

# Test rapidi per la diagnosi di infezione

LUCA BRIVIO

Pediatra di Famiglia, Bollate (Milano)

Torna di moda il self-help o "fai da te" per la diagnosi d'infezione, tema al quale "Medico e Bambino" ha dedicato una particolare attenzione nel 1987. Da allora a oggi molta acqua è passata sotto i ponti, molti progressi tecnici sono stati fatti, e molta maggiore attendibilità (sensibilità e specificità) può essere attribuita ai test. Sarebbe però interessante fare un censimento dell'utilizzo effettivo di questi test nella pratica quotidiana dei Pediatri di Famiglia.

**L**e malattie infettive acute, da quelle più banali a quelle più gravi, rappresentano per noi Pediatri di Famiglia (PdF) la principale patologia con cui dobbiamo confrontarci quotidianamente. Nella maggior parte dei casi ci troviamo di fronte a quadri clinici relativamente semplici da diagnosticare sulla scorta dell'anamnesi e dell'esame obiettivo, e la scelta della terapia sarà orientata solo dalle nostre conoscenze di eziologia e di possibilità di guarigione spontanea di quella determinata patologia (ad esempio otite, laringite, bronchite). In altre situazioni, invece, l'utilizzo di alcuni test rapidamente eseguibili in ambulatorio ci permette di raggiungere una più corretta definizione diagnostica, e quindi di operare una scelta terapeutica più mirata.

Vediamo in dettaglio le più frequenti fra queste situazioni cliniche.

## BAMBINO CON FARINGOTONSILLITE ACUTA

Da sempre sappiamo che l'importante è riconoscere e trattare solo quelle da streptococco  $\beta$ -emolitico di gruppo A (SBEA), ma è solo dagli anni Ottanta che disponiamo di test per la rapida individuazione dei suoi antigeni in faringe.

Si era partiti con test basati sull'agglutinazione che richiedevano numerosi passaggi e non erano di semplice

## RAPID DIAGNOSTIC TESTS FOR INFECTIOUS DISEASES IN CHILDHOOD

(Medico e Bambino 21, 369-373, 2002)

### Key words

Rapid diagnostic tests, Streptococcus, C-Reactive Protein (CRP), Urinary tract infection, Cold agglutinins

### Summary

Recent literature on sensitivity and specificity of rapid group A Streptococcus diagnostic testing, CRP, urinary tract infection (UTI) and aetiological diagnosis of Mycoplasma pneumoniae (MP). Specificity for Rapid Diagnostic Test (RADT) is almost 100% and sensitivity about 90%. For UTI, combined urine leucocyte and nitrites testing by dipstick yields similar results. Sensitivity of cold agglutinins for MP is much lower, ranging from 50 to 90%.

lettura. Successivamente sono stati sviluppati test immuno-enzimatici, che hanno ridotto il tempo di esecuzione a pochi minuti e semplificato l'interpretazione dell'esito.

Per ultimi sono comparsi i test immuno-ottici che si distinguono per una più elevata sensibilità rispetto ai precedenti, tanto da essere segnalati anche sull'ultimo Rapporto del Comitato sulle Malattie Infettive dell'Accademia Americana di Pediatria (*Red Book* 2000) come possibili sostituti della coltura tradizionale. Dopo il primo lavoro di Harbeck<sup>1</sup> che evidenziava una sensibilità addirittura superiore a quella della coltura tradizionale, nessuno degli studi successivi ha raggiunto risultati simili, pur confermando sensibilità mediamente superiori a quelle dei metodi immuno-enzimatici<sup>2</sup>.

In un'epoca di scarsa incidenza di

complicanze suppurative e non suppurative delle faringotonsilliti da SBEA si può essere fortemente tentati di abbandonare la tradizionale coltura per questi test capaci di fornire una risposta in pochi minuti e a costi relativamente contenuti. Non tutti gli esperti concordano in materia, e comunque i più difendono ancora la prassi di eseguire una coltura di fronte a un test rapido negativo.

È comunque fondamentale che i PdF riconoscano che non tutti i test di diagnosi rapida sono uguali. La *Tabella I* riassume le caratteristiche dei principali test rapidi in commercio in Italia, così come sono state desunte dai foglietti illustrativi dei prodotti. La *Tabella II* mostra invece come esista una certa variabilità nei dati di sensibilità e specificità nei diversi studi condotti, e come le ditte tendano a fornire

CARATTERISTICHE DI ALCUNI TEST DI DIAGNOSI RAPIDA PER GLI ANTIGENI DI SBEA IN COMMERCIO COME DA SCHEDA TECNICA

Test (distributore)	Sensibilità %	Specificità %	Numerosità del campione	Conservazione	Costo unitario (listino 12/2001)*
Icon Fx (Promesan)	92,3	100	145	Temp. ambiente	12.000 lire
Link 2 (CarpeDiem)	90,2	98,1	145	Temp. ambiente	14.400 lire
Cards QS Strep A (Quidel)	95,0	98,0	833	Temp. ambiente	12.600 lire
OIA Max (Biostar)	> coltura standard	92,5	184	Frigorifero	9600 lire

\* In genere il distributore applica uno sconto sul prezzo di listino che può variare dal 10 al 30%

Tabella I

solo i risultati migliori: in particolare va sottolineato che in ogni caso il test immuno-ottico ha una sensibilità superiore agli altri (anche se un po' più lungo nella procedura), e che la variabilità dei dati fra i diversi studi è influenzata soprattutto dai seguenti fattori:

- condizioni non omogenee delle colture di riferimento;
- training non omogeneo degli esecutori del test.

A questo proposito giova ricordare che la bassa carica antigenica sembrerebbe il fattore principale nel limitare la sensibilità di questi test. A sua volta l'entità della carica è correlata alla corretta esecuzione del tampone, che va strofinato sia sulle tonsille che sulla parete posteriore del faringe. A dimostrazione di quanto siano importanti le dimensioni dell'inoculo un recente studio ha evidenziato come la sensibi-

lità di un test rapido aumenti se si strofinano contemporaneamente due tamponi e il loro estratto viene analizzato insieme<sup>3</sup>.

Si potrebbe obiettare che, poiché una bassa carica e quindi un test rapido debolmente positivo corrispondono solitamente a una coltura con poche colonie, ci si trovi di fronte a una faringite virale in un portatore sano di SBEA che non necessita di essere trattato. In realtà sappiamo che non sempre una scarsa crescita si associa a un'assenza di movimento anticorpale (indicatore di infezione) e che, quindi, non può essere presa come criterio per astenersi dal trattamento antibiotico<sup>4</sup>. D'altronde in tutti i foglietti illustrativi dei test rapidi è ben indicato che anche le reazioni più deboli debbano intendersi come positive. Un suggerimento pratico molto utile può essere quello di validare la sensibilità

del test che si è deciso di utilizzare nel proprio ambulatorio, confrontandone per un certo periodo i risultati con quelli delle colture richieste in contemporanea al proprio laboratorio di fiducia.

Una volta note queste variabili "tecniche" dei test rapidi, gli altri fattori che influenzeranno la scelta del pediatra di fronte a un test negativo sono legati al paziente e alla situazione epidemiologica contingente. In un bambino con precedenti di complicanze da SBEA non ci si potrà esimere dal chiedere una coltura di conferma, così pure nei suoi conviventi e ogni qual volta nella comunità locale vengano segnalati nuovi casi di malattia reumatica, glomerulonefrite acuta e forme invasive da SBEA.

#### BAMBINO CON FEBBRE SENZA ALTRI SINTOMI O SEGNI ASSOCIATI

In questi casi abbiamo il difficile compito di capire se ci si trova di fronte a una banale infezione virale, che guarirà spontaneamente, oppure a un'infezione batterica grave meritevole di trattamento antibiotico, se non addirittura di ricovero. In queste situazioni l'ideale sarebbe di poter disporre in pochi minuti di un'analisi delle urine, di una conta dei globuli bianchi - in particolare dei granulociti neutrofili - e di un dosaggio della proteina C reattiva (PCR). Benché tecnicamente sia possibile eseguire in am-

SENSIBILITÀ E SPECIFICITÀ DI 4 TEST DI DIAGNOSI RAPIDA PER GLI ANTIGENI DI SBEA COME DAI DATI DELLA LETTERATURA

Test	Metodica	Sensibilità %	Specificità %	Studi pubblicati
Icon Fx	Immuno-enzimatica	55-90		3
Test Pack Plus	Immuno-enzimatica	69-90	90-100	5
Directigen	Agglutinazione	84-91	94-99	6
OIA Max	Immuno-ottica	78-97	89-98	5

Da: Facklam RR, semplificata<sup>2</sup>

Tabella II

bulatorio tutti questi esami in tempi relativamente brevi, solo per il dosaggio della PCR possiamo parlare di vero e proprio test rapido, perché non necessita di un'apparecchiatura costosa e ingombrante come il microscopio, ed è realmente eseguibile in 5-10 minuti.

Ma possiamo fidarci della PCR senza una conta dei leucociti? Le linee guida americane più recenti e più accreditate per la valutazione del bambino con febbre di origine sconosciuta non contemplano l'utilizzo della PCR, ma solo quello dei globuli bianchi<sup>5</sup>, ma è anche vero che negli Stati Uniti questo esame non è stato largamente utilizzato e studiato come in Europa<sup>6</sup>.

In questi ultimi anni, con la scoperta di nuovi e promettenti indici infiammatori come la procalcitonina, la PCR è stata nuovamente oggetto di numerosi studi - soprattutto europei - che hanno confermato una capacità discriminante fra infezione batterica grave e banale infezione virale, non sostanzialmente diversa da quella della conta leucocitaria, con sensibilità variabili da studio a studio, ma comunque mediamente comprese fra 80 e 90%<sup>7</sup>. Questi valori sono del tutto sovrapponibili a quelli estrapolabili dall'ultima review pubblicata sull'utilizzo della PCR in pediatria e che fa riferimento a studi compiuti negli anni Ottanta<sup>8</sup>.

Il PdF che decide di utilizzare il test rapido per la PCR deve essere a conoscenza di questo 10-20% di falsi negativi, e anche del fatto che la PCR può non innalzarsi nelle prime 12 ore dall'esordio della febbre<sup>9</sup>. Pertanto il suo dosaggio dovrà essere utilizzato come un parametro aggiuntivo a quelli clinici, e non come il discriminante nella decisione da intraprendere. I test rapidi in commercio ben correlano con la procedura standard di laboratorio<sup>10</sup> e, partendo da poche gocce di sangue intero, in 5-10 minuti forniscono un risultato semiquantitativo a costi contenuti. Un utile suggerimento pratico è quello di "pompare" il sangue verso il polpastrello prima di pungerlo, in modo da ridurre al minimo il tempo di raccolta dei 25 microlitri di sangue necessari per eseguire il test.

La *Tabella III* riassume le caratteristiche dei principali test in commercio

in Italia, così come sono state desunte dai foglietti illustrativi dei prodotti.

Dosare la PCR ci aiuta a discriminare fra infezione batterica e virale, e a darci un'idea della gravità dell'infezione, ma non ci dice nulla circa la sua sede, mentre sappiamo che, soprattutto nei primi anni di vita, è fondamentale analizzare le urine alla ricerca di un eventuale focus occulto. Data la scarsa praticità dell'analisi microscopica delle urine, che richiede appunto l'utilizzo del microscopio, è logico chiedersi se la ricerca dei leucociti e nitriti mediante strisce reattive possa essere utilizzata come valido sostituto. Dai risultati di una meta-analisi<sup>11</sup> sull'argomento pubblicata due anni fa sembrerebbe proprio di sì: la presenza di leucociti o nitriti raggiunge una sensibilità dell'88%, mentre la loro contemporanea presenza raggiunge una specificità del 96%. Solo la presenza di germi rilevati con la colorazione di Gram su urine non centrifugate raggiunge una sensibilità maggiore (93%), mentre la ricerca di leucociti in urine non centrifugate si ferma al 77% e, in quelle centrifugate, al 67%.

Anche qui siamo comunque di fronte a un teorico 12% di falsi negativi con le strisce reattive, e quindi l'assenza di leucociti e nitriti non deve farci escludere in modo assoluto un'infezione delle vie urinarie, soprattutto in quelle fasce di età che sappiamo essere a maggior rischio di IVU (maschi di età inferiore a 6 mesi e femmine con meno di 12-24 mesi). L'analisi delle urine mediante strisce reattive è rapidissima

da eseguire (1-2 minuti) e la difficoltà sta solo nella raccolta del campione. A questo proposito, poiché difficilmente lo studio del PdF è attrezzato per fornire una disponibilità di spazio e tempo adeguati alla raccolta delle urine nel bambino non collaborante, sarebbe utile che i genitori venissero preventivamente informati sulla necessità di presentarsi in studio con un campione di urine raccolto a casa nelle 3-4 ore precedenti. Quest'ultima opera di educazione sanitaria potrebbe essere svolta durante i frequenti bilanci di salute del primo anno e comunque, se si lavora su prenotazione anche per le patologie acute, si avrà il tempo di istruire i genitori anche al momento del bisogno. Al fine di ottimizzare la performance degli stick urine è bene ricordare ai genitori di idratare il bambino e di non somministrare cibi ricchi di vitamina C, nonché di lavare accuratamente i genitali prima della raccolta. Il pediatra dal canto suo non deve dimenticare che la sensibilità dei nitriti è direttamente proporzionale al tempo di permanenza delle urine in vescica. La *Tabella IV* riassume le caratteristiche dei principali test in commercio in Italia.

#### BAMBINO CON DISURIA SENZA FEBBRE

La ricerca dei nitriti e dei leucociti con le apposite strisce reattive per le urine ci orienta verso una diagnosi di cistite. La specificità di questo test è

CARATTERISTICHE DI ALCUNI TEST RAPIDI PER LA PROTEINA C REATTIVA IN COMMERCIO IN ITALIA

Test (distributore)	Confezione (test)	Conservazione	Costo unitario (listino 12/2001)*
Nycocard CRP (CarpeDiem)	48	Temp. ambiente	13.500 lire
	24		15.000 lire
One Step CRP (CarpeDiem)	20	Temp. ambiente	12.000 lire
QuickRead CRP (Quidel)	50	Temp. ambiente	19.200 lire**

\* In genere il distributore applica uno sconto sul prezzo di listino che può variare dal 10 al 30%

\*\* Eseguibile solo con lettore quantitativo QuickRead dal costo di lire 2.880.000

Tabella III

CARATTERISTICHE DI ALCUNI TEST RAPIDI PER L' ANALISI DELLE URINE IN COMMERCIO IN ITALIA

Test (distributore)	Confezione (test)	Conservazione	Costo unitario (listino 12/2001)*
Combur 10 test Boehringer (in farmacia)	50-100	Temp. ambiente	1.200 1.400
Multistix Bayer (in farmacia)	25-100	Temp. ambiente	1.584 2.112
Rapignost Total-Screen L SG (Quidel)	100	Temp. ambiente	1.392
Uri M 10 (Carpe Diem)	100	Temp. ambiente	1.020

\* In genere il distributore applica uno sconto sul prezzo di listino che può variare dal 10 al 30%

Tabella IV

PATOLOGIE E QUADRI CLINICI CON INQUADRAMENTO DIAGNOSTICO FACILITATO DALL' IMPIEGO DI TEST RAPIDI

	Antigeni SBEA in faringe	Proteina C reattiva	Stick urine per leucociti/nitriti	Agglutinine a frigore	Antigeni di pneumococco
Faringotonsillite	+				
Febbre di ndd		+	+		
Disuria di ndd			+		
Polmonite				+	+

Tabella V

così elevata che, nell'impossibilità di raccogliere e seminare in breve tempo un secondo campione per urinocoltura, la terapia antibiotica dovrebbe essere intrapresa immediatamente al fine di alleviare rapidamente i sintomi del bambino.

BAMBINO CON POLMONITE

La ricerca delle agglutinine a freddo ci orienta nella scelta terapeutica fra un beta-lattamico o un macrolide. Quando il dosaggio viene fatto in laboratorio, un titolo uguale o superiore a 1:32 lo si ritrova nel 50-90% dei casi. Questa notevole variabilità è dovuta al fatto che le agglutinine raggiungono un massimo nella terza settimana di malattia. La loro specificità sarebbe sufficientemente elevata da permetterci di utilizzare il dato positivo come un'indicazione al trattamento con macrolide<sup>12</sup>.

Resta da chiarire quanto il test eseguito estemporaneamente in ambulatorio corredi con la metodica standard di laboratorio: in letteratura ho trovato un unico lavoro in proposito, con testo in cinese e abstract in inglese, dal quale sembrerebbe dedursi un'ottima correlazione per un cut-off di 1/64<sup>13</sup>. Il test si esegue in pochi minuti prelevando poche gocce di sangue da inserire in una provetta da emocromo; la provetta va poi immersa in acqua ghiacciata e, trascorso qualche minuto, si valuta in controluce il fenomeno dell'agglutinazione che è massimo a 4°C e deve scomparire mano a mano che la temperatura risale. Recentissimamente è entrato in commercio un nuovo test rapido per la ricerca di antigeni di pneumococco nelle urine, basato su una metodica immunocromatografica. I dati forniti dalla ditta produttrice sembrano molto interessanti<sup>14</sup>, ma non sono stati confermati da un lavoro pubblicato dai CDC di Atlanta che mette

MESSAGGI CHIAVE

□ L'attuale disponibilità di test rapidi per l'uso nella pediatria ambulatoriale consente di avere una più precisa definizione diagnostica di alcune patologie e quindi di operare una scelta terapeutica mirata.

□ Il test rapido per la diagnosi di faringotonsillite da SBEA si basa su metodiche immuno-enzimatiche e immuno-ottiche; ha una buona sensibilità e un'ottima specificità, anche se variabile tra i vari studi e dipendente in parte dalle tecniche di esecuzione del test. L'adozione nella pratica consente di fare una precisa diagnosi eziologica e di trattare solo le forme da SBEA.

□ Il bambino febbrile senza altri sintomi di localizzazione può essere valutato in ambulatorio eseguendo: lo stick delle urine (sensibilità per leucociti o nitriti: 88%; specificità se entrambi presenti: 96%) e il dosaggio della PCR che avrebbe una sensibilità dell'80-90% nel distinguere tra infezione batterica grave e virale.

□ La determinazione delle agglutinine a frigore a letto del malato è un presidio in più che può orientare (assieme a criteri clinici ed epidemiologici) la distinzione tra una polmonite da *Mycoplasma* e una forma da altri batteri. Sono pochi gli studi che hanno valutato sul campo la sensibilità e la specificità del test.

in luce la difficoltà a distinguere il bambino malato di polmonite dal portatore di pneumococco<sup>15</sup>.

La Tabella V riassume le patologie o le condizioni il cui inquadramento diagnostico può beneficiare dall'uso di test rapidi. Considerata l'elevata frequenza delle faringotonsilliti e la notevole rilevanza della febbre di ndd, ogni ambulatorio pediatrico di base dovrebbe disporre di almeno 3 test rapidi: 1) per la ricerca degli antigeni di SBEA, 2) per la ricerca di leucociti e nitriti nelle urine e 3) per il dosaggio della PCR. Ovviamente chi volesse dotarsi di un microscopio può integrare o sostituire quest'ultimo test con la conta dei leucociti e dei neutrofili. A tale proposito sono in commercio dei kit (Unopette e Testsimplents, distribuiti rispettivamente da Becton-Dickinson e da Boehringer-Mannheim) che ridu-

cono i tempi tecnici di preparazione del campione. In attesa di ulteriori dati circa la performance del test rapido per gli antigeni di pneumococco, potrebbe essere utile tenere in studio qualche provetta per emocromo per poter eseguire almeno le agglutinine a frigore in caso di polmonite.

#### Bibliografia

1. Harbeck RJ, et al. Novel, rapid optical immunoassay technique for detection of group A streptococci from pharyngeal specimens: Comparison with standard culture methods. *J Clin Microbiol* 1993;31:839-44.
2. Facklam RR. Screening for streptococcal pharyngitis: current technology. *Infect Med* 1997;14(11):891-8.
3. Kurtz B, et al. Importance of inoculum size and sampling effect in rapid antigen detection for diagnosis of *Streptococcus pyogenes* pharyngitis. *J Clin Microbiol* 2000;38:279-81.
4. Gerber MA, et al. Antigen detection test for streptococcal pharyngitis: evaluation of sensitivity with respect to true infections. *J Pediatr* 1986;108:654-8.
5. Children's Hospital Medical Center of Cincinnati: Evidence based clinical practice guideline of fever of uncertain source. Outpatient evaluation and management for children 2 months to 36 months of age. National Guideline Clearinghouse, Feb. 2000. [www.guideline.gov](http://www.guideline.gov)
6. Gambino R. C-reactive protein - undervalued, underutilized. *Clinical Chemistry* 1997; 43: 2017-8.
7. Lacour AG, et al. Procalcitonin, IL-6, IL-8, IL-1 receptor antagonist and C-reactive protein as identifiers of serious bacterial infections in children with fever without localizing signs. *Eur J Pediatr* 2001;160:95-100.
8. Jaye DL, Waites KB. Clinical applications of C-reactive protein in pediatrics. *Pediatr Infect Dis J* 1997;16:735-45.
9. Putto A, et al. C-reactive protein in the evaluation of febrile illness. *Arch Dis Child* 1986;61:24-9.
10. Paloheimo, et al. A fast B-CRP assay for near-patient testing or point-of-care testing. *Laboratory Medicine* 2000, XXVII Nordic Congress of Clinical Chemistry. Bergen, Norway 4-8/6/2000.
11. Gorelick MH, et al. Screening tests for urinary tract infection in children: a meta-analysis. *Pediatrics* 1999;104(5).
12. Bartolozzi G, Guglielmi M. *Pediatria*. Masson, 1998:436-38.
13. Cheng JH, et al. A rapid cold agglutinin test in *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Chung Hua I Hsueh Tsa Chih* 1990;46:49-52.
14. [http://www.binax.com/pdfs/now\\_strep.pdf](http://www.binax.com/pdfs/now_strep.pdf)
15. Dowell SF, et al. Evaluation of Binax NOW, an assay for the detection of pneumococcal antigen in urine samples, performed among pediatric patients. *Clin Infect Dis* 2001;32:824-5.