

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**

**CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN  
MEDICINA E CHIRURGIA**

DIPARTIMENTO DI SALUTE DELLA DONNA E DEL BAMBINO

Direttore: Prof. Eugenio Baraldi

**TESI DI LAUREA**

**“Predizione della necessità di somministrazione di  
surfattante intratracheale nei neonati prematuri  
mediante nuovi score ecografici polmonari,  
l’esperienza di Padova nello studio TUS”**

Relatore: Dott. Luca Bonadies

Laureanda: Claudiana Leda Alba

Anno accademico 2022/2023



## Sommario

Abbreviazioni.....	6
Riassunto.....	8
Abstract.....	10
Introduzione.....	12
1. Sindrome da distress respiratorio.....	12
1.1. Sviluppo Polmonare.....	12
1.2. Surfattante Polmonare.....	13
1.2.1. Composizione del surfattante.....	14
1.2.2. Sintesi, secrezione e assorbimento del surfattante.....	15
1.2.3. Prematurità e surfattante.....	15
1.3. Fisiopatologia della RDS.....	16
1.3.1. Deficit di surfattante.....	17
1.3.2. Infiammazione e danno polmonare.....	18
1.3.3. Edema polmonare.....	19
1.3.4. Inattivazione del surfattante.....	19
1.3.5. Funzione polmonare e scambio gassoso.....	20
1.4. Incidenza.....	21
1.5. Manifestazioni Cliniche.....	21
1.5.1. Decorso della malattia.....	22
1.5.2. Radiografia toracica.....	23
1.5.3. Esami di laboratorio.....	24
1.5.4. Ecografica toracica.....	24
1.6. Diagnosi di RDS.....	25
1.7. Trattamento della RDS.....	25

2.	Terapia con surfattante .....	26
2.1.	Tipologie di surfattanti esogeni.....	26
2.1.1.	Surfattante sintetico.....	26
2.1.2.	Surfattante derivati da animali .....	27
2.2.	Indicazioni.....	27
2.3.	Metodi di somministrazione del surfattante.....	28
2.3.1.	Somministrazione endotracheale .....	28
2.3.2.	INSURE .....	29
2.3.3.	Minimal Invasive Surfactant Therapy (MIST) .....	30
3.	Utilità di una predizione precoce .....	32
4.	Lung Ultrasound Score .....	33
5.	TUS score.....	37
	Scopo dello studio .....	40
	Materiali e Metodi.....	41
1.	Disegno dello studio.....	41
2.	Popolazione generale .....	41
3.	Dati rilevati .....	41
4.	Ecografia Polmonare.....	43
5.	Somministrazione di surfattante.....	44
6.	Analisi statistica .....	44
	Risultati .....	46
1.	Analisi delle frequenze.....	46
2.	Analisi delle medie.....	46
3.	Confronto tra TUS score e LUS score e Somministrazione di surfattante .....	49
4.	Confronto dei tempi per la misurazione del TUS score e del LUS score ..	50

5. Confronto Ora Ecografia Toracica e Ora di Somministrazione del surfattante	51
6. Curva ROC TUS score e LUS score .....	51
6.1. Area sotto la curva ROC .....	52
6.2. Coordinate delle curve ROC .....	53
6.3. Confronto tra curve ROC di TUS score e LUS score .....	55
Discussione .....	56
Conclusione.....	61
Bibliografia .....	62

## Abbreviazioni

RDS	Respiratory Distress Syndrome
SP	Surfactant Protein
ATP	Adenosine triphosphate
DPPC	Dipalmitoylphosphatidylcoline
PEEP	Positive Expiratory End Pressure
GA	Gestational Age
CPAP	Continous Positive Airway Pressure
BDP	Displasia broncopolmonare
SRT	Surfactant Replacement Therapy
NRDS	Neonatal Respiratory Distress Syndrome
MIST	Minimally Invasive Surfactant Therapy
ETT	Endotracheal Tube
INSURE	INTubation-SURfactant-Extubation
PPV	Positive Pressure Ventilation
LMA	Laryngeal Mask Airway
SALSA	Surfactant Administration Through Laryngeal or Supraglottic Airways
LISA	Less Invasive Surfactant
ESPNIC	European Society of Paediatric and Neonatal Intensive Care
LUS	Lung Ultrasound score
POCUS	Point-of-care Ultrasound
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
AGA	Adequate for Gestational Age

SGA	Small for Gestational Age
pPROM	Preterm Premature Rupture of Membranes
NIMV	Non-Invasive Mechanical Ventilation
NIV	Non-Invasive Ventilation
MV	Mechanical Ventilation
FiO <sub>2</sub>	Frazione inspirata di ossigeno
SatO <sub>2</sub>	Saturazione arteriosa dell'ossigeno
MAP	Medium Airway Pressure
ROC	Receiver Operating Characteristic
TTN	Transient Tachipnea of Newborn
UTIN	Unità di Terapia Intensiva Neonatale
NICU	Neonatal Intensive Unit Care

## **Riassunto**

### **Presupposti dello studio**

L'impiego del surfattante esogeno nella gestione della Sindrome da Distress Respiratorio ha migliorato la sopravvivenza neonatale, con una maggiore efficacia se somministrato entro 3 ore dalla nascita; pertanto, una previsione precoce della carenza di surfattante permetterebbe una terapia più tempestiva, riducendo la necessità di ventilazione meccanica e migliorando l'outcome dei neonati.

L'ecografia toracica è sempre più importante nella diagnosi e nella valutazione della gravità di NRDS e, sulla base di questa indagine, sono stati proposti diversi score per predire la necessità di terapia sostitutiva con surfattante nei neonati prematuri affetti da RDS.

### **Scopo dello studio**

Il presente studio mira a convalidare il TUS score, un nuovo strumento semplificato in grado di fornire una valutazione rapida ed efficace della RDS, confrontandolo con l'ormai consolidato LUS score.

### **Materiali e metodi**

È stato condotto uno studio osservazionale, prospettico e multicentrico, in cui sono stati reclutati 44 neonati con Sindrome da Distress Respiratorio ricoverati presso l'Unità di Terapia Intensiva Neonatale di Padova nel periodo agosto 2022 – dicembre 2023.

Sono stati rilevati dati nosografici, gravidici, di supporto ventilatorio, sull'ecografia toracica e sulla somministrazione di surfattante e l'analisi statistica è stata svolta mediante il software SPSS IBM 28.0.1.

### **Risultati**

I tempi medi impiegati per la misurazione di TUS score e LUS score sono stati rispettivamente 2,44 minuti e 3,64 minuti, con una media della differenza di -1,2



minuti (deviazione standard = 0,38 e P bilaterale < 0,001); pertanto, il TUS score è stato calcolato con un esiguo vantaggio temporale rispetto al LUS score.

Sui 21 pazienti trattati con surfattante in media la prima valutazione ecografica è stata svolta a 2,18 ore di vita (deviazione standard 0,55) e il surfattante è stato somministrato a 7,48 ore di vita (deviazione standard 6,6), con un valore medio di differenze accoppiate tra i due valori di -5,3 ore (deviazione standard 6,6 e P bilaterale 0,001); per cui, l'impiego del TUS score avrebbe permesso una somministrazione più precoce di surfattante.

Analizzando la curva ROC del TUS score è stato selezionato il valore ottimale di cut-off, valutandone sensibilità e specificità, per la somministrazione di terapia sostitutiva con surfattante. I valori di cut-off scelti per la somministrazione di surfattante sono stati 8 per il TUS score (sensibilità = 86% e 1 – specificità = 0%) e 10 per il LUS score (sensibilità = 86% e 1 – specificità = 4,3%); per tali valori TUS score e LUS score non presentavano differenze significative nella capacità di predire la somministrazione di surfattante, confermando l'affidabilità del TUS score nella diagnosi della RDS e nella predizione della necessità di terapia con surfattante esogeno.

## **Conclusioni**

Il TUS score si presenta come un valido strumento ecografico per la diagnosi e per la predizione della necessità di surfattante nella NRDS, offrendo una valutazione rapida e riducendo lo stress associato all'ecografia. I risultati dello studio supportano l'adozione del TUS score come strumento diagnostico, contribuendo ad una somministrazione più tempestiva della terapia e migliorando l'esito clinico nei neonati con RDS.

## **Abstract**

### **Background**

The use of exogenous surfactant in the management of Respiratory Distress Syndrome has improved neonatal survival, with greater effectiveness when administered within 3 hours of birth. Therefore, early prediction of surfactant deficiency would allow for more timely therapy, reducing the need for mechanical ventilation and improving neonatal outcomes.

Thoracic ultrasound is increasingly important in the diagnosis and assessment of the severity of NRDS, and based on this investigation, various scores have been proposed to predict the need for surfactant replacement therapy in premature infants with RDS.

### **Objectives**

This study aims to validate the TUS score, a new simplified tool capable of providing a quick and effective assessment of Respiratory Distress Syndrome, by comparing it with the well-established LUS score.

### **Materials and Methods**

An observational, prospective, multicenter study was conducted, involving 44 infants with Respiratory Distress Syndrome admitted to the Neonatal Intensive Care Unit in Padua between August 2022 and December 2023.

Nosographic and gravidic data, ventilatory support information, thoracic ultrasound findings, and surfactant administration details were collected, and the statistical analysis was performed using IBM SPSS Statistics software version 28.0.1.

### **Results**

The TUS score was calculated with a slight time advantage, with an average difference of -1,2 minutes (standard deviation = 0,38 and bilateral  $P < 0,001$ ). Therefore, on average, the first ultrasound assessment was performed at 2,18 hours

of life for the 21 patients treated with surfactant (standard deviation = 0,55), and surfactant was administered at 7,48 hours of life (standard deviation = 6,6), with a mean paired difference value between the two times of -5,3 hours (standard deviation = 6,6 and bilateral  $P = 0,001$ ). Thus, the use of the TUS score would have allowed for an earlier administration of surfactant compared to the LUS score.

Analyzing the ROC curve of the TUS score, the optimal cut-off value was selected by evaluating sensitivity and specificity for the administration of surfactant replacement therapy. The chosen cut-off values for surfactant administration were 8 for the TUS score (sensitivity = 86% and  $1 - \text{specificity} = 4,3\%$ ). For these cut-off values, the TUS score and LUS score did not show significant differences in their ability to predict surfactant administration, confirming the reliability of the TUS score in diagnosing RDS and predicting the need for exogenous surfactant therapy.

### **Conclusions**

The TUS score emerges as a reliable ultrasound tool for predicting the need for surfactant in NRDS, providing a quick assessment and reducing the associated stress of ultrasound. The study results support the adoption of the TUS score as a diagnostic tool, contributing to a timelier administration of therapy and improving clinical outcomes in neonates with RDS.

# **Introduzione**

## **1. Sindrome da distress respiratorio**

La sindrome da distress respiratorio (RDS), comunemente nota come malattia delle membrane ialine, si verifica nei neonati quando il surfattante polmonare è carente o disfunzionale [1] ed è un problema comune e una delle principali cause di morbilità e mortalità nei neonati pretermine [2].

### **1.1. Sviluppo Polmonare**

Il normale sviluppo alveolare fetale avviene nelle seguenti fasi [3]:

- Fase embrionica - Verso il 26° giorno di gestazione, si verifica la prima comparsa del polmone fetale, originante come una protuberanza del tubo digerente anteriore. La ramificazione iniziale del polmone avviene a circa 33 giorni di gestazione, in cui si formano i bronchi principali futuri che iniziano a estendersi nel mesenchima ed ulteriori ramificazioni danno origine ai bronchi segmentari.
- Fase pseudo-ghiandolare - Dalla quinta alla sedicesima settimana gestazionale, si formano da 15 a 20 generazioni di ramificazioni delle vie aeree a partire dai bronchi segmentari principali, fino a terminare come bronchioli terminali. Al termine di questa fase le vie aeree sono circondate da mesenchima leggermente compatto che include alcuni vasi sanguigni, e sono rivestite da cellule epiteliali morfologicamente indifferenziate e ricche di glicogeno, con una forma che varia da colonnare a cuboidale. La differenziazione epiteliale avviene in senso centrifugo, con le vie aeree prossimali rivestite da cellule più differenziate e le porzioni tubulari più distali con una differenziazione progressivamente minore.
- Fase canalicolare - Dalla sedicesima alla venticinquesima settimana, si formano i bronchioli respiratori e i dotti alveolari nella regione di scambio

gassoso del polmone. Il mesenchima circostante diventa più vascolare e si compatta attorno alle vie aeree. Questa maggiore vicinanza vascolare permette la fusione delle membrane basali capillari ed epiteliali. Dopo 20 settimane di gestazione, le cellule epiteliali cuboidali iniziano a differenziarsi in pneumociti di tipo II con la formazione dei corpi lamellari citoplasmatici [4], la cui presenza indica la produzione di surfattante, prodotto a partire dal glicogeno ed immagazzinato all'interno dei corpi lamellari.

- Fase sacculare - A circa 24 settimane di gestazione, si presenta la possibilità di vitalità, in quanto lo scambio di gas è possibile grazie alla presenza di ampie e primitive forme dei futuri alveoli. In questa fase, si formano gli alveoli ("alveolizzazione") attraverso la crescita di setti che dividono i sacculi terminali in alveoli anatomici, regione in cui avviene lo scambio di aria. Il numero di alveoli in ciascun polmone aumenta da 0 a 32 settimane di gestazione fino a 50-150 milioni di alveoli nei neonati a termine e 300 milioni negli adulti. La crescita alveolare continua per almeno due anni dopo la nascita a termine.

## **1.2. Surfattante Polmonare**

La principale causa della sindrome da distress respiratorio è il deficit di surfattante polmonare.

Durante la gestazione, il polmone fetale è pieno di liquido e non fornisce alcuna funzione respiratoria fino al momento della nascita. In preparazione alla respirazione aerea, il surfattante, che è una sostanza tensioattiva fornita dagli pneumociti di tipo II, viene espresso nei polmoni a partire dalla ventesima settimana di gestazione [5] ed è presente in una quantità sufficiente dalla trentaseiesima settimana. Il suo scopo è quello di facilitare l'interscambio dei gas respiratori nei polmoni e di ridurre la tensione superficiale alveolare, facilitando così l'espansione alveolare e riducendo la probabilità di atelettasia da collasso alveolare.

A causa della regolazione durante lo sviluppo della produzione di surfattante, la causa più comune di carenza di surfattante è il parto pretermine. Inoltre, mutazioni dei geni che codificano per le proteine surfattanti SP-B e SP-C [6-7] e del trasportatore A3 (ABCA3) della cassetta (ABC) legante l'adenosina trifosfato (ATP) possono causare carenza di surfattante e/o disfunzione e insufficienza respiratoria ereditaria nei neonati nati a termine [8-10].

### **1.2.1. Composizione del surfattante**

Il surfattante polmonare è una miscela complessa composta principalmente da lipidi (90%), per lo più fosfolipidi, e proteine (circa il 10%).

Approssimativamente il 70% dei lipidi nel surfattante fanno parte della specie della fosfatidilcolina. Di questo, circa il 60% è rappresentato dalla dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), componente principale di surfattante che abbassa la tensione superficiale alveolare [11].

Sono state identificate quattro proteine specifiche del surfattante:

- SP-A e SP-D, proteine idrofiliche che appartengono alla famiglia delle collectine, sono proteine del sistema immunitario innato e sono implicate nella regolazione dell'infiammazione polmonare. Queste facilitano la fagocitosi degli agenti patogeni e la loro clearance dallo spazio aereo da parte dei macrofagi.
- SP-B e SP-C, proteine idrofobiche che lavorano simultaneamente per ottimizzare il rapido assorbimento e la diffusione dei fosfolipidi sulla superficie e per facilitare la riduzione della tensione superficiale e la stabilità alveolare. Queste due proteine sono presenti nelle preparazioni commerciali di surfattante.

### **1.2.2. Sintesi, secrezione e assorbimento del surfattante**

Il surfattante è sintetizzato all'interno degli pneumociti di tipo II a partire dalla sintesi dei fosfolipidi nel reticolo endoplasmatico e viene poi processato attraverso l'apparato di Golgi fino ai corpi lamellari, dove i fosfolipidi si combinano con le proteine di surfattante SP-B e SP-C per formare il complesso lipoproteico tensioattivo [12]. Successivamente, i corpi lamellari si posizionano sulla superficie apicale dello pneumocita di tipo II e vengono rilasciati negli alveoli tramite esocitosi [13].

Man mano che i corpi lamellari si distribuiscono all'interno degli alveoli, il complesso tensioattivo forma una matrice lipoproteica (includendo le proteine SP-A, SP-B e SP-C e i fosfolipidi), chiamata mielina tubulare, che contribuisce alla formazione della pellicola superficiale all'interno degli alveoli e delle vie aeree e riduce la tensione superficiale alveolare [3]. Il surfattante secreto si sposta dagli spazi aerei agli pneumociti di tipo II, dove viene riciclato nella cellula mediante un processo endocitico in corpi multivescicolari e successivamente in corpi lamellari. Il riciclaggio di surfattante endogeno ed esogeno contribuisce in maniera significativa al pool di surfattante [14].

### **1.2.3. Prematurità e surfattante**

Nel neonato pretermine, rispetto al neonato a termine, si verifica una diminuzione sia nella quantità che nella qualità di surfattante, a causa della differente composizione lipidica e proteica. Questi fattori comportano una diminuzione dell'attività del surfattante, con conseguente RDS.

Nello specifico il surfattante prodotto dai polmoni immaturi contiene quantità maggiori di fosfatidilinositolo e quantità minori di fosfatidilglicerolo, che presenta una maggiore attività di superficie ed inizia ad aumentare nel liquido amniotico dopo la trentacinquesima settimana di gestazione.

Il contenuto di fosfatidilglicerolo viene utilizzato come marcatore per la maturità polmonare fetale, insieme al rapporto lecitina/sfingomieline (L/S) e il conteggio dei corpi lamellari.

Il contenuto proteico del surfattante proveniente dai polmoni prematuri è relativamente basso rispetto alla quantità di lipidi. Le cellule di tipo II coi corpi lamellari compaiono nei polmoni umani dopo la ventesima settimana, con una minima espressione di mRNA per le proteine del surfattante fino a tarda gestazione. L'espressione delle quattro proteine del surfattante varia con l'età gestazionale.

La somministrazione di glucocorticoidi antenatali riduce il rischio di RDS nei neonati prematuri, in quanto migliora la funzione polmonare neonatale, potenziando i cambiamenti maturativi nell'architettura polmonare e inducendo enzimi che stimolano la sintesi di fosfolipidi e il rilascio di surfattante [15].

### **1.3. Fisiopatologia della RDS**

Nel polmone prematuro la scarsa attività di surfattante comporta un'elevata tensione superficiale, con conseguente instabilità polmonare all'espiazione finale, volume polmonare ridotto e diminuita compliance. Queste alterazioni nella funzionalità generano ipossiemia a causa di uno squilibrio tra ventilazione e perfusione principalmente riconducibile al collasso di ampie porzioni di polmone (atelettasia), con ulteriori contributi di mismatch ventilazione/perfusione da shunts dx-sx intrapolmonari ed extrapolmonari.

La carenza di tensioattivo comporta anche infiammazione polmonare e lesioni dell'epitelio respiratorio, che possono esitare in edema e aumento di resistenza nelle vie aeree. Questi fattori aggravano ulteriormente il danno polmonare e peggiorano la funzione polmonare. Allo stesso tempo, l'assorbimento anormale di liquidi porta a una rimozione inefficiente del liquido nel polmone lesionato, causando un edema polmonare che ostacola anche lo scambio gassoso.



### 1.3.1. Deficit di surfattante

Nei neonati prematuri, il deficit di surfattante è la causa principale della RDS, poiché la perdita di tale tensioattivo comporta un aumento della pressione necessaria per aprire gli alveoli e instabilità alveolare a basso volume, con conseguente collasso alveolare e atelettasia diffusa.

La relazione tra pressione di insufflazione, tensione superficiale e raggio di curvatura è rappresentata dal modello di un alveolo distale come una sfera collegata ad una via aerea distale ed è descritta dalla legge di LaPlace. Secondo tale legge, la pressione (P) necessaria per mantenere la sfera aperta è proporzionale alla tensione superficiale (T) e inversamente proporzionale al raggio (R) della sfera, come indicato nella formula:

$$P = 2T/R$$

Se la tensione superficiale è elevata e il volume alveolare (il raggio) è ridotto, come avviene a fine espirazione, la pressione necessaria per mantenere l'alveolo aperto è elevata. Se questa pressione aumentata non può essere generata, si verifica il collasso dell'alveolo. L'atelettasia diffusa avviene quando il collasso alveolare è esteso a tutto il polmone e questo comporta ipossiemia. Il surfattante riduce la tensione superficiale, anche a bassi volumi, portando a una diminuzione della pressione richiesta e mantenendo così il volume e la stabilità alveolare.

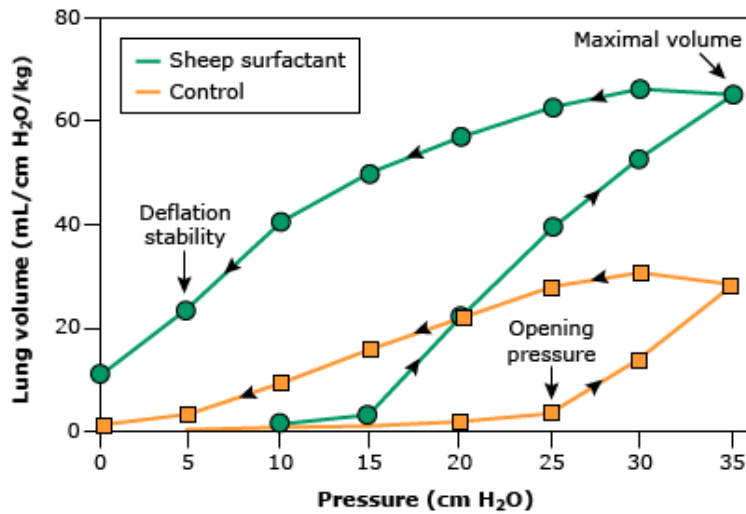


Figura 1 I rapporti pressione - volume durante l'insufflazione e la deflazione polmonare di conigli prematuri trattati e non con surfattante presentano differenze significative. I polmoni di controllo (conigli prematuri di 27 giorni, quadrati arancioni) presentano pressione di apertura elevata, volume massimo ridotto a una pressione di distensione di 35 cm H<sub>2</sub>O e mancanza di stabilità durante la deflazione a basse pressioni. I conigli prematuri di 27 giorni trattati con surfattante naturale (cerchi verdi), che modifica le relazioni pressione volume, manifestano pressione di apertura inferiore, miglioramento del volume massimo a una pressione di distensione di 35 cm H<sub>2</sub>O e stabilità durante la deflazione a basse pressioni.

### 1.3.2. Infiammazione e danno polmonare

Il ruolo dell'infiammazione nella patogenesi della RDS è stato dimostrato da esperimenti su animali in cui il deficit di surfattante era associato all'accumulo rapido di neutrofili nei polmoni e a esiti di edema polmonare [16]. In questo modello, la deplezione dei neutrofili ha impedito l'edema polmonare.

Inoltre, come già evidenziato, il deficit di surfattante comporta atelettasia. Questo può causare a sua volta lesioni dell'epitelio respiratorio e dell'endotelio capillare alveolare, che possono innescare una risposta infiammatoria mediata da citochine. Ulteriori lesioni possono essere provocate dal supporto ventilatorio a pressione positiva o dall'eccessiva esposizione agli ossidanti [17-22].

L'inflammation e le lesioni polmonari possono, inoltre, portare all'accumulo di liquido polmonare ricco di proteine che può disattivare il surfattante presente, aggravando ulteriormente il deficit di surfattante sottostante [23].

### **1.3.3. Edema polmonare**

Nei neonati affetti da RDS, l'edema polmonare si manifesta frequentemente a causa di diversi fattori contribuenti:

- Inflammation e lesioni polmonari;
- Ridotto assorbimento di liquido polmonare – Nel feto, il liquido polmonare viene attivamente trasportato negli spazi aerei potenziali in un processo mediato dai canali del cloruro. In preparazione al parto e alla respirazione aerea, il polmone passa da una modalità secretrice ad una modalità assorbitiva, mediata dai canali del sodio espressi sulle cellule epiteliali (ENaC). Tuttavia, l'espressione di questi aumenta con l'età gestazionale in parallelo all'incremento della produzione di surfattante. Nei neonati prematuri, un numero insufficiente di ENaC può esitare in ritenzione di liquidi, simile a quanto si osserva nei neonati con tachipnea transitoria del neonato [24-25];
- Bassa produzione di urina – I neonati con RDS presentano tipicamente un ridotto output urinario, che contribuisce alla ritenzione di liquidi nei primi giorni e che può aggravare l'edema polmonare. Alcuni neonati presentano iponatriemia per aumento dell'acqua libera. I neonati che guariscono dalla RDS hanno tipicamente una diuresi spontanea dal secondo al quarto giorno, seguita da un miglioramento della funzione polmonare.

### **1.3.4. Inattivazione del surfattante**

Oltre alla riduzione della produzione di surfattante e alla sintesi di un surfattante meno attivo, può verificarsi l'inattivazione di surfattante che riduce ulteriormente le dimensioni efficaci del pool di surfattante.

I fattori che contribuiscono all'inattivazione del surfattante sono:

- Meconio e sangue negli alveoli, che possono inattivare l'attività del surfattante;
- L'edema proteinaceo e i prodotti infiammatori, che aumentano il tasso di conversione del surfattante nella sua forma vescicolare inattiva e può essere accelerata dallo stress ossidativo e meccanico associato alla ventilazione meccanica, soprattutto se vengono utilizzati volumi tidali elevati e manca la pressione positiva di fine espirazione (PEEP) [20,26].

### **1.3.5. Funzione polmonare e scambio gassoso**

Gli effetti negativi principali del deficit di surfattante sulla funzione polmonare sono la bassa compliance e il basso volume polmonare (capacità residua funzionale), principalmente causati da atelettasia, anche se sia l'edema polmonare che l'infiammazione possono essere fattori contribuenti. La resistenza totale del polmone presenta un leggero aumento, probabilmente riconducibile alla compressione delle vie aeree da parte dell'edema interstiziale e ai danni alle vie aeree dovuti all'elevata pressione necessaria per espandere gli alveoli scarsamente complianti [27-30].

La terapia con surfattante esogeno previene o corregge queste anomalie funzionali polmonari, come la bassa compliance e il volume polmonare ridotto, nonché l'aumento della resistenza polmonare.

L'ipossia derivante dalla RDS è principalmente dovuta ad uno squilibrio tra ventilazione e perfusione con shunt intrapolmonare destro-sinistro di sangue in ampie regioni del polmone scarsamente ventilate. Si verifica inoltre uno shunt extrapolmonare tipicamente attraverso il forame ovale e il dotto arterioso pervio.

La percentuale di ipossia dovuta allo shunt rispetto alla scarsa ventilazione dipende dall'estensione della vasocostrizione polmonare ipossica e dalle dimensioni relative della regione scarsamente ventilata. La ventilazione alveolare è ridotta, in quanto la maggior parte del polmone è collassato e scarsamente ventilato, e questo si riflette

in valori elevate di pressione arteriosa parziale di anidride carbonica (PaCO<sub>2</sub>) e in una conseguente acidosi respiratoria. Inoltre, potrebbe verificarsi anche un'acidosi metabolica dovuta alla produzione di acido lattico dal metabolismo anaerobico, in risposta all'ipossia e alla compromissione della perfusione tissutale.

#### **1.4. Incidenza**

L'incidenza della RDS aumenta con il diminuire dell'età gestazionale. Il rischio è massimo nei neonati estremamente prematuri, come dimostrato da uno studio della National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network, che ha riscontrato un'incidenza del 93% di RDS in una coorte di 9575 neonati estremamente prematuri (GA minore o uguale a 28 settimane nati tra il 2002 e il 2007) [31].

Sebbene l'incidenza sia inferiore, la RDS si verifica comunque anche in un numero significativo di neonati pretermine tardivi (GA compreso tra 34 settimane e 36 settimane e 6 giorni). In un report del Consortium on Safe Labor, che ha preso in esame 233844 parti tra il 2002 e il 2008, la RDS è stata riscontrata nel 10,5%, 6%, 2,8%, 1% e 0,3% dei neonati nati rispettivamente a 34, 35, 36, 37 e  $\geq 38$  settimane di gestazione [32]. Nei neonati pretermine tardivi e a termine, il sesso maschile e l'appartenenza alla razza bianca sono associati ad un aumento del rischio [33].

#### **1.5. Manifestazioni Cliniche**

Le manifestazioni cliniche della Sindrome da Distress Respiratorio derivano principalmente dalla funzione polmonare alterata e dall'ipossiemia.

Poiché la RDS è un disturbo dello sviluppo caratterizzato da una produzione di surfattante insufficiente, si manifesta nei primi minuti/ore dopo la nascita. In caso di mancato trattamento avviene un peggioramento progressivo nelle prime 48 ore di vita. In alcuni casi, i neonati potrebbero manifestare sintomi non immediatamente dopo il parto, ma sviluppare difficoltà respiratorie e cianosi entro le prime ore di

vita, perché presentano una quantità di surfattante al limite, che viene consumata o inattivata.

Il neonato affetto da RDS è quasi sempre prematuro e manifesta i seguenti segni tipici del distress respiratorio [34]:

- Tachipnea;
- Dilatazione nasale, che rispecchia l'impiego dei muscoli respiratori accessori e riduce la resistenza totale del sistema respiratorio;
- Grugnitio respiratorio, risultante dall'esalazione attraverso una glottide parzialmente chiusa e che rallenta la diminuzione del volume polmonare a fine espirazione;
- Retrazione intercostale, subxifoidea e subcostale, poiché la gabbia toracica altamente compliant viene retratta durante l'inspirazione dalle elevate pressioni intratoraciche necessarie per espandere i polmoni scarsamente complianti;
- Cianosi, dovuta allo shunt destro-sinistro intrapolmonare ed extrapolmonare.

All'esame obiettivo, i suoni respiratori auscultati sono ridotti, e i neonati possono apparire pallidi con polsi periferici ridotti. La produzione di urina è spesso ridotta nelle prime 24-48 ore, ed è frequente l'edema periferico.

### **1.5.1. Decorso della malattia**

La Sindrome da Distress Respiratorio si risolve solitamente entro la prima settimana di vita.

Prima dell'impiego di surfattante, la RDS non complicata tipicamente progrediva per 48-72 ore ed era associata ad un miglioramento della funzione respiratoria, preceduto nella maggior parte dei casi da una marcata diuresi, con l'aumento della produzione endogena di surfattante.

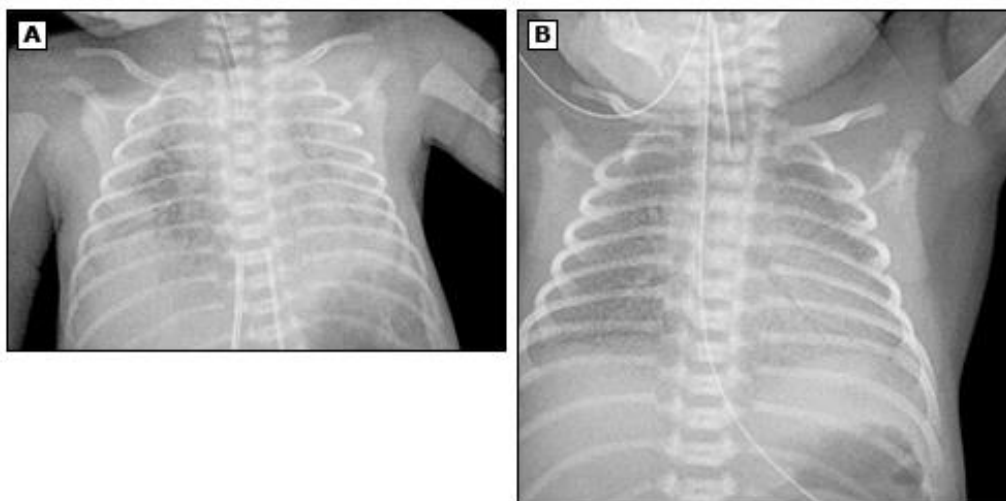
La storia naturale della RDS è stata notevolmente modificata dal trattamento con surfattante esogeno, che migliora in maniera drastica la funzione polmonare, portando alla risoluzione dei sintomi e accorciando il decorso clinico. Inoltre, l'uso della ventilazione meccanica a pressione positiva continua (CPAP) ha migliorato il decorso clinico della RDS, anche nei neonati che non ricevono la terapia con surfattante [35].

### 1.5.2. Radiografia toracica

La radiografia toracica viene generalmente eseguita in tutti i neonati con distress respiratorio. Le caratteristiche radiografiche della RDS neonatale sono:

- Volume polmonare ridotto;
- Classico aspetto a vetro smerigliato reticologranulare diffuso con broncogrammi aerei.

Queste caratteristiche in un neonato prematuro con distress respiratorio soddisfano i criteri diagnostici per la RDS.



*Figura 2 Nelle immagini radiografiche vengono mostrate la RDS neonatale grave (A) e moderata (B). In entrambe sono evidenti i caratteristici volumi polmonari ridotti e l'aspetto a vetro smerigliato reticologranulare diffuso con broncogrammi aerei*

Altre caratteristiche rilevabili alla radiografia sono:

- Edema polmonare, che può contribuire all'aspetto diffuso;
- Pneumotorace e perdite d'aria, che sono reperti rari nelle radiografie toraciche iniziali, mentre sono osservati più frequentemente con il miglioramento della compliance polmonare.

Questo profilo radiografico è il risultato dell'atelettasia alveolare in contrapposizione alle vie aeree ventilate [2].

### **1.5.3. Esami di laboratorio**

Reperti di laboratorio associati alla RDS, ma non diagnostici, sono:

- Misurazioni emogasanalitiche del sangue arterioso, che mostrano tipicamente ipossiemia e rispondono alla supplementazione di ossigeno. La pressione parziale di anidride carbonica (CO<sub>2</sub>) è inizialmente normale o lievemente aumentata, ma di solito aumenta man mano che la malattia peggiora;
- Iponatriemia, con il progredire della malattia, che deriva dalla ritenzione idrica e di solito migliora con la restrizione dei liquidi. Un'attenta gestione dei liquidi ne previene l'insorgenza e, di conseguenza, questo reperto è osservato meno frequentemente.

### **1.5.4. Ecografica toracica**

Nella pratica neonatologica, l'ecografia del torace è sempre più impiegata per la valutazione delle malattie polmonari [36-39].

Copetti et al. nel 2008 hanno identificato delle caratteristiche ecografiche distintive della RDS, confermate poi da successivi studi, che comprendono [38,40-41]:

- Consolidamento polmonare con broncogrammi aerei - Le aree consolidate mostrano ipoecogenicità irregolare, con un confine chiaro e facilmente distinguibile dal tessuto polmonare circostante. I broncogrammi aerei



possono apparire densi, punteggiati o simili a fiocchi di neve e coinvolgono tipicamente entrambi i polmoni, con una frequente localizzazione nelle regioni posteriori. La gravità della malattia è correlata all'entità del consolidamento. Nella RDS lieve i consolidamenti possono limitarsi al parenchima polmonare subpleurico. Nella RDS grave si osserva un coinvolgimento diffuso o "polmone bianco";

- Anomalie della linea pleurica - La linea pleurica presenta piccoli consolidamenti subpleurici, ispessimento, irregolarità e un aspetto grossolano;
- Coinvolgimento interstiziale - Le regioni non consolidate possono mostrare segni di coinvolgimento interstiziale, come linee B o code di cometa e pattern di sindrome interstiziale alveolare, in cui le linee A scompaiono;
- Versamenti pleurici - Nel 15-20% dei casi possono essere osservati versamenti pleurici unilaterali o bilaterali [41].

Questi reperti possono essere utilizzati per stabilire la diagnosi di RDS e valutarne la gravità [42-43].

## **1.6. Diagnosi di RDS**

La diagnosi si basa sul quadro clinico di un neonato prematuro che manifesta l'insorgenza di una progressiva insufficienza respiratoria poco dopo il parto, in cui aumentano il lavoro respiratorio e il fabbisogno di ossigeno, insieme ai caratteristici reperti di imaging toracico, come l'aspetto diffuso a vetro smerigliato reticologranulare con broncogrammi aerei.

## **1.7. Trattamento della RDS**

Per ottimizzare la ripresa dei neonati con Sindrome da Distress Respiratorio occorre:

- Ridurre il rischio di parto prematuro;
- Trasferire la madre in un centro perinatale;
- Usare in modo appropriato e tempestivo gli steroidi prenatali [44].

Il trattamento protettivo polmonare, basato su evidenze scientifiche, include:

- L'avvio del supporto respiratorio non invasivo dalla nascita (ad esempio, con nCPAP, nasal continuous positive airway pressure);
- Un uso appropriato dell'ossigeno;
- La somministrazione precoce di surfattante,
- La terapia con caffeina, nei neonati prematuri con GA<28 settimane, per incrementare il drive respiratorio, in quanto questi pazienti presentano apnea del prematuro e possono sviluppare displasia broncopolmonare (BDP);
- Evitare l'intubazione e la ventilazione meccanica quando possibile, in quanto aumenta il rischio di danno polmonare.

La cura dei neonati con RDS prevede anche un supporto cardiovascolare adeguato e l'uso ponderato di antibiotici [45].

## **2. Terapia con surfattante**

Per oltre trent'anni, l'impiego di surfattante è stato un elemento fondamentale nella gestione e nel trattamento della RDS, in quanto ha significativamente migliorato la sopravvivenza dei neonati prematuri affetti da tale patologia e ha ridotto alcune delle complicanze legate alla prematurità o alle patologie polmonari [46].

### **2.1. Tipologie di surfattanti esogeni**

#### **2.1.1. Surfattante sintetico**

Il primo surfattante ad essere stato ampiamente impiegato era una miscela sintetica del principale fosfolipide presente nel surfattante umano, noto come dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), insieme a sostanze che ne miglioravano la capacità di distribuzione dopo la somministrazione, come tiloxapolo ed esadecanolo. Questo surfattante esogeno, chiamato Colfosceril Palmitate (Exosurf®), ha dimostrato la sua efficacia nella prevenzione e nel trattamento della RDS attraverso diversi studi clinici [47].

### **2.1.2. Surfattante derivati da animali**

L'uso di Colfosceril è stato successivamente sostituito con l'avvento di surfattanti derivati da animali, contenenti non solo fosfolipidi surfattanti, ma anche quantità variabili delle proteine chiave associate al surfattante B e C (SP-B, SP-C). La presenza di queste due componenti ha portato a una risposta clinica più rapida, evidenziata da uno svezzamento più precoce dalla supplementazione di ossigeno e dalle esigenze respiratorie, nonché da una riduzione delle perdite d'aria e una lieve riduzione della mortalità rispetto ai surfattanti sintetici privi di proteine surfattanti [48].

Un'intensa attività di ricerca degli anni '80 ha portato allo sviluppo di diverse preparazioni di surfattante derivate da animali per il trattamento della RDS, come:

- Poractant alfa (Curosurf ®), che deriva dal polmone di suino macinato e l'estrazione dei lipidi avviene tramite purificazione mediante cromatografia su gel liquido;
- Beractant (Survanta ®), in cui l'estrazione lipidica viene effettuata da tranci di polmone bovino e vengono aggiunti DPPC, acido palmitico e tripalmitina;
- Bovactant (Alveofact ®), estratto di surfattante naturale del bovino;
- Calfactant (Infasurf ®), in cui l'estrazione dei lipidi avviene da lavaggio polmonare del vitello [49].

Queste preparazioni, attualmente in uso, contengono principalmente fosfolipidi e dall'1 al 2% di proteine idrofobiche SP-B e SP-C per peso, mentre le proteine idrofiliche SP-A e SP-D vengono eliminate [50].

## **2.2. Indicazioni**

Nella gestione clinica della Sindrome da Distress Respiratorio, la somministrazione di surfattante esogeno, o terapia di sostituzione del surfattante (SRT), è indicata nei neonati prematuri con evidenze radiografiche (polmoni di volume ridotto,

opacità/aspetto a vetro smerigliato, broncogrammi aerei e perdita dei margini cardiaci) e segni clinici di distress respiratorio neonatale (NRDS) [51].

Il surfattante viene somministrato a tutti i neonati prematuri intubati e a quelli che presentano ipossiemia persistente dopo un trial di pressione parziale positiva (ad esempio, coloro i quali necessitano valori di FiO<sub>2</sub> tra 0.3 e 0.4 in supporto non invasivo per mantenere una SpO<sub>2</sub> >90%) [52-53].

### **2.3. Metodi di somministrazione del surfattante**

Le linee guida del 2014 dell'American Academy of Pediatrics raccomandano la gestione immediata di tutti i neonati prematuri con nCPAP (nasal continuous positive airway pressure). Successivamente, il surfattante può essere considerato come alternativa all'intubazione, con una somministrazione precoce in pazienti selezionati. La prima dose andrebbe somministrata entro due ore dalla nascita, preferibilmente entro la prima ora. In un neonato intubato che richiede il 30-40% di ossigeno, è indicata una seconda dose entro le successive 4-12 ore [54].

#### **2.3.1. Somministrazione endotracheale**

Tradizionalmente la somministrazione di surfattante veniva eseguita attraverso un tubo endotracheale, in seguito ad intubazione, durante la ventilazione meccanica. Il surfattante viene somministrato in forma liquida in una singola dose, il più rapidamente possibile compatibilmente con la tolleranza del neonato.

Con il tempo, sono state introdotte tecniche di terapia per la somministrazione di surfattante minimamente invasive (MIST) in pazienti selezionati al fine di scongiurare le complicanze associate all'intubazione endotracheale [55].

Durante l'intubazione endotracheale neonatale, infatti, gli eventi avversi sono frequenti, da lievi desaturazioni e/o bradicardie transitorie fino ad arresto cardiopolmonare completo [56].

I neonati prematuri inoltre presentano un rischio significativamente maggiore di spostamento del tubo endotracheale (ETT) rispetto ai neonati a termine. Questo può portare a perdita dell'accesso alle vie aeree (o "autoestubazione") o intubazione del bronco principale. Il dislocamento dell'ETT nel bronco principale (tipicamente a destra) è una complicazione frequente e causa iperinsufflazione del polmone ventilato, che può contribuire alle fughe d'aria, e atelettasia del polmone controlaterale.

Altre complicanze legate all'intubazione includono lesioni laringee e stenosi subglottica [57]. Le perforazioni esofagee e faringee invece si verificano raramente e possono limitarsi al mediastino o estendersi nella cavità pleurica.

### **2.3.2. INSURE**

Un metodo consolidato per combinare la nCPAP con la terapia del surfattante è INSURE (Intubate-SURfactant-Extubate), che nel corso degli anni è stato considerato una terapia standard per la RDS.

Il metodo INSURE prevede l'intubazione, seguita dalla somministrazione di surfattante, almeno un breve periodo di ventilazione a pressione positiva (PPV), sia manuale che meccanica, che può però causare lesioni polmonari, e una rapida estubazione.

Nonostante i vantaggi potenziali nella riduzione delle complicanze legate alla ventilazione meccanica, l'INSURE mostra un tasso di successo limitato, circa il 30% nei neonati prematuri con età gestazionale inferiore alle 32 settimane. Coloro che non rispondono all'INSURE richiedono periodi più prolungati di ventilazione o reintubazione [58].

L'INSURE necessita di sedazione, in quanto il posizionamento di un tubo endotracheale può causare dolore, stress o complicazioni emodinamiche. Una revisione sistemica ha identificato come fattori di fallimento di tale tecnica il peso alla nascita estremamente basso, l'età gestazionale ridotta e una RDS grave [59].

### **2.3.3. Minimal Invasive Surfactant Therapy (MIST)**

Negli ultimi anni, sono state descritte alcune tecniche alternative per somministrare surfattante, senza l'uso di un tubo endotracheale (ETT), durante la respirazione spontanea, ad esempio:

- La nebulizzazione/aerosolizzazione, l'unico metodo veramente “non invasivo”;
- Altri metodi “meno invasivi”, come la somministrazione attraverso le vie aeree laringee (LMA) o sopraglottiche (SALSA) [60,61].

Un'altra alternativa meno invasiva è la Less Invasive Surfactant Therapy (LISA), che consiste nella somministrazione di surfattante endotracheale tramite un sottile catetere posizionato attraverso la cavità orale o nasale oltre le corde vocali. Questo consente ai neonati di respirare spontaneamente durante la somministrazione di surfattante, anche se solitamente richiede il supporto con CPAP.

Diversi studi hanno evidenziato che i neonati trattati con LISA presentano minore rischio di displasia broncopolmonare (BPD), minore necessità o durata del supporto respiratorio, ridotta incidenza di complicazioni gravi e mortalità in ospedale, oltre a tassi inferiori di insuccesso della CPAP rispetto ad altre modalità di somministrazione di surfattante [62-64].

L'approccio LISA è associato ad una riduzione della durata del ricovero ospedaliero, della supplementazione di ossigeno e dei tassi di altre morbilità neonatali comuni, come l'emorragia intraventricolare, e una minore incidenza di interventi per retinopatia del prematuro [65].

In uno studio a due anni di follow-up, LISA non ha mostrato effetti negativi significativi su lunghezza corporea, peso corporeo e sviluppo neurologico dei neonati prematuri [66].

Nonostante la sicurezza e la fattibilità di LISA siano supportate da questi risultati sono stati segnalati eventi avversi, tra cui reflusso di surfattante nella trachea, bradicardia, ipossia, necessità di intubazione, deposizione unilaterale del surfattante

e sanguinamento delle mucose [67]. Il fallimento di LISA può essere associato a minore età gestazionale e ad immaturità polmonare [65].

Poiché la prevenzione del dolore e dello stress è cruciale nella pratica clinica, in quanto influisce sullo sviluppo cognitivo e motorio dei neonati, l'impiego di analgesici o sedativi durante LISA può aumentare il comfort, specialmente nei neonati più vigorosi, sebbene non sia obbligatorio. È importante considerare però che anche bassi dosaggi di sedativi possono aumentare la desaturazione e prolungare il supporto respiratorio [68].

### **3. Utilità di una predizione precoce**

La terapia con surfattante esogeno è più efficace quando viene somministrata precocemente. Questo è il risultato di diversi studi, che hanno dimostrato che l'efficacia del surfattante è superiore quando somministrato all'inizio della malattia (entro due ore dalla nascita), rispetto ad una somministrazione più tardiva (dopo due ore) [45,53,69-72], poiché riduce il rischio di BPD e di perdite d'aria nei neonati ventilati per la RDS e previene la ventilazione meccanica con l'impiego della tecnica INSURE [71,73].

Attualmente la gravità della RDS è determinata clinicamente, in quanto tiene in considerazione una combinazione di elementi, quali valori  $FiO_2$ , valutazione del lavoro respiratorio e altri segni di distress respiratorio, insieme al grado di aerazione polmonare indagata tramite radiografia o ecografia toracica. Questo rappresenta un limite nella valutazione della malattia in quanto sono tutti fattori influenzati dall'impiego della CPAP.

Le linee guida europee attuali raccomandano l'utilizzo di una  $FiO_2 > 0.30$  come soglia per il trattamento con surfattante, sulla base di osservazione dei tassi di fallimento della CPAP in base alle prime richieste di ossigeno postnatali ed è supportata da dati più recenti [74].

Poiché la RDS è tipicamente progressiva nei primi giorni di vita, la soglia di  $FiO_2$  per la somministrazione di surfattante dovrebbe essere specifica per l'età. Inoltre, l'uso della nCPAP precoce e la riduzione della richiesta di  $FiO_2$  in seguito all'aumento della pressione media delle vie aeree, anche nei neonati con deficit di surfattante, influiscono sulla scelta della soglia ottimale di  $FiO_2$  [75].

Prevedere la carenza di surfattante prima che il neonato peggiori consentirebbe una terapia più precoce con surfattante nei neonati in CPAP e comporterebbe una minore necessità di ventilazione meccanica e risultati migliori [45].



#### **4. Lung Ultrasound Score**

Attualmente, l'ecografia polmonare rappresenta un'estensione dell'esame clinico [76] e il suo utilizzo è raccomandato per la valutazione dei neonati e dei bambini gravemente malati con Sindrome da Distress Respiratorio secondo le recenti linee guida della Società Europea di Terapia Intensiva Pediatrica e Neonatale (ESPNIC) [77].

Il Lung Ultrasound Score (LUS) nei neonati prematuri affetti da RDS ha dimostrato di essere in grado di quantificare la gravità della malattia polmonare e di predire in una fase più precoce la necessità di terapia di sostituzione del surfattante (SRT), senza apparentemente comportare un maggior numero complessivo di neonati trattati [78].

L'ecografia polmonare è una tecnica relativamente facile da apprendere con una curva di apprendimento rapida e meno impegnativa di altre tecniche di point-of-care ultra-sound (POCUS); inoltre, è veloce, riproducibile, eseguibile a letto e non ionizzante [77,79].

Sono stati proposti diversi score nella popolazione neonatale per prevedere la necessità di terapia sostitutiva del surfattante nei neonati prematuri affetti da RDS.

Di notevole importanza sono gli score di Brat et al. [80], Raimondi et al. [81] e Rodriguez-Fanjul et al. [82], che differiscono tra loro per la diversa suddivisione del polmone, mentre l'assegnazione di un punteggio in base alle evidenze ecografiche segue la classificazione proposta da Brat et al. [80].

La suddivisione in zone o partizionamento polmonare per i diversi punteggi è la seguente:

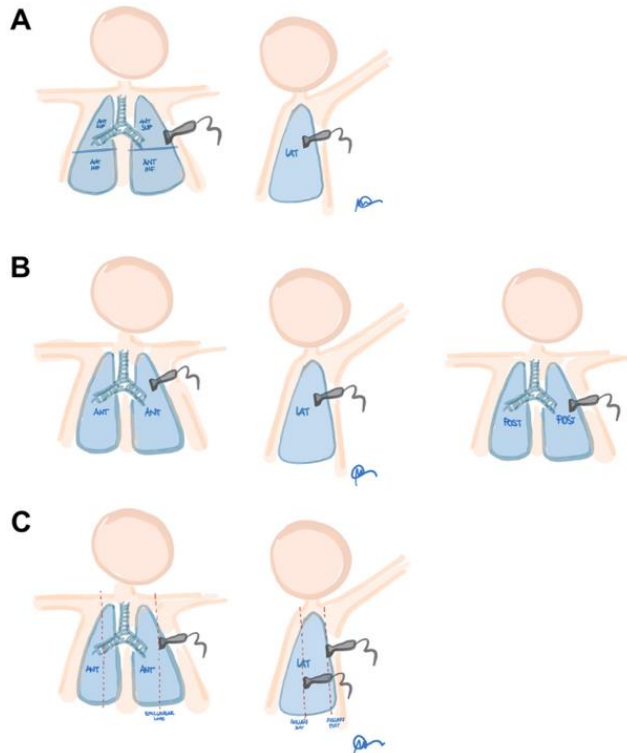


Figura 3 Diverse divisioni del torace dei LUS score proposti da: Brat et al. (A), Rodriguez-Fanjul et al (B), Raimondi et al. (C)

- Punteggio di Brat: zone antero-superiore, antero-inferiore e laterale, da valutare in entrambi gli emitoraci (figura A);
- Punteggio di Rodriguez-Fanjul: zone anteriore, laterale e posteriore, da valutare in entrambi gli emitoraci (figura B);
- Punteggio di Raimondi: zone bilaterali del torace lungo le linee medio-clavicolare, ascellare anteriore e ascellare posteriore, da valutare in entrambi gli emitoraci (figura C).

Il punteggio LUS viene calcolato eseguendo scansioni utilizzando una sonda lineare ad alta frequenza o micro-lineare, posizionando il fuoco a livello della linea pleurica [83]. Un punteggio da 0 a 3, come proposto da Brat et al. [80], viene assegnato a ciascuna area di scansione in base al profilo rilevato dall'ecografia e, in caso di diversi modelli di punteggio nella stessa area, viene assegnato il peggiore.

Il punteggio ecografico polmonare viene attribuito secondo i seguenti criteri:

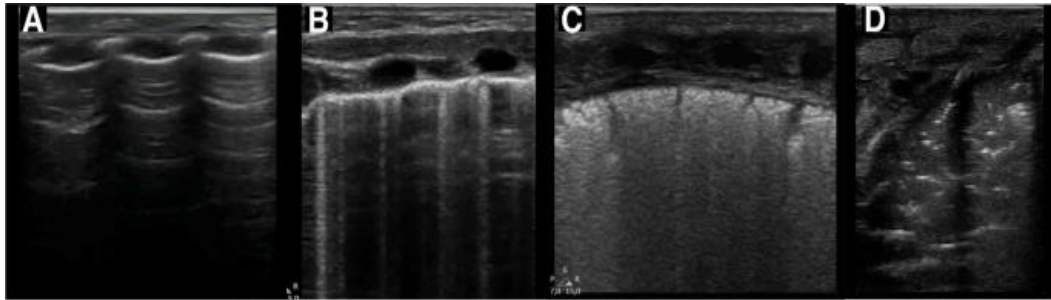


Figura 4 Punteggio ecografico polmonare per ciascuna area.

- 0, profilo A (definito dalla presenza solo di linee A; pannello A);
- 1, profilo B (definito dalla presenza di tre o più linee B, ben distanziate; pannello B);
- 2, profilo B grave (definito dalla presenza di linee B affollate e coalescenti con o senza consolidamenti limitati allo spazio subpleurico; pannello C);
- 3, consolidamento esteso (pannello D) [84].

Un recente studio, che ha confrontato i punteggi di Brat, Raimondi e Rodriguez-Fanjul, ha evidenziato che presentano caratteristiche simili e un'eccellente capacità nella predizione della necessità di terapia con surfattante esogeno. Il valore di soglia oltre il quale è indicata la somministrazione di surfattante differisce, però, a seconda del LUS utilizzato:  $> 8$  per Brat e Raimondi e  $> 10$  per Rodriguez-Fanjul [85].

Uno studio del 2015, che ha usato LUS in una popolazione neonatale generale composta sia da neonati a termine che prematuri, ha dimostrato che questo score è significativamente correlato agli indici di ossigenazione. Tali correlazioni sono state simili nei neonati con età gestazionale superiore o uguale a 34 settimane e nei neonati con età gestazionale inferiore a 34 settimane; quindi, può essere in grado di descrivere l'ossigenazione, indipendentemente dal tipo di condizione respiratoria o età gestazionale.

Al contrario, il LUS score mostra una variazione delle prestazioni diagnostiche nella previsione della necessità di somministrazione di surfattante a seconda dell'età gestazionale. Esso è molto affidabile solo per i neonati con età gestazionale

inferiore a 34 settimane con un potere predittivo massimo del 72%, molto probabilmente a causa dell'omogeneità di questo sottogruppo, composto esclusivamente da neonati affetti da RDS che vengono trattati con nCPAP fin dalla nascita [80].

Una metanalisi sui test diagnostici della RDS, estesa a quasi 700 pazienti neonati reclutati in 7 studi diversi, ha dimostrato che l'ecografia polmonare è una tecnica non invasiva in grado di predire accuratamente e precocemente la necessità della prima dose di surfattante. Anche se sono stati ottenuti risultati simili dagli studi inclusi, piccole differenze nei protocolli di scansione (ad esempio, nelle aree ecografiche prese in esame) hanno generato valori di cut-off di LUS score diversi; pertanto, c'è un urgente bisogno di sviluppare procedure di punteggio standardizzate [86].

## 5. TUS score

Il TUS score è un nuovo score polmonare ecografico semplificato, utile per la diagnosi di RDS e per la predizione di necessità di terapia con surfattante nel neonato pretermine.

Come già descritto, il LUS score viene determinato valutando, sia in proiezione longitudinale che trasversale, 6 zone polmonari (antero-superiore, antero-inferiore e laterale, 3 per ogni emitorace), come indicato da Brat et al. [80].

Le scansioni impiegate per il calcolo del TUS score sono solo 3 delle 6 sopracitate e sono collocate nei quadranti anteriori lungo la linea parasternale. Le scansioni vengono effettuate, sia in proiezione longitudinale che trasversale, in corrispondenza di apice e base del polmone destro e apice del polmone sinistro.

Per ogni zona vengono valutati i seguenti parametri:

- Colore del polmone (presenza di linee A e/o linee B) - Il polmone normale è caratterizzato dai riverberi della linea pleurica, chiamate linee A, e si presentano come linee artefattuali orizzontali.

Le linee B sono gli artefatti verticali, che originano da un punto della linea pleurica e si estendono lungo tutto il campo polmonare.

Nei neonati, fino alla trentaseiesima ora di vita, le linee B rappresentano un reperto fisiologico, in cui il polmone appare bianco-nero con almeno tre linee B per campo.

Le linee B acquisiscono significato patologico di interstiziopatia quando aumentano in numero e confluiscono a formare zone totalmente bianche, in cui le linee A non sono più evidenti (“polmone bianco”).

Nella RDS il quadro polmonare è omogeneo e l’interstiziopatia coinvolge tutti i campi indagati.

Viene assegnato un punteggio di:

- 0, se il polmone appare nero con presenza di linee A e sliding pleurico o con al massimo un numero di linee B inferiore a 3 per campo (“polmone nero”, riquadro A);
- 1, se nella scansione si rilevano sia linee A che linee B isolate (più di 3 per campo) o da zone di polmone a linee A e zone di polmone a linee B confluenti (“polmone bianco-nero, riquadro B);
- 2, se all’ecografia appaiono solo linee B confluenti (“polmone bianco”, riquadro C).

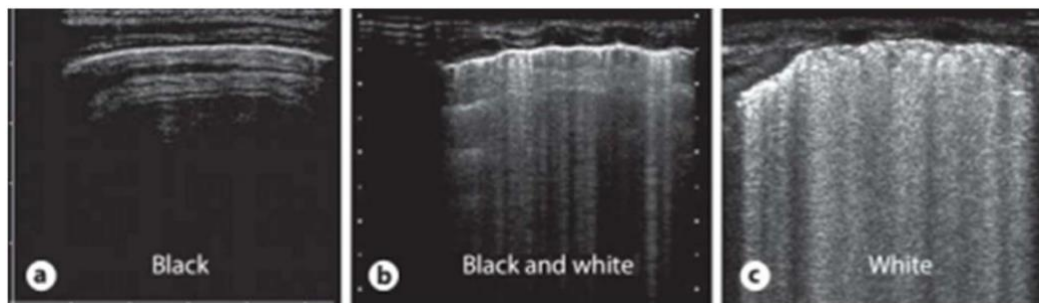


Figura 5 Colore del polmone: A “polmone nero”, B “polmone bianco-nero” e C “polmone bianco”.

- Presenza di alterazioni della linea pleurica - La linea pleurica si presenta normalmente iperecogena, sottile e a margini regolari.

Nella RDS, a causa dell’interstiziopatia e del deficit di surfattante, si presenta ispessita (con uno spessore maggiore o uguale a 1 mm) e a margini irregolari [87].

Viene assegnato un punteggio di:

- 0: se la linea appare di spessore normale (<1mm);
  - 1: se la linea appare ispessita (>1mm) in 3 punti diversi sulla stessa scansione.
- Presenza di atelettasie subpleuriche o consolidamenti - Nella RDS, a causa del collassamento alveolare, possono verificarsi atelettasie subpleuriche o consolidamenti alveolari più estesi associati a broncogrammi aerei o a “lung

pulse”. In corrispondenza delle varie forme di collassamento alveolare la linea pleurica si interrompe.

Viene assegnato un punteggio di:

- 0: in assenza di atelettasie o consolidamenti;
- 1: in presenza di atelettasie o consolidamenti.

Il punteggio complessivo del TUS score può variare da un minimo di 0 fino a un massimo di 12.

## Scopo dello studio

Il nostro studio si propone di validare il TUS score, un nuovo score polmonare ecografico semplificato, per la diagnosi di RDS e di valutarne la capacità predittiva per quanto riguarda la necessità di terapia con surfattante esogeno.

È noto che l'ormai consolidato LUS score al fine di valutare la necessità di somministrazione di surfattante permetta un trattamento precoce.

Il nuovo score potrebbe determinare un miglioramento nell'outcome dei pazienti in quanto consentirebbe un'esecuzione dell'ecografia toracica meno stressante, poiché prende in esame solo 3 aree polmonari, contro le 6 valutate per il calcolo del LUS score, tutte situate nei quadranti anteriori del torace e quindi in numero minore e più facilmente accessibili.

Un altro vantaggio del nuovo score potrebbe essere l'aumentata sensibilità e specificità nella valutazione della necessità di surfattante, in quanto viene valutato, tra le altre variabili, anche l'ispessimento della linea pleurica.

Gli obiettivi del nostro studio sono i seguenti:

1. Valutare la capacità predittiva del TUS score nel predire la necessità di somministrazione di surfattante;
2. Confrontare nel neonato l'accuratezza diagnostica del TUS score con quella del LUS score nel predire precocemente la necessità di somministrazione di surfattante definita dai parametri clinici ( $FiO_2 > 30\%$ ) secondo le linee guida europee del 2019 [88];
3. Valutare il valore di cut-off del TUS score per la somministrazione di terapia con surfattante;
4. Valutare il tempo che intercorre tra l'indicazione di somministrazione della terapia secondo gli score ecografici (TUS e LUS) e l'effettiva somministrazione della terapia secondo i criteri attuali.



## **Materiali e Metodi**

### **1. Disegno dello studio**

È stato condotto uno studio osservazionale, prospettico e multicentrico, in seguito ad approvazione da parte del Comitato Etico competente. Qui presentiamo solo i risultati sui pazienti padovani.

### **2. Popolazione generale**

Lo studio a Padova ha reclutato i pazienti nati tra il 07/08/2022 e il 28/12/2023, con Distress Respiratorio in epoca neonatale e ricoverati presso l'Unità di Terapia Intensiva Neonatale dell'Azienda Ospedaliera di Padova.

### **3. Dati rilevati**

Per tutti i neonati arruolati nello studio sono stati rilevati i seguenti parametri:

- Dati nosografici:
  - Nome e cognome;
  - Ora e data di nascita;
  - Età gestazionale;
  - Genere;
  - Adeguatezza peso/età gestazionale (AGA o SGA);
  - Peso in grammi.
- Dati gravidici:
  - Tipologia di gravidanza (singola o gemellare);
  - Tipo di parto (vaginale o taglio cesareo);
  - Problemi in gravidanza (es. pPROM, pre-eclampsia, infezione materna, diabete gestazionale, etc.);
  - Profilassi steroidea neonatale (non eseguita, non completa o completa);

- Indice di Apgar al 1° e al 5° minuto.
- Supporto ventilatorio:
  - Tipo di supporto (nCPAP o NIMV/NIV);
  - Valore PEEP;
  - Tipologia di interfaccia (PRONGS, mascherina o ram cannule);
  - FiO2 somministrata al momento della valutazione (necessaria per mantenere la SatO2 tra 90 e 94%);
  - SatO2 massima nell'ultima ora di vita;
  - Peripheral saturation/FiO2 ratio (S/F);
  - Oxygenation/saturation index (OSI) = pressione media delle vie aeree (MAP) x FiO2 x 100 /SatO2;
  - Silverman score al momento della valutazione.

Score di Silverman e Andersen per la valutazione del distress respiratorio nel neonato			
Parametro	0 punti	1 punto	2 punti
Retrazione toracica	sincrona	minima depressione, l'addome si espande	movimento ondoso
Retrazioni intercostali	assenti	appena visibili	marcate
Retrazione al giugulo	assente	appena visibile	marcata
Alitamento delle pinne nasali	assente	appena visibile	marcato
Gemito espiratorio	assente	udibile con fonendoscopio	udibile con le orecchie

Figura 6 Silverman score

- Ecografia toracica:
  - Ore di vita al momento della valutazione;
  - Prima valutazione del TUS score calcolato per ognuna delle 3 aree valutando colore, ispessimento della linea pleurica superiore ad 1 mm in 3 punti e presenza di atelettasie/consolidamenti;
  - TUS score totale, usando un cut-off pari a nove per diagnosi di RDS con necessità di somministrazione di surfattante;
  - Tempo impiegato per la misurazione del TUS (in minuti);
  - LUS score corrispondente al TUS score calcolato;
  - Tempo impiegato per la misurazione del LUS (in minuti);

- Seconda valutazione del TUS score, da eseguire nel caso in cui la prima valutazione risulti negativa ma il quadro clinico rimanga suggestivo.
- Surfattante e supporto ventilatorio:
  - Somministrazione di surfattante (sì o no);
  - Se eseguito, a che ora di vita;
  - Se somministrato, con quale modalità (MV, LISA o INSURE);
  - Ora di vita in cui viene eseguita un'eventuale seconda somministrazione di surfattante.

#### 4. Ecografia Polmonare

Le ecografie polmonari sono state eseguite mediante sonda microlineare 13MHz SonoSite SII Fujifilm (Giappone).

Entro la terza ora di vita è stata eseguita una prima indagine ecografica sulle 6 zone polmonari, registrando l'ora di vita al momento della valutazione.

Le scansioni sono state usate per il calcolo del LUS score (6 scansioni) e del TUS score (3 scansioni), tenendo conto dei tempi di esecuzione per valutare il tempo complessivo impiegato per la misurazione del LUS score e del TUS score.

Sono stati registrati i risultati di entrambi gli scores polmonari, mentre per il TUS score sono stati registrati anche i singoli valori per area indagata.

A	Colore	0 (nero)	1 (bianco/nero)	2 (bianco)
B	Linea pleurica ispessita >1mm in 3 punti	0 (lineare)	1 (ispessita)	
C	Atelettasie/consolidamenti	0 (assenti)	1 (presenti)	

*Figura 4 Parametri valutati per area indagata nel calcolo del TUS score*

È stata eseguita una seconda ed ultima valutazione ecografica nei neonati in cui la prima indagine ecografica è risultata negativa ma il quadro clinico rimaneva suggestivo, tenendo nuovamente conto di tutte le informazioni sopracitate.

## **5. Somministrazione di surfattante**

I pazienti per i quali era indicata la terapia con surfattante sono stati trattati con Poractant alfa (Curosurf ®).

Sono stati registrati l'ora di vita in cui è stata eseguita una prima somministrazione, la modalità con la quale è avvenuta e l'ora di vita in cui è stata eseguita una eventuale seconda somministrazione.

## **6. Analisi statistica**

L'analisi statistica è stata svolta mediante il software SPSS IBM 28.0.1.

È stato eseguito uno studio descrittivo del campione e dei sottogruppi analizzando le variabili raccolte in fase anamnestica e sono stati ottenuti:

- I valori minimi, massimi e medi e le deviazioni standard per le variabili continue distribuite in modo normale;
- La mediana e la distanza interquartile per le variabili continue distribuite in modo non normale;
- Le distribuzioni per frequenza per le variabili categoriali.

Tramite il test t per campioni indipendenti sono stati valutati i valori di cut-off di LUS score e TUS score oltre i quali il trattamento con surfattante era indicato, confrontando le medie e le relative deviazioni standard e valutandone la significatività tramite p-value. Successivamente alla scelta del cut-off per il TUS score, è stata testata la differenza tra le curve ROC, le sensibilità e le specificità dei due scores.

Tramite il test t a campioni accoppiati sono state ricavate le medie, le deviazioni standard e le correlazioni sul tempo impiegato per ottenere il TUS score e il LUS score, oggettivandone la significatività tramite P bilaterale.

Sulle variabili ottenute dai soggetti per i quali era indicata la terapia con surfattante è stata condotta un'analisi sui tempi intercorsi tra la prima valutazione ecografica e l'effettiva somministrazione della terapia, tramite test t a campioni accoppiati, ed è stata valutata la correlazione tra i punteggi del TUS score e del LUS score raccolti alla valutazione ecografica.

È stata utilizzata l'analisi Receiver Operating Characteristic (ROC) per valutare la capacità dei punteggi TUS e LUS di prevedere la somministrazione di surfattante. Sono state riportate le aree sotto le curve (AUC) e sono stati selezionati i valori di cut-off che minimizzavano la probabilità di riscontrare falsi positivi e falsi negativi, sulla base delle curve ROC di TUS score e LUS score valutando le differenze delle AUC.

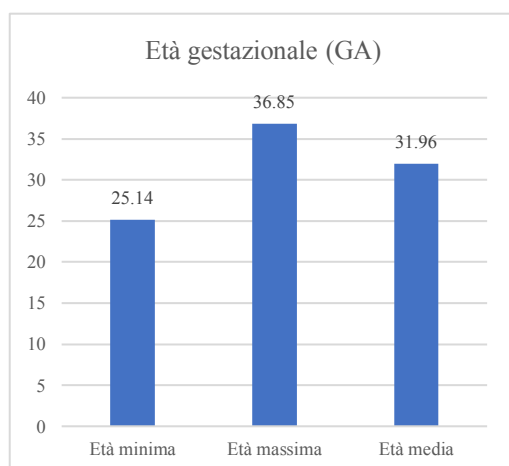
## Risultati

### 1. Analisi delle frequenze

Nello studio sono stati reclutati 44 pazienti, così suddivisi:

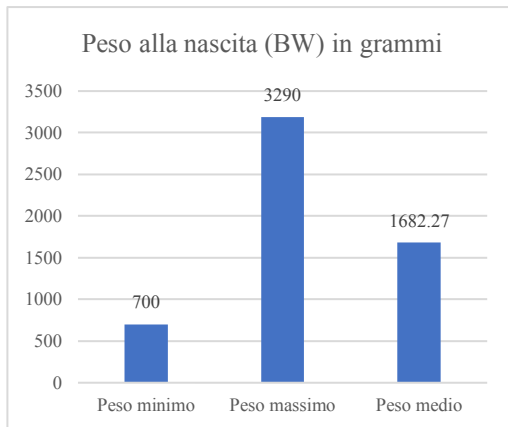
- 28 maschi (63,6%) e 16 femmine (36,4%);
- 16 nati da gravidanze gemellari (36,4%) e 28 da gravidanze singole (63,6%);
- 38 nati tramite taglio cesareo (86,4%) e 6 tramite parto vaginale (13,6%);
- 38 AGA o adequate for gestational age (86,5%) e 6 SGA o small for gestational age (13,6%);
- 6 (13,6%) non avevano eseguito la profilassi steroidea, 5 (11,4%) avevano eseguito ma non completato la profilassi steroidea e 33 (75%) avevano eseguito profilassi steroidea completa;
- 21 sono stati trattati con surfattante (47,7%) e 23 non sono trattati con surfattante (52,3%).

### 2. Analisi delle medie



Sul totale dei pazienti reclutati nello studio i dati rilevati riguardo l'età gestazionale (GA, espressa in settimane e i giorni in decimali) sono stati:

- Un valore minimo di 25,14;
- Un valore massimo di 36,85;
- Una media di 31,96 (deviazione standard 2,7).



Riguardo il peso alla nascita (in grammi) sono stati rilevati:

- Un valore minimo di 700;
- Un valore massimo di 3290;
- Una media di 1682,27 (deviazione standard 583,7).

Nei pazienti in supporto ventilatorio sono stati rilevati i seguenti valori di pressione positiva di fine espirazione:

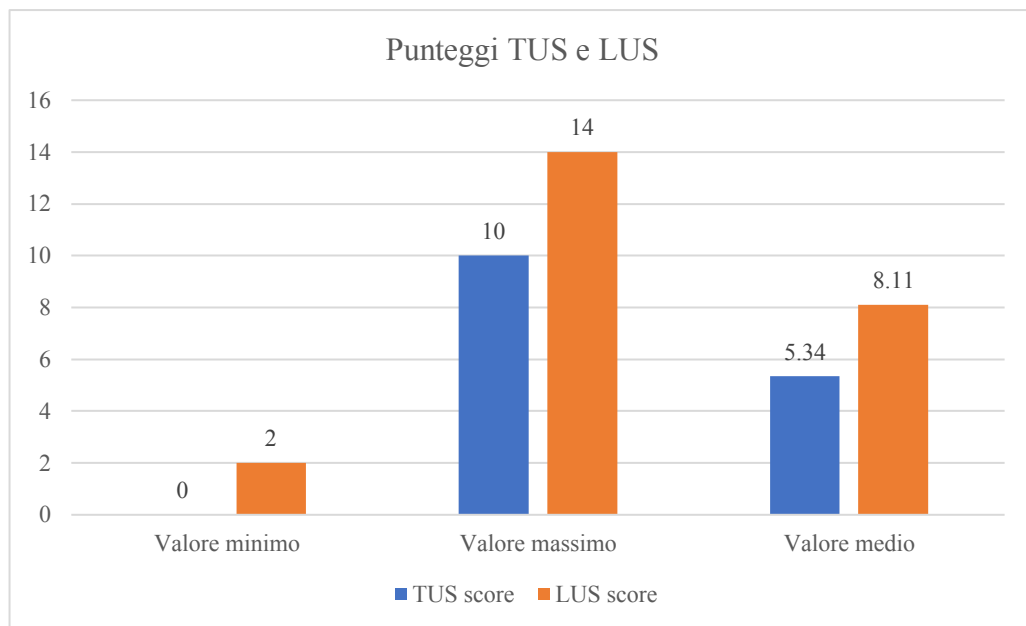
- PEEP minima = 0;
- PEEP massima = 8;
- PEEP media = 6 (deviazione standard 1,02).

Sono stati registrati i valori di FiO<sub>2</sub> somministrata al momento della valutazione e necessaria per mantenere una saturazione di ossigeno tra 90 e 94%, con i seguenti risultati:

- FiO<sub>2</sub> minima = 21%;
- FiO<sub>2</sub> massima = 28%;
- FiO<sub>2</sub> media = 22,73% (deviazione standard 2,37%).

Sono stati rilevati i seguenti valori di saturazione massima di ossigeno (SatO<sub>2</sub> max) nell'ultima ora di vita:

- Valore minimo = 91%;
- Valore massimo = 100%;
- Valore medio = 94,9% (deviazione standard 2,58).



Sono stati calcolati i seguenti punteggi di LUS score:

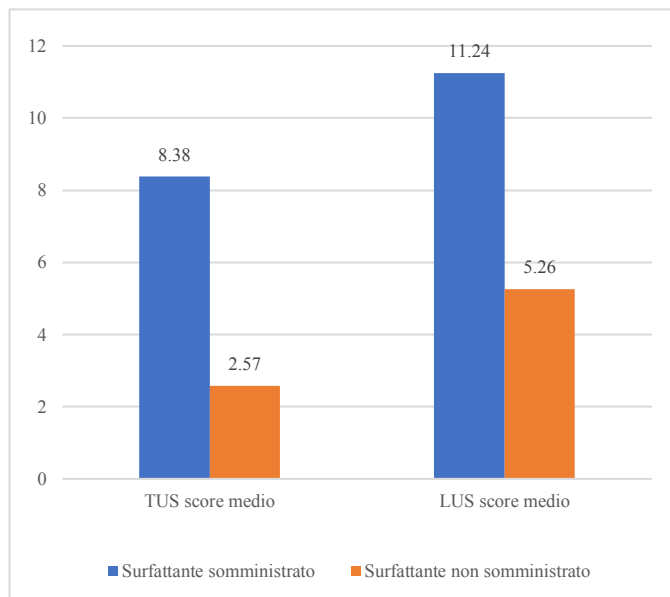
- LUS score minimo = 2;
- LUS score massimo = 14;
- LUS score medio = 8,11 (deviazione standard 3,9).

Sono stati calcolati infine i seguenti punteggi di TUS score:

- TUS score minimo = 0;
- TUS score massimo = 10;
- TUS score medio = 5,34 (deviazione standard 3,5).



### 3. Confronto tra TUS score e LUS score e Somministrazione di surfattante



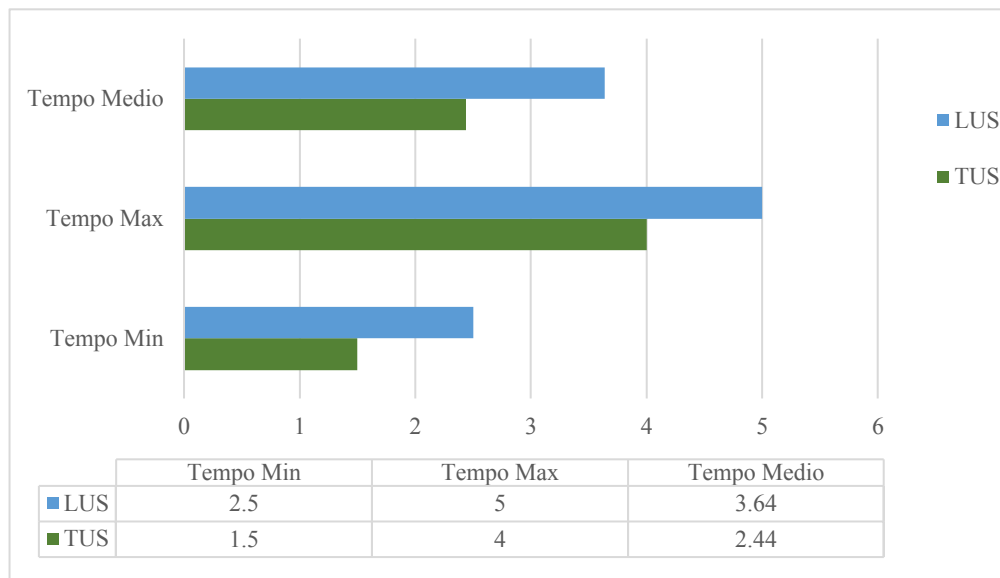
I 21 pazienti che sono stati trattati con surfattante presentavano i seguenti punteggi:

- TUS score medio pari a 8,38 (deviazione standard 2,37);
- LUS score medio pari a 11,24 (deviazione standard 2,48).

I 23 pazienti che non hanno ricevuto il trattamento presentavano i seguenti punteggi:

- TUS score medio pari a 2,57 (deviazione standard 1,62);
- LUS score medio pari a 5,26 (deviazione standard 2,5).

#### 4. Confronto dei tempi per la misurazione del TUS score e del LUS score



Attraverso il test t a campioni accoppiati è stato ottenuto il tempo medio di calcolo degli scores TUS e LUS.

Per il LUS score sono stati rilevati:

- Un tempo minimo di 2,5 minuti;
- Un tempo massimo di 5 minuti;
- Un tempo medio di 3,64 minuti (deviazione standard 0,61).

Per il TUS score sono stati rilevati:

- Un tempo minimo di 1,5 minuti;
- Un tempo massimo di 4 minuti;
- Un tempo medio di circa 2,44 minuti (deviazione standard 0,57).

La correlazione dei campioni accoppiati è pari a 0,8 con una significatività espressa dal valore di P bilaterale inferiore a 0,001.

La media dei tempi impiegati per la misurazione dei due scores ricavata dal test sui campioni accoppiati è pari a -1,2 con deviazione standard di 0,38 e P bilaterale inferiore a 0,001.

## **5. Confronto Ora Ecografia Toracica e Ora di Somministrazione del surfattante**

Sui 21 pazienti trattati con surfattante è stato calcolato il tempo intercorso tra l'ora di vita al momento della prima valutazione ecografica e l'ora di vita in cui è stata effettivamente somministrata la terapia.

Le statistiche sui campioni accoppiati hanno riportato i seguenti risultati:

- In media l'ecografia toracica è stata svolta a 2,18 ore di vita (deviazione standard 0,55);
- In media il surfattante è stato somministrato a 7,48 ore di vita (deviazione standard 6,6).

Queste variabili presentavano una correlazione pari a 0,436 con significatività P bilaterale di 0,48, pertanto non vi è correlazione significativa.

Le differenze accoppiate tra l'ora di vita al momento dell'ecografia toracica e l'ora di vita in cui è stata somministrata la terapia presentavano un valore medio di - 5,3 ore (deviazione standard 6,6) con alta significatività (P bilaterale 0,001).

## **6. Curva ROC TUS score e LUS score**

È stata calcolata la curva ROC per mettere in relazione la sensibilità e la specificità del TUS score e del LUS score al variare del valore di cut-off.

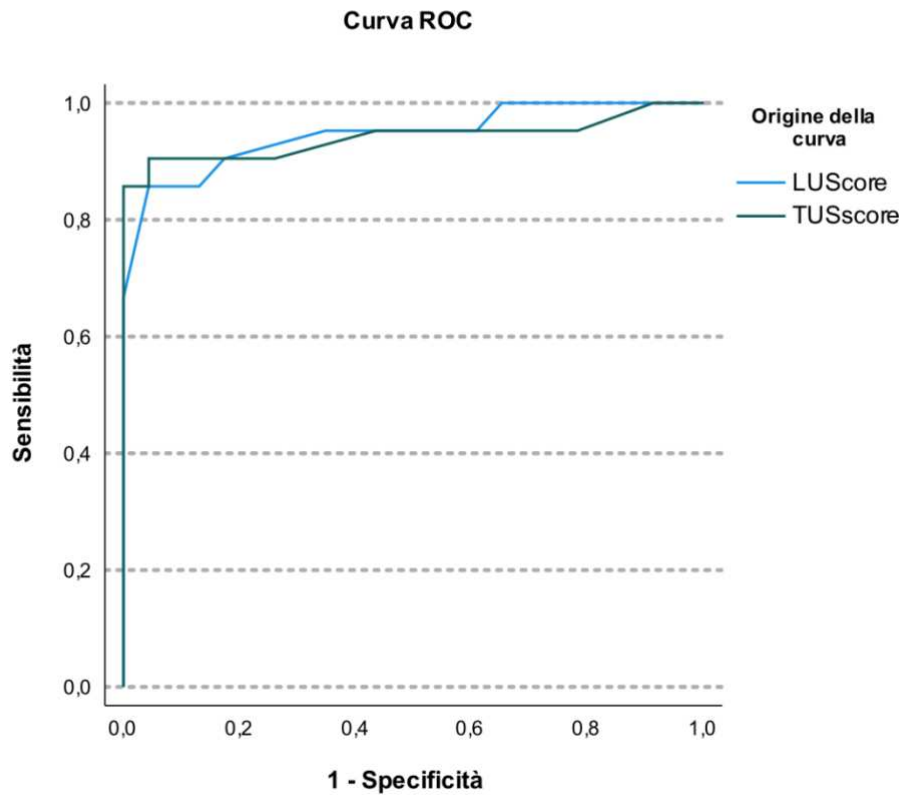


Figura 8 Curva ROC TUS score e LUS score

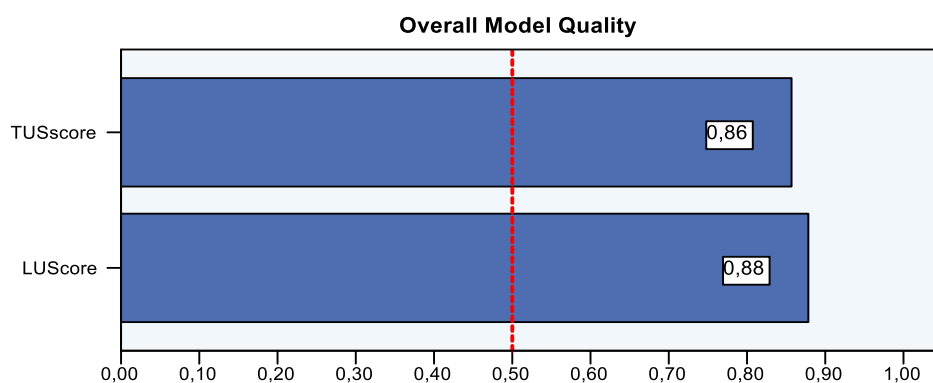
### 6.1. Area sotto la curva ROC

Nella tabella sottostante sono riportati i dati dell'area sotto la curva ROC.

Variabili del risultato del test	Area	Errore standard (in base all'ipotesi non parametrica)	Significatività asintotica (ipotesi nulla: true, area = 0,5)	Intervallo di confidenza asintotica 95%, limite inferiore	Intervallo di confidenza asintotica 95%, limite superiore
TUS score	,941	,043	,000	,857	1,025
LUS score	,946	,035	,000	,878	1,014

Variabili del risultato del test: TUS score e LUS score hanno almeno una correlazione tra il gruppo di stati effettivi positivi e il gruppo di stati effettivi negativi.

È risultata una buona qualità complessiva del modello in quanto presenta un valore superiore a 0,5 e pari 0,86 per il TUS score e 0,88 per il LUS score.



## 6.2. Coordinate delle curve ROC

Nella tabella sottostante sono riportate le coordinate delle curve ROC.

Variabile/i del risultato del test	Positivo se maggiore di o uguale a <sup>a</sup>	Sensibilità	1 – Specificità
TUS score	-1,00	1,000	1,000
	,50	1,000	,913
	1,50	,952	,783
	2,50	,952	,435
	3,50	,905	,261
	4,50	,905	,087
	5,50	,905	,043
	6,50	,857	,043
	7,50	,857	,000
	8,50	,714	,000

	9,50	,286	,000
	10,50	,048	,000
	12,00	,000	,000
LUS score	,00	1,000	1,000
	1,50	1,000	,957
	2,50	1,000	,870
	3,50	1,000	,652
	4,50	,952	,609
	5,50	,952	,478
	6,50	,952	,348
	7,50	,905	,174
	8,50	,857	,130
	9,50	,857	,043
	11,00	,667	,000
	12,50	,286	,000
	13,50	,143	,000
	15,00	,000	,000
<p>Variabili del risultato del test: TUS score e LUS score hanno almeno una correlazione tra il gruppo di stati effettivi positivi e il gruppo di stati effettivi negativi.</p> <p>a. Il valore di interruzione più piccolo è il valore di test osservato minimo meno 1 e il valore di interruzione più grande è il valore di test osservato massimo più 1. Tutti gli altri valori di interruzione sono le medie di due valori di test osservati ordinati consecutivi.</p>			

Esaminando le curve ROC di TUS score e LUS score, sono stati selezionati, con una sensibilità pari a circa l'86% in entrambi i casi, i seguenti valori di cut-off:

- 8 per il TUS score;
- 10 per il LUS score.

Questi valori presentavano la migliore sensibilità, cioè un'alta probabilità di trovare un "vero positivo", permettendo così di classificare correttamente i soggetti malati che necessitavano di terapia con surfattante, associata a:

- Un tasso di errore falso positivo pari a 0, nel caso del TUS score;
- Un tasso di errore falso positivo di 0.043, nel caso del LUS score.

### 6.3. Confronto tra curve ROC di TUS score e LUS score

Come visto sopra, le aree sotto la curva ROC sono risultate pari a:

- 0,941 per il TUS score;
- 0,946 per il LUS score.

La differenza dell'area campione accoppiato sotto le curve ROC presentava i valori riportati nella tabella sottostante.

	Asintotico				Intervallo di confidenza asintotica 95%	
Coppie del risultato del test	z	Significatività (a 2 code) <sup>a</sup>	Differenza AUC	Differenza errore standard <sup>b</sup>	Limite inferiore	Limite superiore
TUS score – LUS score	-,353	,724	-,005	,274	-,034	,024
a. Ipotesi nulla: differenza area reale = 0 b. In base all'ipotesi non parametrica						

Esaminando tali valori sono state confrontate le curve ROC.

La differenza dell'area sotto la curva tra TUS score e LUS score è pari a -0,005 con una differenza di errore standard di 0,274. Da questi risultati si evince che le curve ROC di TUS e LUS score non mostrano differenze significative.

## **Discussione**

La somministrazione intratracheale di surfattante esogeno è salvavita per i neonati affetti da Sindrome da Distress Respiratorio e negli ultimi anni si è assistito a grandi miglioramenti nelle tecniche di somministrazione e nel predirne la necessità.

Inizialmente la somministrazione di surfattante era attuata mediante tubo endotracheale (ETT), seguito da ventilazione a pressione positiva per favorirne la distribuzione nelle vie aeree distali. Oltre ad essere tecnicamente impegnativa, questa procedura richiedeva spesso tentativi multipli di posizionamento dell'ETT e ciò poteva essere molto stressante per il neonato [89].

Successivamente sono stati introdotti metodi alternativi di somministrazione, come l'INSURE (INTubation-SURfactant-Extubation), al fine di ridurre al minimo la durata dell'intubazione, ma si è visto che anche brevi periodi di ventilazione a pressione positiva in un polmone fragile e carente di surfattante possono esitare in lesioni polmonari [90].

Gli steroidi antenatali, la pressione positiva continua nelle vie aeree (CPAP) postnatale e il parto stesso stimolano la produzione e il rilascio di surfattante endogeno, anche nei neonati estremamente prematuri [91]. La CPAP offre inoltre il beneficio aggiuntivo di stabilizzare il polmone carente di surfattante e supportare i neonati fin quando il loro sistema naturale di surfattante si attiva, solitamente entro il secondo o terzo giorno postnatale. Per questi motivi attualmente l'impiego della CPAP immediatamente dopo il parto, con successiva somministrazione selettiva di surfattante, è un approccio migliore rispetto all'intubazione e alla somministrazione (anche tramite INSURE) di surfattante nella gestione iniziale dei neonati prematuri ad alto rischio di sviluppare la RDS [92].

Recentemente sono stati studiati e introdotti nuovi approcci meno invasivi per la somministrazione di surfattante, i quali si servono di un catetere di piccolo calibro inserito tra le corde vocali durante la respirazione spontanea mediante laringoscopia diretta. Queste tecniche, definite come somministrazione di surfattante meno invasiva (LISA) o terapia di surfattante minimamente invasiva (MIST), rispetto a



INSURE, sono associate ad una minore necessità di ventilazione meccanica successiva e ad una riduzione dell'outcome, composto da morte o displasia broncopolmonare (BPD) a 36 settimane [93].

L'uso precoce di surfattante ha dimostrato di migliorare efficacemente il distress respiratorio neonatale e di ridurre la mortalità e le morbidità associate se somministrato entro le prime tre ore dalla nascita in quanto è in grado di favorire una migliore prognosi nei neonati che presentano sintomatologia di Sindrome da Distress Respiratorio [71]. Tuttavia, poiché anche i neonati con tachipnea transitoria del neonato (TTN) possono manifestare gli stessi sintomi ma non necessitare di tale terapia, le linee guida cliniche e il consenso degli esperti hanno aggiunto, nella determinazione della necessità di surfattante, l'uso dei parametri della ventilazione, quali un valore di  $FiO_2 > 0,30$  come soglia di dosaggio per tutti i neonati con RDS diagnosticata clinicamente e una CPAP maggiore o uguale a 6 cmH<sub>2</sub>O [88,94]. Nonostante ciò, questi parametri non sono in grado di riprodurre completamente l'entità della carenza di surfattante e sono ampiamente influenzati dal tipo di supporto respiratorio e dal grado di ossigenazione e questo può portare ad un uso non necessario di surfattante o a perdere il momento ottimale per la sua somministrazione [95].

Grazie alle sue caratteristiche di tempestività, convenienza e assenza di radiazioni, l'ecografia polmonare ha guadagnato ampia applicazione nell'ambito neonatale negli ultimi anni e due metanalisi condotte nel 2020 hanno dimostrato che l'ecografia polmonare ha sensibilità e specificità relativamente elevate nella diagnosi di RDS neonatale e può sostituire la radiografia toracica come misura diagnostica [96,97].

Liu et al. hanno definito il miglior approccio per l'indagine strumentale e la configurazione dei parametri dell'ecografia polmonare, migliorandone ulteriormente l'accuratezza e l'affidabilità [98]; ma, poiché la valutazione qualitativa mediante ecografia, è soggettiva e l'utilizzo della sola ecografia come mezzo di diagnosi non può massimizzare il suo ruolo nella valutazione dell'ossigenazione polmonare, Brat et al. [80] hanno ideato il LUS score al fine di

ottenere una semiquantificazione della patologia tramite ecografia, mentre altri studi hanno usato la distribuzione di linee A e B per classificare le immagini ottenute tramite l'ecografia [99,100].

Diversi studi hanno confermato l'importanza del LUS nel predire la necessità di somministrazione di surfattante [101-110,42,82], anche se il valore di cut-off è stato selezionato in modo non uniforme in base all'età gestazionale [80] o all'ora di vita al momento dell'esecuzione dell'ecografia polmonare [107].

In questo studio abbiamo analizzato i dati raccolti dai neonati con Sindrome da Distress Respiratorio ricoverati presso l'UTIN di Padova per valutare l'attendibilità del TUS score, un nuovo score polmonare ecografico per la predizione della necessità di somministrazione di surfattante in questi pazienti.

Il TUS score si avvale di un'esecuzione ecografica più veloce, facile da apprendere e da eseguire per l'operatore e meno stressante per il neonato in quanto esamina solo tre delle sei aree valutate dal LUS score, tenendo in considerazione, insieme alle altre variabili (linee A e/o B e atelettasie o consolidamenti), anche l'ispessimento della linea pleurica, segno caratteristico di tale patologia, al fine di aumentare la sensibilità e la specificità di tale procedura.

In questo studio 21 pazienti hanno ricevuto la terapia con surfattante esogeno su un totale di 44 pazienti reclutati, e i valori registrati nella sottopopolazione di pazienti trattati sono stati i seguenti:

- TUS score medio di 8,38 (deviazione standard 2,37);
- LUS score medio di 11,24 (deviazione standard 2,48).

I 23 pazienti che non sono stati trattati con surfattante presentavano invece i seguenti valori:

- TUS score medio di 2,57 (deviazione standard 1,62);
- LUS score medio di 5,26 (deviazione standard 2,5).

Sono stati confrontati i tempi impiegati per la misurazione dei due scores e sono stati necessari un tempo medio di 2,44 minuti per calcolare il TUS score ed un tempo medio di 3,64 minuti per calcolare il LUS score; la media della differenza dei tempi impiegati per la misurazione dei due scores ricavata è pari a -1,2 minuti (deviazione standard 0,38 e P bilaterale < 0,001), pertanto il TUS score è stato calcolato con un esiguo vantaggio temporale.

È stato determinato il tempo medio intercorso tra l'ora di vita al momento della prima valutazione ecografica e l'ora di vita in cui è stata somministrato il surfattante nei 21 neonati trattati e, dai dati rilevati, è emerso che in media l'ecografia toracica è stata svolta a 2,18 ore di vita (deviazione standard di 0,55) e il surfattante è stato somministrato a 7,48 ore di vita (deviazione standard 6,6).

Le differenze accoppiate tra i valori sopra riportati presentavano un valore medio di - 5,3 ore (deviazione standard 6,6) con alta significatività (P bilaterale 0,001). L'impiego del TUS score avrebbe permesso una somministrazione più precoce di surfattante e anche questo risultato è in accordo con la revisione della Cochrane Library, in quanto la somministrazione precoce selettiva di surfattante nei neonati con RDS che richiedono ventilazione assistita porta ad una diminuzione del rischio di lesioni polmonari acute, come pneumotorace ed enfisema polmonare interstiziale, e ad una diminuzione del rischio di mortalità neonatale e malattia polmonare cronica rispetto al ritardo nel trattamento di tali neonati fin quando non sviluppano un peggioramento della RDS [71].

Valutando la curva ROC del TUS score è stato selezionato il valore ottimale di cut-off del TUS score in termini di sensibilità e specificità per la somministrazione di terapia sostitutiva con surfattante, in quanto un livello di soglia con specificità e sensibilità elevate consente di distinguere i neonati che necessitano di terapia precoce, molto più efficace di una somministrazione tardiva [71], da quelli a rischio di una somministrazione non necessaria che, oltre ad essere invasiva, sembra aumentare l'infiammazione polmonare in modelli animali [111].

Sulla base dei dati rilevati sono stati selezionati come cut-off per la somministrazione di surfattante i seguenti valori:

- 8 per il TUS score, associato ad una percentuale di veri positivi (sensibilità) dell'86% e ad una percentuale di falsi positivi (1 – specificità) dello 0%;
- 10 per il LUS score, associato ad una percentuale di veri positivi (sensibilità) dell'86% e ad una percentuale di falsi positivi (1 – specificità) del 4,3%.

TUS score e LUS score non presentano differenze significative in quanto le AUC sono risultate pari a 0,941 per il TUS score e 0,946 per il LUS score; quindi, la differenza delle AUC dei due punteggi è pari a -0,005 (differenza di errore standard di 0,274).

Questo risultato ci consente di dire che, a parità di sensibilità (86%), il TUS score mostra un'elevata capacità di identificazione dei soggetti malati e una percentuale nulla di falsi positivi, cioè soggetti sani che risultano positivi al test, diversamente dal LUS score che presenta una piccola percentuale di falsi positivi (4,3%), anche se tali differenze sulla base del confronto tra ROC curve non appaiono significative.

Questi valori cut-off si avvicinano molto a quelli dei precedenti studi svolti da:

- Brat et. Al, che fornisce indicazione di somministrazione di surfattante ad un valore di cut-off pari a 8 di LUS score;
- Rodriguez-Fanjul et al., che indica per il LUS score un valore di cut-off di 10;
- De Martino et al. [103], che sposta la soglia ad un valore compreso tra 6 e 8, associato a sensibilità e specificità ottimali per predire la necessità della prima dose di surfattante, e un valore di cut-off di 10 per predire la necessità di una seconda somministrazione.

Il nostro studio non ha permesso però di valutare dei valori soglia per la predizione di necessità di un secondo trattamento in quanto solo 3 dei 21 pazienti ha ricevuto una seconda somministrazione; pertanto, non è stato possibile fare le nostre valutazioni per insufficiente numerosità campionaria.

## **Conclusione**

In conclusione, il nostro studio ha permesso di verificare la validità del TUS score per la diagnosi di Sindrome da Distress Respiratorio e di valutarne la capacità predittiva per quanto riguarda la necessità di terapia con surfattante esogeno.

È stato riscontrato, confrontando l'accuratezza diagnostica del TUS score con quella del LUS score nel predire precocemente la necessità di somministrazione di surfattante nel neonato, che il TUS score mostra un'elevata sensibilità e specificità, ed è stato scelto 8 come valore di cut-off.

È stato valutato il tempo intercorso tra l'indicazione di somministrazione della terapia secondo gli score ecografici (TUS e LUS) e l'effettiva somministrazione della terapia secondo i criteri attuali ed è emerso che l'impiego del TUS score avrebbe permesso una somministrazione più precoce di surfattante.

## Bibliografia

- [1] Avery ME, Mead J. Surface properties in relation to atelectasis and hyaline membrane disease. *AMA Journal of Diseases of Children* 1959;97 (5, Part1):517-23. doi: 10.1001/archpedi.1959.02070010519001.
- [2] Richard Martin, MD. Respiratory distress syndrome (RDS) in the newborn: Clinical features and diagnosis. In: UpToDate, Connor RF (Ed), Wolters Kluwer. Accessed 2023.
- [3] Jobe AH. Lung Development and maturation. In: Neonatal-Perinatal Medicine, 9th ed, Martin RJ, Fanaroff AA, Walsh MC (Eds), Elsevier Mosby, St Louis 2010. Vol 2, p.1075.
- [4] Schmitz G, Müller G. Structure and function of lamellar bodies, lipid-protein complexes involved in storage and secretion of cellular lipids. *J Lipid Res.* 1991 Oct;32(10):1539-70.
- [5] Frank L, Sosenko IR. Development of lung antioxidant enzyme system in late gestation: possible implications for the prematurely born infant. *J Pediatr.* 1987 Jan;110(1):9-14. doi: 10.1016/s0022-3476(87)80279-2.
- [6] Nogee LM, Garnier G, Dietz HC, Singer L, Murphy AM, deMello DE, Colten HR. A mutation in the surfactant protein B gene responsible for fatal neonatal respiratory disease in multiple kindreds. *J Clin Invest.* 1994 Apr;93(4):1860-3. doi: 10.1172/JCI117173.
- [7] Nogee LM, Dunbar AE 3rd, Wert SE, Askin F, Hamvas A, Whitsett JA. A mutation in the surfactant protein C gene associated with familial interstitial lung disease. *N Engl J Med.* 2001 Feb 22;344(8):573-9. doi: 10.1056/NEJM200102223440805.

- [8] Shulenin S, Noguee LM, Annilo T, Wert SE, Whitsett JA, Dean M. ABCA3 gene mutations in newborns with fatal surfactant deficiency. *N Engl J Med.* 2004 Mar 25;350(13):1296-303. doi: 10.1056/NEJMoa032178.
- [9] Somaschini M, Noguee LM, Sassi I, Danhaive O, Presi S, Boldrini R, Montrasio C, Ferrari M, Wert SE, Carrera P. Unexplained neonatal respiratory distress due to congenital surfactant deficiency. *J Pediatr.* 2007 Jun;150(6):649-53, 653.e1. doi: 10.1016/j.jpeds.2007.03.008.
- [10] Wert SE, Whitsett JA, Noguee LM. Genetic disorders of surfactant dysfunction. *Pediatr Dev Pathol.* 2009 Jul-Aug;12(4):253-74. DOI: 10.2350/09-01-0586.1.
- [11] Jobe AH, Ikegami M. Biology of surfactant. *Clin Perinatol.* 2001 Sep;28(3):655-69, vii-viii. doi: 10.1016/s0095-5108(05)70111-1.
- [12] Halliday HL. Surfactants: past, present and future. *Journal of Perinatology* 2008;28(Suppl 1):S47-56. doi: 10.1038/jp.2008.50.
- [13] Verder H, Ebbeses F, Brandt J, Dahl M, Esberg G, Eschen C, et al, Danish-Swedish Multicenter Study Group for Surfactant Replacement. Lamellar body counts on gastric aspirates for prediction of respiratory distress syndrome. *Acta Paediatrica* 2011;100(2):175-80. doi: 10.1111/j.1651-2227.2010.02010.x.
- [14] Verlato G, Cogo PE, Balzani M, Gucciardi A, Burattini I, De Benedictis F, Martiri G, Carnielli VP. Surfactant status in preterm neonates recovering from respiratory distress syndrome. *Pediatrics.* 2008 Jul;122(1):102-8. doi: 10.1542/peds.2007-1021.

- [15] Men-Jean Lee, MD. Debra Guinn, MD, FACOG. Antenatal corticosteroid therapy for reduction of neonatal respiratory morbidity and mortality from preterm delivery. In: UpToDate, Connor RF (Ed), Wolters Kluwer. Accessed 2023.
- [16] Carlton DP, Albertine KH, Cho SC, Lont M, Bland RD. Role of neutrophils in lung vascular injury and edema after premature birth in lambs. *J Appl Physiol* (1985). 1997 Oct;83(4):1307-17. doi: 10.1152/jappl.1997.83.4.1307.
- [17] Clark RH, Gerstmann DR, Jobe AH, Moffitt ST, Slutsky AS, Yoder BA. Lung injury in neonates: causes, strategies for prevention, and long-term consequences. *J Pediatr*. 2001 Oct;139(4):478-86. doi: 10.1067/mpd.2001.118201.
- [18] Naik AS, Kallapur SG, Bachurski CJ, Jobe AH, Michna J, Kramer BW, Ikegami M. Effects of ventilation with different positive end-expiratory pressures on cytokine expression in the preterm lamb lung. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Aug 1;164(3):494-8. doi: 10.1164/ajrccm.164.3.2010127.
- [19] Brus F, van Oeveren W, Okken A, Oetomo SB. Number and activation of circulating polymorphonuclear leukocytes and platelets are associated with neonatal respiratory distress syndrome severity. *Pediatrics*. 1997 May;99(5):672-80. doi: 10.1542/peds.99.5.672.
- [20] Turunen R, Nupponen I, Siitonen S, Repo H, Andersson S. Onset of mechanical ventilation is associated with rapid activation of circulating phagocytes in preterm infants. *Pediatrics*. 2006 Feb;117(2):448-54. doi: 10.1542/peds.2005-0123.



- [21] Buss IH, Senthilmohan R, Darlow BA, Mogridge N, Kettle AJ, Winterbourn CC. 3-Chlorotyrosine as a marker of protein damage by myeloperoxidase in tracheal aspirates from preterm infants: association with adverse respiratory outcome. *Pediatr Res*. 2003 Mar;53(3):455-62. doi: 10.1203/01.PDR.0000050655.25689.CE.
- [22] Cheah FC, Winterbourn CC, Darlow BA, Mocatta TJ, Vissers MC. Nuclear factor kappaB activation in pulmonary leukocytes from infants with hyaline membrane disease: associations with chorioamnionitis and *Ureaplasma urealyticum* colonization. *Pediatr Res*. 2005 May;57(5 Pt 1):616-23. doi: 10.1203/01.PDR.0000156209.37627.82.
- [23] Nitta K, Kobayashi T. Impairment of surfactant activity and ventilation by proteins in lung edema fluid. *Respir Physiol*. 1994 Jan;95(1):43-51. doi: 10.1016/0034-5687(94)90046-9.
- [24] Smith DE, Otulakowski G, Yeger H, Post M, Cutz E, O'Brodovich HM. Epithelial Na(+) channel (ENaC) expression in the developing normal and abnormal human perinatal lung. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 Apr;161(4 Pt 1):1322-31. doi: 10.1164/ajrccm.161.4.9905064.
- [25] Helve O, Pitkänen OM, Andersson S, O'Brodovich H, Kirjavainen T, Otulakowski G. Low expression of human epithelial sodium channel in airway epithelium of preterm infants with respiratory distress. *Pediatrics*. 2004 May;113(5):1267-72. doi: 10.1542/peds.113.5.1267.
- [26] Jobe AH, Hillman N, Polglase G, Kramer BW, Kallapur S, Pillow J. Injury and inflammation from resuscitation of the preterm infant. *Neonatology*. 2008;94(3):190-6. doi: 10.1159/000143721.
- [27] Edberg KE, Sandberg K, Silberberg A, Ekström-Jodal B, Hjalmarson O. Lung volume, gas mixing, and mechanics of breathing in mechanically

ventilated very low birth weight infants with idiopathic respiratory distress syndrome. *Pediatr Res.* 1991 Nov;30(5):496-500. doi: 10.1203/00006450-199111000-00019.

- [28] Macklem PT, Proctor DF, Hogg JC. The stability of peripheral airways. *Respir Physiol.* 1970 Jan;8(2):191-203. doi: 10.1016/0034-5687(70)90015-0.
- [29] NELSON NM, PROD'HOM LS, CHERRY RB, LIPSITZ PJ, SMITH CA. Pulmonary function in the newborn infant. II. Perfusion--estimation by analysis of the arterial-alveolar carbon dioxide difference. *Pediatrics.* 1962 Dec;30:975-89. PMID: 13938051.
- [30] Goldsmith J, Karotkin E. *Assisted Ventilation of the Neonate*, 4th ed, WB Saunders, Philadelphia 2003.
- [31] Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF, Shankaran S, Laptook AR, Walsh MC, Hale EC, Newman NS, Schibler K, Carlo WA, Kennedy KA, Poindexter BB, Finer NN, Ehrenkranz RA, Duara S, Sánchez PJ, O'Shea TM, Goldberg RN, Van Meurs KP, Faix RG, Phelps DL, Frantz ID 3rd, Watterberg KL, Saha S, Das A, Higgins RD; Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. Neonatal outcomes of extremely preterm infants from the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics.* 2010 Sep;126(3):443-56. doi: 10.1542/peds.2009-2959.
- [32] Consortium on Safe Labor; Hibbard JU, Wilkins I, Sun L, Gregory K, Haberman S, Hoffman M, Kominiarek MA, Reddy U, Bailit J, Branch DW, Burkman R, Gonzalez Quintero VH, Hatjis CG, Landy H, Ramirez M, VanVeldhuisen P, Troendle J, Zhang J. Respiratory morbidity in late

- preterm births. *JAMA*. 2010 Jul 28;304(4):419-25. doi: 10.1001/jama.2010.1015.
- [33] Anadkat JS, Kuzniewicz MW, Chaudhari BP, Cole FS, Hamvas A. Increased risk for respiratory distress among white, male, late preterm and term infants. *J Perinatol*. 2012 Oct;32(10):780-5. doi: 10.1038/jp.2011.191.
- [34] Bancalari EH, Jobe AH. The respiratory course of extremely preterm infants: a dilemma for diagnosis and terminology. *Journal of Pediatrics* 2012;161(4):585-8. doi: 10.1016/j.jpeds.2012.05.054.
- [35] Richard Martin, MD. Respiratory distress syndrome (RDS) in the newborn: Management. In: UpToDate, Connor RF (Ed), Wolters Kluwer. Accessed 2023.
- [36] Sefic Pasic I, Riera Soler L, Vazquez Mendez E, Castillo Salinas F. Comparison between lung ultrasonography and chest X-ray in the evaluation of neonatal respiratory distress syndrome. *J Ultrasound*. 2023 Jun;26(2):435-448. doi: 10.1007/s40477-022-00728-6.
- [37] Sharma D, Farahbakhsh N. Role of chest ultrasound in neonatal lung disease: a review of current evidences. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2019 Jan;32(2):310-316. doi: 10.1080/14767058.2017.1376317.
- [38] Kurepa D, Zaghloul N, Watkins L, Liu J. Neonatal lung ultrasound exam guidelines. *J Perinatol*. 2018 Jan;38(1):11-22. doi: 10.1038/jp.2017.140.
- [39] Liu J, Lovrenski J, Ye Hlaing A, Kurepa D. Neonatal lung diseases: lung ultrasound or chest x-ray. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2021 Apr;34(7):1177-1182. doi: 10.1080/14767058.2019.1623198.

- [40] Raimondi F, Migliaro F, Corsini I, Meneghin F, Dolce P, Pierri L, Perri A, Aversa S, Nobile S, Lama S, Varano S, Savoia M, Gatto S, Leonardi V, Capasso L, Carnielli VP, Mosca F, Dani C, Vento G, Lista G. Lung Ultrasound Score Progress in Neonatal Respiratory Distress Syndrome. *Pediatrics*. 2021 Apr;147(4):e2020030528. doi: 10.1542/peds.2020-030528.
- [41] Guo BB, Pang L, Yang B, Zhang C, Chen XY, OuYang JB, Wu CJ. Lung Ultrasound for the Diagnosis and Management of Neonatal Respiratory Distress Syndrome: A Minireview. *Front Pediatr*. 2022 Apr 14;10:864911. doi: 10.3389/fped.2022.864911.
- [42] Perri A, Riccardi R, Iannotta R, Di Molfetta DV, Arena R, Vento G, Zecca E. Lung ultrasonography score versus chest X-ray score to predict surfactant administration in newborns with respiratory distress syndrome. *Pediatr Pulmonol*. 2018 Sep;53(9):1231-1236. doi: 10.1002/ppul.24076.
- [43] Zong H, Huang Z, Zhao J, Lin B, Fu Y, Lin Y, Huang P, Sun H, Yang C. The Value of Lung Ultrasound Score in Neonatology. *Front Pediatr*. 2022 May 11;10:791664. doi: 10.3389/fped.2022.791664.
- [44] Roberts D, Dalziel S. Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006 Jul 19;(3):CD004454. doi: 10.1002/14651858.CD004454.pub2. Update in: *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Mar 21;3:CD004454.
- [45] Sweet DG, Carnielli VP, Greisen G, Hallman M, Klebermass-Schrehof K, Ozek E, Te Pas A, Plavka R, Roehr CC, Saugstad OD, Simeoni U, Speer CP, Vento M, Visser GHA, Halliday HL. European Consensus

Guidelines on the Management of Respiratory Distress Syndrome: 2022 Update. *Neonatology*. 2023;120(1):3-23. doi: 10.1159/000528914.

- [46] Moya F, Curstedt T, Johansson J, Sweet D. Synthetic surfactants. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2023 Dec;28(6):101503. doi: 10.1016/j.siny.2023.101503.
- [47] Moya F, Maturana A. Animal-derived surfactants versus past and current synthetic surfactants: current status. *Clin Perinatol* 2007 Mar;34(1):145–77. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2006.12.005>. PMID: 17394936.
- [48] Ardell S, Pfister RH, Soll R. Animal derived surfactant extract versus protein free synthetic surfactant for the prevention and treatment of respiratory distress syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Aug 24;8(8):CD000144. doi: 10.1002/14651858.CD000144.pub3.
- [49] Curstedt T, Halliday HL, Speer CP. A unique story in neonatal research: the development of a porcine surfactant. *Neonatology*. 2015;107(4):321-9. doi: 10.1159/000381117.
- [50] Stark M, Wang Y, Danielsson O, Jörnvall H, Johansson J. Determination of proteins, phosphatidylethanolamine, and phosphatidylserine in organic solvent extracts of tissue material by analysis of phenylthiocarbamyl derivatives. *Anal Biochem*. 1998 Dec 1;265(1):97-102. doi: 10.1006/abio.1998.2856.
- [51] Polin RA, Carlo WA; Committee on Fetus and Newborn; American Academy of Pediatrics. Surfactant replacement therapy for preterm and term neonates with respiratory distress. *Pediatrics*. 2014 Jan;133(1):156-63. doi: 10.1542/peds.2013-3443.

- [52] Fuchs H, Lindner W, Leiprecht A, Mendler MR, Hummler HD. Predictors of early nasal CPAP failure and effects of various intubation criteria on the rate of mechanical ventilation in preterm infants of <29 weeks gestational age. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2011 Sep;96(5):F343-7. doi: 10.1136/adc.2010.205898.
- [53] Ng EH, Shah V. Guidelines for surfactant replacement therapy in neonates. *Paediatr Child Health.* 2021 Feb 1;26(1):35-49. doi: 10.1093/pch/pxaa116.
- [54] Khawar H, Marwaha K. Surfactant. 2023 Jun 12. In: *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan—*. PMID: 31536207.
- [55] Chen IL, Chen HL. New developments in neonatal respiratory management. *Pediatr Neonatol.* 2022 Jul;63(4):341-347. doi: 10.1016/j.pedneo.2022.02.002. PMID: 35382987.
- [56] Hatch LD, Grubb PH, Lea AS, Walsh WF, Markham MH, Whitney GM, Slaughter JC, Stark AR, Ely EW. Endotracheal Intubation in Neonates: A Prospective Study of Adverse Safety Events in 162 Infants. *J Pediatr.* 2016 Jan;168:62-66.e6. doi: 10.1016/j.jpeds.2015.09.077.
- [57] Ratner I, Whitfield J. Acquired subglottic stenosis in the very-low-birth-weight infant. *Am J Dis Child.* 1983 Jan;137(1):40-3. doi: 10.1001/archpedi.1983.02140270036013.
- [58] Brix N, Sellmer A, Jensen MS, Pedersen LV, Henriksen TB. Predictors for an unsuccessful INTubation-SURfactant-Extubation procedure: a cohort study. *BMC Pediatr.* 2014 Jun 19;14:155. doi: 10.1186/1471-2431-14-155.

- [59] De Bisschop B, Derricks F, Cools F. Early Predictors for INTubation-SURfactant-Extubation Failure in Preterm Infants with Neonatal Respiratory Distress Syndrome: A Systematic Review. *Neonatology*. 2020;117(1):33-45. doi: 10.1159/000501654.
- [60] Kribs A, Roberts KD, Trevisanuto D, O' Donnell C, Dargaville PA. Alternative routes of surfactant application - An update. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2023 Dec;28(6):101496. doi: 10.1016/j.siny.2023.101496.
- [61] Guthrie SO, Roberts KD. Less invasive surfactant administration methods: Who, what and how. *J Perinatol*. 2023 Sep 22. doi: 10.1038/s41372-023-01778-2.
- [62] Rigo V, Lefebvre C, Broux I. Surfactant instillation in spontaneously breathing preterm infants: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Pediatr*. 2016 Dec;175(12):1933-1942. doi: 10.1007/s00431-016-2789-4.
- [63] Lau CSM, Chamberlain RS, Sun S. Less Invasive Surfactant Administration Reduces the Need for Mechanical Ventilation in Preterm Infants: A Meta-Analysis. *Glob Pediatr Health*. 2017 Mar 24;4:2333794X17696683. doi: 10.1177/2333794X17696683.
- [64] Abdel-Latif ME, Davis PG, Wheeler KI, De Paoli AG, Dargaville PA. Surfactant therapy via thin catheter in preterm infants with or at risk of respiratory distress syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*. 2021 May 10;5(5):CD011672. doi: 10.1002/14651858.CD011672.pub2.
- [65] Langhammer K, Roth B, Kribs A, Göpel W, Kuntz L, Miedaner F. Treatment and outcome data of very low birth weight infants treated with less invasive surfactant administration in comparison to intubation and mechanical ventilation in the clinical setting of a cross-sectional

- observational multicenter study. *Eur J Pediatr.* 2018 Aug;177(8):1207-1217. doi: 10.1007/s00431-018-3179-x.
- [66] Herting E, Kribs A, Härtel C, von der Wense A, Weller U, Hoehn T, Vochem M, Möller J, Wieg C, Roth B, Göpel W; German Neonatal Network (GNN). Two-year outcome data suggest that less invasive surfactant administration (LISA) is safe. Results from the follow-up of the randomized controlled AMV (avoid mechanical ventilation) study. *Eur J Pediatr.* 2020 Aug;179(8):1309-1313. doi: 10.1007/s00431-020-03572-0.
- [67] Klotz D, Porcaro U, Fleck T, Fuchs H. European perspective on less invasive surfactant administration-a survey. *Eur J Pediatr.* 2017 Feb;176(2):147-154. doi: 10.1007/s00431-016-2812-9.
- [68] Dekker J, Lopriore E, Rijken M, Rijntjes-Jacobs E, Smits-Wintjens V, Te Pas A. Sedation during Minimal Invasive Surfactant Therapy in Preterm Infants. *Neonatology.* 2016;109(4):308-13. doi: 10.1159/000443823.
- [69] Suresh GK, Soll RF. Overview of surfactant replacement trials. *J Perinatol.* 2005 May;25 Suppl 2:S40-4. doi: 10.1038/sj.jp.7211320.
- [70] Yost CC, Soll RF. Early versus delayed selective surfactant treatment for neonatal respiratory distress syndrome. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000;(2):CD001456. doi: 10.1002/14651858.CD001456.
- [71] Bahadue FL, Soll R. Early versus delayed selective surfactant treatment for neonatal respiratory distress syndrome. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012 Nov 14;11(11):CD001456. doi: 10.1002/14651858.CD001456.pub2.



- [72] Ballard RA, Keller RL, Black DM, Ballard PL, Merrill JD, Eichenwald EC, Truog WE, Mammel MC, Steinhorn RH, Rogers EE, Ryan RM, Durand DJ, Asselin JM, Bendel CM, Bendel-Stenzel EM, Courtney SE, Dhanireddy R, Hudak ML, Koch FR, Mayock DE, McKay VJ, O'Shea TM, Porta NF, Wadhawan R, Palermo L; TOLSURF Study Group. Randomized Trial of Late Surfactant Treatment in Ventilated Preterm Infants Receiving Inhaled Nitric Oxide. *J Pediatr*. 2016 Jan;168:23-29.e4. doi: 10.1016/j.jpeds.2015.09.031.
- [73] Verder H, Albertsen P, Ebbesen F, Greisen G, Robertson B, Bertelsen A, Agertoft L, Djernes B, Nathan E, Reinholdt J. Nasal continuous positive airway pressure and early surfactant therapy for respiratory distress syndrome in newborns of less than 30 weeks' gestation. *Pediatrics*. 1999 Feb;103(2):E24. doi: 10.1542/peds.103.2.e24.
- [74] Gulczyńska E, Szczapa T, Hożejowski R, Borszewska-Kornacka MK, Rutkowska M. Fraction of Inspired Oxygen as a Predictor of CPAP Failure in Preterm Infants with Respiratory Distress Syndrome: A Prospective Multicenter Study. *Neonatology*. 2019;116(2):171-178. doi: 10.1159/000499674.
- [75] Wright CJ, Glaser K, Speer CP, Härtel C, Roehr CC. Noninvasive Ventilation and Exogenous Surfactant in Times of Ever Decreasing Gestational Age: How Do We Make the Most of These Tools? *J Pediatr*. 2022 Aug;247:138-146. doi: 10.1016/j.jpeds.2022.04.011.
- [76] Conlon TW, Nishisaki A, Singh Y, Bhombal S, De Luca D, Kessler DO, Su ER, Chen AE, Fraga MV. Moving Beyond the Stethoscope: Diagnostic Point-of-Care Ultrasound in Pediatric Practice. *Pediatrics*. 2019 Oct;144(4):e20191402. doi: 10.1542/peds.2019-1402.

- [77] Singh Y, Tissot C, Fraga MV, Yousef N, Cortes RG, Lopez J, Sanchez-de-Toledo J, Brierley J, Colunga JM, Raffaj D, Da Cruz E, Durand P, Kenderessy P, Lang HJ, Nishisaki A, Kneyber MC, Tissieres P, Conlon TW, De Luca D. International evidence-based guidelines on Point of Care Ultrasound (POCUS) for critically ill neonates and children issued by the POCUS Working Group of the European Society of Paediatric and Neonatal Intensive Care (ESPNIC). *Crit Care*. 2020 Feb 24;24(1):65. doi: 10.1186/s13054-020-2787-9.
- [78] Capasso L, Pacella D, Migliaro F, De Luca D, Raimondi F. Can lung ultrasound score accurately predict the need for surfactant replacement in preterm neonates? A systematic review and meta-analysis protocol. *PLoS One*. 2021 Jul 28;16(7):e0255332. doi: 10.1371/journal.pone.0255332.
- [79] Corsini I, Parri N, Gozzini E, Coviello C, Leonardi V, Poggi C, Giacalone M, Bianconi T, Tofani L, Raimondi F, Dani C. Lung Ultrasound for the Differential Diagnosis of Respiratory Distress in Neonates. *Neonatology*. 2019;115(1):77-84. doi: 10.1159/000493001.
- [80] Brat R, Yousef N, Klifa R, Reynaud S, Shankar Aguilera S, De Luca D. Lung Ultrasonography Score to Evaluate Oxygenation and Surfactant Need in Neonates Treated With Continuous Positive Airway Pressure. *JAMA Pediatr*. 2015 Aug;169(8):e151797. doi: 10.1001/jamapediatrics.2015.1797.
- [81] Raimondi F, Migliaro F, Corsini I, Meneghin F, Pierri L, Salomè S, Perri A, Aversa S, Nobile S, Lama S, Varano S, Savoia M, Gatto S, Leonardi V, Capasso L, Carnielli VP, Mosca F, Dani C, Vento G, Dolce P, Lista G. Neonatal Lung Ultrasound and Surfactant Administration: A Pragmatic, Multicenter Study. *Chest*. 2021 Dec;160(6):2178-2186. doi: 10.1016/j.chest.2021.06.076.

- [82] Rodriguez-Fanjul J, Jordan I, Balaguer M, Batista-Muñoz A, Ramon M, Bobillo-Perez S. Early surfactant replacement guided by lung ultrasound in preterm newborns with RDS: the ULTRASURF randomised controlled trial. *Eur J Pediatr.* 2020 Dec;179(12):1913-1920. doi: 10.1007/s00431-020-03744-y.
- [83] Corsini I, Parri N, Ficial B, Dani C. Lung ultrasound in the neonatal intensive care unit: Review of the literature and future perspectives. *Pediatr Pulmonol.* 2020 Jul;55(7):1550-1562. doi: 10.1002/ppul.24792.
- [84] Corsini I, Rodriguez-Fanjul J, Raimondi F, Boni L, Berardi A, Aldecoa-Bilbao V, Alonso-Ojembarrena A, Ancora G, Aversa S, Beghini R, Meseguer NB, Capasso L, Chesi F, Ciarcià M, Concheiro A, Corvaglia L, Ficial B, Filippi L, Carballal JF, Fusco M, Gatto S, Ginovart G, Gregorio-Hernández R, Lista G, Sánchez-Luna M, Martini S, Massenzi L, Miselli F, Mercadante D, Mosca F, Palacio MT, Perri A, Piano F, Prieto MP, Fernandez LR, Risso FM, Savoia M, Staffler A, Vento G, Dani C. Lung Ultrasound Guided surfactant therapy in preterm infants: an international multicenter randomized control trial (LUNG study). *Trials.* 2023 Nov 4;24(1):706. doi: 10.1186/s13063-023-07745-8.
- [85] Corsini I, Lenzi MB, Ciarcià M, Matina F, Petoello E, Flore AI, Nogara S, Gangemi A, Fusco M, Capasso L, Raimondi F, Rodriguez-Fanjul J, Dani C, Ficial B. Comparison among three lung ultrasound scores used to predict the need for surfactant replacement therapy: a retrospective diagnostic accuracy study in a cohort of preterm infants. *Eur J Pediatr.* 2023 Dec;182(12):5375-5383. doi: 10.1007/s00431-023-05200-z.
- [86] Capasso L, Pacella D, Migliaro F, Salomè S, Grasso F, Corsini I, De Luca D, Davis PG, Raimondi F. Can lung ultrasound score accurately predict surfactant replacement? A systematic review and meta-analysis of

diagnostic test studies. *Pediatr Pulmonol.* 2023 May;58(5):1427-1437. doi: 10.1002/ppul.26337.

- [87] Alonso-Ojembarrena A, Lechuga-Sancho AM, Ruiz-González E, González-Haba-Martínez B, Lubián-López SP. Pleural line thickness reference values for preterm and term newborns. *Pediatr Pulmonol.* 2020 Sep;55(9):2296-2301. doi: 10.1002/ppul.24920.
- [88] Sweet DG, Carnielli V, Greisen G, Hallman M, Ozek E, Te Pas A, Plavka R, Roehr CC, Saugstad OD, Simeoni U, Speer CP, Vento M, Visser GHA, Halliday HL. European Consensus Guidelines on the Management of Respiratory Distress Syndrome - 2019 Update. *Neonatology.* 2019;115(4):432- 450. doi: 10.1159/000499361.
- [89] Guthrie SO, Cummings JJ. Not sure? How should we give exogenous surfactant to newborns with RDS? *Pediatr Pulmonol.* 2020 Jan;55(1):14-16. doi: 10.1002/ppul.24543.
- [90] Cummings JJ, Holm BA, Nickerson PA, Ferguson WH, Egan EA. Pre-versus post-ventilatory surfactant treatment in surfactant-deficient preterm lambs. *Reprod Fertil Dev.* 1995;7(5):1333-8. doi: 10.1071/rd9951333.
- [91] Nkadi PO, Merritt TA, Pillers DA. An overview of pulmonary surfactant in the neonate: genetics, metabolism, and the role of surfactant in health and disease. *Mol Genet Metab.* 2009 Jun;97(2):95-101. doi: 10.1016/j.ymgme.2009.01.015.
- [92] Committee on Fetus and Newborn; American Academy of Pediatrics. Respiratory support in preterm infants at birth. *Pediatrics.* 2014 Jan;133(1):171-4. doi: 10.1542/peds.2013-3442.

- [93] Verder H, Agertoft L, Albertsen P, Christensen NC, Curstedt T, Ebbesen F, Greisen G, Hobolth N, Holm V, Jacobsen T, et al. Surfactant treatment of newborn infants with respiratory distress syndrome primarily treated with nasal continuous positive air pressure. A pilot study. *Ugeskr Laeger*. 1992 Jul 27;154(31):2136-9. Danish.
- [94] Consensus for pulmonary surfactant therapy in neonates in China (2021). *Zhonghua Er Ke Za Zhi*. 2021;59(8):627–632. doi: 10.3760/cma.j.cn112140-20210329-00261
- [95] Luo K, Wang H, Huang F, Tang J. Optimal timing and cutoff range of lung ultrasound in predicting surfactant administration in neonates: A meta-analysis and systematic review. *PLoS One*. 2023 Jul 27;18(7):e0287758. doi: 10.1371/journal.pone.0287758.
- [96] Wu J, Wang Y, Zhao A, Wang Z. Lung Ultrasound for the Diagnosis of Neonatal Respiratory Distress Syndrome: A Meta-analysis. *Ultrasound Q*. 2020 Jun;36(2):102-110. doi: 10.1097/RUQ.0000000000000490.
- [97] Ma H, Yan W, Liu J. Diagnostic value of lung ultrasound for neonatal respiratory distress syndrome: a meta-analysis and systematic review. *Med Ultrason*. 2020 Sep 5;22(3):325-333. doi: 10.11152/mu-2485.
- [98] Liu J, Guo G, Kurepa D, Volpicelli G, Sorantin E, Lovrenski J, et al. Specification and guideline for technical aspects and scanning parameter settings of neonatal lung ultrasound examination. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2022;35(5):1003–1016. doi: 10.1080/14767058.2021.1940943.
- [99] Blank DA, Rogerson SR, Kamlin COF, Fox LM, Lorenz L, Kane SC, Polglase GR, Hooper SB, Davis PG. Lung ultrasound during the initiation of breathing in healthy term and late preterm infants immediately after

- birth, a prospective, observational study. *Resuscitation*. 2017 May;114:59-65. doi: 10.1016/j.resuscitation.2017.02.017.
- [100] Raimondi F, Migliaro F, Sodano A, Ferrara T, Lama S, Vallone G, Capasso L. Use of neonatal chest ultrasound to predict noninvasive ventilation failure. *Pediatrics*. 2014 Oct;134(4):e1089-94. doi: 10.1542/peds.2013-3924.
- [101] Aldecoa-Bilbao V, Balcells-Esponera C, Herranz Barbero A, Borràs-Novell C, Izquierdo Renau M, Iriondo Sanz M, Salvia Roigés M. Lung ultrasound for early surfactant treatment: Development and validation of a predictive model. *Pediatr Pulmonol*. 2021 Feb;56(2):433-441. doi: 10.1002/ppul.25216.
- [102] Badurdeen S, Kamlin COF, Rogerson SR, Kane SC, Polglase GR, Hooper SB, Davis PG, Blank DA. Lung ultrasound during newborn resuscitation predicts the need for surfactant therapy in very- and extremely preterm infants. *Resuscitation*. 2021 May;162:227-235. doi: 10.1016/j.resuscitation.2021.01.025.
- [103] De Martino L, Yousef N, Ben-Ammar R, Raimondi F, Shankar-Aguilera S, De Luca D. Lung Ultrasound Score Predicts Surfactant Need in Extremely Preterm Neonates. *Pediatrics*. 2018 Sep;142(3):e20180463. doi: 10.1542/peds.2018-0463.
- [104] Gregorio-Hernández R, Arriaga-Redondo M, Pérez-Pérez A, Ramos-Navarro C, Sánchez-Luna M. Lung ultrasound in preterm infants with respiratory distress: experience in a neonatal intensive care unit. *Eur J Pediatr*. 2020 Jan;179(1):81-89. doi: 10.1007/s00431-019-03470-0.
- [105] Kayki G, Yigit S, Tandircioglu UA, Celik HT, Yurdakok M. Lung ultrasound (LUS) and surfactant treatment: looking for the best predictive

moment. *J Perinatol.* 2021 Jul;41(7):1669-1674. doi: 10.1038/s41372-021-01039-0.

- [106] Perri A, Tana M, Riccardi R, Iannotta R, Giordano L, Rubortone SA, Priolo F, Di Molfetta DV, Zecca E, Vento G. Neonatal lung ultrasonography score after surfactant in preterm infants: A prospective observational study. *Pediatr Pulmonol.* 2020 Jan;55(1):116-121. doi: 10.1002/ppul.24566.
- [107] Perri A, Sbordone A, Patti ML, Nobile S, Tirone C, Giordano L, Tana M, D'Andrea V, Priolo F, Serrao F, Riccardi R, Prontera G, Maddaloni C, Lenkowicz J, Boldrini L, Vento G. Early lung ultrasound score to predict noninvasive ventilation needing in neonates from 33 weeks of gestational age: A multicentric study. *Pediatr Pulmonol.* 2022 Sep;57(9):2227-2236. doi: 10.1002/ppul.26031.
- [108] Raimondi F, Migliaro F, Corsini I, Meneghin F, Pierri L, Salomè S, Perri A, Aversa S, Nobile S, Lama S, Varano S, Savoia M, Gatto S, Leonardi V, Capasso L, Carnielli VP, Mosca F, Dani C, Vento G, Dolce P, Lista G. Neonatal Lung Ultrasound and Surfactant Administration: A Pragmatic, Multicenter Study. *Chest.* 2021 Dec;160(6):2178-2186. doi: 10.1016/j.chest.2021.06.076.
- [109] Raschetti R, Yousef N, Vigo G, Marseglia G, Centorrino R, Ben-Ammar R, Shankar-Aguilera S, De Luca D. Echography-Guided Surfactant Therapy to Improve Timeliness of Surfactant Replacement: A Quality Improvement Project. *J Pediatr.* 2019 Sep;212:137-143.e1. doi: 10.1016/j.jpeds.2019.04.020.
- [110] Vardar G, Karadag N, Karatekin G. The Role of Lung Ultrasound as an Early Diagnostic Tool for Need of Surfactant Therapy in Preterm Infants

with Respiratory Distress Syndrome. *Am J Perinatol.* 2021 Dec;38(14):1547-1556. doi: 10.1055/s-0040-1714207.

- [111] Sun Y, Wang YQ, Yang R, Zhu JJ, Le YY, Zhong JG, Lu J. Exogenous porcine surfactants increase the infiltration of leukocytes in the lung of rats. *Pulm Pharmacol Ther.* 2009 Jun;22(3):253-9. doi: 10.1016/j.pupt.2009.01.001.