

Indagine epidemiologica locale delle infezioni delle vie urinarie in età pediatrica: eziologia e profilo di sensibilità agli antibiotici

C. Mazzone^a, M. Laneve^a, F. Resta^b

^aLaboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia, P.O. Occidentale, Mottola (TA)

^bStruttura Complessa Malattie Infettive, P.O. SS. Annunziata, Taranto

Riassunto

Premessa. Le infezioni delle vie urinarie (IVU) sono molto comuni in età pediatrica. Bambini e giovani ragazzi con IVU possono presentarsi con pochi sintomi specifici. L'epidemiologia delle IVU durante l'infanzia varia in base all'età, al sesso, e ad altri fattori. L'incidenza delle IVU è più alta nella prima età di vita per tutti i bambini ma decresce sostanzialmente dopo l'infanzia.

L'obiettivo di questo studio è stato quello di determinare l'eziologia e la suscettibilità antimicrobica dei batteri patogeni responsabili delle IVU, isolati in età pediatrica.

Metodi. Durante il periodo luglio 2007 - luglio 2008, sono stati analizzati 606 urinocolture. La determinazione della carica microbica totale è stata ottenuta con un kit della BIO-DETECTOR mentre l'identificazione dei germi con il sistema Apy. I test per la suscettibilità antibiotica sono stati saggiati con le gallerie ATB UR.

Risultati. Le urinocolture positive sono risultate

163 (27%) su un totale di 606. *Escherichia coli* è stato il più comune agente eziologico isolato (58.3%), seguito da *Klebsiella* spp. (12%), *Pseudomonas aeruginosa* (6%) e *Proteus mirabilis* (10%). I batteri Gram positivi sono risultati coinvolti solo nel 7.4% dei casi, con prevalenza degli *Enterococchi* spp (4.3%) e *Stafilococchi* spp (2.4%). Gli antibiotici più attivi per i batteri Gram negativi sono stati Imipenem, Amikacina, Ceftazidima e Cefotaxima, e Vancomicina e Oxacillina per i batteri Gram positivi.

Conclusioni. *Escherichia coli* è stato il microrganismo più frequentemente isolato tra i batteri Gram negativi, con netta suscettibilità all'Amoxicillina. Correntemente, l'uso empirico del Cotrimoxazolo e Amoxicillina non è raccomandato per le Enterobacteriacee. I dati attuali sull'andamento della pluri-antibiotico-resistenza tra i germi isolati, dovrebbero seriamente essere presi in considerazione al fine di modificare l'attuale trattamento empirico delle IVU.

Summary

Local surveillance study of urinary tract infections in pediatric age: etiology and related susceptibility patterns

Background. Urinary tract infections (UTI) are very common in the pediatric age. Infants and young children with UTI may have few specific symptoms. The epidemiology of UTI, during childhood, varies by age, sex, and other factors. The incidence of UTI is highest

in the first year of life for all children but decreases substantially among boys after infancy. The objective of this study was to determine the etiology and antimicrobial susceptibility patterns of pathogens bacteria responsible of UTI, isolated in pediatric age.

Methods. During the period July 2007 - July 2008, 606 urine samples were analysed. Total microbe load was acquired with a BIO-DETECTOR kit, while identification of germs was performed with the Apy system.

Antibiotic susceptibility tests were assayed with the ATB UR strip.

Results. The positive urinocultures were 163 (27%) of a total of 606. *Escherichia coli* was the most common etiologic agent isolated (58.3%), followed by *Klebsiella* ssp. (12%), *Pseudomonas aeruginosa* (6%) and *Proteus mirabilis* (10%). Gram-positive bacteria accounted for only 7.4%, with prevalence of *Enterococcus* spp (4.3%) and *Staphylococcus* ssp (2.4%). The most effective antibiotics for Gram negative were: Imipenem, Amikacin, Cefotaxime and Cefotaxim, while for Gram positive were: Vancomycin and Oxacillin.

Conclusions. *Escherichia coli* was the more frequently isolated microorganism among Gram negative bacteria, with a very high susceptibility to Amoxicillin. Currently, the empirical use of Cotrimoxazole and Amoxicillin is not recommended for Enterobacteriaceae. Current data on the multi-antibiotic resistance among isolated bacteria, should be seriously taken into consideration in order to change the current empiric treatment of UTI. **Key-words:** urinary tract infections, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, pediatric age, antibiotic resistance.

Introduzione

Le infezioni delle vie urinarie (IVU) rappresentano le infezioni più frequenti in età pediatrica dopo quelle delle vie aeree.

L'epidemiologia di tali infezioni, nei bambini varia in base all'età, al sesso e ad altri fattori. La reale incidenza è difficile da stabilire poiché circa il 40% di IVU decorre in maniera asintomatica. Il 3% delle femmine e l'1% dei maschi presenta un episodio di IVU sintomatica in età pediatrica¹.

Solo nei primi 3-6 mesi di vita l'incidenza è più alta nei maschi, mentre nelle altre epoche della vita è una patologia preferenziale del sesso femminile.

La maggior incidenza nelle femmine, dopo il periodo neonatale è da attribuire alla brevità dell'uretra. Le aumentate infezioni nei maschi (neonati) invece sono spesso associate a batteriemia. I fattori predisponenti sono malformazioni e ostruzioni delle vie urinarie, prematurità, cateteri vescicali e mancata circoncisione; importanti malformazioni renali sono presenti nel 20-40% di neonati con IVU².

L'assenza di sintomi specifici e la difficoltà di comunicazione da parte dei pazienti più piccoli rendono difficile la diagnosi³. La disponibilità in tempi rapidi del referto di urinocoltura e antibiogramma permette di approntare una terapia antibiotica corretta e limitata ai casi di effettiva necessità⁴.

Lo scopo del nostro studio è stato quello di valutare l'incidenza delle urinocolture positive in neonati e bambini con sospetta infezione delle vie urinarie, l'eziologia e la resistenza batterica agli antibiotici di più largo impiego in terapia.

Materiali e Metodi

Nel periodo compreso tra luglio 2007 - luglio 2008, presso il Laboratorio di Patologia Clinica del P.O. Occidentale (Mottola) della A.USL Taranto, sono state esaminate 606 urinocolture provenienti da neonati e bambini con sospetto di infezione del tratto urinario.

La determinazione della carica batterica è stata ottenuta mediante il kit BIO-DETECTOR [LIOFIL-

CHEM Bacteriology Products, Roseto D.A. (TE)], che utilizza dei metodi dip-slide. Lo slide formato da un supporto di plastica ospita 5 terreni colturali solidi: il terreno Cled Agar (di colore verde) che consente la determinazione della carica microbica totale, il terreno Mac Conkey Agar (di colore rosso-viola) per la crescita dei batteri Gram negativi, in particolare gli Enterobatteri, il terreno Cetrimide Agar (di colore ambra chiaro) per la crescita dei batteri del genere *Pseudomonas*, il terreno Bile Aesculin Agar (di colore ambra) per gli Enterococchi e il terreno Malto Agar (di colore ambra scuro) per i Miceti. Lo slide viene immerso nel campione d'urina raccolta correttamente al mattino (mitto intermedio) in contenitore sterile e incubato in stazione termostata a 37 °C per 24 ore. Dopo incubazione la presenza di batteri è evidenziata dalla comparsa di colonie sulle superfici dei terreni colturali.

La carica microbica totale del campione di urina è determinata su Cled Agar. Esiste una correlazione tra carica microbica nel campione e densità delle colonie sviluppatesi sulla superficie dei terreni colturali. Tale correlazione viene quindi presa in riferimento per valutare il numero di UFC/ml.

L'urinocoltura è considerata positiva per una carica uguale o superiore a 10⁵ CFU/ml. Tuttavia, in taluni casi e in presenza di significativa sintomatologia, devono essere prese in considerazione anche cariche batteriche più basse.

L'identificazione dei germi Gram- e Gram+ è stata ottenuta con i sistemi Api 20 E, Api Strep, Api Staph (bioMérieux SA, Lione, Francia). Le gallerie Api si basano su diversi test biochimici. Sono costituite da 20 microprovette contenenti substrati disidratati, le quali vengono inoculate con una sospensione batterica (Api Suspension Medium) che ricostituisce i terreni. Le reazioni prodotte durante il periodo di incubazione (37 °C per 24 ore) si traducono in viraggi di colore spontanei o rivelati dall'aggiunta di reattivi. La lettura di queste reazioni si effettua servendosi di una tabella di lettura mentre l'identificazione si ottiene con l'indice analitico o con il software di identificazione.

I relativi antibiogrammi sono stati ottenuti median-

Tabella I. Prevalenza dei principali isolati batterici urinari in età pediatrica.

<i>Microrganismi identificati</i>	<i>n° ceppi</i>	<i>% sul totale degli isolati</i>
<i>Escherichia coli</i>	95	58.3
<i>Klebsiella spp</i>	20	12.2
<i>Proteus mirabilis</i>	17	10.4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	6.1
<i>Enterococcus faecalis</i>	7	4.3

Tabella II. Ceppi batterici isolati in età pediatrica.

<i>Microrganismi identificati</i>	<i>n° ceppi</i>	<i>% sul totale degli isolati</i>
<i>Escherichia coli</i>	95	58.3
<i>Proteus mirabilis</i>	17	10.4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	16	9.8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	6.1
<i>Enterococcus faecalis</i>	7	4.3
<i>Enterobacter cloacae</i>	3	1.8
<i>Morganella morganii</i>	3	1.8
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	1.2
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	2	1.2
<i>Serratia odorifera</i>	2	1.2
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	1.2
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	1.2
<i>Citrobacter freundii</i>	2	1.2

te i kit ATBTMUR 5, ATBTMPSE, ATBTMSTAPH 5, ATBTMSTREP 5 (bioMérieux). Le gallerie ATB UR sono costituite da diverse coppie di cupole. La prima coppia, senza antibiotico, costituisce il controllo di crescita. Le altre successive contengono antibiotici ad un'unica o due concentrazioni (c e C). Il batterio da saggiare viene messo in sospensione (Api Suspension Medium) e quindi trasferito nel terreno di coltura Miller-Hinton (ATB Medium) e inoculato nella galleria. Dopo l'incubazione (37 °C per 24 ore), la lettura della crescita batterica viene eseguita visivamente. La presenza di torbidità (-+) in una o entrambi le cupole per ogni antibiotico, consente di classificare il ceppo come Intermedio o Resistente; l'assenza di torbidità in entrambi le cupole classifica il ceppo come Sensibile. La sensibilità agli antibiotici è stata determinata basandosi sui breakpoints (concentrazioni definite come soglia per esprimere la sensibilità e la resistenza dei microrganismi agli antibiotici). Naturalmente in base alla galleria di identificazione utilizzata, cambiano il tipo e il numero di antibiotici da saggiare, le quantità di sospensione di partenza e il tipo di ATB Medium.

Risultati

Su un totale di 606 urinocolture esaminate, 163, pari al 27%, sono risultate positive. In particolare 134/163 campioni, pari all'82% appartenevano a bambini di età compresa tra 1 anno e 13 anni (il 70% era di sesso femminile), e 29/163 campioni, pari al 18%, erano neonati di età compresa tra 1 mese e 1 anno (l'80% era di sesso maschile). La maggior parte delle IVU in età

pediatrica sono sostenute da Gram negativi (93.1%) con una prevalenza di *Escherichia coli* (58.3%), seguito da *Klebsiella spp*, *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa* (Tab. I). Complessivamente, le Enterobacteriaceae costituiscono l'87%.

In particolare *Proteus mirabilis* è in progressivo aumento in ambito ospedaliero (10.4%), ed è coinvolto in contaminazioni, colonizzazioni e anche infezioni gravi.

Tra i Gram positivi (7.4%) prevalgono gli Enterococchi (4.3%) e Stafilococchi (2.4%). In basse percentuali si presentano tutti gli altri germi mostrati nella Tabella II.

Le percentuali di antibiotico-sensibilità dei batteri Gram negativi più frequentemente isolati sono riportate nella Tabella III, mentre le percentuali di antibiotico-sensibilità dei batteri Gram positivi sono riportate in Tabella IV.

Dai risultati delle nostre osservazioni si evidenzia che amoxicillina (AMO) e cotrimoxazolo (TSU), farmaci comunemente usati per il trattamento delle IVU, presentano alte percentuali di resistenza nei confronti dei più comuni germi Gram negativi (mediamente 59% per AMO e 60.5% per TSU), mentre nei confronti dei Gram positivi, l'AMO presenta resistenza intorno al 70% e il TSU intorno al 25%. Associando però l'amoxicillina all'acido clavulanico, la resistenza da parte dei Gram negativi si riduce (22%), ma non per *Pseudomonas aeruginosa* e batteri Gram positivi. Imipenem, fosfomicina, amikacina, ceftazidima, cefotaxima e gentamicina (quest'ultimo tranne per *Proteus spp.*) sono risultati in media i più attivi nei confronti dei Gram

Tabella III. Percentuali di antibiotico-sensibilità dei batteri Gram negativi di più frequente riscontro.

Microrganismo	AMO	AMC	PIC	TSU	CA1	CTX	GEN	IMI	AKN	FOS	FUR
<i>E. coli</i>	44	85	68	56	94	96	87	100	99	100	99
<i>Klebsiella spp</i>	55	70	86	52	86	86	86	70	86	86	86
<i>Proteus spp</i>	45	80	75	25	67	71	18	75	75	83	17
<i>Pseudomonas sp</i>	20	20	70	25	68	69	60	75	69	/	/

Legenda: amoxicillina (AMO), amoxicillina-acido clavulanico (AMC), piperacillina (PIC), ciprofloxacina (CIP), cotrimoxazolo (TSU), ceftazidima (CA1), cefotaxima (CTX), gentamicina (GEN), imipenem (IMI), amikacina (AKN), fosfomicina (FOS), nitrofurantoina (FUR).

Tabella IV. Percentuali di antibiotico-sensibilità dei batteri Gram positivi.

Microrganismo	AMO	AMC	TSU	GEN	FOS	FUR	VAN	OXA
<i>Staphylococcus sp</i>	27	30	75	70	50	65	100	99
<i>Enterococcus sp.</i>	28	30	/	20	56	9	/	/

Legenda: amoxicillina (AMO), amoxicillina-acido clavulanico (AMC), ciprofloxacina (CIP), cotrimoxazolo (TSU), gentamicina (GEN), fosfomicina (FOS), nitrofurantoina (FUR), minociclina (MIN), vancomicina (VAN), oxacillina (OXA).

negativi, con una sensibilità superiore al 70%; mentre vancomicina e oxacillina si sono rivelati molto efficaci nelle infezioni da Stafilococchi, con un alta percentuale di sensibilità pari al 99%.

L'imipenem si è distinto come il farmaco maggiormente attivo nei confronti dello *Pseudomonas aeruginosa* con percentuali di sensibilità del 75%, seguita dalla piperacillina con il 70%.

Per quanto riguarda gli Enterococchi, la fosfomicina ha mostrato la più elevata sensibilità, con il 56%, mentre tutti gli altri antibiotici si sono rilevati meno attivi. In particolare la nitrofurantoina è stato l'antibiotico che ha mostrato una diffusa resistenza pari al 91%.

Discussione

L'incidenza di infezioni del tratto urinario osservato in ambito pediatrico (pari al 27%), la tipologia e la distribuzione degli isolati batterici, è pressoché sovrapponibile ai dati riportati in letteratura⁵⁻⁸.

I risultati di questa indagine indicano che *E. coli* è il batterio più frequentemente isolato (58.3%) tra i batteri Gram negativi responsabili delle IVU in età pediatrica, e la variabilità dei germi sta aumentando sempre più.

La resistenza di *E. coli* nei confronti delle principali classi di farmaci impiegati in terapia, si è mostrata elevata per l'amoxicillina e cotrimoxazolo (in media il 50%), così come per le altre Enterobacteriaceae. Solamente imipenem, amikacina, fosfomicina e nitrofurantoina hanno mostrato percentuali di sensibilità intorno al 99%. La multi-resistenza antibiotica riscontrata tra i batteri Gram negativi è ormai un fenomeno comune, prodotta spesso da un uso incongruo della terapia antibiotica⁹.

Tra i batteri Gram positivi prevalgono gli Stafilococchi (5.32% di tutti i germi responsabili). Gli antibiotici maggiormente attivi in vitro per questi batteri

sono stati, vancomicina e oxacillina, con una sensibilità pressoché totale (99%).

Lo studio da noi effettuato è importante dal punto di vista epidemiologico e per il monitoraggio dei profili di resistenza batterica dei germi prevalenti. Tali parametri sono indispensabili per lo studio della evoluzione delle popolazioni batteriche locali, per il controllo delle infezioni nosocomiali e per fornire indicazioni per la scelta empirico-mirata dell'antibiotico da utilizzare in attesa delle risposte degli antibiogrammi^{10,11}.

I risultati di queste osservazioni confermano l'utilità del Laboratorio di Patologia Clinica nella sorveglianza delle IVU in età pediatrica.

Bibliografia

1. Podda R, Porcu PP, Sanna M. Infezioni urinarie nel bambino. *Microbiologia Clinica* 2003; 18:115.
2. Conway PH, Cnaan A, Zaoutis T, Henry BV, Grundmeier RW, Keren R. Recurrent urinary tract infections in children: risk factors and association with prophylactic antimicrobials. *JAMA* 2007; 298:179-86.
3. Doley A, Nelligan M. Is a negative dipstick urinalysis good enough to exclude urinary tract infection in paediatric emergency department patients? *Emerg Med* 2003; 15:77-80.
4. Narchi H, Al-Hamdani M. First and recurrent pediatric urinary tract infections: do they have different antibiotic susceptibilities? *J Chemother* 2008; 20:472-7.
5. Placanica P, Bormioli Q, Binello M, Recchia O, Sereno S. Incidenza delle infezioni urinarie nei reparti pediatrici dell'ospedale S. Giovanni-Addolorata di Roma e profilo di sensibilità ai farmaci antibatterici. *Patologo clinico* 2004; 9: 311-7.
6. Muolo V, Di Coste A, Silipo A, Mascolo E, Laneve M, Vinci E, et al. Incidenza di agenti patogeni batterici isolati da urino-colture nella AUSL BR/1 nel corso dell'anno 2001. *Microbiologia Medica* 2002; 17:148.
7. Shaikh N, Morone NE, Bost JE, Farrell MH. Prevalence of urinary tract infection in childhood: a meta-analysis.

- Pediatr Infect Dis J 2008; 27:302-8.
8. Goldman M, Rosenfeld-Yehoshua N, Lerner-Geva L, Lazarovitch T, Schwartz D, Grisaru-Soen G. Clinical features of community-acquired *Pseudomonas aeruginosa* urinary tract infections in children. *Pediatr Nephrol* 2008; 23: 765-8.
 9. Mangiarotti P, Pizzini C, Fanos V. Antibiotic prophylaxis in children with relapsing urinary tract infections: review. *J Chemother* 2000; 12:115-23.
 10. Keren R, Chan E. A meta-analysis of randomized, controlled trials comparing short- and long-course antibiotic therapy for urinary tract infections in children. *Pediatrics* 2002; 109:E70-0.
 11. Marcus N, Ashkenazi S, Samra Z, Cohen A, Livni G. Community-Acquired *Pseudomonas aeruginosa* Urinary Tract Infections in Children Hospitalized in a Tertiary Center: Relative Frequency, Risk Factors, Antimicrobial Resistance and Treatment. *Infection* 2008; 36:421-6.