

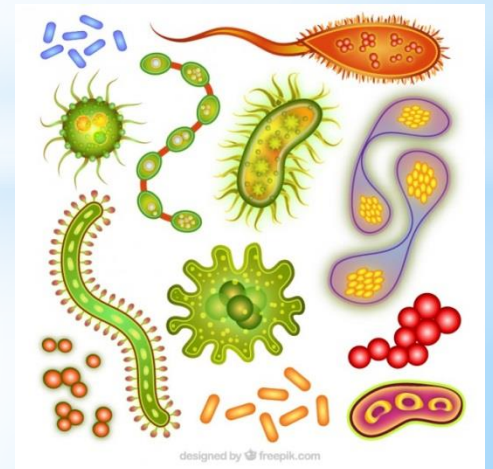
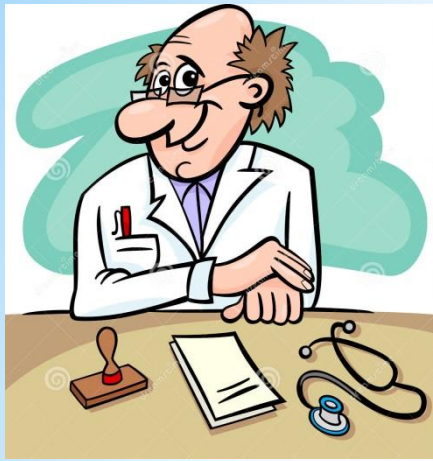
Microbiologia nel bambino: dalla richiesta al referto



Barbara Pieretti

Laboratorio Patologia Clinica AOORMN

Fano, 8 aprile 2017



Tampone faringeo



Agenti eziologici faringo-tonsillite → 30% batteri + 70% virus

Streptococchi beta-emolitici di gruppo A, C e altri gruppi

Streptococcus pneumoniae

Haemophilus influenzae

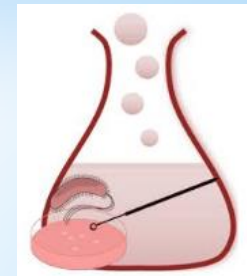
Staphylococcus aureus

L'infezione streptococcica può essere identificata dal tampone faringeo con:



**Test antigenico
Rapido(RADT)**

Cultura





Variabili	Test RADT*	Cultura
Germi rilevati	<i>S.pyogenes</i> β-emolitico gr. A	SPBA + altri germi
Esecuzione	Point of care	Laboratorio microbiologia
Costo		NO
Selettività	5%***	100% vs 100%
Tempo di attesa	test antigenico test molecolare	24 ore per esito positivo 48-72h per eventuale ATB*
Accuratezza		SI **
Vantaggi	se positivo → terapia antibiotica	Colonia batterica
Svantaggi	se negativo → esame colturale	Tempo di refertazione
Facilità di esecuzione	SI	SI



*Linee Guida IDSA 2012 (Infectious Diseases Society of America):

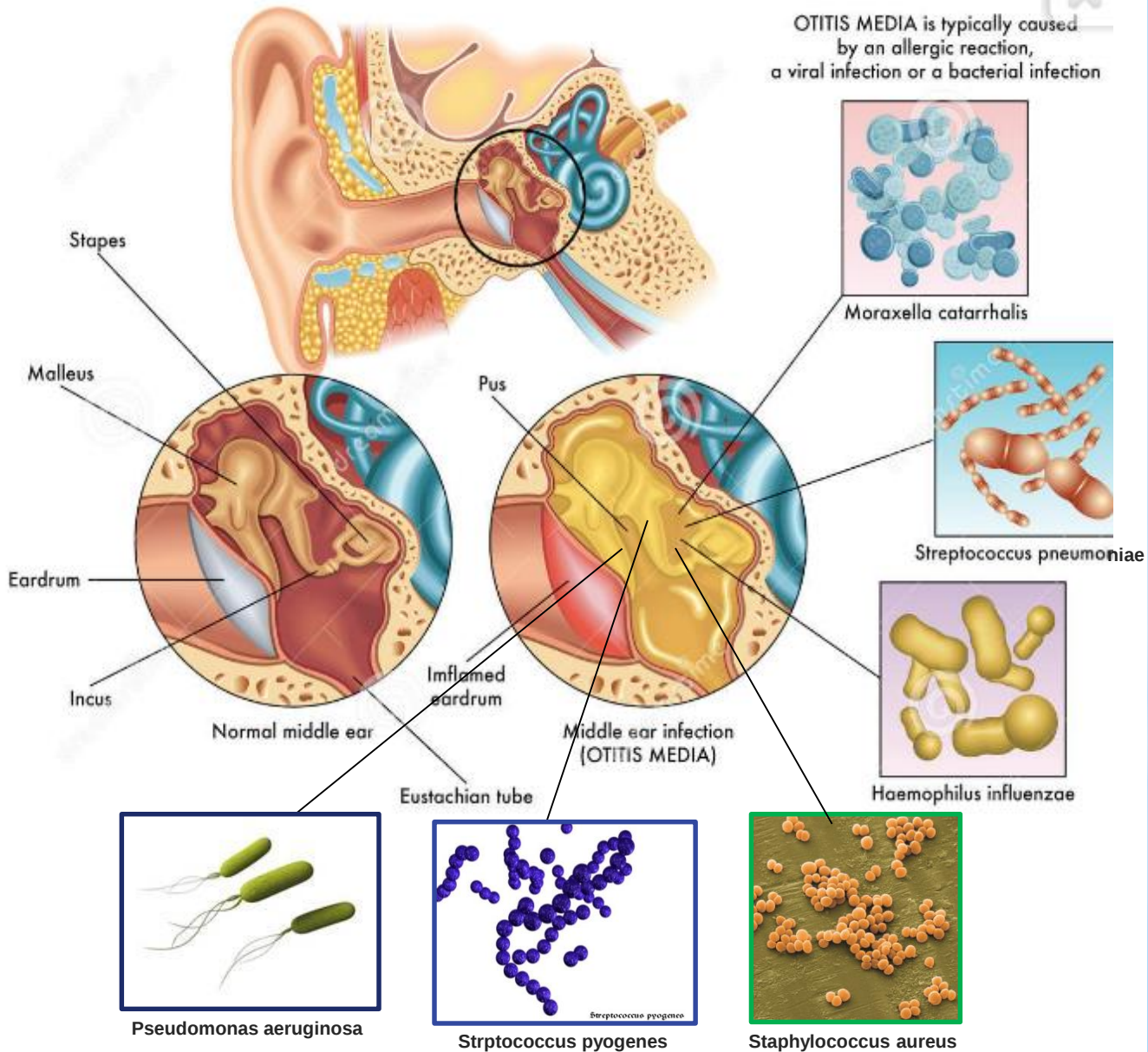
- il test non è raccomandato nel caso siano presenti sintomi riconducibili ad una infezione virale
- non va eseguito in bambini di età < ai 3 anni a meno che il bambino non sia considerato a rischio (es. faringite streptococcica diagnosticata ad un familiare)

** ATB per *S.pyogenes* solo se persistono i sintomi e il bambino non risponde alla terapia

*** 1×10^4 microrganismi/tampone

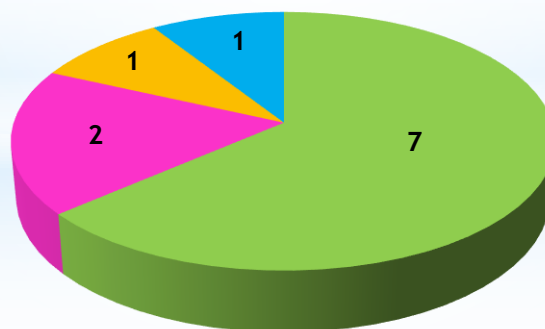
Tampone auricolare

Infezione orecchio





Variabili	Cultura
Germi rilevati	G+ G-
Esecuzione	Laboratorio microbiologia
Sensibilità vs specificità	100% vs 100%
TAT	48-72h
Antibiogramma	SI



- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Haemophilus influenzae*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Staphylococcus aureus*



Urinocoltura



Lattanti o bambini incontinenti

procedere alla raccolta possibilmente il mattino stesso in cui il campione verrà consegnato in laboratorio o, al massimo, la sera precedente avendo l'avvertenza di conservare il campione in frigorifero

materiale necessario: → sacchettino adesivo sterile + contenitore sterile ad imboccatura larga per urinocoltura

modalità di raccolta

Associare sempre esame chimico fisico

→ lavare accuratamente il bambino e la cute circostante

→ risciacquare abbondantemente

→ se possibile raccogliere l'urina eventualmente stimolando la minzione altrimenti applicare correttamente il sacchetto sulle parti genitali (non lasciare arieggiare)

→ appena avvenuta la minzione

→ riporre il sacchetto all'interno del contenitore

→ non versare l'urina dal sacchetto nel barattolo



del bambino e la cute

rile il campione di urina congeniale (non diretto alla cute e non in meno di 5 minuti)

chiuderlo accuratamente e consegnarlo per urinocoltura



NOTA: se richiesto anche esame chimico fisico questo verrà effettuato sullo stesso campione consegnato per l'urinocoltura.



Urinocoltura

Bambini continenti

utilizzare le urine della prima minzione del mattino

materiale necessario: → contenitore sterile ad imboccatura
larga per urinocoltura

(+ provetta urine se richiesto anche esame chimico fisico)



modalità di raccolta:

- lavare accuratamente
- risciacquare abbondantemente
- urinare scartando il primo getto e raccogliendo parte di quello successivo direttamente nel contenitore sterile, possibilmente senza interrompere la minzione, riempiendo il contenitore non oltre la metà
- non toccare con le mani o i genitali i bordi o l'interno del contenitore
- richiudere accuratamente il contenitore

Associare sempre esame chimico fisico

NOTA: se richiesto anche esame chimico fisico dopo aver scartato il primo getto raccogliere il campione anche nella apposita provetta

NOTA: per quantità minime se richiesto anche esame chimico fisico questo verrà effettuato sullo stesso campione consegnato per l'urinocoltura



Linee guida nel bambino

NICE National Institute for Health and Care Excellence

Urinary tract infection in children
Diagnosis, treatment and long-term management
Issued: August 2007 **NICE clinical guideline 54**

Urinary tract infection in infants, children and young people under 16
Issued: July 2013 **NICE quality standard 36**



Linee guida GIAU



SIBioC DOCUMENTS

DOCUMENTI SIBioC

Esame fisico, chimico e morfologico delle urine: proposta di linee guida per la fase analitica del Gruppo Intersocietario Analisi delle Urine (GIAU)^a

Fabio Manoni¹, Gianluca Gessoni², Giovanni Battista Fogazzi³, Maria Grazia Alessio⁴, Alberta Caleffi⁵, Giovanni Gambaro⁶, Maria Grazia Epifani⁷, Barbara Pieretti⁸, Angelo Perego⁹, Cosimo Ottomano¹⁰, Graziella Saccani¹¹, Sara Valverde², Sandra Secchiero⁷

TEST DI LABORATORIO

Urinocoltura

Significativo $\geq 10^5$ cfu/ml

Table 7.2: Criteria for UTI in children

Urine specimen from suprapubic bladder puncture	Urine specimen from bladder catheterisation	Urine specimen from midstream void
Any number of cfu/mL (at least 10 identical colonies)	$\geq 1,000$ -50,000 cfu/mL	$\geq 10^4$ cfu/mL with symptoms $\geq 10^5$ cfu/mL without symptoms



TEST DI LABORATORIO

Nitriti

Esterasi leucocitaria

PCR

limiti

Batteriuria con piuria

Contaminazione batterica, colonizzazione, campione raccolto prima di una reazione infiammatoria

Batteriuria senza piuria

Trattamento antibiotico incompleto, corpi estranei,





Urinary tract infection in children

Diagnosis, treatment and long-term management

Issued: August 2007

NICE clinical guideline 54

Età	Visita dal Pediatra	Dipstick	Microscopia	Urinocoltura	Antibiotico
<3 mesi	X		X urgente	X urgente	X

3mesi-3anni					
con sintomi			X urgente	X urgente	X
no sintomi	X		X	X	in base al rischio



B= se microscopia o coltura pos

M= microscopia pos o nitriti pos
quando la m.o. non è disponibile

A= sempre

>3 anni		Est	Nit	Microscopia	Urinocoltura	Antibiotico
		+	+	X	X	X
		-	+	X	X	X
		+	-	X	X	
		-	-	X	X	



ESAME FISICO, CHIMICO E MORFOLOGICO DELLE URINE PROPOSTA DI LINEE GUIDA PER LA FASE ANALITICA DEL GRUPPO INTERSOCIETARIO ANALISI DELLE URINE (GIAU)



ESAME CHIMICO

Possiamo suddividere i parametri dell'ECMU in quattro categorie :

- Parametri irrinunciabili analiticamente o di indubbia utilità clinica :
proteine/albumina, creatinina, concentrazione urinaria (densità relativa, conduttività, osmolalità) , emoglobina, pH.
- ➔ • Parametri utili e di verifica analitica per il Laboratorio: esterasi, nitriti, ed ascorbato.
- Parametri utili solo in particolari condizioni cliniche : glucosio, chetoni,
- Parametri non utili : bilirubina, urobilinogeno.

ESTERASI LEUCOCITARIA

E' u
leuc
vie

- *E' raccomandata la ricerca dell'esterasi leucocitaria nelle urine; la rilevazione con il dipstick dovrebbe sempre essere associata alla valutazione microscopica e/o strumentale del sedimento.*

La

degenerazione. In presenza di **leucociti giovani**, resistenti alla lisi, con nullo o minimo rilascio di esterasi, si può avere

lisi dei leucociti (

alcalino, alla cattiva

assenza di leucociti

La determinazione

leucociti con la microscopia e/o con strumentazione automatica.

SENSIBILITA': dip-stick 20-25 leucociti/ μ L; analizzatori automatici 2-3 elementi/ μ L

NITRITI

Alcuni batteri (prevalentemente **Enterobatteriaceae**, ma non altri importanti patogeni urinari) con

nella ***E' raccomandata la ricerca dei nitriti nelle urine, per il loro elevato valore predittivo positivo per le infezioni delle vie urinarie.***

riduzione a nitriti da parte del metabolismo batterico richiede **un lasso di tempo variabile in**

funzione della qua

di nitrati con la di

cui, anche in caso di

nitriti nelle urine pu

A fronte di una **bass**

il VPN non appare alt

sostenuta da enterococchi.

Falsi positivi: urine ipercromiche, farmaci, malconservazione campione

Falsi negativi: batteri non formanti nitriti, dieta povera in nitrati, urine che non hanno soggiornato in vescica, ascorbato

P;



GIAU
GRUPPO ITALIANO ANALISI URINE

ESAME FISICO, CHIMICO E MORFOLOGICO DELLE URINE PROPOSTA DI LINEE GUIDA PER LA FASE ANALITICA DEL GRUPPO INTERSOCIETARIO ANALISI DELLE URINE (GIAU)



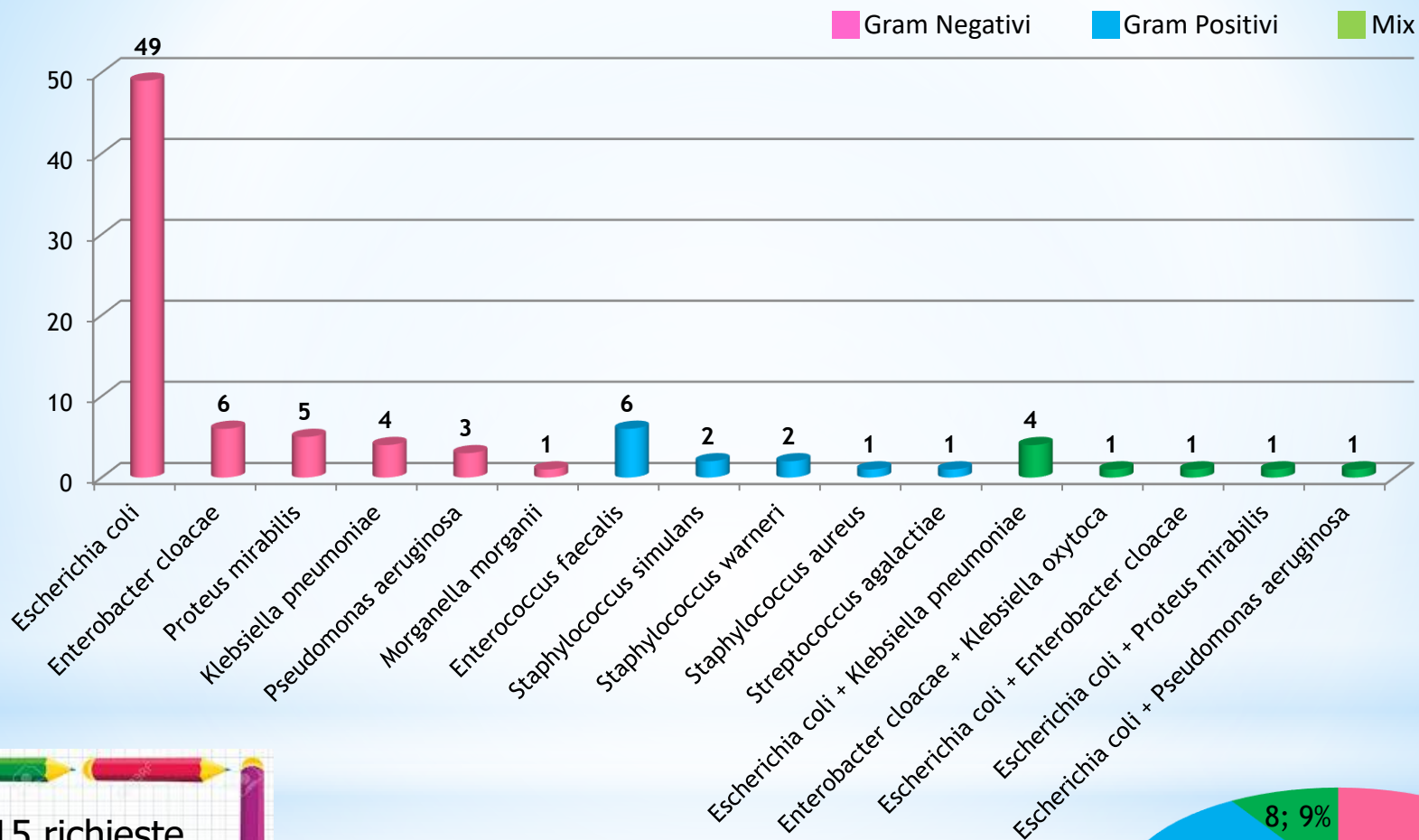
Valutazione morfologica della frazione corpuscolata mediante microscopia ottica

Microorganismi:

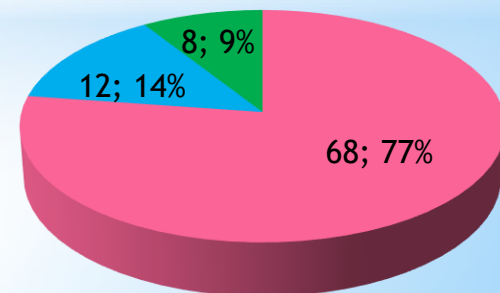
Pertanto, la sola valutazione quantitativa e qualitativa della flora batterica nelle urine non è sufficiente a porre diagnosi di IVU (che è una diagnosi clinica) ma deve essere integrata con una valutazione della componente corpuscolata: leucociti, eritrociti, cellule epiteliali. La presenza di un elevato numero di cellule epiteliali squamose suggerisce una contaminazione mentre la presenza di batteriuria senza piuria depone per una colonizzazione invece che per una infezione [7,9,11,12,24,31,34,35].

- ***E' fortemente raccomandato che all'esame batteriologico per IVU sia associata la valutazione della componente corpuscolata delle urine al fine di definire, oltre al microrganismo, la reazione infiammatoria dell'ospite e le lesioni che l'infezione ha causato.***

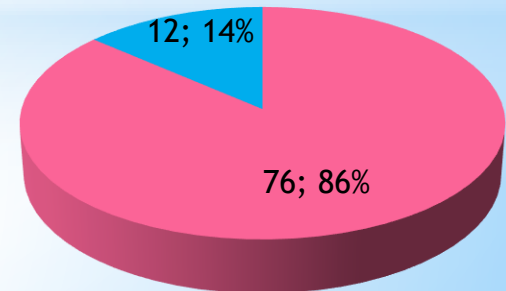
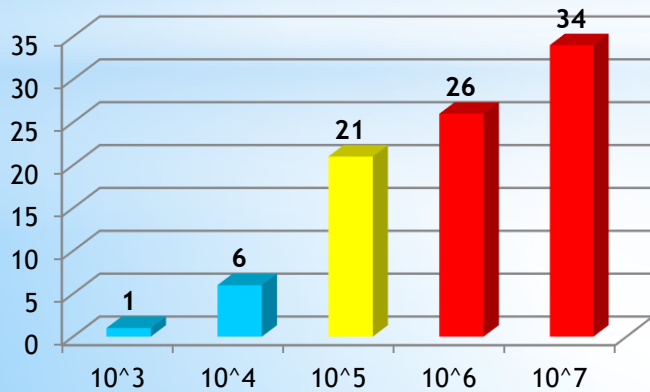
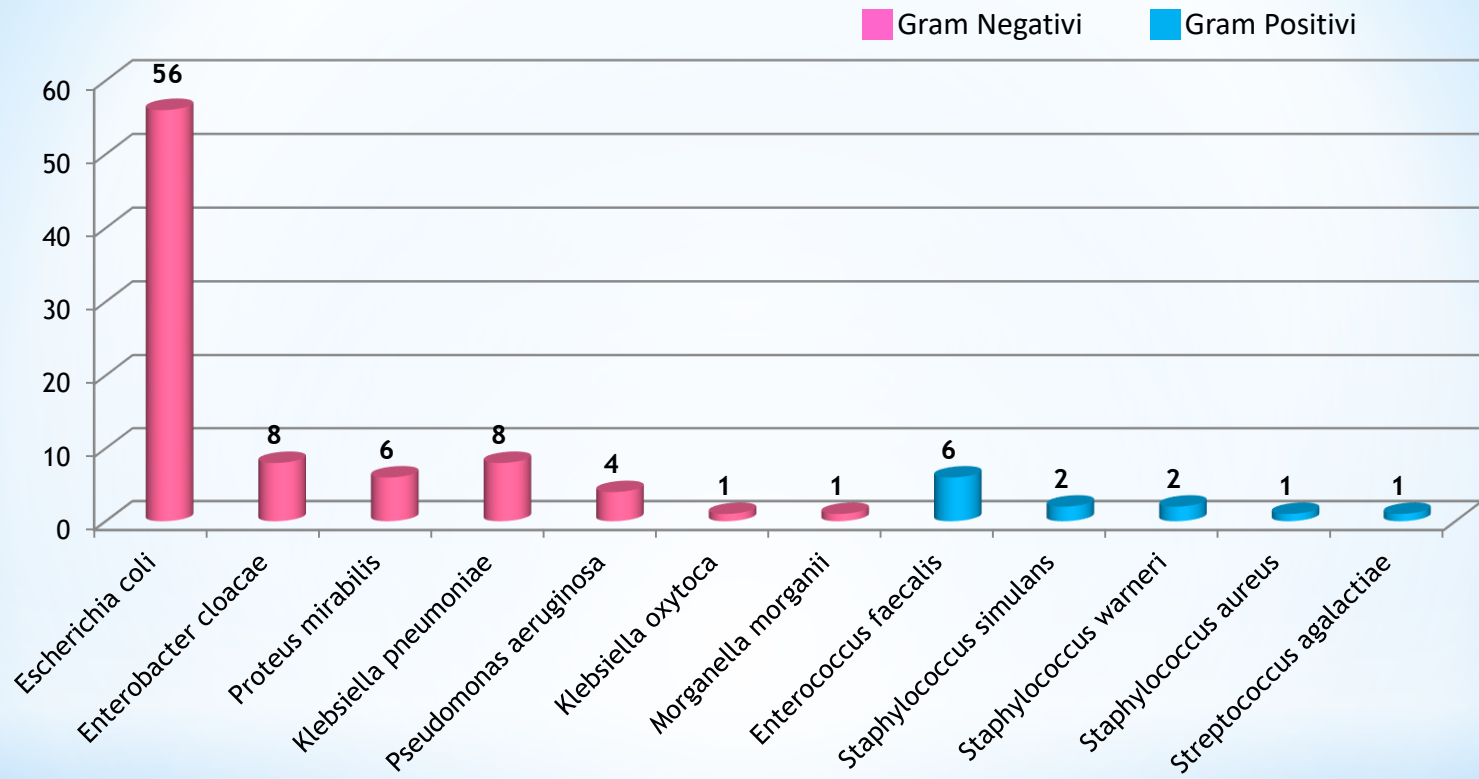
Urinocoltura



515 richieste
0-14 anni
17,1% positivi



Urinocoltura



Urinocoltura



Esame chimico fisico

pH	7.0
Densità	1012
Emoglobina	assente
Esterasi leucocitaria	assente
Nitriti	assenti
Emazie	assenti
Leucociti	assenti
Batteri	assenti



Urinocoltura

Positiva per *Escherichia coli*

Carica batterica >1.000.000 UFC/mL

Urinocoltura

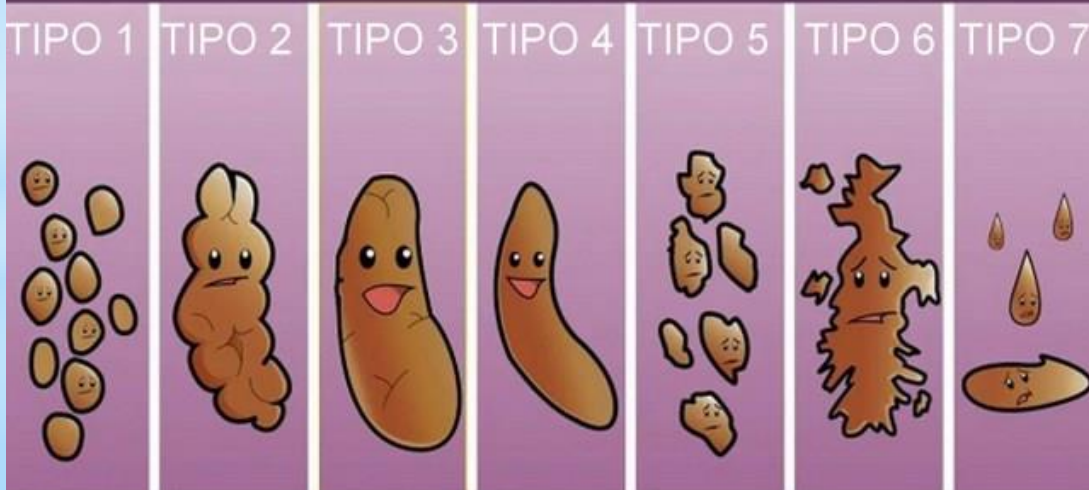
Positiva per *Proteus mirabilis*

Carica batterica 1.000.000 UFC/mL

Campione di feci



SCALA DI BRISTOL



- 1:** Grumi duri separati tra loro, come noci/nocciole
- 2:** A forma di salsiccia, ma formata da grumi uniti tra loro
- 3:** Come un salame, ma con crepe sulla sua superficie
- 4:** Come una salsiccia o un serpente, liscia e morbida
- 5:** Pezzi separati morbidi con bordi come tagliati/spezzati
- 6:** Pezzi soffici/flocculari con bordi frastagliati, feci pastose
- 7:** Acquosa, nessun pezzo solido, iquida

Campione di feci

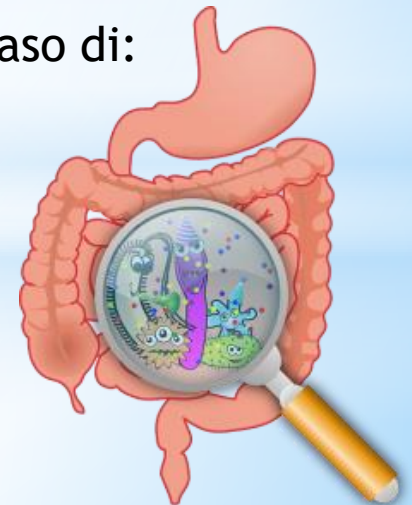
Per **coprocoltura** si intende la ricerca nelle feci di batteri responsabili di enterite e prevede la ricerca di *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp e *Shigella* spp. Eventuali altre ricerche (Virus, Miceti, *Clostridium*, *Yersinia enterocolitica*, Coli enteropatogeni) devono essere indicate sulla richiesta.

Per **esame coproparassitologico** si intende la ricerca nelle feci di uova, vermi adulti o parti di essi.

Per **scotch test** si intende la ricerca di uova di *Enterobius vermicularis*.

NOTA: indicare sempre informazioni clinico-anamnestiche nel caso di:

- bambino adottato e luogo
- viaggi (luogo) intercorsi negli ultimi 6 mesi



Coprocoltura



Feci per batteri, miceti, virus

effettuare la raccolta possibilmente al mattino del giorno in cui il campione verrà consegnato in laboratorio o, al massimo, il pomeriggio precedente avendo l'avvertenza di conservare il campione in frigorifero

materiale necessario: → procurarsi un contenitore per raccolta feci



modalità di raccolta:

- emettere le feci su una superficie asciutta e pulita (vaso di raccolta, catino, carta igienica....) ma non nel W.C.
- raccogliere con la paletta del contenitore un quantitativo di feci delle dimensioni di una noce nel caso di feci formate o per un terzo del volume del contenitore nel caso di feci liquide o scomposte (non riempire completamente il contenitore)
- richiudere accuratamente il contenitore

NOTA: se richiesto anche esame parassitologico raccogliere il campione con analoghe modalità utilizzando un secondo contenitore o un contenitore fornito dal laboratorio per la ricerca dei parassiti

Coprocoltura



Feci per esame parassitologico

effettuare la raccolta possibilmente al mattino del giorno in cui il campione verrà consegnato in laboratorio (soprattutto nel caso di emissione di feci diarroiche) o al massimo, il pomeriggio precedente avendo l'avvertenza di conservare il campione in frigorifero

materiale necessario: → procurarsi uno o più contenitori per raccolta feci, o il contenitore fornito dal laboratorio con fissativo, dipende se l'esame viene richiesto su uno o più giorni



modalità di raccolta:

- emettere le feci su una superficie asciutta e pulita (vaso di raccolta, catino, carta igienica....) ma non nel W.C.
- raccogliere con la paletta del contenitore un quantitativo di feci delle dimensioni di una noce nel caso di feci formate o per un terzo del volume del contenitore nel caso di feci liquide o scomposte (non riempire completamente il contenitore)
- richiudere accuratamente il contenitore

Coprocoltura



Feci per esame parassitologico

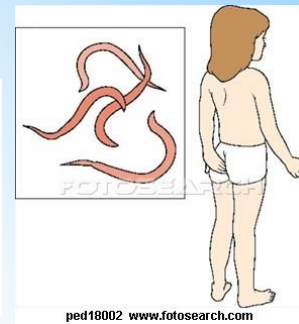
NOTE:

- nel caso in cui l'esame sia richiesto su più giorni consecutivi, i campioni dovranno essere raccolti in giornate distinte e consegnati singolarmente con copia della richiesta il giorno della raccolta
- se richiesta anche coprocoltura raccogliere il campione con analoghe modalità utilizzando un secondo contenitore

NB.: se vengono emessi «vermi» (es. ossiuri, tenia, ascaride) o parti di esso (es. progottidi Tenia) , metterli nel contenitore per feci e non in quello per parassiti con il fissativo, senza aggiungere nessun liquido al fine di preservare l'integrità del parassita.

Scotch Test

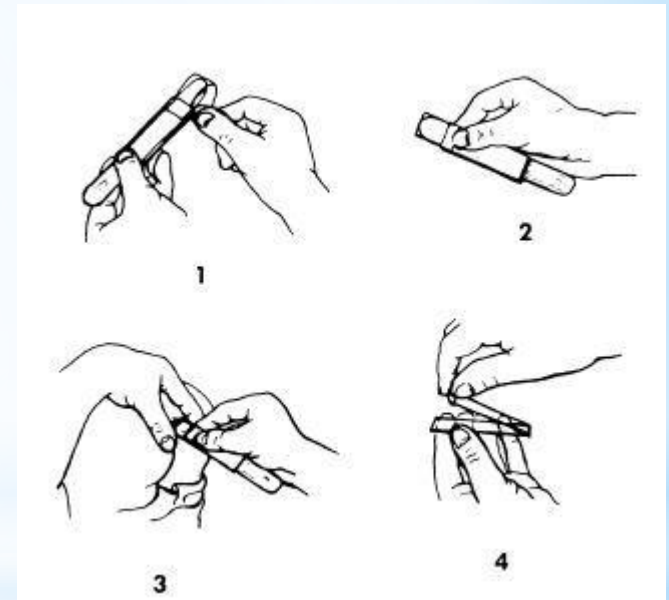
Eeguire al mattino prima delle normali operazioni igieniche e consegnare il prima possibile in laboratorio.



materiale necessario: → scotch trasparente, abbassalingua, vetrino, contenitore sterile con tappo a vite o piastra petri

esecuzione:

- tagliare una striscia di scotch lunga circa 5 cm
- rivoltare la striscia sull'abbassalingua mantenendo la parte adesiva all'esterno
- posizionare lo scotch nell'orifizio anale per circa 30 secondi
- fare aderire la striscia di scotch al vetrino mantenendola ben distesa
- posizionare il vetrino all'interno del contenitore



NOTA:

- nel caso in cui l'esame sia richiesto su più giorni consecutivi, i campioni dovranno essere raccolti in giornate distinte e consegnati singolarmente con copia della richiesta il giorno della raccolta



Notifica



Si ricorda che in base al **D.M. 15/12/1990** le patologie a trasmissione alimentare sono soggette a obbligo di notifica da parte del medico. In particolare, per quanto riguarda le patologie comprese in **classe II (salmonellosi non tifoidee, diarree infettive non da Salmonelle, brucellosi)** e in **classe IV (infezioni, tossinfezioni ed infestazioni di origine alimentare che si verificano in forma di focolaio epidemico)** il medico (di medicina generale, ospedaliero, specialista ambulatoriale, libero professionista) ha l'**obbligo di segnalazione al Servizio di Igiene Pubblica** dell'ASL in ogni caso di infezione, anche solo sospetto, **entro 48 ore (patologie di classe II) o 24 ore (patologie di classe IV).**



La rete **ENTER-NET** (Enteric Pathogen Network) è il sistema di sorveglianza europeo delle infezioni da *Salmonella* ed *E.coli* produttori di Vero-citotossina (VTEC) nell'uomo. Il sistema è coordinato dall'Health Protection Agency (HPA); comprende 23 paesi europei e collabora con paesi extra europei quali Giappone, Canada, Australia, Sud Africa.

L'Italia è rappresentata nella rete dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) che coordina il sistema di sorveglianza nazionale **ENTER-NET Italia** che coinvolge numerosi laboratori del Servizio sanitario nazionale. La rete si avvale anche della collaborazione di società scientifiche, Istituti universitari, Agenzie Regionali per la Protezione Ambientale.

Marche Nord + laboratori Marche → Salmonella e Campylobacter + Listeria



Novembre 2016

Obiettivo regione Marche 2016: "Sorveglianza delle zoonosi: ruolo del laboratorio come elemento strategico della sorveglianza". Nell'ambito del programma regionale 12 (D.G.R. n 540 del 15/07/2015) relativo alla prevenzione delle malattie infettive trasmissibili, il macro obiettivo 10 focalizza l'attenzione sulla sorveglianza delle zoonosi. L'obiettivo di intervento 12.10 prevede lo sviluppo di protocolli di collaborazione tra laboratori ospedalieri di diagnostica umana e laboratori deputati alla diagnosi delle zoonosi negli alimenti o negli animali.

Ricerca di E.coli (STEC): fattori di patogenicità e sierogruppi O157, O111, O26, O103, O145

Marche Nord → feci diarroiche bambini 0-14 anni ospedalizzati e non (no Enter-Net)

Criticità

Antibiotici testati



Resistenze intrinseche dei germi (www.eucast.org)

Tempi di refertazione vs chiusura microbiologia festivi



Incongruenze risultato di laboratorio – clinica



Microbiologia
AOORMN
0721-882379

Conclusioni

Al centro di tutto c'è il piccolo paziente

Collaborazione e confronto con il microbiologo



Microbiologia
AOORMN
0721-882379

Stesura comune di istruzioni per la raccolta del campione



Dialogo costruttivo e confronto



Limitiamo l'uso di antibiotici

*Gruppo tecnico interaziendale
per ottimizzare e razionalizzare
l'utilizzo degli antibiotici
marzo 2017*

Non diamo l'antibiotico a tutti



Curiamo le ansie delle mamme



Ringraziamenti

Dr.ssa Alberta
Filippetti



Silvia Ciaschini
Valentina Epifani
Luisa Eusepi

Raffaella Frisoli
Romana Germani
Orietta Renzoni

Dr. Marco
Moretti

