

# Un nuovo sistema per lo screening rapido delle batteriurie

L. Rubattu<sup>1</sup>, A. Bitti<sup>2</sup>, G.G. Manchia<sup>2</sup>, N. Castiglia<sup>1</sup>, L. Idda<sup>1</sup>,  
R. Canu<sup>1</sup>, M. Ladu<sup>3</sup>, F. Cambosu<sup>2</sup>, M. L. Solinas<sup>1</sup>, F. Lai<sup>3</sup>

<sup>1</sup>A.S.L. 1 - SASSARI, Ospedale "S. Annunziata"

<sup>2</sup>A.S.L. 1 - OZIERI, Ospedale "A. Segni"

<sup>3</sup>A.S.L. 2 - OLBIA, Ospedale "Giovanni Paolo II"

## Riassunto

Scopo dello studio è stato quello di confrontare i risultati ottenuti con un nuovo sistema rapido di *screening* per la rilevazione della batteriuria con quelli ottenuti mediante il tradizionale sistema di coltura in piastra. Sono stati testati 1058 campioni con entrambe le metodiche.

Il sistema rapido di *screening* studiato utilizza un

metodo colorimetrico previa filtrazione dell'urina ed ha presentato valori di sensibilità pari al 98,2%, di specificità pari al 96,1%, di valore predittivo positivo pari al 90,2% e di valore predittivo negativo pari al 99,3%.

I dati ottenuti hanno mostrato un'ottima correlazione con la tradizionale metodica colturale.

## Introduzione

Le infezioni delle vie urinarie (IVU) sono per incidenza seconde soltanto a quelle dell'apparato respiratorio (Christensen *et al.*, 2009). Un recente studio sulla sorveglianza epidemiologica delle infezioni associate all'assistenza sanitaria, condotto in ospedali italiani, riporta una frequenza media di IVU del 23,6% (Lanini *et al.*, 2009).

In uno studio condotto su donne adulte, Kass (1956) stabilì che quando l'urinocoltura presentava una carica inferiore a  $10^4$  ufc/ml la paziente non presentava sintomi di infezione. Quando la carica microbica era superiore a  $10^5$  ufc/ml la probabilità di presentare anche i sintomi di infezione saliva notevolmente.

Pryles (1960) arrivò alle stesse conclusioni in uno studio sulle IVU nei bambini, stabilendo che conte inferiori a  $10^3$  ufc/ml erano quasi sempre dovute a contaminazione, conte comprese tra  $10^4$  e  $10^5$  ufc/ml dovevano essere ritenute sospette e l'analisi possibilmente ripetuta mentre quelle con carica superiore a  $10^5$  ufc/ml indicavano infezione.

L'urinocoltura risulta l'esame più richiesto nei laboratori di microbiologia e, in generale, più del 70% dei campioni risulta negativo (Church e Gregson, 2004).

La rilevazione della batteriuria viene tradizionalmente effettuata mediante la semina del campione di urina in terreni agarizzati e richiede un'incubazione di circa 24 ore per una diagnosi accurata. Negli ultimi anni, sono stati proposti numerosi metodi per lo *screening* rapido della batteriuria; essi comprendono l'esame microscopico, analisi chimiche e vari strumenti automatici e semi-automatici (Lin *et al.*, 2000; Roveta *et al.*, 2004; Pancholi *et al.*, 2005; Kacmaz *et al.* 2006; Manoni *et al.* 2009). Tali tecniche non hanno avuto un largo utilizzo nella diagnostica clinica per scarsa sensibilità, procedure o strumentazioni complesse, alti costi.

Questo studio ha messo a confronto il nuovo sistema di *screening* per le urinocolture Testpoint (Microbiol Diagnostici Z.I., Macchiareddu, Uta, Cagliari) con la metodica colturale di analisi tradizionale.

## Materiali e metodi

Nel periodo maggio-settembre 2009 sono stati analizzati 1058 campioni di urina nei laboratori di microbiologia di tre ospedali della Sardegna; i campioni sono stati analizzati in doppio, utilizzando la metodica colturale tradizionale su terreni agarizzati e il sistema Testpoint.



Figura 1 - Kit diagnostico "TESTPOINT"



Figura 2 - Interpretazione dei risultati.

Testpoint utilizza un metodo colorimetrico previa filtrazione dell'urina per rilevare la batteriuria (Fig.1). Il kit è costituito da un supporto in materiale plastico che presenta un pozzetto di diluizione collegato, attraverso una profonda scanalatura inclinata, ad un secondo pozzetto di filtrazione che presenta alla base una apertura di 2,5 mm di diametro con una membrana filtrante. Nel pozzetto di diluizione, due gocce di urina, prelevate con apposita pipetta in dotazione, vengono miscelate con 6 gocce

di un reagente colorante. Successivamente, inclinando il supporto, la miscela viene convogliata nel pozzetto di filtrazione. Si procede alla colorazione e successivamente al lavaggio del filtro. La procedura richiede circa 1 minuto. Una colorazione del filtro dal rosa al rosso indica positività del campione; se, invece, il filtro rimane bianco il campione è da considerare negativo (Fig. 2). Ai fini della valutazione, sono stati considerati veri positivi (VP) e veri negativi (VN) al test studiato i risultati concordanti con quelli ottenuti mediante l'esame colturale; per contro, falsi positivi (FP) e falsi negativi (FN) quelli non concordanti.

Per la valutazione delle prestazioni del sistema Testpoint rispetto all'esame colturale di riferimento si è fatto uso dei parametri definiti nella Tabella 1, generalmente utilizzati nella diagnostica medica (Galen e Gambino, 1975).

Sensibilità	$(VP/VP+FN) \times 100$	Percentuale di positività in presenza di infezione
Specificità	$(VN/VN+FP) \times 100$	Percentuale di negatività in assenza di infezione
Valore Predittivo Positivo	$(VP/VP+FP) \times 100$	Probabilità di avere risultati positivi in campioni veramente positivi
Valore Predittivo Negativo	$(VN/VN+FN) \times 100$	Probabilità di avere risultati negativi in campioni veramente negativi

Tabella 1 - Parametri utilizzati per confrontare le prestazioni del sistema Test point con la metodica colturale (Galen and Gambino, 1975).

### Risultati

Cariche microbiche comprese tra  $10^3$  e  $10^5$  ufc/ml sono di solito considerate come colonizzazioni o contaminazioni in pazienti normali, ma devono essere prese in considerazione in pazienti cateterizzati o immunodepressi o in presenza di piuria (Manoni *et al.*, 2009); poiché riteniamo sia indispensabile per un test di screening che vengano riconosciuti e quindi sottoposti ad analisi colturale anche i campioni ricadenti nella suddetta fascia, si è deciso, preliminarmente, di considerare come positivi tutti i campioni con carica superiore a  $10^3$  ufc/ml.

Le difficoltà riscontrate nella filtrazione sono da attribuire ad una elevata torbidità del campione per ematuria, piuria, proteinuria, frequentemente correlate ad una IVU; pertanto, come indicato anche dalla ditta produttrice nell'interpretazione dei risultati, il campione non filtrante è stato considerato come un positivo.

Nella Tabella 2, sono mostrati i risultati ottenuti con l'esame colturale dei campioni testati nei tre laboratori ospedalieri che hanno partecipato allo studio.

Ufc/ml	N. campioni	%
$\geq 10^5$	253	23,9
$10^3 + <10^5$	27	2,6
$<10^3$	778	73,5

Tabella 2 - Risultati dell'esame colturale (1058 campioni totali).

Su 1058 campioni di urine analizzati, il 73,5% sono risultati con carica microbica  $<10^3$  ufc/ml e classificati come negativi. Ciò è in accordo con i dati riportati in letteratura che mettono in evidenza l'alta percentuale di campioni negativi provenienti sia da esterni che da pazienti ospedalizzati (Patel *et al.*, 2005). I campioni tradizionalmente positivi ( $>10^5$  ufc/ml) sono stati il 23,9% mentre una piccola percentuale (2,6%) ha mostrato carica microbica compresa fra  $10^3$  e  $10^5$  ufc/ml, che include, ampliandola verso il basso ( $10^3 + 10^4$ ), la classica fascia del dubbio, considerata "positiva" ai fini dello studio.

Nella Tabella 3, i dati ottenuti con l'esame colturale sono stati comparati con quelli ottenuti con il sistema Testpoint.

Testpoint	Esame Colturale (ufc/ml)		
	$> 10^5$ (n = 253)	$10^3 + 10^5$ (n = 27)	$<10^3$ (n = 778)
Positivo	240	24	11
Negativo	4	1	748
Filtraggio lento	9	2	19

Tabella 3 - Comparazione dei risultati.

Tra i 253 campioni con cariche  $>10^5$  ufc/ml all'esame colturale, 9 hanno dato problemi nella filtrazione e 4 sono risultati negativi con il sistema Testpoint; pertanto, secondo quanto indicato, 249 sono stati classificati VP e 4 FN. Fra i 27 campioni che all'esame colturale hanno presentato carica inferiore a  $10^5$  ufc/ml e fino al limite dei  $10^3$  ufc/ml, 2 non filtravano e 1 è risultato negativo con il sistema Testpoint; analogamente, 26 sono stati classificati VP e 1 FN. Dei 778 negativi all'esame colturale, 11 hanno dato risultato positivo con Testpoint e 19 non filtravano; pertanto, si sono individuati 748 VN e 30 FP.

L'analisi statistica presentata nella Tabella 4 evidenzia valori di sensibilità di 98,2% e di specificità di 96,1%.

Risultati finali Testpoint	
Veri Positivi	275
Veri Negativi	748
Falsi Positivi	30
Falsi Negativi	5
Sensibilità	98,2%
Specificità	96,1%
valore predittivo sui positivi	90,2%
valore predittivo sui negativi	99,3%

Tabella 4 - analisi statistica.

Microorganismi	Numero isolati in coltura	Corrispondenti infezioni rilevate da Testpoint
<i>E. coli</i>	201	200
<i>Pseudomonas spp.</i>	20	20
<i>Proteus spp.</i>	15	15
<i>Klebsiella spp.</i>	18	17
<i>Enterobacter spp.</i>	5	5
<i>Citrobacter spp.</i>	5	5
<i>Enterococcus spp.</i>	28	27
<i>Staphylococcus spp.</i>	12	12
<i>Candida spp.</i>	5	3

Tabella 5 - Microorganismi responsabili delle IVU riscontrate.

Interessante appare il valore molto elevato del VPN (99,3%), con una percentuale di falsi negativi dello 0,5%. Dall'analisi della Tabella 5, è possibile evidenziare i microorganismi responsabili delle IVU isolati con il metodo colturale e riconosciuti da Testpoint. Il sistema di *screening* ha dato esito negativo per 1 campione risultato positivo sia per *E. coli* che per *Klebsiella spp.*, per 1 campione risultato positivo per *Enterococcus spp.* e per 3 su 5 campioni risultati positivi per *Candida spp.* In particolare, non sono state riconosciute percentuali molto basse di batteri gram negativi (0,8%) e gram positivi (2,5%), mentre Testpoint ha mostrato una certa insensibilità nel rilevare la presenza di *Candida spp.*

## Discussione

La coltura in terreni agarizzati è il metodo standard utilizzato per la diagnosi delle IVU, anche se sono necessarie circa 24 ore per avere una prima diagnosi, richiede molta manualità ed è costosa; allo stesso tempo, è accertato che tra il 70 e l'80% delle urinocolture effettuate risultano negative, per cui un metodo di *screening* che permette di riconoscere in pochi minuti i campioni negativi fornirebbe ai laboratori la possibilità di refertare la maggior parte dei campioni entro pochi minuti dall'esame, limitando l'indagine colturale ai campioni potenzialmente positivi per IVU, col risultato di abbassare notevolmente i costi e di ridurre i tempi di refertazione. Il sistema Testpoint ha mostrato le seguenti caratteristiche:

- valori di sensibilità e di specificità, rispettivamente di 98,2% e 96,1%, che risultano maggiori rispetto a quelli riscontrati in precedenti studi su altri sistemi di *screening* per IVU;
- una elevatissima accuratezza nel riconoscere i campioni negativi (99,3%);
- la capacità di rilevare basse cariche microbiche, per cui può essere utilizzato anche per lo *screening* di campioni provenienti da pazienti a rischio nei quali deve essere valutata anche la flora microbica colonizzante;

- tempi ridottissimi (massimo 2 minuti) per fornire un risultato positivo, che potrà determinare l'inizio di una terapia da confermare, modificare o sospendere in seguito al risultato dell'indagine colturale;
- una elevatissima sensibilità nel riconoscere IVU sostenute da batteri sia gram positivi che gram negativi, responsabili delle maggior parte delle IVU;
- una sensibilità ridotta nel riconoscere infezioni determinate da *Candida spp.*, come riscontrato per altre tecniche di *screening* (Longoria e Gonzales, 1987; Kunin e Buesching, 2000).

In conclusione, i dati ottenuti in questo studio multicentrico suggeriscono la possibilità di utilizzare, con un elevato margine di sicurezza, Testpoint nello *screening* dei campioni urinari per la rilevazione delle IVU.

**Bibliografia**

- 1) Christensen, K.L.Y., Holman, R.C., Steiner, C.A., Sejvar, J.J., Stoll, B.J., Schonberger, L.B. (2009). Infectious Disease Hospitalizations in the United States. *Clin. Infect. Dis.*, 49: 1025-1035.
- 2) Church, D., Gregson, D. (2004). Screening urine samples for significant bacteriuria in the clinical microbiology laboratory. *Clin. Microbiol. Newsletter*, 26 : 179-183.
- 3) Galen, R.S., Gambino, S.R. (1975). *Beyond Normality: The predictive value and efficiency of medical diagnoses*. John Wiley & Sons, New York.
- 4) Kacmaz, B., Cakir, O., Aksoy, A., Biri, A. (2006). Evaluation of rapid urine screening tests to detect asymptomatic bacteriuria in pregnancy. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 59(4): 261-3.

- 5) Kass, E.H. (1956). Asymptomatic infections of the urinary tract. *Trans. Assoc. Am. Physicians*, 69: 56-64.
- 6) Kunin, C.M., Buesching, W.J. (2000). Novel screening method for urine cultures using a filter paper dilution system. *J. Clin. Microbiol.*, 38(3): 1187-90.
- 7) Lanini, S., Jarvis, W.R., Nicastrì, M., Privitera, G. (2009). Healthcare-Associated Infection in Italy: Annual Point-Prevalence Surveys, 2002-2004. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.*, 30: 659-665.
- 8) Lin, D.S., Huang, F.Y., Chiu, N.C., Koa, H.A., Hung, H.Y., Hsu, C.H., Hsieh, W.S., Yang, D.J. (2000). Comparison of hemocytometer leukocyte counts and standard urinalyses for predicting urinary tract infections in febrile infants. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 19(3): 223-7.
- 9) Longoria, C.C., Gonzales, G.A. (1987). FiltraCheck-UTI, a rapid, disposable system for detection of bacteriuria. *J. Clin. Microbiol.*, 25(5): 926-8.
- 10) Manoni, F., Fornasiero, L., Ercolin, M., Tinello, A., Ferrian, M., Hoffer, P., Valverde, S., Gessoni, G. (2009). Cutoff values for bacteria and leukocytes for urine flow cytometer Sysmex UF-1000i in urinary tract infections. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 65(2): 103-7.
- 11) Panchofi, P., Pavletich, K., Della-Latta, P. (2005). Rapid screening of urine specimens for bacteriuria by the cellenium system. *J. Clin. Microbiol.*, 43(10): 5288-90.
- 12) Patel, H.D., Livsey, S.A., Swann, R.A., Bukhari, S.S. (2005). Can urine dipstick testing for urinary tract infection at point of care reduce laboratory workload?. *J. Clin. Pathol.*, 58: 951-4.
- 13) Pryles, C.V. (1960). The diagnosis of urinary tract infection. *Pediatrics*, 26: 441-451.
- 14) Roveta, S., Marchese, A., Debbia, E.A. (2004). Evaluation of the Uro-Quick, a new rapid automated system, for the detection of well-characterized antibiotic-resistant bacteria.

