UNIVERSITÁ DEGLI STUDI DI GENOVA

DIPARTIMENTO DI NEUROSCIENZE, RIABILITAZIONE, OFTALMOLOGIA,

GENETICA E SCIENZE MATERNO-INFANTILI – DINOGMI



TESI DI SPECIALIZZAZIONE IN PEDIATRIA

Studio pilota su uso di Diffusion-Weighted magnetic resonance imaging e immagini T2-pesate nell'identificazione della pielonefrite acuta e nella valutazione del rischio di sviluppo di nuove lesioni cicatriziali renali in lattanti e bambini con un primo episodio di infezione delle vie urinarie febbrile: analisi in itinere dei dati relativi alla fase acuta

RELATORE

Chiar.mo Prof. M. Maghnie

CORRELATORE CANDIDATO

Chiar.mo Prof. E. Verrina Dott. Paolo Giordano

ANNO ACCADEMICO 2020/2021

INDICE

ABSTRACT	1
INTRODUZIONE	3
CAPITOLO I: Infezioni delle vie urinarie in età pediatrica	3
Generalità	3
Eziopatogenesi	4
Manifestazioni cliniche	5
Diagnostica	6
Complicanze	13
Terapia	14
Prevenzione e profilassi	16
Capitolo 2: Risonanza Magnetica – sequenze pesate in diffusione (DWI)	18
Generalità	18
Applicazioni Cliniche	19
Capitolo 3: Lipocalina gelatinasi-associata ai neutrofili	20
OBIETTIVI DELLO STUDIO	22
MATERIALI E METODI	23
Pazienti	23
Metodi	22
Wetodi	23
Note tecniche	26
RISULTATI	32
Popolazione dello studio	32
Fase acuta	32
Follow up	48
Long-term follow-up (T2)	50
Discussione	Fa
Discussione	52
Commento dei risultati	52
	57

Conclusioni	59
RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI	60

ABSTRACT

La diagnosi di pielonefrite acuta (PNA) si basa su dati clinici, biochimici e di imaging. Un corretto inquadramento diagnostico con idoneo trattamento è necessario per evitare lo sviluppo di cicatrici renali con danno renale cronico.

Questa tesi riguarda l'analisi *in itinere* dei dati raccolti ad 11 mesi dall'avvio del *Progetto di Ricerca Finalizzata 2019 "RF-2019-12371234"* per valutare le correlazioni tra dati clinici-laboratoristici e coinvolgimento del parenchima renale valutato in fase acuta con la risonanza magnetica in sequenza DWI, ripetuta dopo 6 mesi.

Tra gennaio e novembre 2022 sono stati arruolati 37 pazienti (età <3 anni) con diagnosi di prima infezione febbrile delle vie urinarie. La raccolta dei dati clinici e laboratoristici è avvenuta all'ingresso in Istituto (T0) e al momento dello *shift* dalla terapia antibiotica (ABT) da parenterale a orale (T1). Entro 72 ore dall'avvio della ABT, sono state effettuate ecografia (eco) e RM-DWI renale, per identificare eventuali focolai pielonefritici. A tutti i pazienti arruolati è stato programmato un controllo a 5-8 mesi dall' evento acuto (T2), ad oggi effettuato in 12/37, con rivalutazione clinica-laboratoristica-strumentale.

I pazienti con PNA documentata con RM-DWI (20/37) e con eco (17/37) avevano livelli di PCR più elevati rispetto ai pazienti senza focolai.

Questa valutazione è su una piccola parte del campione di studio previsto dal protocollo. I dati preliminari sembrano dimostrare come l'RM-DWI sia una tecnica utile e sicura per identificare la presenza di lesioni pielonefritiche in età pediatrica, anche se è eseguibile solo in centri altamente specializzati e richiede la sedazione del bambino. La prosecuzione dello studio, ampliato con la valutazione del NGAL urinario, marker di danno tubulare, e con la CEUS (ecografia con ecoemplificatore) potrebbe aiutare a identificare, insieme con la ripetizione

della RM-DWI, i soggetti a rischio per una possibile evoluzione verso la cronicizzazione del danno renale.

INTRODUZIONE

CAPITOLO I: Infezioni delle vie urinarie in età pediatrica

Generalità

Le infezioni delle vie urinarie (IVU) sono una delle più comuni infezioni batteriche in età pediatrica, causate da proliferazione batterica in un sito anatomico altrimenti sterile.^{1,2} La presenza o assenza di sintomi permette di distinguere il riscontro di batteri nel tratto urinario rispettivamente in IVU e in colonizzazione (batteriuria asintomatica) del tratto urinario.^{3,4} Distinguiamo le infezioni delle basse vie urinarie dalle infezioni "alte" più precisamente definite che comprendono quadri di cistopielite e di pielonefrite acuta (PNA).¹ Un'ulteriore distinzione delle IVU è basata sulla presenza o assenza di compromissione morfofunzionale del tratto colpito. Si definisce "complicata" una IVU che si verifica in pazienti con anomalie strutturali o funzionali o che presentino altri fattori di rischio (presenza di vescicale, catetere presenza di litiasi, immunocompromissione dell'ospite, insufficienza renale) in cui l'antibiotico terapia è poco e per niente efficace, con conseguente risposta ritardata o ridotta.⁵

L'incidenza di IVU nei primi due mesi di vita è circa del 20% nel maschio non circonciso e di 5% nelle femmine e, se consideriamo i primi sei mesi di vita, il rischio nei maschi non circoncisi incrementa ulteriormente. Dopo il primo anno di vita, di contro, le femmine diventano a maggior rischio di sviluppo di IVU per cause anatomiche.^{5,6}

Fattore di rischio ulteriore per lo sviluppo di infezione delle vie urinarie è la presenza di malformazioni congenite del rene e del tratto urinario (CAKUT) ed in particolare di reflusso vescico-ureterale (RVU) in presenza del quale nel 30% dei casi il primo segno clinico è lo sviluppo di IVU.⁷ Altri fattori predisponenti allo sviluppo di IVU sono la presenza di altre condizioni patologiche quali la stipsi, la

calcolosi, le anomalie vescicali (dalla incoordinazione detruso-sfinteriale sino alla vescica neurologica), le patologie neuro-muscolari e il diabete mellito. 8-10

Eziopatogenesi

L'apparato urinario è considerato un tratto sterile, a differenza di altri sistemi comunicanti con l'esterno quali l'apparato respiratorio e l'apparato gastro-intestinale che sono invece popolati da una flora batterica commensale e patogenica.¹¹

Dal punto di vista eziologico i principali responsabili delle infezioni delle vie urinarie sono i batteri della flora intestinale e, in particolare, nell'80-90% dei casi l'agente responsabile è *Escherichia coli*.² La vicinanza anatomica tra uretra e orifizio anale giustifica questa prevalenza. Altri microrganismi che comunemente causano IVU sono *Klebsiella spp, Enterococcus spp* e *Proteus mirabilis* (quest'ultimo più comune nei maschi che nelle femmine).^{4,12-16}

Vi sono forme di IVU causate da virus, come ad esempio le cistiti emorragiche da *adenovirus*^{8,14}, e forme, più rare, prevalentemente associate a terapie antibiotiche ad ampio spettro prolungate o che si realizzano nei soggetti immunocompromessi in cui l'agente responsabile è un micete quali *Candida spp, Cryptococcus neoformans* e *Aspergillus spp*.^{14,30}

Dal punto di vista patogenetico, le IVU sono dovute a batteri che ascendono dall'area periuretrale alla regione vescicale e potenzialmente alle alte vie urinarie. ^{5,8,14,18} Questo fenomeno può avvenire però se il ceppo batterico esprime dei fattori di virulenza che permettono la colonizzazione e l'invasione del tratto urinario. Tra i diversi fattori espressi, il più importante è l'adesina, proteina che favorisce l'adesione dei batteri a recettori mucosali dell'uroepitelio, impedendo che il fisiologico *wash-out* dovuto alla minzione, elimini i batteri. Nel caso dei ceppi di *E. coli* uropatogeni sono state identificati 3 diversi tipi di adesine: pili di

tipo 1 o fimbrie, fimbrie P e adesine X.^{4,20,21} In seguito all'adesione e l'invasione uroepiteliale, i batteri formano un biofilm che li rende resistente ai meccanismi di difesa immunitaria dell'ospite.⁴

L'ospite risponde all'invasione per il tramite della produzione da parte dell'uroepitelio di muco e secrezioni contenenti peptidi ad azione antimicrobica, dell'espressione e attivazione di *toll-like receptor* con produzione di mediatori della flogosi locale, della produzione di immunoglobuline solubili (IgA) e dell'azione meccanica del flusso urinario stesso.^{22, 23}

Manifestazioni cliniche

Le IVU presentano un corteo sintomatologico sostanzialmente aspecifico per i primi due anni di vita.

Nell'epoca neonatale si può registrare iporessia, iposuzione, vomito, irritabilità, ridotto accrescimento ponderale o arresto di crescita ma sono possibili anche segni di sepsi come instabilità della temperatura corporea (TC), ipoperfusione periferica, letargia o irritabilità, apnee e acidosi metabolica. La presenza di urine maleodoranti, per quanto poco comune, è un sintomo specifico di IVU. In questa fascia d'età lo shock settico è inusuale, ma comunque possibile in presenza di una fase batteriemica.^{21, 22, 24}

Nei primi due anni di vita la più comune manifestazione clinica di IVU è la presenza di febbre o febbricola in assenza di altri sintomi. 6,8,21,25 In questa fascia d'età possiamo riscontrare gli stessi segni aspecifici dell'età neonatale ai quali si può aggiungere l'addominalgia. 5,19,26, Tra i segni specifici, oltre alla presenza di urine maleodoranti, rientrano frequenti episodi di pianto o irritabilità secondari a minzioni fastidiose o dolorose e frequenti (disuria e pollachiuria), con possibili, anche se meno frequenti, quadri di ritenzione urinaria acuta. 19,28

Dal secondo anno di vita in poi i sintomi delle infezioni delle vie urinarie diventano più specifici: dolore sovrapubico e addominalgia, disuria, pollachiuria e urgenza minzionale, enuresi di nuova insorgenza ed incontinenza urinaria diurna, febbre, brividi, vomito, malessere, dolore al fianco e all'angolo costo-vertebrale.^{2,8,19,28-31}

Diagnostica

La diagnosi di IVU viene formulata, secondo le linee guida dell'American Accademy of Pediatrics (AAP), in bambini con *stick* urinario positivo (esterasi leucocitaria e/o nitriti), presenza di piuria o batteriuria all'esame chimico fisico delle urine e presenza di almeno 50000 UFC/ul di batterio uropatogeno rilevato su urinocoltura (UC) effettuata su campione prelevato per il tramite di puntura sovrapubica o cateterismo vescicale.³² Le linee guida della Società Europea di Urologia Pediatrica (ESPU) affermano invece che la crescita colturale, a prescindere da valori di UFC, su puntura sovrapubica sia diagnostica per IVU se di almeno 1000-10000 UFC/ml con campione ottenuto con cateterismo vescicale.³³ In realtà, nella pratica clinica, il ricorso alla puntura sovrapubica è un evento raro ed analogamente infrequente è il ricorso al cateterismo vescicale. Per lo più la raccolta urine viene effettuata o con l'apposito sacchetto adeso nella regione dei genitali, dopo corretta detersione della regione perineale, o con una raccolta "a volo" del cosiddetto "mitto medio" o *clean catch*.

• Esami di laboratorio

Il *gold standard* per la diagnosi di IVU è l'UC che deve essere eseguita prima dell'avvio di ABT nei pazienti in cui si sospetta una infezione delle vie urinarie.³⁴ L' UC fornisce informazioni qualitative (specie batterica in crescita e spettro di sensibilità ad antibiotici) e quantitative (espresse in unità formanti colonie o UFC). Nei bambini che non hanno raggiunto il controllo sfinteriale, il campione urinario può essere raccolto attraverso un sacchetto sterile perineale, metodo poco invasivo ma con il rischio di contaminazione batterica con flora periuretrale e quindi di falsa positività, per cui sarebbe indicato in questo range di età una

raccolta di urine attraverso la metodica "clean catch", la cateterizzazione o aspirazione attraverso puntura sovrapubica (queste ultime due metodiche sono considerate gold standard dall' AAP).³² Tuttavia l'uso del sacchetto sterile è la metodica più utilizzata in età pediatrica soprattutto nei setting di primo soccorso, per la sua facilità di esecuzione e per la sua minima invasività. Il clean-catch invece è più facilmente applicabile quando i bambini hanno raggiunto il controllo sfinteriale.³⁵ La positività di un'UC sarà evidente dopo 24 ore dalla semina in piastra di Petri, mentre lo spettro di sensibilità agli antibiotici si ottiene a 48 ore di distanza dalla semina. Si considera positiva una UC che presenta almeno 100000 UFC/ul su campione prelevato da sacchetto urinario sterile o con clean-catch, mentre nel caso di campione ottenuto con cateterismo vescicale o con puntura sovrapubica si considera positiva se vi sono almeno 10000 UFC/ul.^{32,35} (Tabella 1)

Batteri uropatogeni rilevanti	Batteri non uropatogeni
Escherichia coli	Lactobacillus spp.
Klebsiella spp.	Staphylococci coagulasi
	negativi
Proteus spp.	Corynebacterium spp.
Enterobacter spp.	
Citrobacter spp.	
Serratia marcescens	
Staphylococcus	
saprophyticus	
Enterococcus spp.	
Pseudomonas aeruginosa	
Staphylococcus aureus	

Tabella 1 - Batteri uropatogeni e flora saprofitica

All'UC va affiancato lo stick urinario, un esame rapido, di facile esecuzione ed economico che permette di ottenere informazioni sulle caratteristiche chimico-fisiche delle urine quali pH urinario e peso specifico, ma anche sulla presenza di ematuria, proteinuria e marcatori urinari di infezione: l'esterasi leucocitaria e i nitriti.

L'esterasi leucocitaria è un enzima contenuto nei granulociti ed il suo riscontro nelle urine indica in modo indiretto la presenza di piuria e flogosi del tratto urinario.⁴ I nitriti invece sono indicatori della presenza di batteri capaci di ridurre i nitrati (*E. coli, Klebsiella spp., Proteus spp*), introdotti attraverso la dieta, in nitriti grazie alla azione di ureasi.^{36,37}

L'esterasi leucocitaria ha una buona sensibilità (83%), ma di contro ha una specificità minore (78%) per cui è possibile la sua positività anche in pazienti non con IVU. I nitriti invece hanno una sensibilità modesta (53%), ma una elevata specificità (98%), per cui il loro riscontro permette di formulare una probabile diagnosi di infezione delle vie urinarie. Combinando i due test, si può ottenere indicazione precisa di presenza o assenza di IVU.^{14,38}

Ad integrazione degli esami urinari, in caso di fIVU e soprattutto in bambini nel primo anno di vita, in condizioni cliniche scadenti e/o con altri fattori di rischio, è utile effettuare anche esami ematochimici. La presenza di leucocitosi con neutrofilia, incremento di proteina C reattiva (PCR), incremento della velocita di eritrosedimentazione (VES) e procalcitonina (PCT) sono suggestivi di una infezione delle alte vie urinarie, ma soprattutto quest'ultimo analita sembra essere un marcatore diagnostico per discriminare una IVU da una PNA.³⁹⁻⁴⁴ Nell'ambito del monitoraggio emato-clinico e dell'inquadramento diagnostico delle IVU è indicata anche la valutazione della funzionalità renale con il dosaggio della creatininemia e dell'azotemia.^{13,14} In presenza di segni clinici di sospetta batteriemia, urosepsi (condizioni generali scadenti o instabilità emodinamica) è importante effettuare un'emocoltura.¹³

Esami strumentali

Ecografia dei reni e delle vie urinarie

Nell'algoritmo diagnostico delle IVU in età pediatrica è importante disporre di uno studio di *imaging*.¹⁹ Tenendo ben presente l'importanza di limitare al minimo indispensabile l'esposizione di questa fascia di popolazione a radiazioni ionizzanti verso cui è particolarmente suscettibile, la metodica di studio di scelta per i reni e le vie urinarie è l'ultrasonografia (US), tecnica non invasiva, scevra dall'esposizione a radiazioni, sicura, facile e rapida nell'esecuzione e ripetibile.¹⁴ L'US è indicata:

- al di sotto dei 2 anni di età con una IVU febbrile,
- a qualsiasi età in paziente con IVU ricorrenti,
- in pazienti con anamnesi familiare positiva per patologie renali o urologiche,
- in coloro che presentano scarsa o assente risposta a terapia antibiotica mirata.

L'indicazione all' US può essere posposta a 1-2 settimane dall' evento acuto per evitare riscontro di falsi positivi secondari allo stato flogistico dei reni o delle vie escretrici, a meno che non vi siano forme di IVU poco responsive a terapia antibiotica tradizionale, al fine di escludere ascessi renali o quadri ostruttivi. 6,14,25 L'US è una metodica che permette di ottenere informazioni morfologiche dei reni e delle vie urinarie: dimensioni, forma, ecogenicità e posizione dei reni e della vescica, morfologia degli ureteri, eventuali duplicità delle vie urinarie, presenza di uropatie ostruttive, segni suggestivi di RVU, presenza di urolitiasi. L'US può inoltre evidenziare eventuali ascessi renali o peri-renali e presenza di pionefrosi, ma non ha una buona sensibilità nell'individuazione di *foci* pielonefritici. 6,14,45,46

Scintigrafia renale statica

La scintigrafia con ^{99m}Tc-Acido Dimercaptosuccinico (DMSA) è considerato il *gold* standard per rilevare la presenza di coinvolgimento parenchimale renale in corso di IVU, permettendo di identificare la PNA. 18,47,48 Questa metodica valuta, in seguito alla somministrazione di ^{99m}TC-DM al paziente per via endovenosa (ev), l'uptake da parte del parenchima renale. Il parenchima apparirà come "caldo", dove vi è tessuto metabolicamente attivo, e "freddo", dove vi è tessuto inattivo. L'uso routinario di questa tecnica è però inficiato dalla necessità di somministrazione di un farmaco radiomarcato al paziente e alla necessità di evitare il contatto con bambini e con donne gravide nelle 24 ore successive all'esame.4 La scintigrafia DMSA viene effettuata in corso di fase acuta nei casi dubbi (es. ascessi "chiusi" intrarenali) e/o per evidenziare la presenza di focolai pielonefritici. Di contro a distanza di 4-6 mesi dall'episodio acuto la scintigrafia con DMSA è utile per valutare eventuali processi di cicatrizzazione (renal scars) nella stessa sede del focolaio pielonefritico precedente.² Questa tempistica è suggerita dalle linee guida del National Institute for Health and Care Excellence (NICE) che raccomanda l'uso di DMSA a distanza di 4-6 mesi da IVU atipica (malattia severa, flusso urinario debole, presenza di massa addominale o vescicale, incremento della creatininemia, setticemia, UC positiva per batteri diversi da E. coli, o risposta limitata o nulla a terapia antibiotica dopo 48 ore) in bambini al di sotto di 3 anni o in caso di IVU ricorrenti in bambini di qualsiasi età. 48

Cistoureterografia e cistosonografia minzionale

La cistoureterografia minzionale (CUM) e la cistosonografia minzionale (CSG) sono due tecniche, ad oggi sostanzialmente equiparabili, per la diagnosi e classificazione del RVU, ovvero il passaggio retrogrado di flusso urinario dalla vescica agli ureteri fino al parenchima renale. Secondo una teoria, recentemente messa in discussione da Hewitt e Montini RVU può causare danno renale attraverso una sollecitazione meccanica ripetuta dovuta alla risalita

di urina sterile a livello renale e attraverso infezioni ricorrenti, con innesco di una reazione infiammatoria nel parenchima renale.⁵³

La CUM è un esame diagnostico attuato dopo l'inserimento in vescica di un catetere attraverso cui si effettua un riempimento vescicale con un mezzo di contrasto iodato radio-opaco. Nel mentre si effettua una registrazione fluoroscopica per acquisire le immagini delle fasi di riempimento e svuotamento vescicale con visualizzazione dell'uretra.⁵⁰

La CSG, necessita di analogo cateterismo vescicale, ma il mezzo di contrasto usato è di tipo iperecogeno e le immagini di riempimento e svuotamento vescicale sono acquisite attraverso l'uso di un ecografo.^{50,51}

La CUM e la CSG permettono di diagnosticare la presenza di RVU e classificarlo sulla base del sistema proposto dall' *International Reflux Study Committee*⁵⁴:

- Grado I: reflusso lieve in uretere che non raggiunge la pelvi renale.
- Grado II: reflusso che raggiunge la pelvi renale senza dilatazione del sistema calico-pielico.
- Grado III: uretere moderatamente dilatato e lieve-moderata dilatazione del sistema calico-pielico, ma con fornice caliceale che rimane normale o con minima deformazione.
- ➤ Grado IV: uretere dilatato moderatamente con o senza torsione; sistema calico-pielico moderatamente dilatato con margini ottusi a livello dei calici e alterazioni a livello della papilla.
- Grado V: marcata dilatazione di uretere e sistema calico-pielico e reflusso intrarenale.

Le linee guida della Società Italiana di Nefrologia Pediatrica (SINePe)³⁵ chiariscono quando effettuare CSG o CUM per ricercare RVU:

 In presenza di riscontro ecografico di ipoplasia renale mono- o bilaterale dopo la prima IVU febbrile;

- 2) In presenza di alterazioni dell'ecogenicità parenchimale o dilatazioni ureterali, ispessimento dell'uroepitelio della pelvi renale e dilatazione della pelvi e dei calici o anomalie vescicali
- 3) quando l'IVU è stata causata da un patogeno diverso da Escherichia coli
- 4) in bambini con II episodio di IVU febbrile in assenza dei precedenti criteri elencati. (Tabella 2)

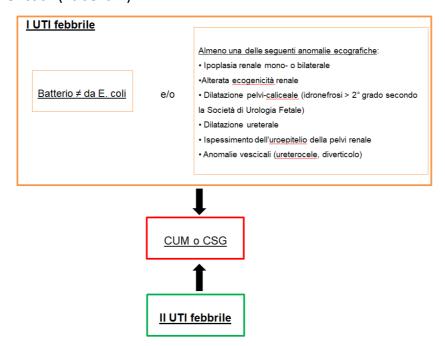


Tabella 2 - Algoritmo ricerca RVU secondo linee guida SiNePe

Diagnosi differenziale

La presenza di un'UC positiva per crescita batterica in assenza di sintomi e/o esame urinario positivo è considerata come una colonizzazione del tratto urinario, presente nell'1% della popolazione pediatrica, maggiormente nelle femmine e ancor di più in bambini con anomalie del tratto genito-urinario. 14,33 La crescita su urinocoltura di più specie batteriche è da considerare come una contaminazione del campione urinario e non una IVU, a meno che non si tratti di un paziente immunocompromesso o affetto da CAKUT.

Vi possono essere delle forme sintomatiche di IVU in presenza di batteriuria con UFC inferiore ai *cut-off* indicati nelle linee guida. In questi casi vi potrebbe essere

nelle urine è un agente batteriostatico/battericida poiché il paziente può aver già avviato antibioticoterapia, oppure una pollachiuria tale da impedire una sufficiente crescita batterica urinaria, oppure possono essere stati fatti errori nel campionamento o nella conservazione del campione urinario tali da determinare una UC falsamente negativa.

La presenza di sintomi correlabili ad IVU e di urinocoltura positiva può essere dovuta, nei pazienti di sesso femminile, a vulvovaginiti o in caso di uretriti dovute a scarsa igiene o esposizione ad agenti schiumogeni irritativi.¹³

Infine, la cosiddetta *bowel-bladder dysfunction* (BBD) o sindrome da eliminazione disfunzionale con concomitante presenza di stipsi associata, talvolta, a encopresi e disfunzione del tratto urinario (più frequentemente ritenzione urinaria con manovre di evitamento minzionale, vescica dal volume superiore alla norma per l'età, sintomi irritativi quali incontinenza, disuria, stranguria saltuarie) può causare sintomatologia tipica di IVU anche in assenza di crescita batterica su UC.⁵⁵ È quindi consigliabile per pazienti con sintomi urinari persistenti in cui non siano dimostrabili chiari segni di IVU, approfondire la possibilità di una infezione del tratto genitale oltreché una indagine delle abitudini alvine e, nel bambino con controllo sfinterico acquisito, delle abitudini minzionali.

Complicanze

L' fIVU è una causa di distress del bambino e di preoccupazione genitoriale con conseguente perdita di giorni di scuola e di lavoro, condizionando negativamente la qualità di vita dell'intero gruppo familiare.

La batteriemia è rara, ma in letteratura viene riportata nel 5,6% dei casi. Fattori di rischio per lo sviluppo di questo quadro sono l'età inferiore ad 1 anno ed il rilievo di incremento della creatininemia all'esordio.⁵⁶

Le convulsioni febbrili possono verificarsi in bambini con iperpiressia da PNA.⁵⁷

La comparsa di insufficienza renale acuta è un evento raro ma possibile nelle PNA complicate in presenza di CAKUT, e può essere associata all'uso di antibiotici nefrotossici come gli aminoglicosidi. ¹⁸

Lo sviluppo di cicatrici renali (*renal scars*, RS) a seguito di PNA può essere responsabile in età adolescenziale ed adulta di ipertensione arteriosa nel 10% dei casi.^{5,58} Le RS sono generalmente associate a quadri di ipodisplasia renale, di RVU di alto grado o di idronefrosi.^{2,4} Le RS si osservano in seguito ad un episodio di PNA nel 5% dei casi nelle femmine e nel 13% dei maschi.^{8,16,58} Fattori di rischio per la comparsa di RS in età pediatrica sono il ritardo nel trattamento antibiotico e una durata non adeguata dello stesso, una particolare virulenza del patogeno, la suscettibilità individuale e la ricorrenza di più PNA. Gli anni critici per il rischio di sviluppo di lesioni cicatriziali sono i primi due anni di vita, con rischio che si riduce progressivamente fino agli otto anni.^{14,30,59,60}

Terapia

In un bambino con segni clinici sospetti per IVU febbrile e/o positività dello stick o dell'esame microscopico del sedimento la terapia antibiotica deve essere iniziata subito dopo aver raccolto sterilmente un campione urine per UC, nell'attesa dell'esito di quest'ultima. L'avvio tempestivo di antibiotico-terapia (ABT) permette di eradicare l'infezione e prevenire una batteriemia, in particolare nei primi mesi di vita. 61-63

Diversi studi hanno dimostrato che la somministrazione di ABT per via orale (os) o per via endovenosa (ev) ha uguale efficacia e che la via di somministrazione non influisce su durata della febbre, recidive di infezione e incidenza di RS secondarie ad infezione. A,32,36,64,65 La scelta della via di somministrazione è basata sulle condizioni cliniche del paziente: in presenza di stato settico, grave disidratazione, vomito e compliance familiare non ottimale, è opportuna la somministrazione ev di ABT, associata a generosa terapia reidratante. Tale modalità di somministrazione va protratta fino a quando non subentrino le condizioni per il

passaggio alla somministrazione per via orale: regressione degli indici di flogosi, apiressia per almeno 24 ore e tolleranza all'assunzione per os della terapia.

L'ABT va scelta empiricamente in modo tale da garantire adeguata copertura contro batteri Gram negativi (*E. coli*) e Gram positivi (*Cocci*) e dovrebbe tenere conto dei profili di resistenza locali. 34,66,67,68 Una volta disponibile il risultato della UC con antibiogramma sarà possibile scegliere la molecola più efficace. 59 Per l'ABT empirica le linee guida della SINePe raccomandano l'iniziale uso di amoxicillina-acido clavulanico come prima scelta per os e ampicillina-sulbactam o amoxicillina-acido clavulanico se ev. L'uso di cefalosporine di terza generazione (cefixime o cefibuten per os, cefotaxime o ceftriaxone per ev) è indicato in bambini con infezione severa, poiché più efficaci e con maggiore rapidità di azione, con conseguente ridotto rischio di sviluppo di resistenze. Il trimetoprim-sulfametossazolo, invece, non andrebbe utilizzato come antibiotico ad uso empirico poiché la resistenza batterica è diffusa, ed andrebbe usato solo in base alla eventuale sensibilità del germe patogeno documentata all'antibiogramma. 35

La gentamicina è una valida alternativa nei pazienti affetti da allergie a betalattamici, tuttavia in considerazione della loro nefrotossicità, se usati per più di quarantotto ore, è indicato dosarne i livelli ematici e monitorare la funzionalità renale. Non va usata in mono-terapia poiché lo *Pseudomonas* sviluppa rapidamente resistenze.^{69,70}

L'uso di fluorchinolonici in età pediatrica è controverso. Ne è previsto l'utilizzo solo in caso di pazienti in gravi condizioni generali, di mancata risposta ad altra ABT e di documentata sensibilità all'antibiogramma del batterio a questa classe di antibiotici (molto usata in età adulta, quindi associata a diffuse resistenze).⁷¹⁻⁷³

I farmaci escreti per via urinaria, ma che raggiungono concentrazioni ematiche non terapeutiche, come la nitrofurantoina, non andrebbero usati in corso di IVU febbrile poiché inefficaci nel trattare PNA e urosepsi.⁷⁴

In presenza di buona risposta terapeutica nonostante l'uso di antibiotici risultati "resistenti" all' antibiogramma si può mantenere invariata la terapia in atto.³⁵

La durata della terapia antibiotica è un argomento di discussione internazionale su cui non vi è consenso. Le linee guida SINePe suggeriscono un trattamento di 10 giorni per PNA e di 14 per urosepsi.³⁵ Le linee guida AAP invece indicano che la durata complessiva della terapia debba essere tra i 7 e i 14 giorni, indipendentemente dalla modalità di somministrazione della terapia antibiotica.³²

Prevenzione e profilassi

L'idratazione adeguata, la minzione ogni 2 ore evitando atteggiamenti ritentivi, con svuotamento completo della vescica (nel bambino collaborante) e un adeguata igiene genito-urinaria sono delle semplici misure atte alla prevenzione allo sviluppo di IVU.^{75,76}

Per anni i bambini con RVU sono stati sottoposti a profilassi antibiotica nell'ipotesi che la progressione del danno renale potesse essere prevenuta o comunque ridotta evitando la ricorrenza di IVU. Questa teoria è attualmente posta in discussione, poiché numerosi *trials* hanno mostrato come la profilassi antibiotica abbia un'azione minima, se non nulla sulla comparsa di recidive: questo è valido soprattutto nei pazienti con RVU di grado lieve (I, II e III). La profilassi sembra invece essere efficace sulle recidive di IVU nelle forme di RVU di grado elevato (IV e V).^{77,78} L'uso di profilassi antibiotica non ha dimostrato efficacia nel prevenire la formazione di cicatrici renali⁷⁸ ed aumenta il rischio di resistenza multipla agli antibiotici, spostando l'equilibrio rischio/beneficio verso l'aumento delle resistenze antibiotiche.⁷⁹

In conclusione, le linee guida SINePe – in linea con quelle internazionali (NICE, AAP e KHA-CARI) – non raccomandano routinariamente la profilassi antibiotica

dopo il primo episodio di fIVU, ma selezionano delle categorie in cui può essere considerata:

- al termine di ABT di un episodio acuto in attesa di esecuzione di CUM o CSG,
- in pazienti con RVU di IV e V grado
- in coloro che presentano IVU recidivanti (almeno 3 episodi di fIVU in 12 mesi).

Come antibiotico-profilassi di prima scelta è indicato l'uso di amoxicillina-acido clavulanico, a dosaggi che tradizionalmente corrispondono a 1/3 della dose terapeutica, da assumere 1 volta/die, per una durata di 12-24 mesi nelle femmine (maggiore suscettibilità a IVU nel corso della vita) e di 6-12 mesi nei maschi. 32,35,49,64

Capitolo 2: Risonanza Magnetica – sequenze pesate in diffusione (DWI)

Generalità

I movimenti delle molecole di acqua nei tessuti biologici sono misurati in risonanza magnetica (RM) tramite il parametro della diffusione, un coefficiente che descrive lo spazio percorso nell'unità di tempo da una molecola, dando quindi informazioni sulla struttura microscopica tissutale.⁸⁰ Questi dati strutturali possono essere ottenuti perchè a differenza dell'acqua, dove i movimenti delle molecole possono avvenire omni-direzionalmente e casualmente, nei tessuti biologici le molecole sono obbligate ad assumere delle direzioni preferenziali poiché incontrano ostacoli (anisotropia).⁸¹

Lo studio di questo fenomeno avviene attraverso le "sequenze pesate in diffusione" (DWI, diffusion-weighted-imaging), delle sequenze spin-echo planare T2 pesate (T2W SE-EPI) con soppressione del grasso, a cui sono aggiunti due gradienti di diffusione. Modificando l'intensità dei gradienti di diffusione, si eliminano progressivamente gli effetti della pesatura T2 dell'immagine e si aumenta la dipendenza dell'intensità del segnale dal fenomeno della diffusione.⁸² Dal punto di vista pratico, l'applicazione del gradiente di diffusione permette in una lesione con diffusione libera una minore intensità del segnale dell'immagine pesata in diffusione. Viceversa, laddove le molecole presentino una ridotta possibilità di compiere movimenti diffusivi – per cui si parla di diffusione ristretta – si avrà un'immagine con maggiore intensità di segnale.⁸¹

Il vantaggio delle sequenze DWI è che non necessitano di mezzo di contrasto, non espongono a radiazioni ionizzanti, sono sequenze che richiedono tempi di acquisizione limitati e permettono di ottenere informazioni di tipo anatomico, quantitativo e qualitativo. La valutazione qualitativa dell'intensità di segnale migliora significativamente la possibilità di identificare delle lesioni. Di contro

però non esiste un protocollo per l'affidabilità delle misurazioni quantitative ottenute con questa metodica, che risultano meno affidabili.⁸³

Applicazioni Cliniche

La neuroradiologia è stata la prima branca radiologica dove si è utilizzata la DWI-RM: negli anni '90 fu introdotta per studiare in fase iperacuta l'ischemia cerebrale e successivamente per lo studio di patologie demielinizzanti, infiammatorie, traumatiche e neoplastiche dell'encefalo.⁸⁴

In ambito nefrologico, la DWI-RM è utilizzata in nefro-oncologia ed è considerata affidabile nella diagnosi differenziale tra lesioni benigne e maligne e nella caratterizzazione delle lesioni tumorali. Inoltre questa tecnica ha trovato applicazione nella diagnosi e nel follow up delle PNA pe le quali è sovrapponibile all'uso della DMSA.^{85,86}

La DWI-RM presenta ancora alcune limitazioni in ambito addominale, principalmente legate agli artefatti da movimento causati dal respiro, dalle pulsazioni cardiache e dal ridotto *signal-to-noise-ratio* (SNR), nonostante l'ampio ventaglio di applicazione.⁸⁴

Capitolo 3: Lipocalina gelatinasi-associata ai neutrofili

La lipocalina gelatinasi-associata ai neutrofili (NGAL) è una proteina secretoria dei neutrofili attivati, con un peso molecolare di 25 kDa^{87,88}, che ha funzione regolatoria nell'omeostasi del ferro in diversi tipi cellulari umani.^{89,90} È espressa a basse dosi in diversi tessuti quali cellule tubulari renali, cuore, fegato e polmoni.^{91,92} In caso di danno acuto ad uno di questi organi, si osserva l'incremento dell'espressione di questo bio-marcatore.⁹³

I livelli di NGAL urinario (uNGAL) e plasmatico (pNGAL) sono talmente bassi da essere spesso irrilevabili, mentre aumentano in caso di danno renale acuto (AKI) o malattia renale cronica (CKD) negli umani e analogo fenomeno si osserva anche nei modelli animali. I valori di NGAL sono considerati un valido indicatore di necessità di terapia sostitutiva renale in corso di AKI. Di solito, questi valori risultano alterati prima ancora che vengano rilevati i cambiamenti nei marcatori classici di funzionalità renale, come la creatininemia, con cui presentano una correlazione positiva. 94-96

L'NGAL è descritto in letteratura come un componente della risposta immunitaria innata contro le infezioni batteriche per la sua azione batteriostatica ed è stato riportato un aumento di questo *bio-marker* anche in caso di flogosi sistemica e sepsi, poiché la sua espressione è mediata da citochine infiammatorie.⁹⁷⁻⁹⁹ In caso di IVU da batteri gram negativi si osserva incremento significativo di uNGAL sia in modelli animali, che in pazienti adulti e bambini e, considerando che il 95% dei casi di infezioni delle vie urinarie è causata da questi batteri, uNGAL potrebbe essere usato come marcatore di *screening* in caso di IVU in una popolazione pediatrica. Inoltre, è descritto come i valori di NGAL si riducano rapidamente con la risoluzione dell'infezione. Questi dati suggeriscono la sua possibile utilità nella diagnosi e nel monitoraggio laboratoristico delle IVU.¹⁰⁰⁻¹⁰⁶

I neutrofili hanno una funzione di immagazzinamento e riserva di uNGAL, mentre le cellule intercalate renali del dotto collettore sono la sua principale sede di produzione. 107 L'uNGAL è considerabile come un marcatore di IVU indipendente dall'azione leucocitaria: in un modello murino depleto di neutrofili si osservava comunque l'espressione di questo marcatore, mentre dove la deplezione era a carico delle cellule renali responsabili della produzione di uNGAL si è osservata la riduzione dei livelli di uNGAL e una minore capacita di risposta all'infezione urinaria. 100,107

In letteratura è stato segnalato come la valutazione di uNGAL mostri risultati differenti: sensibilità 70-97% e specificità del 42-83%. ^{103-105,108} In studi più recenti si sono osservati risultati più promettenti con una sensibilità del 92,6% e una specificità del 95,3%. ¹⁰⁶ Le discrepanze registrate in questi diversi studi sono da imputare a differenti metodi di raccolta del campione urinario, alla metodica di dosaggio del NGAL e all'ampio *range* di età della popolazione pediatrica considerata.

In conclusione, per quanto sensibilità e specificità di NGAL nella diagnosi di IVU sia promettente, ulteriori studi sono necessari con il fine di determinare il ruolo, l'applicabilità e il rapporto costo-benefici di questo marcatore in specifici gruppi di popolazione.¹⁰⁹

OBIETTIVI DELLO STUDIO

Obiettivo primario

 Stimare il rischio di sviluppo di cicatrici renali in pazienti pediatrici affetti da prima infezione febbrile delle vie urinarie con RM-DWI positiva (diagnosi di pielonefrite acuta) e nei pazienti con RM-DWI negativa.

Obiettivi secondari

- Validare l'utilizzo dell'uNGAL nella diagnosi differenziale tra PNA e infezioni delle basse vie urinarie nelle fIVU.
- Quantificare il danno renale (in termini di perdita di volume e altre anomalie parenchimali) attraverso la RM-DWI e la T2-RM 6-8 mesi dopo l'episodio di fIVU.

MATERIALI E METODI

Pazienti

Nel periodo gennaio-novembre 2022 sono stati reclutati 37 pazienti, 15 maschi (40,55%) e 22 femmine (59,45%) di età compresa da 0 a 36 mesi, ricoverati presso l'Istituto Giannina Gaslini di Genova, ed affetti da primo episodio di IVU febbrile. I pazienti arruolati sono stati selezionati secondo i seguenti criteri di inclusione:

- età inferiore ai 60 mesi compiuti, con sospetto clinico-laboratoristico di fIVU: temperatura ≥ 38° C, stick urine con leucocituria significativa (≥2 + su scala colorimetrica di riferimento) e/o nitriti controllato su due campioni urinari
- anamnesi patologica remota muta per pregressi episodi di fIVU
- normale funzionalità renale con clearance della creatinina >90
 ml/min/1.73m² (stimata con la formula di Schwartz¹¹⁰)

Sono stati invece considerati criteri di esclusione:

- anamnesi patologica remota positiva per fIVU
- controindicazioni all'esecuzione di una risonanza magnetica
- quadro ecografico di idronefrosi (diametro antero-posteriore della pelvi ≥ 20 mm)
- grave ipoplasia renale (< 2DS) mono e/o bilaterale
- condizione di insufficienza renale cronica (clearance della creatinina 90 ml/min/1.73 m² stimata con la formula di Schwartz) ovvero segni di laboratorio compatibili con diagnosi di insufficienza renale acuta o cronica.

Metodi

Lo studio è stato condotto presso le Unità Operative di Nefrologia e Trapianto di Rene, Pronto Soccorso e Medicina d'Urgenza, Assistenza Media-Bassa Intensità, Radiologia, e presso il Laboratorio di Nefrologia Molecolare dell'Istituto Giannina Gaslini di Genova.

Conduzione dello studio

I pazienti che rispettavano i criteri di inclusione per poter partecipare al progetto di ricerca sono stati identificati tramite accesso in Pronto Soccorso o ricovero presso le UU.OO. di Nefrologia e Trapianto di Rene, Medicina d'Urgenza e Assistenza Media-Bassa Intensità dell'Istituto Giannina Gaslini.

Il momento dell'accesso in Pronto Soccorso e ricovero presso l'Istituto Giannina Gaslini è stato considerato come $Tempo\ 0\ (T_0)$, il momento del passaggio per via orale della terapia antibiotica è stato considerato $Tempo\ 1\ (T_1)$ mentre il controllo a distanza di 6 mesi è stato considerato come $Tempo\ 2\ (T_2)$.

\triangleright Tempo 0 (T₀)

All'arrivo in Ospedale il paziente eleggibile è stato sottoposto a indagini che vengono routinariamente svolte nel nostro Istituto nella gestione dei pazienti con IVU $(T_0)^{111}$:

- anamnesi ed esame obiettivo comprensivo di misurazioni auxologiche (peso e lunghezza) e valutazione della pressione arteriosa
- raccolta urine con sacchetto sterile per:
 - esecuzione stick urine (su due minzioni consecutive) ed eventuale esame chimico-fisico delle urine.
 - o urinocoltura con caratterizzazione batterica ed antibiogramma¹¹²
- esami ematici (valori normali di riferimento stabiliti dai Laboratori Centrali dell'Istituto Giannina Gaslini): emocromo con formula leucocitaria, dosaggio della PCR, della creatininemia e dell'azotemia, emocoltura.

In caso di sospetta fIVU il bambino veniva ricoverato e trattato con il protocollo terapeutico previsto dalle linee guida dell'Istituto.

Al momento del ricovero in Istituto il paziente era segnalato all'U.O Nefrologia per colloquio informativo con la famiglia e acquisizione del consenso informato (modulo di consenso informato approvato dal Comitato Etico della Regione Liguria) per approfondimento diagnostico con acquisizione di immagini con RM-DWI e prelievo di campione ematico ed urinario per dosaggio di NGAL su entrambi i campioni biologici. Sia l'RM-DWI, sia la raccolta dei campioni per NGAL venivano effettuati entro 72 ore dall'avvio della terapia antibiotica. Nel corso della degenza è stato sempre proseguito l'iter diagnostico-terapeutico previsto dalle linee guida interne già operative.

\triangleright Tempo 1 (T₁)

Al momento dello *shift* della terapia antibiotica da via endovenosa a via orale sono stati ripetuti gli esami ematochimici precedentemente elencati, ad eccezione dell'emocoltura. A distanza di 24 ore dall'avvio di antibiotico-terapia orale, se persistenza di apiressia ed esami ematochimici migliorativi, il paziente arruolato era dimesso con indicazione a prosecuzione della terapia per os per un totale di 10 giorni complessivi e con programma di follow-up.

I pazienti che presentavano i criteri indicati dalla SINePe per accertamenti di secondo livello per ricerca di RVU, al completamento della terapia antibiotica a dosaggio pieno, sono stati sottoposti a profilassi. A distanza di almeno 40 giorni dall' episodio acuto sono stati ricoverati in regime di Day Hospital presso l'U.O. di Nefrologia e Trapianto di Rene per effettuare CUM o CSG, preferendo l'uso della CUM nei pazienti di sesso maschile al fine di escludere presenza di valvole posteriori dell'uretra. Il grado di RVU è stato quindi valutato secondo i criteri dell'International Reflux Study Committee.⁵⁴

L' indicazione alla sospensione della profilassi o prosecuzione della stessa è stata invece basata sulle linee guida della SINePe e sulla base dei risultati dello studio RIVUR.^{35,78}

> Tempo 2 (T₂)

A distanza di una tempistica compresa tra i 5 e gli 8 mesi da T₀, il paziente arruolato è stato ricoverato nuovamente presso l'U.O. di Nefrologia e Trapianto di Rene per effettuare i controlli previsti dal protocollo.

All'ingresso in reparto veniva sottoposto a raccordo anamnestico, esame obiettivo con misurazione dei parametri auxologici e della pressione arteriosa, esami ematochimici comprensivi di emocromo con formula leucocitaria, creatinina, azoto e PCR, stick urine. Inoltre erano raccolti campioni di siero e urine per dosaggio NGAL. Nel corso della degenza è stata ripetuta l'ecografia dell'apparato urinario e la RMN addome superiore e inferiore in sedazione con acquisizione sequenze T2 e DWI.

Al termine degli accertamenti previsti, seguiva dimissione con programma di follow up personalizzato secondo giudizio clinico.

Note tecniche

Ecografia

È stato utilizzato un ecografo Logiq S8 XDclear General Electrics, con sonda microconvex a range di frequenza 2-9 MHz. Le scansioni utilizzate sono state pose sui piani sagittale, trasverso, coronale od oblique rispetto a tali piani per la migliore definizione d'organo, in decubito supino e, se necessario, prono.

L'ecografia renale e delle vie urinarie prevedeva la valutazione di:

 Sede, morfologia, dimensioni dei reni con misurazione del diametrolongitudinale, ecostruttura (ecogenicità in confronto ai parenchimi epatico e splenico), differenziazione cortico-midollare, quadro perfusivo complessivo dell'organo ed eventuali alterazioni di segnale al colordoppler.

- Aspetto delle pareti pieliche per ricerca di segni di pielite (conformazione "a binario", ispessimento delle pareti > 0,8 mm), associato a misurazione del diametro antero-posteriore della pelvi (se ectasica);
- Eventuale visualizzazione degli ureteri perché dilatati (tratto prossimale all'ilo renale e distale, in sede retrovescicale), misurazione del loro calibro e sede di sbocco
- Eventuale riscontro di malformazioni dell'apparato urinario classificabili come CAKUT
- L'ecografia è stata definita patologica in presenza di evidenti alterazioni dell'ecogenicità del parenchima renale e/o di alterazioni del segnale al color doppler (distribuzione anomala del segnale, aree di ridotto segnale vascolare) suggestive di focolai pielonefritici

Risonanza Magnetica sequenza DWI

La macchina utilizzata è una MR Systems Achieva Intera PHILIPS 1,5 Tesla, release 5.

La RM è stata effettuata senza mezzo di contrasto per catturare le sequenze DWI e T2-pesate.

Attraverso la DWI-RM sono stati rilevati seguenti parametri:

- Iperintensità di segnale all'interno del parenchima renale suggestive di focolai pielonefritici
- Mono o bilateralità dei focolai pielonefritici, specificando lato coinvolto
- Presenza e sede di singolo o multiplo focolaio pielonefritico. Nel caso di focolai plurimi, è stato preso in considerazione il terzo renale maggiormente coinvolto dal processo patologico.
- Presenza di ipointensità renali in T2 compatibili con lesioni cicatriziali
- Mono o bilateralità delle scars renali, specificando lato coinvolto

 Presenza e sede di singole o multiple cicatrici renali. Nel caso di scars multiple, è stato preso in considerazione il terzo renale maggiormente coinvolto da esito cicatriziale.

➢ Procedura di sedazione anestesiologica¹¹³

La sedazione per l'effettuazione della RM è stata effettuata secondo il protocollo di sedazione minima definito con l'ausilio della U.O. di Anestesiologia dell'Istituto. La sedazione è sempre stata effettuata a digiuno. Le tempistiche di digiuno variavano in base al tipo di alimentazione assunta dal paziente:

- 6 ore di digiuno da alimenti solidi e/o latte vaccino
- 4 ore di digiuno da latte materno e/o formulato
- 1 ora di digiuno da liquidi chiari

Il paziente è stato sempre accompagnato in Radiologia dal personale infermieristico del reparto di provenienza 30 minuti prima dell'esecuzione dell'esame ed è stato quindi sottoposto a valutazione da parte del medico Anestesista responsabile della sedazione, che ha fatto sottoscrivere ai genitori/tutore il consenso informato. In questa fase il medico Anestesista ha indicato la categoria ASA (*American Society of Anesthesiologists*).

La sedazione è stata effettuata con i seguenti farmaci:

- Ozased (Midazolam sciroppo, preparazione orale) al dosaggio di 0.5 mg/kg fino ad un max di 15 mg per via orale o Midazolam intranasale con Mucosal Atomization Device (MAD) 0.3 mg/kg fino ad un max di 10 mg.
- 2. Dexmedetomidina 3 mcg/kg per via nasale con MAD
- 3. Sedazione profonda e.v. o inalatoria con Anestesista dedicato, nel caso di fallimento della sedazione con Midazolam o Dexmedetomidina.

Al termine della procedura della durata media di circa 30 minuti, il paziente è stato trasferito presso il reparto di provenienza, accompagnato da personale infermieristico con controllo della saturazione periferica.

L'alimentazione è stata ripresa dopo almeno due ore dalla sedazione, a paziente ben sveglio e vigile.

Dosaggio NGAL

Il dosaggio di NGAL sarà effettuato con "Human LCN2 / Lipocalin 2 /NGAL CLIA Kit". Questo test si basa sul principio del sandwich CLIA. Ogni pozzetto della piastra per microtitolazione fornita è pre-rivestito con un anticorpo di cattura specifico per il bersaglio. Gli standard o i campioni vengono aggiunti ai pozzetti e l'antigene target si lega all'anticorpo di cattura. Lo standard o il campione non legato viene lavato via. Viene quindi aggiunto un anticorpo di rilevazione coniugato con biotina che si lega all'antigene catturato. L'anticorpo di rilevazione non legato viene lavato via. Viene quindi aggiunto un coniugato Avidina-Horseradish Peroxidase (HRP) che si lega alla biotina. Il coniugato Avidina-HRP non legato viene lavato via. È quindi aggiunto un substrato chemiluminescente che reagisce con l'enzima HRP dando luogo a uno sviluppo luminoso. Le unità di luce relativa (RLU) di ciascun pozzetto sono misurate con un luminometro. L'RLU di un campione sconosciuto può quindi essere confrontato con una curva standard di RLU generata utilizzando concentrazioni note di antigene per determinare la concentrazione di antigene.

I campioni di siero e urine di NGAL raccolti sono conservati presso il Laboratorio di Nefrologia Molecolare dell'Istituto Giannina Gaslini di Genova, per la valutazione in itinere che sarà effettuata al termine dell'arruolamento.

Metodi statistici

La matrice di Correlazione di Spearman è stata utilizzata per identificare la correlazione tra tutte le variabili continue e discrete ed i diversi gruppi clinici. La statistica non-parametrica (Mann-Whitney per il confronto di due gruppi clinici e Kruskal-Wallis per più di due gruppi clinici) è stata utilizzata per confrontare le variabili continue di tutti i dati ematochimici quali numero dei globuli bianchi,

neutrofili, linfociti, piastrine, PCR, creatinina e azotemia ed urinari quali densità, pH, leucocituria, nitriti, ematuria e funzione renale (eGFR) utilizzando la formula di Schwartz nei gruppi con e senza pielonefrite nel rene destro e/o sinistro, tipo (assente, singolo e multipli) e sede (superiore, medio e inferiore) dei focolai.

Il volcano plot è stato utilizzato per la contemporanea rappresentazione grafica dei risultati delle analisi statistiche delle comparazioni di due gruppi clinici, mentre l'heatmap per quelli di più di due gruppi (come descritto in precedenza per i dettagli dei gruppi). Nell'heatmap ogni riga rappresenta una variabile continua, mentre ogni colonna un gruppo clinico. I dendrogrammi posti sopra e a sinistra dell'heatmap rappresentano i risultati dell'analisi dei cluster nonsupervisionata, ponendo vicini i valori delle variabili continue dopo normalizzazione con Z-score. Infine i valori di Z-score sono stati convertiti in una pseudoscala di colori che varia dal blu, al bianco e al rosso, che rispettivamente corrispondono alla minima espressione, stessa espressione tra i gruppi clinici e massima espressione.

Per il confronto delle variabili discrete quali presenza o assenza della pielonefrite, tipo e sede della pielonefrite e del focolaio (come descritto in precedenza per i dettagli dei gruppi), emo ed urinocoltura sono state costruite delle matrici di contingenza ed utilizzato il test esatto di Fischer.

Per confrontare i risultati tra ecografia e risonanza magnetica nell'identificazione delle pielonefriti è stata costruita una matrice di contingenza 2x2. Come *gold standard* è stata utilizzata la risonanza magnetica. L'efficacia diagnostica tra i due metodi (proporzione tra i pazienti categorizzati correttamente e no) è stata valutata utilizzando la Kappa di Cohen. I valori di concordanza della Kappa di Cohen possono essere interpretati nel seguente modo:

- <0.01 nulla;
- 0.01-0.20, scarsa;

- 0.21–0.40, modesta;
- 0.41–0.60, moderata;
- 0.61-0.80, buona
- 0.81–0.99, eccellente.

Per ogni analisi i risultati sono stati considerati statisticamente significativi se il valore di P a due code era \leq 0.05. Nel caso del confronto di più di due gruppi tale valore doveva rimanere \leq 0.05 dopo la correzione di Dunn per le interazioni multiple.

Tutte le analisi sono state eseguite utilizzando il programma OriginLab pro.

RISULTATI

Popolazione dello studio

Nel periodo compreso tra gennaio 2022 e novembre 2022 sono stati reclutati 37 pazienti, 22 femmine (59,45%) e 15 maschi (40,55%) con età media di 7,4 mesi ±7,10 (range 11 giorni-35 mesi) e ricoverati presso l'Istituto Giannina Gaslini di Genova per primo episodio di IVU febbrile.

Fase acuta

Esami Ematochimici

Tutti i pazienti al momento dell'arruolamento (T_0) sono stati sottoposti ad esami ematochimici, prima dell'avvio della terapia antibiotica, quindi ripetuti al Tempo 1 (T_1), corrispondente al momento dello shift da via endovenosa a via orale dell'ABT. L'esito degli esami ematochimici effettuati è riportato nella Tabella 3.

	Indici Laboratoristici T₀ e T₁				
	T ₀ (n = 37)	T ₁ (n = 37)			
	Media (DS)	Media (DS)			
Leucociti (el. /ul)	15.142 (± 5365)	8.254 (± 2983)			
(v.n. 5800 - 15300)					
Neutrofili (el. /ul)	8.986 (± 4252)	1.724 (± 802)			
(v.n. 1570 – 6610)					
Linfociti (el. /ul)	4.202 (± 1430)	5.473 (± 2168)			
(v.n. 2830 – 9840)					
Piastrine (el. /ul)	417.189 (±114397)	537.225			
(v.n. 150000-		(±189.380)			
450000)					
PCR (mg/dl)	6,42 (± 5,5)	0,86 (±0,68)			
(v.n. < 0,46)					
Creatinina (mg/dl	0,24 (± 0,05)	0,23 (± 0,05)			
(v.n. 0,4 -1,2)					
Azotemia	20,75 (± 16,9)	14,23 (±7,98)			
(v.n. 15 – 40)					

Tabella 3 – Indici laboratoristici di fase acuta

Esami Urinari

Lo stick urine è stato effettuato al T_0 a tutti i pazienti e nella totalità dei casi si è osservata positività per leucocituria, come da criterio di inclusione. In 28/37 (75,7%) casi vi è stato il contestuale riscontro di nitriti.

In 35/37 (94,6%) pazienti arruolati è stata eseguita un'UC prima dell'avvio della terapia antibiotica. L'esito è stato positivo in 33/35 casi (95%), in 2/35 casi vi è stato un riscontro microbiologico non interpretabile. Nei 2/37 pazienti in cui l'UC è stata effettuata dopo la somministrazione di terapia antibiotica, avviata precedentemente a domicilio su indicazione del Pediatra curante, non vi è stato isolamento colturale. Nel 93% delle emocolture positive (31/33) si è osservata crescita di *Escherichia coli*, in 1 caso di *Proteus mirabilis* e in 1 caso di *Klebsiella pneumoniae*.

Nei 33 casi in cui i campioni colturali hanno mostrato sviluppo batterico, è stato effettuato come da pratica clinica comune uno studio di sensibilità antibiotica. Lo spettro di sensibilità antibiotica dei germi isolati è riportato in Tabella 4.

				Spettro	di sensibilit	à antibiotica		
	N	Amikacina	Amoxicillina - Acido Clavulanico	Cefepime	Cefotaxime	Ceftazidime	Ciprofloxacina	Ertapenem
E. coli	31/33	1 R, 30 S	16 R, 15S	2 I, 29 S	2 R, 29 S	1 R, 30 R	2 R, 3 I, 28 S	31 S
P. mirabilis	1/33	S	S	S	S	S	S	S
E. faecalis	1/33	S	S	S	S	S	S	S
				Spettro	di sensibili	tà antibiotica		
	N	Fosfomicina	Gentamicina	Imipenem	Meropenem	Nitrofurantoina	Piperacillina - Tazobactam	Trimetoprim - Sulfametossazolo
E. coli	31/33	31 S	4 R, 27 S	31 S	31 S	31 S	4 R, 27 S	9 R, 22 S
P. mirabilis	1/33	S	S	R	S	S	S	S
E. faecalis	1/33	S	S	S	S	S	S	S

Tabella 4 - Spettro di sensibilità antibiotica di isolamenti su urinocoltura

• Emocoltura

La ricerca di batteri su sangue è stata effettuata in 23 pazienti, in occasione di contestuale picco febbrile. I dettagli della ricerca emocolturale sono riportati in Tabella 5.

		Emocolture	
	Totale	Pre-antibiotico	Post-antibiotico
Emocolture	23/37	10/23	13/23
eseguite			
Isolamenti	4/23	3/10	1/13
colturali			
	Esito Emocolti	ure in relazione ad Urin	ocoltura
	Totale	Pre-antibiotico	Post-antibiotico
Emocoltura	1/4	1/3	//
concorde con			
urinocoltura			
Emocoltura	2/4	2/3	//
positiva e			
urinocoltura			
negativa			
Emocoltura	1/4	//	1/1
positiva non			
concorde con			
urinocoltura			

Tabella 5 - Emocolture

In 1/23 si è osservata crescita microbiologica concorde con quella dell'urinocoltura (riscontro di *E. coli* con identico spettro di sensibilità antibiotica). In 2/23 la positività dell'emocoltura è stata rilevata in pazienti con urinocoltura negativa. In questi casi, i batteri rilevati all'esame colturale sono stati *Staphyloccus saprophiticus* ed *Enterococcus faecalis*. In 1/23, in cui l'emocoltura

è stata effettuata dopo l'avvio di antibioticoterapia si è osservata crescita di *Staphylococcus epidermidis* interpretato come contaminante.

Ecografia

Tutti i 37 pazienti sono stati sottoposti ad ecografia dell'apparato urinario al momento del ricovero. L'esito è riportato in Tabella 6.

La presenza di indici ecografici di PNA è stata posta in relazione con i dati laboratoristici raccolti. Sia al T_0 che al T_1 si è osservata una relazione statisticamente significativa tra la PCR e questi segni ecografici (p 0,044), sia a destra che a sinistra. (figura 1,2 e 3)

	Segni Ecografi	ci di PNA in Ecog	rafia	
N (%)	Destra	Sinistra	В	ilaterale
17/37 (46%)	7/17 (41%)	4/17 (23%)	6/17 (36%)	
	Dilata	zione Pielica		
N	DP (%)	Destra (%)	Sinistra (%)	Bilaterale (%)
37/37	18/37	8/18 (45%)	4/18 (22%)	6/18 (33%)
	(48,6%)			
	Misurazione	dilatazione pieli	ca	
	Destra		0,5 cm (±0,	2)
	Sinistra		0,5 (±0,2))
Segni eco	grafici di pielon	efrite acuta e dila	atazione pielica	
	N (%)	Presenza	Assenza	
		di PNA	di PNA	
Presenza di DP	18/37 (49%)	11/18 (61%)	7/18 (39%)	
DP e PNA destra			5/11	
DP e PNA Sinistra			2/11	
DP e PNA bilaterale			4/11	
	N (%)	Presenza	Assenza	
		di PNA	di PNA	
Assenza di DP	19/37 (51%)	6/19 (32%)	13/19 (68%)	
		CAKUT		
	N			
	5/37	Destra	Sinistra	Bilaterale
	(13,5%)			
Anomalie trafila urinaria	5/5	2/5	2/5	1/5
Anomalie parenchimali	0/5	/	/	/
Anomalie di migrazione	0/5	/	/	/
embriogenica				
	PNA in CAKUT			
	N	Destra	Sinistra	Bilaterale
	3/5	1/3	2/3	0/3

Tabella 6 – Esiti ecografia

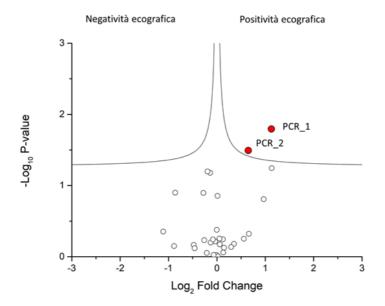


Figura 1 - Vulcano plot ecografia

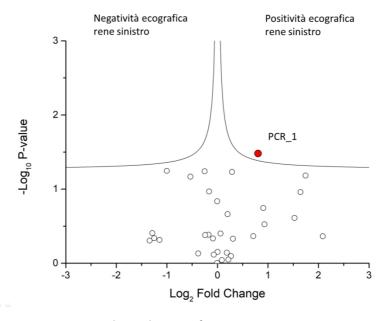


Figura 2 - Vulcano plot ecografia rene sinistro

39

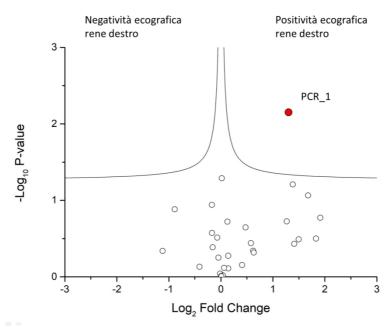


Figura 3 - Vulcano plot ecografia rene destro

Risonanza Magnetica – Sequenza DWI

Come da protocollo, tutti i pazienti arruolati sono stati sottoposti a RM in sequenza DWI entro 72 ore dall' avvio della terapia antibiotica (media 40,2 ore ± 26,6).

In 20/37 casi (54%) sono stati riscontrati segni di restrizione di diffusione parenchimale, interpretabili come focolaio pielonefritico. In 7/20 (35%) la lesione era monolaterale destra, in 4/20 (20%) monolaterale sinistra e in 9/20 (45%) bilaterale. I risultati della RM-DWI sono riportati in Tabella 6.

Gli esiti della RM-DWI sono stati posti in relazione con i dati laboratoristici ematochimici ed urinari al T_0 e T_1 e non è stata riscontrata nessuna correlazione statisticamente significativa. (Figure 4, 5 e 6).

Tuttavia, attraverso l'analisi mediante *Volcano Plot* (Figura 7) è possibile osservare una correlazione tra alcuni parametri laboratoristici e gli esiti di RM-DWI. La PCR al T_0 e T_1 , ad esempio, correla direttamente con il riscontro di restrizione di diffusione nel parenchima renale. Si osserva inoltre la presenza di

correlazione positiva tra PCR e immagini in RM-DWI compatibili con pielonefrite anche a livello del solo rene destro o sinistro (Figura 8 e 9).

La medesima correlazione positiva si può osservare tra la positività di nitriti allo stick urinario effettuato al T_0 e la presenza di focolai pielonefritici individuati con RM-DWI (figura 7).

L'esito della RM-DWI è stato valutato in relazione al reperto ecografico. Come si evince dall'istogramma della Figura 10, l'ecografia e la RM-DWI hanno dato esito concorde in 28/37 casi (75,7%). In particolar modo si è osservato che in 14/28 (50%) casi sia l'ecografia e sia la RM-DWI non hanno evidenziato quadri compatibili con pielonefrite. In 6/37 (16,2%) la diagnosi di pielonefrite è stata evidenziata in RM-DWI, in assenza di segni ecografici. In soli 3/37 casi (8,1%) le immagini ecografiche sospette per PNA non sono state confermate alla RM-DWI.

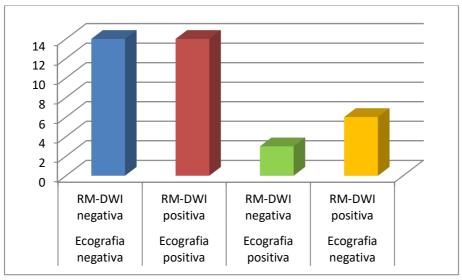


Figura 10 - Esito RM-DWI ed Ecografia

I risultati della RM DWI sono stati confrontati con quelli dell'ecografia attraverso una matrice di contingenza 2x2 (Tabella 7). L'efficacia diagnostica di queste due metodiche è stata confrontata attraverso la k di Cohen, utilizzando come *gold standard* la RM-DWI. Questo ha mostrato una concordanza modesta dell'esito dell'ecografia e della RM-DWI sul rene sinistro (k 0.32), mentre per quanto riguarda le lesioni riscontrate nel rene destro la concordanza è risultata moderata (k 0,55).

N (%)		Positiva		Negativa	
37/37		20/37 (54%	6)	17/37 (46%)	
DWI	Destra	Sinistra	Bilaterale		
Positiva					
20/37	7/20	4/20 (20%)	9/20		
	(35%)		(45%)		
	Sedi	di coinvolgimer	nto parenchimale – seq	uenza DWI T ₀	
			PNA monolate	erale	
	Sı	uperiore	Medio	Inferiore	
PNA destra	4,	/7 (57%)	1/7 (14,5%)	2/7 (28,5%)	
PNA	2/4 (50%)		1/4 (25%)	1/4 (25%)	
sinistra					
			PNA bilaterale		
	Si	tessa area parer	nchimale	Diversa area parenchimale	
		bilateralmente		bilateralmente	
		4/9 (44%)	5/9 (56%)	
			Renal Scars		
a 6 – Esiti RM-DWI		Presenti		Assenti	
		2/37		35/37	

	Rene sinistro	
	RM-DWI positiva	RM-DWI negativa
	sinistra	sinistra
Ecografia positiva	4	2
sinistra		
Ecografia negativa	6	16
sinistra		
	Rene Destro	
	Rene Destro RM-DWI positiva	RM-DWI negativa
		RM-DWI negativa destra
Ecografia positiva	RM-DWI positiva	
Ecografia positiva destra	RM-DWI positiva destra	destra
	RM-DWI positiva destra	destra

Tabella 7 – Tabelle di contingenza 2x2

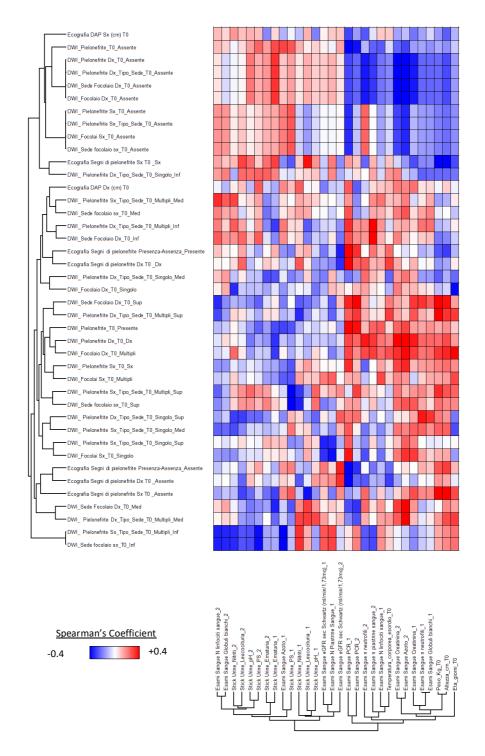


Figura 4 - Heatmap DWI

44

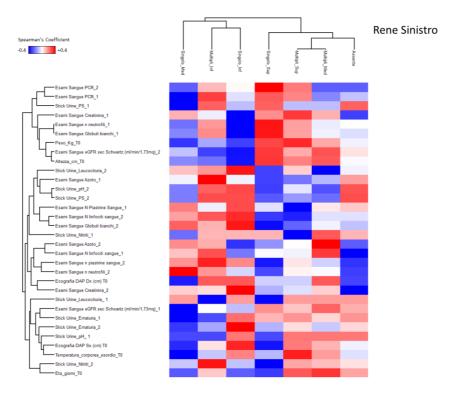


Figura 5 - Heatmap DWI rene sinistro

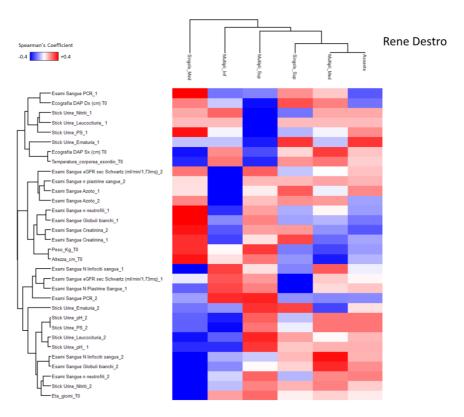


Figura 6 - Heatmap DWI rene destro

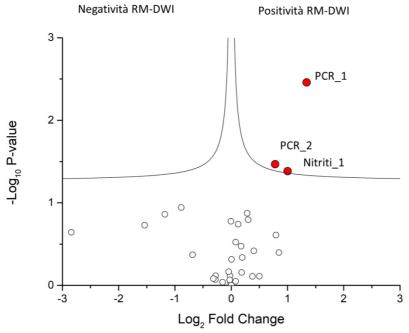


Figura 7 - Volcano plot RM-DWI

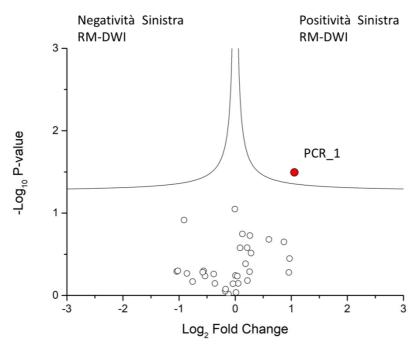


Figura 8 - Volcano plot RM-DWI rene sinistro

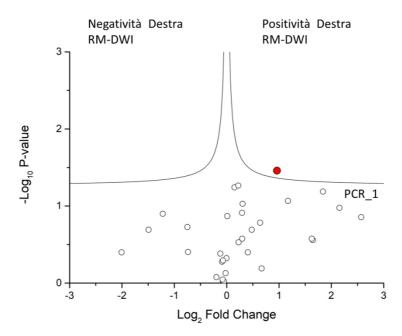


Figura 9 - Volcano plot RM-DWI rene destro

Follow up

• Diagnostica per ricerca di reflusso vescico-ureterale

Il 62% (23/37) dei pazienti arruolati (12 maschi e 11 femmine) ha presentato criteri clinici e/o laboratoristici per approfondimento diagnostico per ricerca di RVU. Di questi, 20/23 pazienti (10 maschi e 10 femmine) sono stati sottoposti alle procedure diagnostiche, 1/23 è stato perso al follow up e 2/23 devono ancora essere sottoposti alla metodica al momento della presente analisi (Tabella 8).

Ricerca di reflusso vescico-ureterale						
	Metodica					
N		CUM	CSG			
20/37		15/20	5/20			
Maschi	10/20	9/15	1/5			
Femmine	10/20	6/15	4/5			
	Esito					
-	Presente Assente					
	7/20 13/20					
Lateralità del RVU						
Desti	CO	Sinistro	Bilaterale			
3/7		1/7	4/7			

Tabella 8 – Ricerca di RVU

È stata effettuata diagnosi di RVU nel 35% (7/20) dei casi (85% femmine, 15% maschi): 4/7 presentavano RVU monolaterale (3/7 a destra, 1/7 a sinistra) e 3/7, tutti di sesso femminile, presentavano RVU bilaterale.

Dei 4 pazienti con RVU monolaterale, 3 presentavano RVU di grado II e una paziente presentava RVU di grado IV a destra.

Nei 3 pazienti affetti da RVU bilaterale si è osservato in 1/3 un RVU bilaterale di grado II, in 1/3 RVU a sinistra di grado II e a destra di grado IV e in 1/3 RVU bilaterale di grado IV.

Nella bambina con RVU bilaterale di grado II era presente una lesione cicatriziale al rene sinistro in RM-DWI già al tempo 0.

In 6/7 pazienti, tutti di sesso femminile, con diagnosi di RVU vi erano segni in DWI di pielonefrite al T_0 .

Nel gruppo di pazienti con DWI positiva e RVU, 5/6 avevano segni di pielonefrite bilaterale. Nell'unico caso di paziente con PNA monolaterale, si è osservato RVU di II grado omolaterale a destra.

Nei 5 pazienti con quadro di PNA bilaterale era presente in 3/5 RVU bilaterale (1/3 grado IV bilaterale, 1/3 grado II bilaterale e 1/3 grado IV a destra e grado II a sinistra) e RVU monolaterale destro nei restanti 2 (1/2 di grado II e 1/2 di grado IV).

Long-term follow-up (T2)

18/37 (48,6%) dei pazienti arruolati presentavano i criteri per essere sottoposti a controllo RM-DWI a distanza dall'evento acuto. Di questo gruppo 6/18 (33%) sono stati persi al follow-up, mentre 12/18 (67%) hanno effettuato il controllo previsto a distanza di 5,8 mesi $\pm 0,4$ (range 5,1-6,3)

I 12 pazienti (7 maschi e 5 femmine) sottoposti al controllo RM-DWI presentavano una età media di mesi 14 ±7 (range 7-30).

Tutti i pazienti al Tempo 2 sono stati sottoposti ad esami ematochimici il cui esito è riportato in Tabella (Tabella 9).

11/12 sono stati sottoposti a ecografia renale di controllo avente esito negativo per segni flogistici nella totalità dei casi. In tutti i pazienti è stata nuovamente valutata la presenza o assenza di dilatazione pielica (DP) risultata assente in 6/11 pazienti e presente nei restanti 5. In 5 pazienti la DP era monolaterale a sinistra in 2/5 casi e bilaterale in 3/5. In caso di presenza di DP, sono state effettuate delle misurazioni antero-posteriori che hanno mostrato un valore medio a sinistra di 0,4 cm \pm 0,1 (range 0,3-0,6), mentre a destra un valore medio di 0,6 cm \pm 0,2 (range 0,4-0,8).

12/12 pazienti sono stati sottoposti a RM-DWI di controllo prevista da protocollo. In 11/12 casi non sono stati evidenziati segni di pielonefrite acuta, né *scars* renali. Nel restante caso abbiamo osservato la presenza di cicatrici renali bilaterali: nello specifico una lesione singola al lobo medio di sinistra e multiple al terzo inferiore di destra. Da notare che in questa paziente, che presentava un RVU bilaterale di grado II, una cicatrice a carico del rene sinistro era già stata evidenziata al T₀.

Indici laboratoristici al controllo				
	Т2			
	N	Media (DS)		
Leucociti el./ul	12/12	9599 el/ul (± 2644)		
(v.n. 5800 - 15300)				
Neutrofili (el./ul)	12/12	2677 el/ul (± 1325)		
(v.n. 1570 – 6610)				
Linfociti (el./ul)	12/12	1539 el/ul (± 1539)		
(v.n. 2830 – 9840)				
Piastrine (el. /ul)	12/12	408750 el/uL (± 96983)		
(v.n. 150000-450000)				
PCR (mg/dl)	12/12	0,48 mg/dl (±0,07)		
(v.n. < 0,46)				
Creatinina (mg/dl)	12/12	0,24 mg/dl (± 0,06)		
(v.n. 0,4 -1,2)				
Azotemia mg/dl	12/12	20,58 mg/dl (± 8,48)		
(v.n. 15 – 40)				

Tabella 9 – Indici laboratoristici a T2

Discussione

Nel presente lavoro riporto la valutazione in itinere dei risultati del Progetto di ricerca finalizzata 2019 codice RF-2019-12371234, dal titolo "Studio pilota su uso di *Diffusion-Weighted magnetic resonance imaging* e immagini T2-pesate nell'identificazione della pielonefrite acuta e nella valutazione del rischio di sviluppo di nuove lesioni cicatriziali renali in lattanti e bambini con un primo episodio di infezione delle vie urinarie febbrile"

Commento dei risultati

• Esami di laboratorio

Esami ematochimici ed urinari

Il progetto è attualmente ancora in fase di arruolamento, pertanto i risultati presentati risentono fortemente della limitata numerosità dei soggetti che hanno completato l'intero iter diagnostico.

Una recente metanalisi ha analizzato la correlazione di alcuni parametri biochimici di infezione (procalcitonina, proteina C reattiva e la velocità di eritrosedimentazione) a quadri di PNA. Dai 36 studi presi in considerazione emerge come soltanto bassi valori di PCR (<20 mg/l) sembrano essere utili a escludere la diagnosi di PNA.¹¹⁶ Nel nostro lavoro è stata esaminata la correlazione tra i valori di PCR e la diagnosi di PNA ottenute tramite le metodiche di *imaging*. Le valutazioni statistiche, seppur ancora parziali, confermano questa correlazione (Figure 1-3, 7-9).

In egual modo, è acclarata dalla letteratura scientifica e confermata nella nostra casistica, la correlazione tra nitriti al *dipstick* e la diagnosi di PNA (Figura 7) ^{14,38} La valutazione mirante a correlare il batterio responsabile dell'infezione e la sua eventuale antibiotico-resistenza con il coinvolgimento parenchimale non mostra

significatività statistica. Come speculazione clinica, seppur con la limitazione della ridotta numerosità del nostro campione, possiamo riportare che la presenza di batteri multi-resistenti non è correlata con un aumentato rischio di coinvolgimento del parenchima renale. Il riscontro di antibiotico-resistenza è fondamentale per le scelte terapeutiche, ma non sembra rappresentare un fattore di rischio per lo sviluppo di danno renale acuto.

L'esecuzione di un'emocoltura all'esordio è stata suggerita dalla maggiore frequenza di complicazioni settiche nelle fIVU dei primi anni di vita. 21,22,24 La positività registrata in 4 campioni è stata correlata con stato settico solo nel caso in cui l'isolamento colturale urinario ed ematico coincidevano (*E.coli*). In due casi con urinocoltura negativa, il batterio isolato su sangue (*Staphyloccus saprophiticus* ed *Enterococcus faecalis*) è stato considerato patogenetico per sviluppo di pielonefrite in quanto eseguito al picco febbrile prima di avvio di terapia antibiotica. Nell'unico caso in cui l'emocoltura è stata effettuata a picco febbrile, dopo l'avvio di terapia antibiotica, la positività per *Staphylococcus epidermidis* è stata considerata come falso positivo, verosimilmente dovuta a contaminazione del campione.

Analisi di NGAL

Al T_0 , in 33/37 pazienti è stato raccolto un campione di siero e in 30/37 di urine, entrambi per il dosaggio di NGAL come possibile *marker* di danno tubulare acuto renale. Al T_2 in 11 su 12 pazienti che hanno effettuato il previsto controllo, è stato raccolto un campione di siero e di urine, per il medesimo scopo.

L'analisi di questo metabolita non è ancora stata eseguita, in attesa di raggiungere un campione numerico che giustifichi l'impegno delle risorse economiche necessarie per la metodica richiesta. I campioni biologici sono al momento biobancati presso il Laboratorio di Nefrologia Molecolare dell'Istituto Giannina Gaslini di Genova.

• <u>Esami strumentali</u>

Ecografia

Le linee guida SINePe raccomandano l'esecuzione di ecografia renale e vescicale a tutti i bambini a distanza di 2-4 settimane dopo I fIVU a meno che essa non sia complicata, atipica o severa. ³⁵ Nel nostro studio è stato considerato come criterio di esecuzione in acuto, la presentazione in Pronto Soccorso del paziente.

L'esame ecografico è risultato negativo in 12/37 pazienti. Nei restanti 25 si riscontrava la presenza di CAKUT in 5 casi, di DP mono o bilaterale in 18 ed in 17 casi la presenza di segni ecografici sospetti per PNA. L'ecografia è notoriamente una indagine operatore dipendente finalizzata ad una valutazione di primo livello eseguibile al letto del paziente, scevra da effetti collaterali e ripetibile nel tempo. L'utilizzo del *color* e *power-doppler* ha comunque migliorato la sensibilità diagnostica nei confronti di quadri di PNA.¹¹⁷

Esame cistografico

Relativamente alla ricerca del RVU eseguita con CUM o CSG, recentemente in alcuni lavori è stata dibattuta la reale utilità della ricerca del RVU in pazienti con IVU recidivanti o con primo episodio di fIVU. Da alcuni Autori è stato sottolineato come in pazienti con RVU di alto grado il rischio di sviluppare un danno renale cronico è prevalentemente correlato a un danno renale che ha iniziato ad instaurarsi in età prenatale. In questi casi non c'è evidenza che una diagnosi precoce di RVU possa modificare l'evoluzione verso il danno renale cronico, indipendentemente dal trattamento terapeutico intrapreso, medico (profilassi) e/o chirurgico (endoscopico o *open*). ¹¹⁸ Una diversa opinione è quella espressa da Arlen *et al.* che ha proposto come il RVU non trattato rappresenti un fattore di rischio significativo per l'evoluzione in un danno renale irreversibile e di

conseguenza la diagnostica del RVU sia da eseguire per poter scegliere l'approccio terapeutico più adeguato.¹¹⁹

Nel presente lavoro abbiamo riscontrato i criteri per la ricerca di RVU in 23/37 pazienti. Di questi, 20 sono stati già sottoposti ad esame cistografico con il riscontro di RVU di grado e lateralità variabile nel 35% dei casi (Tabella 8). Nei pazienti con fIVU avere una corretta definizione diagnostica dello stato dell'apparato urinario permette non solo una valutazione collegiale (nefrologo pediatrico, urologo pediatrico, radiologo ed infettivologo) del comportamento diagnostico-terapeutico, ma ottimizza la comunicazione con la famiglia fornendo una spiegazione sulla condizione clinica che ha determinato il "sintomo" infezione febbrile delle vie urinarie. A tal riguardo si può enfatizzare il valore diagnostico della CSG che evita al bambino l'esposizione a radiazioni ionizzanti. 120

Di un certo interesse sembra essere il riscontro di una bilateralità del quadro DWI di pielonefrite, non solo nei soggetti con reflusso bilaterale (3/6) ma anche in quelli con RVU monolaterale (3/6) e di grado intermedio. In questi pazienti è da considerare l'ipotesi che l'esame cistografico possa non aver rilevato la bilateralità del reflusso che, come è noto, è un fenomeno talvolta transitorio e non associato a tutti i cicli minzionali. L'eventuale bilateralità del reflusso ha una certa importanza potendo essere secondario a disfunzioni vescicali che richiedono trattamento con urofarmaci piuttosto che trattamenti chirurgici. 122

Risonanza magnetica - sequenza DWI

La scintigrafia con acido meso-2,3-dimercaptosuccinico (DMSA) è considerata il *gold standard* nella valutazione del coinvolgimento parenchimale renale, sia in fase acuta che nella valutazione dei danni cronici. Santosh B. Rathod *et al.* in un lavoro del 2015 hanno enfatizzato l'alta sensibilità (95%) della RM-DWI comparata alla TAC con e senza mezzo di contrasto. Il un recente studio Freeman *et al.* hanno mostrato come la risonanza magnetica evidenzia, sia in acuto che nella fase di follow-up, un'efficacia paragonabile, se non superiore alla

scintigrafia con DMSA, col vantaggio di non dover esporre il paziente alla somministrazione di un radiofarmaco. 125 In particolar modo l'uso della RM-DWI per la ricerca di danno renale corticale è stato oggetto di esperienze già all'inizio degli anni 2000 e nella casistica di Faletti et al, comprendente 88 adulti (età media 36 anni), in cui questa metodica è stata comparata con la RM-Contrast Enhanced, l'RM-DWI si è dimostrata utile per la diagnosi e il follow-up della PNA. 126 In un recente studio retrospettivo effettuato presso l'Istituto Giannina Gaslini di Genova finalizzato a valutare il ruolo diagnostico della RM-DWI in relazione ai dati clinici in 51 pazienti di età inferiore ai 15 anni ammessi in Istituto con diagnosi di fIVU nel periodo Settembre 2012-Aprile 2020, 34 (67%) pazienti presentavano aree di restrizione del segnale parenchimale. Sulla scorta di questi dati è stato sottolineato come questa metodica in corso di fIVU in età pediatrica sia una tecnica promettente per la diagnostica in fase acuta di coinvolgimento renale e di facile esecuzione perché in rapporto all'età dei pazienti studiati la necessità di sedazione era risultata estremamente rara. 127 A fronte di ciò, nella nostra analisi preliminare tutti i 37 soggetti sottoposti a RM-DWI erano al di sotto dei 3 anni e quindi di età inferiore rispetto allo studio di Anfigeno et al e nella totalità dei casi è stato necessario eseguire l'esame in sedazione.

20/37 (54%) presentavano focolai pielonefritici evidenziati con questa specifica sequenza di immagini. La differenza di percentuale di positività (67% vs 54%) dell'esame tra il gruppo dei pazienti descritti retrospettivamente da Anfigeno e quello di questo protocollo può essere spiegato da tre cause:

- -differenza di età tra i due gruppi esaminati;
- -periodo di osservazione più ampio (8 anni vs 11 mesi)
- -assenza nel nostro gruppo di pregressi episodi di fIVU, non certamente indagati nell'altro gruppo.

La necessità della sedazione con il coinvolgimento del servizio di Anestesia può rappresentare un punto di debolezza nella esecuzione di questo esame; tuttavia

nei pazienti inclusi in questo studio la procedura è stata eseguita senza osservare eventi avversi di alcun tipo.

In rapporto alla tempistica dello studio 18/37 pazienti presentavano i criteri per effettuare il controllo RM a distanza di 5-8 mesi dall'episodio acuto, ma solo 12 hanno completato l'iter diagnostico. In solo in un caso è stata riscontrata la presenza di *scars* renali; si segnala peraltro che questa paziente presentava un RVU bilaterale e, pur in presenza di anamnesi muta per pregresse patologie renali, esiti cicatriziali già alla RM-DWI eseguita a T₀.

Una valutazione con correlazione statistica sarà possibile solo dopo l'ampliamento della numerosità del campione esaminato.

Arruolamento: stato dell'arte

L'arruolamento risulta attualmente non in linea con gli obiettivi previsti di 100 pazienti/anno, nonostante l'elevato tasso di arruolamento pari al 77% (in 10 mesi sono stati arruolati 37 pazienti, su 48 presentanti i criteri di arruolamento). L'elevato tasso di arruolamento è stato ottenuto grazie a una comunicazione completa ed empatica con i genitori dei pazienti ai quali veniva descritta l'utilità dello studio per un follow-up attento, finalizzato in particolare alla prevenzione verso i danni renali cronici delle fIVU.

La discrepanza fra l'effettivo arruolamento e i numeri inizialmente proposti è stata condizionata da una serie di fattori, quali il relativamente scarso accesso in PS di bambini con sintomatologia febbrile evocante sospetto di fIVU in rapporto alla gestione domiciliare da parte dei Pediatri di famiglia, la mancata o intempestiva segnalazione di casi da parte di alcune UU.OO. (2 pazienti), nonché da fattori clinici rappresentati dalla positività, riscontrata in due bambini al momento dell'accesso in PS, di tampone SARS-CoV-2 e in un altro bambino dalla concomitanza di condizioni generali non adeguate alla esecuzione di esami in sedazione (bronchiolite in un lattante durante ultimo picco epidemico, novembre 2022). In un solo caso il consenso informato inizialmente sottoscritto dai genitori

del bambino è stato successivamente revocato. In altri tre pazienti arruolati non è stato possibile eseguire RM-DWI nei tempi previsti da protocollo, per temporanea indisponibilità anestesiologica per concomitanti urgenze non differibili.

Inoltre, il tasso di arruolamento ridotto potrebbe essere stato condizionato ad altri fattori, tra cui alcuni di natura socioeconomica (tasso di natalità della regione Liguria nel 2020 pari a 5,8‰, il più basso d'Italia).¹¹⁵

Per far fronte al basso numero di arruolamenti, a giugno 2022 è stata concordata dagli *investigators* la modifica dell'età di arruolamento incrementandola da un massimo di 3 anni compiuti a 5. Tale modifica al momento della presente valutazione in itinere non ha ancora determinato alcun effetto, anche se è ipotizzabile che nel prosieguo possa contribuire al raggiungimento dell'obiettivo del numero dei pazienti previsti.

Conclusioni

In riferimento all'obiettivo primario di questo studio, i dati riferiti nella presente tesi riguardano una percentuale di pazienti molto limitata rispetto alla popolazione prevista e pertanto questo non rende possibili conclusioni definitive. Tuttavia, dal confronto con la letteratura sembra potersi affermare che l'utilizzo della RM-DWI anche in una popolazione costituita da bambini molto piccoli possa sostituire l'uso di altre tecniche per l'individuazione di una sofferenza del parenchima renale nella fase acuta e della presenza di cicatrici renali nel corso del *follow-up*.

A fronte del vantaggio dell'assenza di radiazioni ionizzanti, della rapidità dell'acquisizione delle sequenze, senza necessità di somministrazione di mezzo di contrasto, deve essere sottolineata la necessità di ricorrere alla sedazione del piccolo paziente rendendo disponibile questa tecnica diagnostica solo in centri specialistici.

La complessità del protocollo consentirà, alla sua conclusione, il raggiungimento anche di ulteriori obiettivi quali per esempio identificare i quadri di RM all'esordio suggestivi di evoluzione verso la cronicità, in associazione ai parametri clinici, laboratoristici – tra cui NGAL - e microbiologici.

Un altro aspetto importante sarà quello di implementare il ruolo dell'ecografia confrontando gli esiti della RM-DWI con l'ecografia con mezzo di contrasto (CEUS), tecnica del tutto recentemente disponibile nel nostro Istituto caratterizzata da buona accuratezza diagnostica, sensibilità e specificità e dal vantaggio di essere scevra dall'esposizione a radiazioni ionizzanti e di non necessitare di sedazione del paziente. 128,129

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- Karmazyn BK, Alazraki AL, Anupindi SA, Dempsey ME, Dillman JR, Dorfman SR, Garber MD, Moore SG, Peters CA, Rice HE, Rigsby CK, Safdar NM, Simoneaux SF, Trout AT, Westra SJ, Wootton-Gorges SL, Coley BD. Expert Panel on Pediatric Imaging: ACR Appropriateness Criteria® Urinary Tract Infection-Child. J Am Coll Radiol. 2017 May;14(5S):S362-S371. doi: 10.1016/j.jacr.2017.02.028. PMID: 28473093.)
- Korbel L, Howell M, Spencer JD. The clinical diagnosis and management of urinary tract infections in children and adolescents. Paediatr Int Child Health. 2017 Nov;37(4):273-279. doi: 10.1080/20469047.2017.1382046. Epub 2017 Oct 5. PMID: 28978286.
- 3. Cormican, M., Murphy, A. W. & Vellinga, A. Interpreting asymptomatic bacteriuria: Testing for and treating bacteriuria in children and non-pregnant adults without specific symptoms of urinary tract infection or sepsis is of uncertain benefit. *BMJ* 343, 1–5 (2011).
- 4. Morello, W., La Scola, C., Alberici, I. & Montini, G. Acute pyelonephritis in children. *Pediatr. Nephrol.* 31, 1253–1265 (2016).
- 5. Chang, S. L. & Shortliffe, L. D. Pediatric Urinary Tract Infections. *Pediatr. Clin. North Am.* 53, 379–400 (2006).
- 6. Simões E Silva AC, Oliveira EA, Mak RH. Urinary tract infection in pediatrics: an overview. J Pediatr (Rio J). 2020 Mar-Apr;96 Suppl 1(Suppl 1):65-79. doi: 10.1016/j.jped.2019.10.006. Epub 2019 Nov 26. PMID: 31783012; PMCID: PMC9432043.
- 7. Pohl HG, Belman AB. Congenital anomalies of the urinary tract. Curr Pediatr Rev. 2014;10(2):123-32. doi: 10.2174/157339631002140513102152. PMID: 25088266.
- 8. Schlager TA. Urinary Tract Infections in Infants and Children. Microbiol Spectr. 2016 Oct;4(5). doi: 10.1128/microbiolspec.UTI-0022-2016. PMID: 28087926.
- 9. Yazbeck S, Schick E, O'Regan S. Relevance of constipation to enuresis, urinary tract infection and reflux. A review. Eur Urol. 1987;13(5):318-21. doi: 10.1159/000472809. PMID: 3315689.
- 10. Stapleton, A. E. Urinary tract infection pathogenesis. Host factors. Infect. Dis. Clin. North Am. 28, 150–159 (2014).
- Hickling DR, Sun TT, Wu XR. Anatomy and Physiology of the Urinary Tract: Relation to Host Defense and Microbial Infection. Microbiol Spectr. 2015 Aug;3(4):10.1128/microbiolspec.UTI-0016-2012. doi: 10.1128/microbiolspec.UTI-0016-2012. PMID: 26350322; PMCID: PMC4566164.)
- 12. Balighian E, Burke M. Urinary Tract Infections in Children. Pediatr Rev. 2018 Jan;39(1):3-12. doi: 10.1542/pir.2017-0007. PMID: 29292282.
- 13. Robinson JL, Finlay JC, Lang ME, Bortolussi R; Canadian Paediatric Society, Infectious Diseases and Immunization Committee, Community Paediatrics Committee. Urinary tract infections in infants and children: Diagnosis and management. Paediatr Child Health. 2014 Jun;19(6):315-25. doi: 10.1093/pch/19.6.315. PMID: 25332662; PMCID: PMC4173959.

- 14. Shaikh N, Hoberman A. Urinary tract infections in children: Epidemiology and risk factors. In: Post, TW, Ed. UpToDate. Waltham, MA (Accessed on August 2018)
- 15. Drekonja DM, Johnson JR. Urinary tract infections. Prim Care. 2008 Jun;35(2):345-67, vii. doi: 10.1016/j.pop.2008.01.001. PMID: 18486719.
- 16. Larcombe J. Urinary tract infection in children: recurrent infections. BMJ Clin Evid. 2015 Jun 12;2015:0306. PMID: 26067232; PMCID: PMC4463760.
- 17. Desai DJ, Gilbert B, McBride CA. Paediatric urinary tract infections: Diagnosis and treatment. Aust Fam Physician. 2016 Aug;45(8):558-63. PMID: 27610444.
- 18. Clark CJ, Kennedy WA 2nd, Shortliffe LD. Urinary tract infection in children: when to worry. Urol Clin North Am. 2010 May;37(2):229-41. doi: 10.1016/j.ucl.2010.03.009. PMID: 20569801.
- 19. Leung AK, Robson WL. Urinary tract infection in infancy and childhood. Adv Pediatr. 1991;38:257-85. PMID: 1927703.
- 20. Firoozeh F, Saffari M, Neamati F, Zibaei M. Detection of virulence genes in Escherichia coli isolated from patients with cystitis and pyelonephritis. Int J Infect Dis. 2014 Dec;29:219-22. doi: 10.1016/j.ijid.2014.03.1393. Epub 2014 Oct 24. PMID: 25449257.
- 21. Bell LE, Mattoo TK. Update on childhood urinary tract infection and vesicoureteral reflux. Semin Nephrol. 2009 Jul;29(4):349-59. doi: 10.1016/j.semnephrol.2009.03.011. PMID: 19615556.
- 22. Korbel L, Howell M, Spencer JD. The clinical diagnosis and management of urinary tract infections in children and adolescents. Paediatr Int Child Health. 2017 Nov;37(4):273-279. doi: 10.1080/20469047.2017.1382046. Epub 2017 Oct 5. PMID: 28978286.
- 23. Mak RH, Kuo HJ. Pathogenesis of urinary tract infection: an update. Curr Opin Pediatr. 2006 Apr;18(2):148-52. doi: 10.1097/01.mop.0000193276.39495.0d. PMID: 16601494.
- Zorc JJ, Kiddoo DA, Shaw KN. Diagnosis and management of pediatric urinary tract infections. Clin Microbiol Rev. 2005 Apr;18(2):417-22. doi: 10.1128/CMR.18.2.417-422.2005. PMID: 15831830; PMCID: PMC1082801.
- 25. Hudson A, Romao RLP, MacLellan D. Urinary tract infection in children. CMAJ. 2017 Apr 24;189(16):E608. doi: 10.1503/cmaj.160656. PMID: 28438954; PMCID: PMC5403644.
- 26. Afzal N, Qadir M, Qureshi S, Ali R, Ahmed S, Ahmad K. Urinary tract infection presenting as jaundice in neonates. J Pak Med Assoc. 2012 Jul;62(7):735-7. PMID: 23866529.
- 27. Shahian M, Rashtian P, Kalani M. Unexplained neonatal jaundice as an early diagnostic sign of urinary tract infection. Int J Infect Dis. 2012 Jul;16(7):e487-90. doi: 10.1016/j.ijid.2012.02.011. Epub 2012 Apr 16. PMID: 22512850.
- 28. Gauthier M, Gouin S, Phan V, Gravel J. Association of malodorous urine with urinary tract infection in children aged 1 to 36 months. Pediatrics. 2012 May;129(5):885-90. doi: 10.1542/peds.2011-2856. Epub 2012 Apr 2. PMID: 22473364.
- 29. Robson WL, Leung AK. An approach to daytime wetting in children. Adv Pediatr. 2006;53:323-65. doi: 10.1016/j.yapd.2006.04.016. PMID: 17089873.

- 30. Robson WL, Leung AK. Scarring is the central issue in urinary tract infection, not vesicoureteral reflux. Clin Pediatr (Phila). 2001 May;40(5):302-3. doi: 10.1177/000992280104000516. PMID: 11388684.
- 31. Robson WL, Leung AK, Van Howe R. Primary and secondary nocturnal enuresis: similarities in presentation. Pediatrics. 2005 Apr;115(4):956-9. doi: 10.1542/peds.2004-1402. PMID: 15805370.
- 32. Kenneth B. Roberts, Subcommittee on Urinary Tract Infection, Steering Committee on Quality Improvement and Management; Urinary Tract Infection: Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Management of the Initial UTI in Febrile Infants and Children 2 to 24 Months. Pediatrics September 2011; 128 (3): 595–610. 10.1542/peds.2011-1330
- 33. Raimund Stein, Hasan S. Dogan, Piet Hoebeke, Radim Kočvara, Rien J.M. Nijman, Christian Radmayr, Serdar Tekgül, Urinary Tract Infections in Children: EAU/ESPU Guidelines, European Urology, Volume 67, Issue 3,2015, Pages 546-558, ISSN 0302-2838, https://doi.org/10.1016/j.eururo.2014.11.007.
- 34. Stephens GM, Akers S, Nguyen H, Woxland H. Evaluation and management of urinary tract infections in the school-aged child. Prim Care. 2015 Mar;42(1):33-41. doi: 10.1016/j.pop.2014.09.007. Epub 2014 Nov 18. PMID: 25634703.
- 35. Ammenti A, Alberici I, Brugnara M, Chimenz R, Guarino S, La Manna A, La Scola C, Maringhini S, Marra G, Materassi M, Morello W, Nicolini G, Pennesi M, Pisanello L, Pugliese F, Scozzola F, Sica F, Toffolo A, Montini G; Italian Society of Pediatric Nephrology. Updated Italian recommendations for the diagnosis, treatment and follow-up of the first febrile urinary tract infection in young children. Acta Paediatr. 2020 Feb;109(2):236-247. doi: 10.1111/apa.14988. Epub 2019 Oct 6. PMID: 31454101; PMCID: PMC7004047.
- 36. Baumer JH, Jones RW. Urinary tract infection in children, National Institute for Health and Clinical Excellence. Arch Dis Child Educ Pract Ed. 2007 Dec;92(6):189-92. doi: 10.1136/adc.2007.130799. PMID: 18032715.
- 37. Ma JF, Shortliffe LM. Urinary tract infection in children: etiology and epidemiology. Urol Clin North Am. 2004 Aug;31(3):517-26, ix-x. doi: 10.1016/j.ucl.2004.04.016. PMID: 15313061.
- 38. Subcommittee on Urinary Tract Infection, Steering Committee on Quality Improvement and Management, Roberts KB. Urinary tract infection: clinical practice guideline for the diagnosis and management of the initial UTI in febrile infants and children 2 to 24 months. Pediatrics. 2011 Sep;128(3):595-610. doi: 10.1542/peds.2011-1330. Epub 2011 Aug 28. PMID: 21873693.
- 39. Bonny AE, Brouhard BH. Urinary tract infections among adolescents. Adolesc Med Clin. 2005 Feb;16(1):149-61. doi: 10.1016/j.admecli.2004.09.010. PMID: 15844388.
- 40. Wald E. Urinary tract infections in infants and children: a comprehensive overview. Curr Opin Pediatr. 2004 Feb;16(1):85-8. doi: 10.1097/00008480-200402000-00016. PMID: 14758120.
- 41. Zhang H, Yang J, Lin L, Huo B, Dai H, He Y. Diagnostic value of serum procalcitonin for acute pyelonephritis in infants and children with urinary tract infections: an updated meta-analysis.

- World J Urol. 2016 Mar;34(3):431-41. doi: 10.1007/s00345-015-1630-4. Epub 2015 Jul 4. PMID: 26142087.
- 42. Leroy S, Romanello C, Galetto-Lacour A, Smolkin V, Korczowski B, Rodrigo C, Tuerlinckx D, Gajdos V, Moulin F, Contardo M, Gervaix A, Halevy R, Duhl B, Prat C, Borght TV, Foix-l'Hélias L, Dubos F, Gendrel D, Bréart G, Chalumeau M. Procalcitonin to reduce the number of unnecessary cystographies in children with a urinary tract infection: a European validation study. J Pediatr. 2007 Jan;150(1):89-95. doi: 0.1016/j.jpeds.2006.08.066. PMID: 17188622.
- 43. Shaikh N, Borrell JL, Evron J, Leeflang MM. Procalcitonin, C-reactive protein, and erythrocyte sedimentation rate for the diagnosis of acute pyelonephritis in children. Cochrane Database Syst Rev. 2015 Jan 20;1(1):CD009185. doi: 10.1002/14651858.CD009185.pub2. Update in: Cochrane Database Syst Rev. 2020 Sep 10;9:CD009185. PMID: 25603480; PMCID: PMC7104675.
- 44. Zaffanello M, Brugnara M, Franchini M, Fanos V. Is serum procalcitonin able to predict long-term kidney morbidity from urinary tract infections in children? Clin Chem Lab Med. 2008;46(10):1358-63. doi: 10.1515/CCLM.2008.282. PMID: 18844487.
- 45. Jackson EC. Urinary tract infections in children: knowledge updates and a salute to the future. Pediatr Rev. 2015 Apr;36(4):153-64; quiz 165-6. doi: 10.1542/pir.36-4-153. PMID: 25834219.
- 46. Enikeev DV, Glybochko P, Alyaev Y, Enikeev M, Rapoport L. Imaging technologies in the diagnosis and treatment of acute pyelonephritis. Urologia. 2017 Aug 1;84(3):179-184. doi: 10.5301/uj.5000234. Epub 2017 May 18. PMID: 28525662.
- 47. Lavocat MP, Granjon D, Allard D, Gay C, Freycon MT, Dubois F. Imaging of pyelonephritis. Pediatr Radiol. 1997 Feb;27(2):159-65. doi: 10.1007/s002470050091. PMID: 9028852.
- 48. Sedberry-Ross S, Pohl HG. Urinary tract infections in children. Curr Urol Rep. 2008 Mar;9(2):165-71. doi: 10.1007/s11934-008-0029-9. PMID: 18420002.
- 49. Urinary tract infection in under 16s: diagnosis and management. London: National Institute for Health and Care Excellence (NICE); 2018 Oct. PMID: 31971701.
- 50. Piaggio G, Degl' Innocenti ML, Tomà P, Calevo MG, Perfumo F. Cystosonography and voiding cystourethrography in the diagnosis of vesicoureteral reflux. Pediatr Nephrol. 2003 Jan;18(1):18-22. doi: 10.1007/s00467-002-0974-3. Epub 2002 Nov 14. PMID: 12488985.
- 51. Giordano M, Marzolla R, Puteo F, Scianaro L, Caringella DA, Depalo T. Voiding urosonography as first step in the diagnosis of vesicoureteral reflux in children: a clinical experience. Pediatr Radiol. 2007 Jul;37(7):674-7. doi: 10.1007/s00247-007-0499-9. Epub 2007 May 23. PMID: 17520246.
- 52. Hewitt I, Montini G. Vesicoureteral reflux is it important to find? Pediatr Nephrol. 2021 Apr;36(4):1011-1017. doi: 10.1007/s00467-020-04573-9. Epub 2020 Apr 22. PMID: 32323004.
- 53. Miyakita H, Hayashi Y, Mitsui T, Okawada M, Kinoshita Y, Kimata T, Koikawa Y, Sakai K, Satoh H, Tokunaga M, Naitoh Y, Niimura F, Matsuoka H, Mizuno K, Kaneko K, Kubota M. Guidelines for the medical management of pediatric vesicoureteral reflux. Int J Urol. 2020 Jun;27(6):480-490. doi: 10.1111/iju.14223. Epub 2020 Apr 1. PMID: 32239562; PMCID: PMC7318347.

- 54. Lebowitz, R.L., Olbing, H., Parkkulainen, K.V. et al. International system of radiographic grading of vesicoureteric reflux. Pediatr Radiol 15,105–109 (1985). https://doi.org/10.1007/BF02388714
- 55. Aguiar LM, Franco I. Bladder Bowel Dysfunction. Urol Clin North Am. 2018 Nov;45(4):633-640. doi: 10.1016/j.ucl.2018.06.010. Epub 2018 Sep 7. PMID: 30316317.
- 56. Megged O. Bacteremic vs nonbacteremic urinary tract infection in children. Am J Emerg Med. 2017 Jan;35(1):36-38. doi: 10.1016/j.ajem.2016.09.060. Epub 2016 Sep 30. PMID: 27742519.
- 57. Leung AK, Robson WL. Febrile seizures. J Pediatr Health Care. 2007 Jul-Aug;21(4):250-5. doi: 10.1016/j.pedhc.2006.10.006. PMID: 17606162.
- 58. Blumenthal I. Vesico-ureteric reflux, urinary-tract infection, and renal damage in children. Lancet. 1995 Sep 30;346(8979):900. PMID: 7564686.
- 59. Leung AK. Urinary tract infextion. Common problems in ambulatory pediatrics: Specific clinical problems, volume 1. New York: Nova Science Publishers, Inc 2011; pp 173-81
- 60. Shaikh N, Hoberman A. Urinary tract infections in infants older than one month and young children: acute management, imaging and prognosis. In: Post, TW, Ed. UpToDate. Waltham, MA (Accessed on August 2018)
- 61. Al-Orifi F, McGillivray D, Tange S, Kramer MS. Urine culture from bag in young children: are the risks too high? J Pediatr 2000;137:221-6.
- 62. Montini G, Tullus K, Hewitt I. Febrile urinary tract infections in children. N Engl J Med 2011;365:239-50.
- 63. Doganis D, Sinaniotis K. Early antibiotic treatment of pyelonephritis in children is still mandatory. Pediatrics 2009;123:e173-4.
- 64. McTaggart S, Danchin M, Ditchfield M, Hewitt I, Kausman J, Kennedy S, Trnka P, Williams G; Kidney Health Australia Caring for Australasians with Renal Impairment. KHA-CARI guideline: Diagnosis and treatment of urinary tract infection in children. Nephrology (Carlton). 2015 Feb;20(2):55-60. doi: 10.1111/nep.12349. PMID: 25307259.
- 65. Traisman ES. Clinical Management of Urinary Tract Infections. Pediatr Ann. 2016 Apr;45(4):e108-11. doi: 10.3928/00904481-20160316-01. PMID: 27064464.
- 66. Awais M, Rehman A, Baloch NU, Khan F, Khan N. Evaluation and management of recurrent urinary tract infections in children: state of the art. Expert Rev Anti Infect Ther. 2015 Feb;13(2):209-31. doi: 10.1586/14787210.2015.991717. Epub 2014 Dec 9. PMID: 25488064.
- 67. Becknell B, Schober M, Korbel L, Spencer JD. The diagnosis, evaluation and treatment of acute and recurrent pediatric urinary tract infections. Expert Rev Anti Infect Ther. 2015 Jan;13(1):81-90. doi: 10.1586/14787210.2015.986097. Epub 2014 Nov 25. PMID: 25421102; PMCID: PMC4652790.
- 68. Delbet JD, Lorrot M, Ulinski T. An update on new antibiotic prophylaxis and treatment for urinary tract infections in children. Expert Opin Pharmacother. 2017 Oct;18(15):1619-1625. doi: 10.1080/14656566.2017.1383383. Epub 2017 Sep 27. PMID: 28954556.
- 69. Han SB, Lee SC, Lee SY, Jeong DC, Kang JH. Aminoglycoside therapy for childhood urinary tract infection due to extended-spectrum β -lactamase-producing Escherichia coli or Klebsiella

- pneumoniae. BMC Infect Dis. 2015 Oct 13;15:414. doi: 10.1186/s12879-015-1153-z. PMID: 26464143; PMCID: PMC4604622.
- 70. Poey N, Madhi F, Biscardi S, Béchet S, Cohen R. Aminoglycosides Monotherapy as First-Line Treatment for Febrile Urinary Tract Infection in Children. Pediatr Infect Dis J. 2017 Nov;36(11):1104-1107. doi: 10.1097/INF.000000000001636. PMID: 28498305.
- 71. Koyle MA, Barqawi A, Wild J, Passamaneck M, Furness PD 3rd. Pediatric urinary tract infections: the role of fluoroquinolones. Pediatr Infect Dis J 2003;22:1133-7.
- 72. European Medicines Agency. Disabling and potentially permanent side effects lead to suspension or restrictions of quinolone and fluoroquinolone antibiotics. EMA/795349/2018
- 73. Gökçe ", Çiçek N, Güven S, et al. Changes in Bacterial Resistance Patterns of Pediatric Urinary Tract Infections and Rationale for Empirical Antibiotic Therapy. Balkan Med J 2017;34:432-5.
- 74. Masson P, Matheson S, Webster AC, Craig JC. Meta-analyses in prevention and treatment of urinary tract infections. Infect Dis Clin North Am 2009;23:355-85.
- 75. Jackson MA, Schutze GE; COMMITTEE ON INFECTIOUS DISEASES. The Use of Systemic and Topical Fluoroquinolones. Pediatrics. 2016 Nov;138(5):e20162706. doi: 10.1542/peds.2016-2706. PMID: 27940800.
- 76. Leung AK, Chan PY, Cho HY. Constipation in children. Am Fam Physician. 1996 Aug;54(2):611-8, 627. PMID: 8701840.
- 77. de Bessa J Jr, de Carvalho Mrad FC, Mendes EF, et al. Antibiotic prophylaxis for prevention of febrile urinary tract infections in children with vesicoureteral reflux: a metaanalysis of randomized, controlled trials comparing dilated to nondilated vesicoureteral reflux. J Urol 2015;193(5 Suppl):1772-7.
- 78. The RIVUR Trial Investigators. Antimicrobial prophylaxis for children with vesicoureteral reflux. N Engl J Med 2014;370:2367-76.
- 79. Selekman RE, Shapiro DJ, Boscardin J, et al. Uropathogen Resistance and Antibiotic Prophylaxis: A Meta-analysis. Pediatrics 2018;142:e20180119.
- 80. Colagrande, S., Pallotta, S., Vanzulli, A., Napolitano, M. & Villari, N. Il parametro Diffusione in Risonanza Magnetica: elementi di fisica, tecnica e semeiotica. Radiol. medica 109, 1–16 (2005).
- 81. Cittadini, G. et al. Diagnostica per immagini e radioterapia. 128–129 (2015).
- 82. Stecco, A. & Ragozzino. L'Essenziale Nell'Imaging Rm di Diffusione. 151 (2011).
- 83. Ippolito, D., Querques, G., Lombardi, S., Nuovi strumenti tecnici in Risonanza Magnetica: Studi funzionali con MdC, diffusione, perfusione. G. Ital. di Radiol. Medica 925–939 (2015).
- 84. Colagrande, S., Carbone, S. F., Carusi, L. M., Cova, M. & Villari, N. Il parametro 'diffusione' in risonanza magnetica: Le applicazioni in ambito extra-neurologico. Radiol. Medica 111, 392–419 (2006).
- 85. Aoyagi, J. et al. Utility of non-enhanced magnetic resonance imaging to detect acute pyelonephritis. Pediatr. Int. 56, 10–12 (2014).

- 86. Bosakova, A. et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging is more sensitive than dimercaptosuccinic acid scintigraphy in detecting parenchymal lesions in children with acute pyelonephritis: A prospective study. J. Pediatr. Urol. (2018).
- 87. Kjeldsen L, Sengeløv H, Lollike K, Nielsen MH, Borregaard N. Isolation and characterization of gelatinase granules from human neutrophils. Blood. 1994 Mar 15;83(6):1640-9. PMID: 8123855.
- 88. Bundgaard JR, Sengeløv H, Borregaard N, Kjeldsen L. Molecular cloning and expression of a cDNA encoding NGAL: a lipocalin expressed in human neutrophils. Biochem Biophys Res Commun. 1994 Aug 15;202(3):1468-75. doi: 10.1006/bbrc.1994.2096. PMID: 8060329.
- 89. Goetz DH, Holmes MA, Borregaard N, Bluhm ME, Raymond KN, Strong RK. The neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophore-mediated iron acquisition. Mol Cell. 2002 Nov;10(5):1033-43. doi: 10.1016/s1097-2765(02)00708-6. PMID: 12453412.
- 90. Bao,G., Barasch,J., Clifton,M., Strong,R. K. Catechol, a Urinary Ngal Binding Siderophore- Planta Medica .[Internet], 2008 https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-2008-1075270
- 91. NGAL: an emerging biomarker of acute kidney injury Available from Int. J. Artif. Org. [Internet]., 31 (3) (2008), pp. 199-200; https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/0391398808031003026 (2005).
- 92. M. Haase, R. Bellomo, P. Devarajan, P. Schlattmann, A. Haase-Fielitz Group NM analysis I. Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis Available from: Am. J. Kidney Diseases [Internet]., 54 (6) (2009), pp. 1012-1024 https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0272638609010750
- 93. S. Collins, M. Sperling, A. Storrow, G. Fermann, D. Maron, J. McPherson, et al. Urinary NGAL levels predict acute kidney injury in emergency department patients with acute heart failure Available from J. Cardiac Failure [Internet]., 16 (8) (2010), pp. S29-S30 https://www.onlinejcf.com/article/S1071-9164(10)00363-/abstract
 - 94. Delanaye P, Rozet E, Krzesinski JM, Cavalier E. Urinary NGAL measurement: biological variation and ratio to creatinine. Clin Chim Acta. 2011 Jan 30;412(3-4):390. doi: 10.1016/j.cca.2010.10.011. Epub 2010 Oct 14. PMID: 20951688.
 - 95. P. Devarajan. Neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL): a new marker of kidney disease.

 Available from Scan. J. Clin. Laborat. Invest. [Internet]., 68 (sup241) (2008), pp. 89-94.

 https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00365510802150158
 - 96. Marakala V. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in kidney injury A systematic review. Clin Chim Acta. 2022 Nov 1;536:135-141. doi: 10.1016/j.cca.2022.08.029. Epub 2022 Sep 21. PMID: 36150522.
 - 97. Soni, S.S., Cruz, D., Bobek, I. et al. NGAL: a biomarker of acute kidney injury and other systemic conditions. Int Urol Nephrol 42, 141–150 (2010). https://doi.org/10.1007/s11255-009-9608-z

- 98. Tewary, P., Redmond, C., Clifton, M., Yang, D., & Oppenheim, J. (2010). Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL): Endogenous activators of the immune system (89.15).
- 99. Gomes, B. C., Silva Júnior, J. M., & Tuon, F. F. (2020). Evaluation of urinary NGAL as a diagnostic tool for acute kidney injury in critically ill patients with infection: an original study. Canadian Journal of Kidney Health and Disease, 7, 2054358120934215.
- 100. Paragas, N., Kulkarni, R., Werth, M., Schmidt-Ott, K. M., Forster, C., Deng, R., ... & Barasch, J. (2014). α -Intercalated cells defend the urinary system from bacterial infection. The Journal of clinical investigation, 124(7), 2963-2976.
- 101. Steigedal M, Marstad A, Haug M, Damås JK, Strong RK, Roberts PL, Himpsl SD, Stapleton A, Hooton TM, Mobley HL, Hawn TR, Flo TH. Lipocalin 2 imparts selective pressure on bacterial growth in the bladder and is elevated in women with urinary tract infection. J Immunol. 2014 Dec 15;193(12):6081-9. doi: 10.4049/jimmunol.1401528. Epub 2014 Nov 14. PMID: 25398327; PMCID: PMC4258450.
- 102. Czaja CA, Stamm WE, Stapleton AE, Roberts PL, Hawn TR, Scholes D, Samadpour M, Hultgren SJ, Hooton TM. Prospective cohort study of microbial and inflammatory events immediately preceding Escherichia coli recurrent urinary tract infection in women. J Infect Dis. 2009 Aug 15;200(4):528-36. doi: 10.1086/600385. PMID: 19586416; PMCID: PMC3674869.
- 103. Yilmaz A, Sevketoglu E, Gedikbasi A, Karyagar S, Kiyak A, Mulazimoglu M, Aydogan G, Ozpacaci T, Hatipoglu S. Early prediction of urinary tract infection with urinary neutrophil gelatinase associated lipocalin. Pediatr Nephrol. 2009 Dec;24(12):2387-92. doi: 10.1007/s00467-009-1279-6. Epub 2009 Aug 1. PMID: 19649660.
- 104. Yim HE, Yim H, Bae ES, Woo SU, Yoo KH. Predictive value of urinary and serum biomarkers in young children with febrile urinary tract infections. Pediatr Nephrol. 2014 Nov;29(11):2181-9. doi: 10.1007/s00467-014-2845-0. Epub 2014 Jun 13. PMID: 24924751.
- 105. Lee HE, Kim DK, Kang HK, Park K. The diagnosis of febrile urinary tract infection in children may be facilitated by urinary biomarkers. Pediatr Nephrol. 2015 Jan;30(1):123-30. doi: 10.1007/s00467-014-2905-5. Epub 2014 Aug 16. PMID: 25127917.
- 106. Valdimarsson S, Jodal U, Barregård L, Hansson S. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin and other biomarkers in infants with urinary tract infection and in febrile controls. Pediatr Nephrol. 2017 Nov;32(11):2079-2087. doi: 10.1007/s00467-017-3709-1. Epub 2017 Jul 29. PMID: 28756475.
- 107. Paragas N, Qiu A, Zhang Q, Samstein B, Deng SX, Schmidt-Ott KM, Viltard M, Yu W, Forster CS, Gong G, Liu Y, Kulkarni R, Mori K, Kalandadze A, Ratner AJ, Devarajan P, Landry DW, D'Agati V, Lin CS, Barasch J. The Ngal reporter mouse detects the response of the kidney to injury in real time. Nat Med. 2011 Feb;17(2):216-22. doi: 10.1038/nm.2290. Epub 2011 Jan 16. PMID: 21240264; PMCID: PMC3059503.
- 108. Kim BH, Yu N, Kim HR, Yun KW, Lim IS, Kim TH, Lee MK. Evaluation of the optimal neutrophil gelatinase-associated lipocalin value as a screening biomarker for urinary tract infections in

- children. Ann Lab Med. 2014 Sep;34(5):354-9. doi: 10.3343/alm.2014.34.5.354. Epub 2014 Aug 21. PMID: 25187887; PMCID: PMC4151003.
- 109. Lubell TR, Barasch JM, Xu K, Ieni M, Cabrera KI, Dayan PS. Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin for the Diagnosis of Urinary Tract Infections. Pediatrics. 2017 Dec;140(6):e20171090. doi: 10.1542/peds.2017-1090. Epub 2017 Nov 16. PMID: 29146619; PMCID: PMC6658088.
- 110. Schwartz GJ, Schneider MF, Maier PS, Moxey-Mims M, Dharnidharka VR, Warady BA, Furth SL, Muñoz A. Improved equations estimating GFR in children with chronic kidney disease using an immunonephelometric determination of cystatin C. Kidney Int. 2012 Aug;82(4):445-53. doi: 10.1038/ki.2012.169. PMID: 22622496; PMCID: PMC3433576.
- 111. PROS-URG-163 Sinossi procedura organizzativa IVU febbrili in DEA https://adsqsrv.gaslini.org/qualita/uoc-uosd/pediatria-d-urgenza/procedure-specifiche/pros-urg-163-raccomandazioni-per-la-gestione-del-paziente-affetto-da-ivu-febbrile-in-dea
- 112. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 13.0, 2023. http://www.eucast.org
- 113. PRO-ASC-074 Gestione dei pazienti sottoposti a sedazione procedurale https://adsqsrv.gaslini.org/qualita/procedure-jci/asc/pro-asc-074-gestione-dei-pz-sottoposti-asedazione-procedurale
- 114. Human LCN2 / Lipocalin 2 / NGAL CLIA Kit (Sandwich CLIA) User Manual Catalog No. LS-F26058
- 115. https://www.istat.it/it/popolazione-e-famiglie
- 116. Shaikh N, Borrell JL, Evron J, Leeflang MM. Procalcitonin, C-reactive protein, and erythrocyte sedimentation rate for the diagnosis of acute pyelonephritis in children. Cochrane Database Syst Rev. 2015 Jan 20;1(1):CD009185. doi: 10.1002/14651858.CD009185.pub2. Update in: Cochrane Database Syst Rev. 2020 Sep 10;9:CD009185. PMID: 25603480; PMCID: PMC7104675.
- 117. Chen MG, Yang Y, Yang Q, Zhuang JQ, Ye XH, Zheng WJ. New strategy of color and power doppler sonography combined with DMSA in the assessment of acute pyelonephritis in infants. BMC Nephrol. 2021 May 17;22(1):181. doi: 10.1186/s12882-021-02390-2. PMID: 34001037; PMCID: PMC8130442.
- 118. Hewitt I, Montini G. Vesicoureteral reflux is it important to find? Pediatr Nephrol. 2021 Apr;36(4):1011-1017. doi: 10.1007/s00467-020-04573-9. Epub 2020 Apr 22. PMID: 32323004.
- 119. Arlen AM, Cooper CS. New trends in voiding cystourethrography and vesicoureteral reflux: Who, when and how? Int J Urol. 2019 Apr;26(4):440-445. doi: 10.1111/iju.13915. Epub 2019 Feb 14. PMID: 30762254.
- 120. Mario Giordano. Voiding Urosonography: A "Dignified" Diagnosis for Vesico Ureteral Reflux. J Pediatr Neonatol. 2021;2(1):1
- 121. Papadopoulou F, Efremidis SC, Oiconomou A, Badouraki M, Panteleli M, Papachristou F, Soteriou I. Cyclic voiding cystourethrography: is vesicoureteral reflux missed with standard voiding cystourethrography? Eur Radiol. 2002 Mar;12(3):666-70. doi: 10.1007/s003300101108. Epub 2001

- Sep 18. Erratum in: Eur Radiol 2002 Jan;12(1):260. Economou Anastasia [corrected to Oiconomou Anastasia]. PMID: 11870484.
- 122. Läckgren G, Cooper CS, Neveus T, Kirsch AJ. Management of Vesicoureteral Reflux: What Have We Learned Over the Last 20 Years? Front Pediatr. 2021 Mar 31;9:650326. doi: 10.3389/fped.2021.650326. PMID: 33869117; PMCID: PMC8044769.
- 123. Rushton HG. The evaluation of acute pyelonephritis and renal scarring with technetium 99m-dimercaptosuccinic acid renal scintigraphy: evolving concepts and future directions. Pediatr Nephrol. 1997 Feb;11(1):108-20. doi: 10.1007/s004670050243. PMID: 9035184.
- 124. Rathod SB, Kumbhar SS, Nanivadekar A, Aman K. Role of diffusion-weighted MRI in acute pyelonephritis: a prospective study. Acta Radiol. 2015 Feb;56(2):244-9. doi: 10.1177/0284185114520862. Epub 2014 Jan 17. PMID: 24443116.
- 125. Freeman CW, Altes TA, Rehm PK, de Lange EE, Lancaster L, Mugler JP 3rd, Patrie JT, Corbett S, Leiva-Salinas C, Flors L. Unenhanced MRI as an Alternative to 99mTc-Labeled Dimercaptosuccinic Acid Scintigraphy in the Detection of Pediatric Renal Scarring. AJR Am J Roentgenol. 2018 Apr;210(4):869-875. doi: 10.2214/AJR.17.18379. Epub 2018 Feb 15. PMID: 29446671.
- 126. Faletti R, Cassinis MC, Fonio P, Grasso A, Battisti G, Bergamasco L, Gandini G. Diffusion-weighted imaging and apparent diffusion coefficient values versus contrast-enhanced MR imaging in the identification and characterisation of acute pyelonephritis. Eur Radiol. 2013 Dec;23(12):3501-8. doi: 10.1007/s00330-013-2951-6. Epub 2013 Jul 26. PMID: 23887662.
- 127. Anfigeno L, Sertorio F, Basso L, Fontana A, Bodria M, Pistorio A, Ghiggeri GM, Damasio MB. Diffusion-Weighted MRI in the Evaluation of Renal Parenchymal Involvement during Febrile Urinary Tract Infections in Children: Preliminary Data. J Clin Med. 2021 May 21;10(11):2239. doi: 10.3390/jcm10112239. PMID: 34064114; PMCID: PMC8196731.
- 128. Rinaldo C, Grimaldi D, Di Serafino M, Iacobellis F, Verde F, Caruso M, Sabatino V, Orabona GD, Schillirò ML, Vallone G, Cantisani V, Romano L. An update on pyelonephritis: role of contrast enhancement ultrasound (CEUS). J Ultrasound. 2022 Nov 16. doi: 10.1007/s40477-022-00733-9. Epub ahead of print. PMID: 36385692.
- 129. Jung HJ, Choi MH, Pai KS, Kim HG. Diagnostic performance of contrast-enhanced ultrasound for acute pyelonephritis in children. Sci Rep. 2020 Jul 1;10(1):10715. doi: 10.1038/s41598-020-67713-z. PMID: 32612243; PMCID: PMC7330043.