neutrofili all'esordio dei sintomi, durata complessiva della terapia antibiotica, esordio dei sintomi in un bambino ancora ricoverato e giorni trascorsi dalla dimissione all'insorgenza dei sintomi.

Tabella 13: Fattori associati a decesso all'analisi univariata

	RRR	95% CI	P value
Età gestazionale	0,89	0,79 - 1,00	0,059
Prematurità	2,90	0,71 - 11,94	0,140
Sesso maschile	2,00	0,49 - 8,22	0,336
Peso alla nascita	**1,00**	**1,00 - 1,00**	**0,001**
Parto gemellare	0,77	0,09 - 6,41	0,811
PCR all'esordio dei sintomi	1,01	0,88 - 1,16	0,890
GB totali all'esordio dei sintomi	**1,00**	**1,00 - 1,00**	**< 0,001**

Neutrofili totali all'esordio dei sintomi	**1,00**	**1,00 - 1,00**	**< 0,001**
PLT all'esordio dei sintomi	1,00	1,00 - 1,00	0,137
Giorni di vita all'esordio dei sintomi	**0,93**	**0,87 - 0,98**	**0,014**
Ore tra l'esordio dei sintomi e il ricovero	0,94	0,83 - 1,05	0,280
Convulsioni all'esordio§	Nc	Nc	Nc
RX patologico	4,49	0,92 - 21,85	0,063
Somministrazione di amine ¥	Nc	Nc	Nc
Somministrazione di colloidi/cristalloidi ¥	Nc	Nc	Nc
Somministrazione di amine e colloidi ¥	Nc	Nc	Nc
Ventilazione meccanica invasiva‡	Nc	Nc	Nc
Ventilazione meccanica non invasiva (CPAP) ‡	Nc	Nc	Nc
Diagnosi di meningite (vs sepsi)	**4,26**	**1,09 - 16,57**	**0,037**
Diagnosi di infezione focale (vs sepsi) ¶	Nc	Nc	Nc
Giorni totali di ricovero	1,00	0,98 - 1,03	0,941
Giorni complessivi di terapia	**0,79**	**0,67 - 0,93**	**0,004**
Neonato ancora ricoverato all'esordio dei sintomi	**6,24**	**1,51 - 25,91**	**0,012**
Giorni trascorsi dalla dimissione all'esordio	**0,92**	**0,84 - 1,00**	**0,040**

§ *Non calcolabile perché nessuno dei 9 deceduti aveva manifestato convulsioni*
¥ *Non calcolabile perché in tutti i soggetti deceduti sono stati somministrati amine, colloidi o entrambi*
‡ *Non calcolabile perché tutti i 9 deceduti erano stati sottoposti a ventilazione meccanica invasiva*
¶ *Non calcolabile perché nei 17 episodi di infezioni focale, nessuno è deceduto*

Abbreviazioni: PCR, proteina C reattiva; GB, globuli bianchi; PLT, conta piastrinica; RX, radiografia; CPAP, Continuous Positive Airway Pressure

5. DISCUSSIONE

Il presente studio rappresenta un'analisi area-based sull'epidemiologia e le caratteristiche cliniche delle infezioni tardive da Streptococco di Gruppo B (GBS LOD) in Emilia-Romagna, condotta nell'arco di vent'anni (2003-2022). L'ampio campione (247 episodi, di cui 100 pretermine) raccolto ha permesso di delineare incidenza, trend temporali, fattori materni e neonatali, severità ed outcome sfavorevoli, contribuendo ad arricchire le conoscenze nazionali e internazionali su una patologia che, nonostante la profilassi antibiotica intrapartum (IAP), rimane tuttora un rilevante problema di salute neonatale.

L'incidenza complessiva di LOD è risultata pari a 0,34 per 1000 nati vivi, un valore in linea con quanto riportato da altri studi europei e statunitensi (range da 0,24 a 0,46 per 1000 nati vivi) (7,12,13,15,89,90).
Analogamente a quanto osservato in letteratura (12), non sono emerse variazioni dell'incidenza complessiva durante il periodo di osservazione, confermando come la LOD rimanga sostanzialmente non influenzata dalle strategie di prevenzione adottate per le infezioni precoci.
Per quanto riguarda l'incidenza nei nati pretermine, nella nostra popolazione è risultata più alta rispetto a quella dei nati a termine (1,92 vs 0,22 per 1000 nati). La letteratura concorda che i pretermine abbiano un'incidenza molto più alta, considerando la prematurità come uno dei principali fattori di rischio per la LOD (30,55,63): per esempio, lo studio di Berardi et al. del 2013 mostra che i prematuri sotto la 34^ settimana gestazionale hanno un rischio 16 volte maggiore di contrarre LOD (15); invece, dallo studio di sorveglianza statunitense di Nanduri et al., è emerso che l'incidenza annuale dei prematuri è 6 volte maggiore (12), simile a quanto riportato nel presente studio (circa 9 volte maggiore).

A differenza dello studio statunitense sopracitato, abbiamo riscontrato un aumento significativo dell'incidenza di LOD nei prematuri durante il periodo studiato (un incremento medio annuo del 7,1%). Tuttavia, ad oggi, non esiste ancora un'evidenza robusta e generalizzabile di un aumento continuo e uniforme nei prematuri negli anni a livello internazionale. Lo studio di Puopolo et al., analizzando solo l'incidenza nei

prematuri gravi, non ha dimostrato variazioni significative dell'incidenza nel periodo analizzato (1998-2016) (80).

Per quanto riguarda la nostra regione si potrebbe ipotizzare che, grazie ai continui progressi della neonatologia, la sopravvivenza dei grandi prematuri (EG < 28 settimane), particolarmente vulnerabile alle infezioni, sia significativamente cresciuta e che la prolungata ospedalizzazione in terapia intensiva esponga a un rischio maggiore di trasmissione nosocomiale. Alternativamente, o forse congiuntamente, a fattori clinici e gestionali, potrebbe esservi stata l'espansione di cloni invasivi ipervirulenti (CC17-A1, CC17-A2 e CC23-A1), forse a causa di una pressione selettiva conseguente all'utilizzo di antibiotici (20), che ha contribuito a modellare l'epidemiologia delle infezioni neonatali da GBS, come riportato in Olanda (91).

Un elemento rilevante emerso dal nostro lavoro è la maggiore frequenza di colonizzazione materna documentata al momento della diagnosi di LOD rispetto allo screening prenatale (57,6% vs 40,7%, p = 0,013). Lo stesso risultato è emerso nello studio di Berardi et al. del 2013 (30/47 casi vs 13/40 casi; p <.01) (15) e successivamente confermato nel loro studio del 2021 (58/65 vs 43/65; p <.01) (31). Considerando inoltre che in quasi la metà degli episodi (48,2%) le madri sono risultate positive per GBS almeno in uno dei due momenti, i nostri dati confermano quanto già riportato in letteratura: la colonizzazione materna rappresenta un importante fattore di rischio per la LOD (16,31) e il suo stato può essere variabile nel tempo (92), fluttuando dopo lo screening prenatale. In particolare, Hansen et al. avevano osservato che alcune donne, pur classificate come portatrici intermittenti, risultavano colonizzate dallo stesso clone in più occasioni, suggerendo che la colonizzazione possa essere continua ma non sempre rilevabile con i metodi di screening convenzionali (93). Questo aspetto riduce l'efficacia di una strategia basata su un singolo tampone prenatale nel rilevare tutte le situazioni di esposizione neonatale.
Inoltre, è importante osservare che in 103 casi (41,7%) la donna era stata sottoposta a IAP, completa o incompleta. Questo dato differisce da quanto riportato in un lavoro area-based in Emilia-Romagna (dati non pubblicati) sulle infezioni precoci (anni 2003-2022), in cui la proporzione di nati non esposti alla IAP era di 25.6%. Sebbene la profilassi intrapartum sia efficace nel ridurre la trasmissione perinatale, essa non permette di

eradicare GBS dal reservoir materno; che rimane una fonte persistente di possibile trasmissione postnatale (30,32,33).

Nel presente studio il latte materno è risultato positivo nel 21,3% dei casi testati (150). Solo 5 madri presentavano mastite al momento della diagnosi, perciò le madri con coltura del latte positivo erano più spesso asintomatiche. Quanto riportato è in linea con un precedente studio che indaga il ruolo delle varie fonti materne nella trasmissione di GBS (31). Il ruolo del latte materno come fonte di trasmissione rimane ancora oggi molto controverso e discusso. Sebbene sia dimostrato che il latte materno favorisca la colonizzazione neonatale ed esistano case reports che lo implicano come possibile causa di LOD, con o senza mastite (35,40,41), in due studi caso-controllo condotti non si è riscontrata un'associazione significativa tra allattamento al seno e un rischio aumentato di GBS LOD (42,43).

La presentazione clinica più comune è stata la sepsi (62,3%), seguita dalla meningite (30,8%) e dalle infezioni focali (6,9%). Questa distribuzione clinica è sovrapponibile a quella riportata da altri studi italiani (15,94) e internazionali (7,12,66,95); tuttavia, è importante sottolineare come uno studio francese ha riportato un incremento del 58,1% dei casi di meningite da GBS LOD nel periodo osservato (2001-2014). (96)

Nel presente studio 11 bambini (4,7%), di cui 10 pretermine, hanno sviluppato infezioni ricorrenti. Questo dato contribuisce a sottolineare la maggiore predisposizione dei nati prematuri a sviluppare una ricorrenza rispetto ai nati a termine, come è già riportato in letteratura (62,95,97). Secondo una revisione sistematica già menzionata nell'introduzione (82), i nati prematuri hanno un rischio maggiore di recidiva e questo sarebbe attribuibile a un'alterazione della flora intestinale, a un ridotto trasferimento anticorpale e ad alterazioni transitorie dell'immunità che caratterizza questa popolazione di bambini.

Altro dato emerso relativo alla popolazione neonatale del nostro lavoro è che nei nati a termine la LOD esordisce più precocemente rispetto ai nati prematuri (mediana 28 vs 38,5 giorni, $p < .01$), risultato che conferma quanto osservato precedentemente in altri studi (9,15,82,98). Ciò potrebbe essere attribuito a una maggiore esposizione agli antibiotici

nei primi giorni di vita dei prematuri, che ritarderebbe l'esordio della malattia (82), oppure a una differenza tra le modalità di acquisizione del GBS nei nati a termine rispetto a quelli pretermine (9).

Nel presente studio 116 episodi (42,9%) sono stati classificati come malattia severa.
Come era già stato dimostrato nello studio di Berardi et al. (15), l'insorgenza dell'infezione è più precoce nei casi di LOD severa rispetto ai casi di LOD lieve/moderata (mediana 30 vs 35,5 giorni, p = 0,036). Diversamente dallo studio appena citato, però, non siamo riusciti a evidenziare un'associazione significativa tra IAP e severità di malattia. Berardi et al. avevano dimostrato, infatti, che la somministrazione di IAP si associava a una forma di malattia meno severa, specificando come la ragione di tale associazione non fosse ancora chiara ma ipotizzando che l'esposizione alla IAP potesse modificare la via di trasmissione (da verticale a orizzontale). L'assenza dell'associazione tra IAP e severità della LOD nel presente studio potrebbe essere semplicemente legata all'analisi di una popolazione di dimensioni maggiori (247 vs 100 episodi), smentendo quanto trovato in precedenza.

Partendo dal presupposto che la colonizzazione materna a livello vagino-rettale rappresenti uno dei principali fattori di rischio per la colonizzazione neonatale e la successiva insorgenza di infezione invasiva (31,33,34,99), si è ipotizzato che, in caso di taglio cesareo elettivo, l'esposizione diretta del neonato al GBS della flora vagino-rettale materna possa essere ridotta o assente, a causa del mancato passaggio attraverso il canale del parto. Tale differenza potrebbe modificare la carica batterica iniziale del neonato o modificarne la tempistica dell'esposizione, con potenziali effetti sulla presentazione clinica della malattia. Alla luce di queste considerazioni, il nostro studio ha indagato se il tipo di parto potesse rappresentare un fattore associato alla severità della malattia. Tuttavia, dall'analisi condotta non è emersa un'associazione statisticamente significativa.

Infine, l'analisi dell'andamento temporale della severità della LOD condotta nel nostro studio non ha evidenziato variazioni significative durante il periodo osservato, né nella popolazione totale, né nei nati a termine o nei pretermine.

La mortalità complessiva è risultata relativamente bassa (3,8%), con un impatto maggiore nei pretermine (6,7% vs 2,1% nei nati a termine). Questo risultato è in linea con la letteratura secondo la quale i tassi di mortalità dei casi di LOD variano dal 4% all'8% circa (7,12,90) e secondo la quale la mortalità raddoppia nei nati prematuri (12).

Altro obiettivo del presente studio era la ricerca di possibili fattori materni e/o neonatali associati ad outcome sfavorevole (lesioni cerebrali documentati all'imaging e/o decesso).

L'associazione che si è mostrata più rilevante è quella con la meningite, a causa della quale il rischio di sviluppare lesioni cerebrali e di decesso è maggiore (di 14 e 4 volte rispettivamente) rispetto alla sola sepsi, confermandosi così una delle manifestazioni più gravi. L'osservazione è sovrapponibile a quanto riportato da altri autori (15,100,101); in particolare, in un recente studio italiano area-based limitato alle sepsi tardive (LOS), dovute a tutti i patogeni, è emersa la stessa forte associazione tra meningite e outcome sfavorevoli (9). Lo studio multicentrico europeo di DEVANI ha inoltre dimostrato che la meningite è l'unico fattore predittivo di esito avverso in caso di LOD (64).

Altri fattori risultati associati a lesioni cerebrali e/o decesso sono l'età in giorni all'esordio dei sintomi e i giorni complessivi di terapia antibiotica. In particolare, all'aumentare dei giorni di vita del bambino alla comparsa dei sintomi, il rischio di sviluppare lesioni cerebrali o di andare incontro a decesso durante il decorso della malattia si riduceva rispettivamente di circa il 3% e il 7% al giorno; questo potrebbe riflettere una maggiore fragilità del neonato nelle prime settimane di vita.
Anche l'aumento della durata complessiva di terapia è associato ad un rischio aumentato di lesioni cerebrali, verosimilmente come indicatore surrogato della maggiore gravità clinica del quadro infettivo. Al contrario, vi è un'associazione apparentemente protettiva tra rischio di decesso e maggiore durata della terapia. Tuttavia, tale relazione va interpretata con cautela: è plausibile che nei pazienti con esito fatale la durata del trattamento risulti necessariamente più breve.

All'analisi è emersa anche un'associazione statisticamente significativa tra il peso alla nascita e il rischio di outcome sfavorevole; tuttavia, il valore del RRR pari a 1,00 indica che l'effetto di ogni singolo grammo è molto limitato. Questo è atteso, poiché variazioni

così piccole non sono clinicamente significative: per osservare differenze rilevanti sul rischio, è necessario considerare variazioni di peso più ampie.

I fattori che invece sono risultati associati esclusivamente alle lesioni cerebrali sono convulsioni, valori elevati di PCR all'esordio dei sintomi, somministrazione di catecolammine, aumento dei giorni di ricovero e aumento delle ore trascorse tra l'insorgenza dei sintomi e il ricovero.
In particolare, la presenza di convulsioni potrebbe suggerire un coinvolgimento neurologico, mentre valori elevati di PCR e, soprattutto, la necessità di catecolammine potrebbero denotare un quadro di particolare gravità già all'esordio. Inoltre, all'aumentare dei giorni di ricovero il rischio di sviluppare lesioni aumenta circa del 2% per ogni giorno aggiuntivo di degenza. Tale associazione verosimilmente riflette una maggiore gravità e complessità del quadro clinico, che richiede un'assistenza ospedaliera più prolungata.
Un elemento rilevante emerso dal nostro studio è però l'associazione con il tempo trascorso dall'esordio dei sintomi al ricovero nei bambini già dimessi: all'aumentare delle ore, il rischio di lesione cerebrale aumenta del 4% per ogni ora trascorsa. Questo dato sottolinea l'importanza cruciale del riconoscimento precoce dei sintomi da parte dei genitori e degli operatori sanitari, per favorire un intervento tempestivo.

Infine, i fattori che sono risultati associati esclusivamente al decesso sono l'esordio dei sintomi in un bambino ancora ricoverato e il numero di giorni trascorsi dalla dimissione all'insorgenza dell'infezione.
Specificamente il fatto che il bambino fosse già ricoverato al momento dell'esordio dei sintomi è risultato associato ad un rischio di decesso maggiore (di circa 6 volte). Tale associazione potrebbe riflettere una maggiore vulnerabilità clinica dei bambini già ospedalizzati, verosimilmente prematuri (difatti nel nostro studio il 98,3% dei neonati già ricoverati all'esordio dei sintomi erano nati pretermine) o affetti da altre comorbidità, che li espone ad un rischio più elevato di decorso sfavorevole in caso di infezione invasiva da GBS. Inoltre, non si può escludere il ruolo di fattori legati all'ambiente ospedaliero stesso, come la possibilità di infezioni nosocomiali o ceppi più virulenti. Secondo lo studio italiano sopracitato, infatti, le LOS (da tutti i patogeni) acquisite in ospedale possono essere più gravi di quelle acquisite in comunità con tassi di decesso più elevati (9).

Nei neonati già dimessi, invece, il rischio di decesso si è ridotto all'aumentare dei giorni dalla dimissione. Una possibile interpretazione di questo risultato è che i neonati che sviluppano l'infezione nei primi giorni dopo la dimissione siano più vulnerabili, in quanto più piccoli di età e con un sistema immunitario che matura con il passare dei giorni.

Sia il numero totale di globuli bianchi che il numero di neutrofili all'esordio dei sintomi sono risultati significativamente associati al decesso; tuttavia, l'effetto per singola unità (RRR=1,00) è trascurabile, poiché l'unità di misura è molto piccola. Risultati clinicamente rilevanti si evidenziano solo considerando variazioni più ampie.

Questo studio presenta alcune importanti limitazioni. Innanzitutto, sebbene il presente studio sia stato condotto con un disegno prospettico, la revisione delle cartelle cliniche e la compilazione di schede standardizzate per la raccolta dei dati potrebbe non aver consentito di recuperare informazioni complete per tutti i casi di GBS LOD. Inoltre, per alcune variabili relative allo stato di colonizzazione materna (per esempio, esecuzione e/o esito del tampone vagino-rettale o stato della coltura del latte materno) le informazioni non erano disponibili in tutti i casi, riducendo la possibilità di effettuare analisi più approfondite. Abbiamo però condotto una subanalisi sulle donne che erano state sottoposte a tampone vagino-rettale sia durante lo screening prenatale sia al momento della diagnosi di LOD del piccolo, confermando che la maggior parte di loro (65,3%) è risultata portatrice in almeno un'occasione. Non è stato possibile valutare gli esiti a lungo termine, poiché l'analisi si è limitata alle condizioni cliniche alla dimissione. Ciò rappresenta un limite importante, dal momento che lo studio di Horvath-Puhò et al. ha dimostrato come il rischio di deficit neuroevolutivi nei sopravvissuti a infezione invasiva da GBS non solo persista, ma tenda ad aumentare con l'età, interessando non soltanto i casi di meningite ma anche quelli di sepsi, che, essendo più frequenti, contribuiscono in misura sostanziale al carico complessivo di disabilità (74). Infine, l'assenza di dati microbiologici dettagliati, come la tipizzazione molecolare dei ceppi, non ha permesso di approfondire il ruolo di specifiche linee clonali della dinamica epidemiologica.

6. CONCLUSIONE

Il presente studio, frutto di vent'anni di sorveglianza regionale, ha permesso di delineare in maniera dettagliata l'epidemiologia e le caratteristiche cliniche delle infezioni tardive da Streptococco di gruppo B in Emilia-Romagna. I risultati hanno confermato l'incidenza stabile della LOD nella popolazione neonatale generale, con un rischio significativamente più elevato nei nati pretermine e con una tendenza all'aumento nei prematuri durante il periodo analizzato. Inoltre, lo studio ha evidenziato la rilevanza della colonizzazione materna come fattore di rischio, nonché la potenziale severità di malattia e degli esiti, soprattutto in presenza di meningite.

Questi dati sottolineano la persistenza della LOD come problema clinico rilevante, nonostante le strategie di prevenzione efficaci nei confronti delle infezioni a esordio precoce. Ne deriva quindi la necessità di sviluppare strategie preventive innovative, in particolare la vaccinazione materna, e l'urgenza di implementare nuove misure di prevenzione, diagnosi precoce e gestione clinica, al fine di ridurre la morbidità e mortalità associata a questa infezione.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Schuchat A. Group B streptococcus. The Lancet. gennaio 1999;353(9146):51–6.

2. Committee on Infectious Diseases, American Academy of Pediatrics. Red Book: 2024–2027 Report of the Committee on Infectious Diseases [Internet]. 33ª ed. Kimberlin DW, Banerjee R, Barnett ED, Lynfield R, Sawyer MH, curatori. American Academy of Pediatrics345 Park Blvd, Itasca, IL 60143; 2024 [citato 7 agosto 2025]. Disponibile su: https://publications.aap.org/redbook/book/755/Red-Book-2024-2027-Report-of-the-Committee-on

3. Edwards JM, Watson N, Focht C, Wynn C, Todd CA, Walter EB, et al. Group B Streptococcus (GBS) Colonization and Disease among Pregnant Women: A Historical Cohort Study. Infect Dis Obstet Gynecol. 3 febbraio 2019;2019:1–6.

4. Fry R. FATAL INFECTIONS BY HqMOLYTIC STREPTOCOCCUS GROUP B. The Lancet. gennaio 1938;231(5969):199–201.

5. Hall J, Adams NH, Bartlett L, Seale AC, Lamagni T, Bianchi-Jassir F, et al. Maternal Disease With Group B Streptococcus and Serotype Distribution Worldwide: Systematic Review and Meta-analyses. Clin Infect Dis. 6 novembre 2017;65(suppl_2):S112–24.

6. McCracken GH. Group B streptococci: The new challenge in neonatal infections. J Pediatr. aprile 1973;82(4):703–6.

7. Madrid L, Seale AC, Kohli-Lynch M, Edmond KM, Lawn JE, Heath PT, et al. Infant Group B Streptococcal Disease Incidence and Serotypes Worldwide: Systematic Review and Meta-analyses. Clin Infect Dis. 6 novembre 2017;65(suppl_2):S160–72.

8. Puopolo KM, Lynfield R, Cummings JJ, COMMITTEE ON FETUS AND NEWBORN, COMMITTEE ON INFECTIOUS DISEASES, Hand I, et al. Management of Infants at Risk for Group B Streptococcal Disease. Pediatrics. 1 agosto 2019;144(2):e20191881.

9. Berardi A, Sforza F, Baroni L, Spada C, Ambretti S, Biasucci G, et al. Epidemiology and complications of late-onset sepsis: an Italian area-based study. Simeoni U, curatore. PLOS ONE. 22 novembre 2019;14(11):e0225407.

10. Colbourn T, Gilbert R. An overview of the natural history of early onset group B streptococcal disease in the UK. Early Hum Dev. marzo 2007;83(3):149–56.

11. Verani JR, McGee L, Schrag SJ, Division of Bacterial Diseases, National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention of perinatal group B streptococcal disease--revised guidelines from CDC, 2010. MMWR Recomm Rep Morb Mortal Wkly Rep Recomm Rep. 19 novembre 2010;59(RR-10):1–36.

12. Nanduri SA, Petit S, Smelser C, Apostol M, Alden NB, Harrison LH, et al. Epidemiology of Invasive Early-Onset and Late-Onset Group B Streptococcal

Disease in the United States, 2006 to 2015. JAMA Pediatr. marzo 2019;173(3):224–33.

13. Edmond KM, Kortsalioudaki C, Scott S, Schrag SJ, Zaidi AK, Cousens S, et al. Group B streptococcal disease in infants aged younger than 3 months: systematic review and meta-analysis. The Lancet. febbraio 2012;379(9815):547–56.

14. Seale AC, Bianchi-Jassir F, Russell NJ, Kohli-Lynch M, Tann CJ, Hall J, et al. Estimates of the Burden of Group B Streptococcal Disease Worldwide for Pregnant Women, Stillbirths, and Children. Clin Infect Dis. 6 novembre 2017;65(suppl_2):S200–19.

15. Berardi A, Rossi C, Lugli L, Creti R, Bacchi Reggiani ML, Lanari M, et al. Group B Streptococcus Late-Onset Disease: 2003–2010. Pediatrics. 1 febbraio 2013;131(2):e361–8.

16. Berardi A, Trevisani V, Di Caprio A, Bua J, China M, Perrone B, et al. Understanding Factors in Group B Streptococcus Late-Onset Disease. Infect Drug Resist. agosto 2021;Volume 14:3207–18.

17. Coggins SA, Puopolo KM. Neonatal Group B *Streptococcus* Disease. Pediatr Rev. 1 febbraio 2024;45(2):63–73.

18. Centers for Disease Control and Prevention. 2020. Active Bacterial Core Surveillance Report, Emerging Infections Program Network, Group B Streptococcus, 2020. www.cdc.gov/abcs/downloads/GBS_Surveillance_Report_2020.pdf.

19. Doran KS, Nizet V. Molecular pathogenesis of neonatal group B streptococcal infection: no longer in its infancy. Mol Microbiol. ottobre 2004;54(1):23–31.

20. Da Cunha V, Davies MR, Douarre PE, Rosinski-Chupin I, Margarit I, Spinali S, et al. Streptococcus agalactiae clones infecting humans were selected and fixed through the extensive use of tetracycline. Nat Commun. 4 agosto 2014;5(1):4544.

21. Manuel G, Twentyman J, Noble K, Eastman AJ, Aronoff DM, Seepersaud R, et al. Group B streptococcal infections in pregnancy and early life. Forrest GN, curatore. Clin Microbiol Rev. 13 marzo 2025;38(1):e00154-22.

22. Tazi A, Disson O, Bellais S, Bouaboud A, Dmytruk N, Dramsi S, et al. The surface protein HvgA mediates group B streptococcus hypervirulence and meningeal tropism in neonates. J Exp Med. 18 ottobre 2010;207(11):2313–22.

23. Baker CJ, Barrett FF. Transmission of group B streptococci among parturient women and their neonates. J Pediatr. dicembre 1973;83(6):919–25.

24. Dillon HC, Khare S, Gray BM. Group B streptococcal carriage and disease: A 6-year prospective study. J Pediatr. gennaio 1987;110(1):31–6.

25. Weindling AM, Hawkins JM, Coombes MA, Stringer J. Colonisation of babies and their families by group B streptococci. Br Med J Clin Res Ed. 5 dicembre 1981;283(6305):1503–5.

26. Kolter J, Henneke P. Codevelopment of Microbiota and Innate Immunity and the Risk for Group B Streptococcal Disease. Front Immunol. 10 novembre 2017;8:1497.

27. Riccipetitoni L, Miselli F, Buttera M, Bondi C, Mazzotti S, Baraldi N, et al. Le infezioni neonatali tardive da streptococco di gruppo B: cosa dobbiamo sapere? Medico E Bambino. 11 ottobre 2024;43(8):505–14.

28. Kolter J, Henneke P. Codevelopment of Microbiota and Innate Immunity and the Risk for Group B Streptococcal Disease. Front Immunol. 2017;8:1497.

29. Lin FC, Weisman LE, Troendle J, Adams K. Prematurity Is the Major Risk Factor for Late-Onset Group B Streptococcus Disease. J Infect Dis. 15 luglio 2003;188(2):267–71.

30. Pintye J, Saltzman B, Wolf E, Crowell CS. Risk Factors for Late-Onset Group B Streptococcal Disease Before and After Implementation of Universal Screening and Intrapartum Antibiotic Prophylaxis. J Pediatr Infect Dis Soc. dicembre 2016;5(4):431–8.

31. Berardi A, Spada C, Creti R, Auriti C, Gambini L, Rizzo V, et al. Maternal Carriage in Late-Onset Group B *Streptococcus* Disease, Italy. Emerg Infect Dis. 2021;27(9):2279–87.

32. Berardi A, Rossi C, Creti R, China M, Gherardi G, Venturelli C, et al. Group B Streptococcal Colonization in 160 Mother-Baby Pairs: A Prospective Cohort Study. J Pediatr. ottobre 2013;163(4):1099-1104.e1.

33. Tazi A, Plainvert C, Anselem O, Ballon M, Marcou V, Seco A, et al. Risk Factors for Infant Colonization by Hypervirulent CC17 Group B Streptococcus: Toward the Understanding of Late-onset Disease. Clin Infect Dis. 30 ottobre 2019;69(10):1740–8.

34. Miselli F, Frabboni I, Di Martino M, Zinani I, Buttera M, Insalaco A, et al. Transmission of Group B Streptococcus in late-onset neonatal disease: a narrative review of current evidence. Ther Adv Infect Dis. gennaio 2022;9:20499361221142732.

35. Kenny JF, Zedd AJ. Recurrent group B streptococcaldisease in an infant associated with the ingestion of infected mother's milk. J Pediatr. luglio 1977;91(1):158–9.

36. Bingen E, Denamur E, Lambert-Zechovsky N, Aujard Y, Brahimi N, Geslin P, et al. Analysis of DNA Restriction Fragment Length Polymorphism Extends the Evidence for Breast Milk Transmission in Streptococcus agalactiae Late-Onset Neonatal Infection. J Infect Dis. 1 marzo 1992;165(3):569–73.

37. Olver WJ. Neonatal group B streptococcal disease associated with infected breast milk. Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed. 1 luglio 2000;83(1):48F – 49.

38. Kotiw M, Zhang GW, Daggard G, Reiss-Levy E, Tapsall JW, Numa A. Late-onset and Recurrent Neonatal Group B Streptococcal Disease Associated with Breast-milk Transmission. Pediatr Dev Pathol. maggio 2003;6(3):251–6.

39. Godambe S, Shah PS, Shah V. BREAST MILK AS A SOURCE OF LATE ONSET NEONATAL SEPSIS. Pediatr Infect Dis J. aprile 2005;24(4):381–2.

40. Filleron A, Lombard F, Jacquot A, Jumas-Bilak E, Rodière M, Cambonie G, et al. Group B *streptococci* in milk and late neonatal infections: an analysis of cases in the literature. Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed. gennaio 2014;99(1):F41–7.

41. Zimmermann P, Gwee A, Curtis N. The controversial role of breast milk in GBS late-onset disease. J Infect. giugno 2017;74:S34–40.

42. Ching NS, Buttery JP, Lai E, Steer AC, Standish J, Ziffer J, et al. Breastfeeding and Risk of Late-Onset Group B Streptococcal Disease. Pediatrics. settembre 2021;148(3):e2020049561.

43. Pintye J, Saltzman B, Wolf E, Crowell CS. Risk Factors for Late-Onset Group B Streptococcal Disease Before and After Implementation of Universal Screening and Intrapartum Antibiotic Prophylaxis. J Pediatr Infect Dis Soc. dicembre 2016;5(4):431–8.

44. Burianová I, Paulová M, Cermák P, Janota J. Group B streptococcus colonization of breast milk of group B streptococcus positive mothers. J Hum Lact Off J Int Lact Consult Assoc. novembre 2013;29(4):586–90.

45. Kubín V, Mrastíková H, Paulová M, Motlová J, Franěk J. Group B streptococci in the milk of lactating mothers. Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [A]. giugno 1987;265(1–2):210–7.

46. Ackerman DL, Doster RS, Weitkamp JH, Aronoff DM, Gaddy JA, Townsend SD. Human Milk Oligosaccharides Exhibit Antimicrobial and Antibiofilm Properties against Group B *Streptococcus*. ACS Infect Dis. 11 agosto 2017;3(8):595–605.

47. Ackerman DL, Craft KM, Doster RS, Weitkamp JH, Aronoff DM, Gaddy JA, et al. Antimicrobial and Antibiofilm Activity of Human Milk Oligosaccharides against Streptococcus agalactiae, Staphylococcus aureus, and Acinetobacter baumannii. ACS Infect Dis. 9 marzo 2018;4(3):315–24.

48. Dangor Z, Khan M, Kwatra G, Izu A, Nakwa F, Ramdin T, et al. The Association Between Breast Milk Group B Streptococcal Capsular Antibody Levels and Late-onset Disease in Young Infants. Clin Infect Dis. 3 marzo 2020;70(6):1110–4.

49. Steere AC, Aber RC, Warford LR, Murphy KE, Feeley JC, Hayes PS, et al. Possible nosocomial transmission of group B streptococci in a newborn nursery. J Pediatr. novembre 1975;87(5):784–7.

50. Easmon CS, Hastings MJ, Clare AJ, Bloxham B, Marwood R, Rivers RP, et al. Nosocomial transmission of group B streptococci. BMJ. 15 agosto 1981;283(6289):459–61.

51. Al-Maani A, Streitenberger LS, Clarke M, Yau YCW, Kovach D, Wray R, et al. Nosocomial Transmission of Group B Streptococci Proven by Positive Environmental Culture. Oman Med J. 15 settembre 2014;29(5):376–9.

52. MacFarquhar JK, Jones TF, Woron AM, Kainer MA, Whitney CG, Beall B, et al. Outbreak of late-onset group B Streptococcus in a neonatal intensive care unit. Am J Infect Control. maggio 2010;38(4):283–8.

53. Jauneikaite E, Kapatai G, Davies F, Gozar I, Coelho J, Bamford KB, et al. Serial Clustering of Late-Onset Group B Streptococcal Infections in the Neonatal Unit: A Genomic Re-evaluation of Causality. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 31 agosto 2018;67(6):854–60.

54. Collin SM, Lamb P, Jauneikaite E, Le Doare K, Creti R, Berardi A, et al. Hospital clusters of invasive Group B Streptococcal disease: A systematic review. J Infect. dicembre 2019;79(6):521–7.

55. Lin FC, Weisman LE, Troendle J, Adams K. Prematurity Is the Major Risk Factor for Late-Onset Group B Streptococcus Disease. J Infect Dis. 15 luglio 2003;188(2):267–71.

56. Lin FC, Philips III JB, Azimi PH, Weisman LE, Clark P, Rhoads GG, et al. Level of Maternal Antibody Required to Protect Neonates against Early-Onset Disease Caused by Group B Streptococcus Type Ia: A Multicenter, Seroepidemiology Study. J Infect Dis. 15 ottobre 2001;184(8):1022–8.

57. Ficara M, Pietrella E, Spada C, Della Casa Muttini E, Lucaccioni L, Iughetti L, et al. Changes of intestinal microbiota in early life. J Matern Fetal Neonatal Med. 18 marzo 2020;33(6):1036–43.

58. Schuchat A, Oxtoby M, Cochi S, Sikes RK, Hightower A, Plikaytis B, et al. Population-Based Risk Factors for Neonatal Group B Streptococcal Disease: Results of a Cohort Study in Metropolitan Atlanta. J Infect Dis. settembre 1990;162(3):672–7.

59. Phares CR. Epidemiology of Invasive Group B Streptococcal Disease in the United States, 1999-2005. JAMA. 7 maggio 2008;299(17):2056.

60. Dangor Z, Lala SG, Cutland CL, Koen A, Jose L, Nakwa F, et al. Burden of Invasive Group B Streptococcus Disease and Early Neurological Sequelae in South African Infants. Melo-Cristino J, curatore. PLOS ONE. 7 aprile 2015;10(4):e0123014.

61. Cutland CL, Schrag SJ, Thigpen MC, Velaphi SC, Wadula J, Adrian PV, et al. Increased Risk for Group B *Streptococcus* Sepsis in Young Infants Exposed to HIV, Soweto, South Africa, 2004–20081. Emerg Infect Dis. aprile 2015;21(4):638–45.

62. Freudenhammer M, Karampatsas K, Le Doare K, Lander F, Armann J, Acero Moreno D, et al. Invasive Group B Streptococcus Disease With Recurrence and in Multiples: Towards a Better Understanding of GBS Late-Onset Sepsis. Front Immunol. 2021;12:617925.

63. Karampatsas K, Davies H, Mynarek M, Andrews N, Heath PT, Le Doare K. Clinical Risk Factors Associated With Late-Onset Invasive Group B Streptococcal Disease: Systematic Review and Meta-Analyses. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 11 marzo 2022;75(7):1255–64.

64. Lohrmann F, Hufnagel M, Kunze M, Afshar B, Creti R, Detcheva A, et al. Neonatal invasive disease caused by Streptococcus agalactiae in Europe: the DEVANI multi-center study. Infection. agosto 2023;51(4):981–91.

65. Li W, Xia X, Zhang L, Peng X, Jiang L, Hu Y. Clinical features and prognostic factors of group B Streptococcus Meningitis in infants. Brain Dev. ottobre 2025;47(5):104398.

66. Baker CJ. Group B Streptococcal Infections. Clin Perinatol. marzo 1997;24(1):59–70.

67. Libster R, Edwards KM, Levent F, Edwards MS, Rench MA, Castagnini LA, et al. Long-term Outcomes of Group B Streptococcal Meningitis. Pediatrics. 1 luglio 2012;130(1):e8–15.

68. Li J, Li X, Luo S, Zhou H. Global, regional, and national burden of meningitis among children, 1990–2021: An analysis of the global burden of disease study 2021. Faramarzi A, curatore. PLOS One. 24 giugno 2025;20(6):e0326992.

69. Puopolo KM, Benitz WE, Zaoutis TE, COMMITTEE ON FETUS AND NEWBORN, COMMITTEE ON INFECTIOUS DISEASES, Cummings J, et al. Management of Neonates Born at ≥35 0/7 Weeks' Gestation With Suspected or Proven Early-Onset Bacterial Sepsis. Pediatrics. 1 dicembre 2018;142(6):e20182894.

70. Coggins SA, Glaser K. Updates in Late-Onset Sepsis: Risk Assessment, Therapy and Outcomes. NeoReviews. 1 novembre 2022;23(11):738–55.

71. Schelonka RL, Chai MK, Yoder BA, Hensley D, Brockett RM, Ascher DP. Volume of blood required to detect common neonatal pathogens. J Pediatr. agosto 1996;129(2):275–8.

72. Aleem S, Greenberg RG. When to Include a Lumbar Puncture in the Evaluation for Neonatal Sepsis. NeoReviews. marzo 2019;20(3):e124–34.

73. Bedetti L, Miselli F, Minotti C, Latorre G, Loprieno S, Foglianese A, et al. Lumbar Puncture and Meningitis in Infants with Proven Early- or Late-Onset Sepsis: An Italian Prospective Multicenter Observational Study. Microorganisms. 10 giugno 2023;11(6):1546.

74. Horváth-Puhó E, Van Kassel MN, Gonçalves BP, De Gier B, Procter SR, Paul P, et al. Mortality, neurodevelopmental impairments, and economic outcomes after

invasive group B streptococcal disease in early infancy in Denmark and the Netherlands: a national matched cohort study. Lancet Child Adolesc Health. giugno 2021;5(6):398–407.

75. Edwards MS, Rench MA, Haffar AAM, Murphy MA, Desmond MM, Baker CJ. Long-term sequelae of group B streptococcal meningitis in infants. J Pediatr. maggio 1985;106(5):717–22.

76. Stevens JP, Eames M, Kent A, Halket S, Holt D, Harvey D. Long term outcome of neonatal meningitis. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. maggio 2003;88(3):F179-184.

77. Kohli-Lynch M, Russell NJ, Seale AC, Dangor Z, Tann CJ, Baker CJ, et al. Neurodevelopmental Impairment in Children After Group B Streptococcal Disease Worldwide: Systematic Review and Meta-analyses. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 15 novembre 2017;65(Suppl 2):S190–9.

78. Joseph RM, O'Shea TM, Allred EN, Heeren T, Hirtz D, Jara H, et al. Neurocognitive and Academic Outcomes at Age 10 Years of Extremely Preterm Newborns. Pediatrics. 1 aprile 2016;137(4):e20154343.

79. Marlow N, Wolke D, Bracewell MA, Samara M, EPICure Study Group. Neurologic and developmental disability at six years of age after extremely preterm birth. N Engl J Med. 6 gennaio 2005;352(1):9–19.

80. Puopolo KM, Mukhopadhyay S, Hansen NI, Flannery DD, Greenberg RG, Sanchez PJ, et al. Group B Streptococcus Infection in Extremely Preterm Neonates and Neurodevelopmental Outcomes at 2 Years. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 22 marzo 2022;75(8):1405–15.

81. Moylett EH, Fernandez M, Rench MA, Hickman ME, Baker CJ. A 5-year review of recurrent group B streptococcal disease: lessons from twin infants. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. febbraio 2000;30(2):282–7.

82. Miselli F, Boncompagni A, Cuoghi Costantini R, Zini T, Bedetti L, Buttera M, et al. Recurrence of group B streptococcal infections in infants: a systematic review. Expert Rev Anti Infect Ther. 4 maggio 2025;23(5):305–14.

83. Fernandez M, Rench MA, Albanyan EA, Edwards MS, Baker CJ. Failure of rifampin to eradicate group B streptococcal colonization in infants: Pediatr Infect Dis J. aprile 2001;20(4):371–6.

84. Coon ER, Srivastava R, Stoddard G, Wilkes J, Pavia AT, Shah SS. Shortened IV Antibiotic Course for Uncomplicated, Late-Onset Group B Streptococcal Bacteremia. Pediatrics. 1 novembre 2018;142(5):e20180345.

85. Miselli F, Creti R, Lugli L, Berardi A. Group B Streptococcus Late-onset Neonatal Disease: An Update in Management and Prevention. Pediatr Infect Dis J. giugno 2022;41(6):e263–6.

86. Absalon J, Segall N, Block SL, Center KJ, Scully IL, Giardina PC, et al. Safety and immunogenicity of a novel hexavalent group B streptococcus conjugate vaccine in healthy, non-pregnant adults: a phase 1/2, randomised, placebo-controlled, observer-blinded, dose-escalation trial. Lancet Infect Dis. febbraio 2021;21(2):263–74.

87. Rao SC, Athalye-Jape GK, Deshpande GC, Simmer KN, Patole SK. Probiotic Supplementation and Late-Onset Sepsis in Preterm Infants: A Meta-analysis. Pediatrics. marzo 2016;137(3):e20153684.

88. Zhang GQ, Hu HJ, Liu CY, Shakya S, Li ZY. Probiotics for Preventing Late-Onset Sepsis in Preterm Neonates: A PRISMA-Compliant Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. Medicine (Baltimore). febbraio 2016;95(8):e2581.

89. O'Sullivan CP, Lamagni T, Patel D, Efstratiou A, Cunney R, Meehan M, et al. Group B streptococcal disease in UK and Irish infants younger than 90 days, 2014–15: a prospective surveillance study. Lancet Infect Dis. gennaio 2019;19(1):83–90.

90. Ji W, Liu H, Madhi SA, Cunnington M, Zhang Z, Dangor Z, et al. Clinical and Molecular Epidemiology of Invasive Group B Streptococcus Disease among Infants, China. Emerg Infect Dis. novembre 2019;25(11):2021–30.

91. Jamrozy D, Bijlsma MW, De Goffau MC, Van De Beek D, Kuijpers TW, Parkhill J, et al. Increasing incidence of group B streptococcus neonatal infections in the Netherlands is associated with clonal expansion of CC17 and CC23. Sci Rep. 12 giugno 2020;10(1):9539.

92. Hansen SM, Uldbjerg N, Kilian M, Sørensen UBS. Dynamics of Streptococcus agalactiae colonization in women during and after pregnancy and in their infants. J Clin Microbiol. gennaio 2004;42(1):83–9.

93. Hansen SM, Uldbjerg N, Kilian M, Sørensen UBS. Dynamics of *Streptococcus agalactiae* Colonization in Women during and after Pregnancy and in Their Infants. J Clin Microbiol. gennaio 2004;42(1):83–9.

94. Creti R, Imperi M, Berardi A, Lindh E, Alfarone G, Pataracchia M, et al. Invasive Group B Streptococcal Disease in Neonates and Infants, Italy, Years 2015–2019. Microorganisms. dicembre 2021;9(12):2579.

95. Shibata M, Matsubara K, Matsunami K, Miyairi I, Kasai M, Kai M, et al. Epidemiology of group B streptococcal disease in infants younger than 1 year in Japan: a nationwide surveillance study 2016–2020. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. aprile 2022;41(4):559–71.

96. Romain AS, Cohen R, Plainvert C, Joubrel C, Béchet S, Perret A, et al. Clinical and Laboratory Features of Group B Streptococcus Meningitis in Infants and Newborns: Study of 848 Cases in France, 2001–2014. Clin Infect Dis. 5 marzo 2018;66(6):857–64.

97. Sbaa G, Delettre N, Guyonnet C, Le Huu Nghia S, Joubrel-Guyot C, Plainvert C, et al. Recurrent Group B Streptococcus Neonatal Invasive Infections, France, 2007-2021. J Infect Dis. 20 febbraio 2025;231(2):329–33.

98. Edwards MS, Rench MA, Baker CJ. Relevance of Age at Diagnosis to Prevention of Late-Onset Group B Streptococcal Disease by Maternal Immunization. Pediatr Infect Dis J. maggio 2015;34(5):538.

99. Karampatsas K, Davies H, Mynarek M, Andrews N, Heath PT, Le Doare K. Clinical Risk Factors Associated With Late-Onset Invasive Group B Streptococcal Disease: Systematic Review and Meta-Analyses. Clin Infect Dis. 30 settembre 2022;75(7):1255–64.

100. Bartlett AW, Smith B, George CRR, McMullan B, Kesson A, Lahra MM, et al. Epidemiology of Late and Very Late Onset Group B Streptococcal Disease: Fifteen-Year Experience From Two Australian Tertiary Pediatric Facilities. Pediatr Infect Dis J. gennaio 2017;36(1):20–4.

101. Ecclesia FG, Alonso Cadenas JA, Gómez B, Gangoiti I, Hernández-Bou S, De La Torre Espí M, et al. Late-onset Group B Streptococcus Bacteremia Evaluated in the Pediatric Emergency Department and Risk Factors for Severe Infection. Pediatr Infect Dis J. giugno 2022;41(6):455–9.

RINGRANZIAMENTI

Al termine di questo lavoro il mio più sincero ringraziamento va al professore Alberto Berardi per avermi dato la possibilità di lavorare a questo progetto e per avermi affiancata con impegno e dedizione, trasmettendomi la passione per questa professione.

Ringrazio i miei genitori e mia sorella per avermi supportata in tutto e per tutto in questi lunghi sei anni, credendo nelle mie capacità più di quanto l'abbia fatto io.

Ringrazio Anita per essere la mia amica più fidata, da sempre presente in tutti i miei traguardi.

Ringrazio Alice, Benedetta, Giulia, Paolo e Antonio per essere stati i migliori compagni che potessi desiderare per trascorrere insieme questi anni; questa laurea è anche un po' vostra.

E infine ringrazio Vittoria, se sono arrivata a questo traguardo è grazie a te.