

MALATTIA DA ROTAVIRUS IN FERRARA: ASPETTI CLINICI ED EPIDEMIOLOGICI

M. Libanore (a), T.M. Bezzi (b), M.R. Rossi (c), F. Pascoletti (b), C. Cirelli (c), L. Visentini (c) & P. Montanari (a)

(a) Divisione Malattie Infettive, (c) Laboratorio di Microbiologia, Arcispedale S. Anna, Ferrara;

(b) Clinica Pediatrica, Università degli Studi, Ferrara, Italia

Riassunto. - Gli autori riportano gli aspetti clinico-epidemiologici dei casi di gastroenterite acuta infantile da rotavirus osservati nell'area di Ferrara nel periodo gennaio 83 - maggio 85.

Summary (Rotavirus disease in Ferrara: clinical and epidemiological aspects). - The authors report on the clinical-epidemiological features of rotavirus gastroenteritis observed in the Ferrara area between January 1983 - May 1985.

Introduzione

L'identificazione dei rotavirus come importanti agenti eziologici della diarrea acuta dell'infanzia è cosa recente (1). L'immediata disponibilità di sistemi diagnostici immunoenzimatici specifici e sensibili ha consentito di valutare l'incidenza di questi virus nelle varie sedi e di analizzare più minuziosamente gli aspetti clinico-epidemiologici dell'infezione (2, 3).

Noi presentiamo una casistica di gastroenteriti acute da rotavirus costituita da 72 bambini ricoverati a Ferrara nel periodo gennaio '83 - maggio '85.

Materiali e Metodi

Nel presente studio sono stati esaminati 321 campioni fecali ottenuti da bambini ricoverati per enterite acuta nel periodo gennaio 83 - maggio 85, di età compresa tra i 3 mesi e i 14 anni. A tutti i bambini il prelievo è stato effettuato il giorno stesso del ricovero. Su tutti i campioni, oltre alla ricerca dei rotavirus mediante il metodo immunoenzimatico, venivano eseguite le seguenti indagini: esame coproparassitologico ed esame colturale per escludere un'altra o concomitante eziologia da enterobatteri (salmonellae, shigellae, campylobacter, Yersinia enterocolitica, E.coli enteropatogeno). Queste ultime indagini sono state effettuate utilizzando le metodiche tradizionali previste per l'isolamento e l'identificazione di tali microrganismi. Di tutti i pazienti è stato inoltre valutato accuratamente il quadro clinico-laboratoristico.

Risultati

L'indagine ha dimostrato una positività ad alto titolo per rotavirus in 72 bambini (22,1%), mentre 165 (51,4%) hanno invece presentato un'enterite ad eziologia batterica (salmonellae, shigellae, Yersinia), il 26,5% sono risultati

negativi per tutti i microrganismi indagati. L'infezione virale ha presentato una maggiore incidenza nei pazienti di età compresa tra i 6 mesi e i 4 anni (84,5% dei casi) con una netta prevalenza del sesso maschile. La malattia ha presentato una frequenza superiore nei mesi freddi dell'anno con punte massime nel dicembre '83 e nel marzo '84. L'analisi clinica della casistica ha consentito di rilevare in tutti i pazienti la presenza di diarrea prevalentemente acquosa accompagnata da febbre nel 92% e da vomito nel 90,1% dei casi. Faringite eritematosa era presente nel 60,5%, mentre scarsi o assenti sono risultati i sintomi e segni a carico delle basse vie respiratorie. Linfocitosi spiccata è stata riscontrata nel 39,4% dei casi, mentre alterazioni transitorie delle alaninoamminotransferasi sono state osservate in una notevole percentuale (77,6%). La durata dell'ospedalizzazione è stata in media di $7,8 \pm 1,1$ giorni, mentre il decorso della malattia, ad eccezione di 3 casi gravissimi caratterizzati da elevato squilibrio idroelettrolitico, non ha evidenziato particolarità di rilievo. Tutti i bambini risultati affetti da gastroenterite acuta da rotavirus sono guariti in un arco di tempo variabile dai 4 ai 17 giorni.

Discussione

Il nostro contributo conferma l'importanza dei rotavirus nell'eziologia della gastroenterite acuta infantile. La rarità dell'infezione nei bambini al di sotto dei 6 mesi sembra da ascrivere alla protezione conferita dagli anticorpi materni IgG trasmessi per via placentare e, quando vi sia allattamento al seno, anche alle IgA in esso contenute (4, 5). Noi, come riportato dalla letteratura, abbiamo (6) osservato una maggiore incidenza dell'infezione nei mesi freddi dell'anno con l'eccezione del marzo '84, periodo durante il quale i numerosi casi osservati furono verosimilmente da imputare all'improvviso irrigidimento della temperatura atmosferica che interessò tutta la nostra penisola. Sotto il profilo clinico la malattia è apparsa caratterizzata da diarrea acquosa con un numero di scariche giornaliere non superiore alle 10, accompagnata da vomito (sintomo questo meno frequente nelle altre gastroenteriti) e febbre molto frequente. In circa il 40% dei pazienti il quadro ematico periferico è stato dominato da una linfocitosi accompagnata da transitoria neutropenia; inoltre in percentuale elevata i nostri bambini hanno palesato un aumento transitorio delle transaminasi. Secondo alcuni autori (7, 8) questi ultimi due parametri potrebbero essere di valido ausilio in mancanza di altri indici, per una diagnosi differenziale di gastroenterite da rotavirus. Il nostro studio consente di affermare che, anche a Ferrara esiste, accanto ad una patologia enterica causata da enterobatteri (9, 10), una notevole circolazione di rotavirus responsabili di oltre 1/5 delle diarree acute dell'infanzia.

BIBLIOGRAFIA

1. BISHOP, R.F., DAVIDSON, G.P., HOLMES, I.H. & RUCK, B.J. 1973. Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non bacterial gastroenteritis. Lancet 2: 1281-1283.
2. YOLKEN, R.H., KIM, H.W., CLEM, T., WYATT, R.G., KALIKA, A.R., CHANOCK, R.M. & KAPIKIAN, A.Z. 1977. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of human reovirus-like agent of infantile gastroenteritis. Lancet ii: 263-266.
3. YOLKEN, R.H. & LEISTER, F. 1982. Rapid multiple-determinant enzyme immunoassay for the detection of human rotavirus. J. Infect. Dis. 146: 43.
4. TALLEY, S., MACKENZIE, C., MIDDLETON, P., KERZNER, B. & HAMILTON, R. 1977. Clinical, laboratory and epidemiologic features of a viral gastroenteritis in infants and children. Pediatrics 60: 217-222.
5. WALKER-SMITH, J. 1978. Rotavirus gastroenteritis. Arch. Dis. Child. 53: 355-362.

6. FERRONI, P., RIVA, C., TANZI, E., TAGGER, A., BIFFI, M.R., POZZI, A., FEDELI, F., MONTANARI, L. & LIPERI, R. 1983. Prevalenza dell'infezione da rotavirus in bambini ospedalizzati per gastroenterite acuta. Ig. Mod. 80: 454-463.
7. MAKI, M. 1981. A prospective clinical study of rotavirus diarrhoea in young children. Acta Pediatr. Scand. 70: 107-113.
8. ULIVELLI, A., PERUZZI, P.F., MANNELLI, F., PECCHIOLI, A. & DI MARIA, M. 1985. Esperienza di un anno sulle gastroenteriti da rotavirus e sul possibile ruolo delle transaminasi nella loro diagnostica. In: Scritti in onore del Prof. D. Gotti. Ed. Benedettine, Parma, pp. 349-354.
9. FERRUCCI, M., QUERZOLI, V. & DALL'ARA, G. 1980. Biosierotipi di salmonelle isolate nell'uomo nel biennio '76-'77 in Provincia di Ferrara. G. Mal. Infett. Parassit. 12: 1017-1019.
10. FERRUCCI, M., QUERZOLI, V. & DALL'ARA, G. 1981. Sensibilità agli antibiotici di salmonelle isolate nell'uomo nel biennio '76-'77 in provincia di Ferrara. G. Mal. Infett. Parassit. 4: 281-283.

TIPIZZAZIONE DI STIPITI DI ROTAVIRUS DA BAMBINI CON ENTERITE ACUTA A ROMA

F.M. Ruggeri (a), M.L. Marziano (a), A. Tinari (a), G. Donelli (a),
D. Menichella (b), C. Concato (b), M.D. Caione (b)

(a) Laboratorio di Ultrastrutture, Istituto Superiore di Sanità, Roma;
(b) Ospedale del Bambino Gesù, Roma, Italia

Riassunto - E' stata studiata la diffusione dei rotavirus nelle diarree infantili a Roma. La circolazione di diversi stipiti virali è stata dimostrata mediante studio biochimico del genoma virale.

Summary (Typing of rotavirus from children with acute diarrhoea in Rome). - The occurrence of rotavirus diarrhoea among children in Rome has been studied. The spread of different viral strains has been ascertained by biochemical analysis of the viral genome.

Introduzione

I rotavirus sono responsabili di gran parte dei casi di enterite acuta nell'infanzia in molti paesi del mondo (1). Impiegando metodi immunologici, almeno due differenti sottogruppi e quattro sierotipi sono stati identificati tra gli isolati di rotavirus umano (2). Una maggiore eterogeneità tra i ceppi è risultata attraverso la caratterizzazione biochimica del genoma virale, che si è rivelata particolarmente utile in studi di tipo epidemiologico (3).

La presente indagine è stata condotta al fine di valutare la diffusione dei rotavirus nelle diarree infantili nell'area di Roma, con particolare riferimento alla circolazione di stipiti virali differenti.

Materiali e Metodi

Sono stati studiati 571 bambini di età 0-3 anni ricoverati per enterite acuta all'Ospedale del Bambino Gesù di Roma dal gennaio 1982 al dicembre 1984. Sospensioni di feci raccolte entro 24 ore dal ricovero sono state esaminate al microscopio elettronico mediante la tecnica del contrasto negativo; per la ricerca dei soli rotavirus è stato anche impiegato un test immunoenzimatico (Rotazyme). L'RNA genomico dei rotavirus è stato estratto dalle sospensioni fecali come descritto da Herring e coll. (4) e analizzato mediante elettroforesi su gel di poliacrilammide.

Risultati

L'infezione da rotavirus è stata diagnosticata in 168 bambini su 571 studiati (29.4%), mediante almeno una delle due tecniche impiegate (Tabella 1). Altri agenti virali sono stati riscontrati nelle feci di 32 sui 401 casi (8%) esaminati mediante microscopia elettronica; tra questi, gli astrovirus sono risultati i più frequenti, in particolare durante il 1982 (6.6% dei casi).

Tabella 1 - Diagnosi virologica in 571 bambini ospedalizzati per enterite acuta

Anno	Pazienti	Rotavirus (%)	Astrovirus (%)	Adenovirus (%)	SRV (%)
1982	213	63 ^a (29,6)	14 ^a (6,6)	3 (1,4)	5 (2,3)
1983	188	41 (21,8)	5 (2,6)	2 (1,0)	3 (1,6)
1984	170	64 ^b (37,6)	--	--	--

^a Di cui quattro casi con infezione mista rotavirus - astrovirus

^b Analisi mediante ELISA

L'andamento stagionale delle infezioni da rotavirus nei tre anni dello studio è mostrato in Fig. 1.

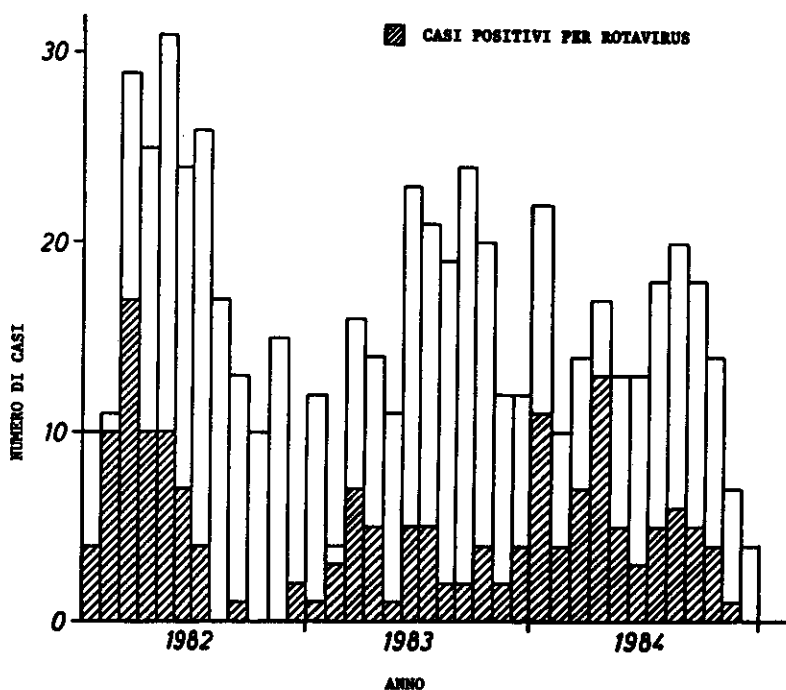


Fig. 1. - Distribuzione mensile di casi di infezioni da rotavirus (Roma, 1982-1984).

I casi di diarrea da rotavirus sono risultati costantemente più frequenti nella stagione invernale, con percentuali talvolta vicine al 100%. Tuttavia, infezioni da rotavirus, ad eccezione del 1982, sono state anche riscontrate nei mesi estivi.

L'analisi elettroforetica dell'RNA genomico del rotavirus è stata effettuata su 130 dei 168 casi positivi e una mappa completa degli 11 segmenti di RNA è stata ottenuta in 64 casi. In Fig. 2, sono mostrati i diversi elettroferotipi riscontrati.

In tutti i casi la mobilità elettroforetica dell'11° segmento di RNA è risultata quella tipica dei rotavirus di sottogruppo 2. La presenza di più di 11 bande nel caso X è indicativa di infezione contemporanea da parte di 2 diversi ceppi virali.

Nel 1982, il 90% degli stipiti virali esaminati è risultato di tipo A o B. Negli anni successivi si è riscontrato un numero maggiore di elettroferotipi; i più comuni nel 1983 e 1984 sono stati, rispettivamente, il tipo F (30% degli stipiti) ed i tipi O e Q (61%).

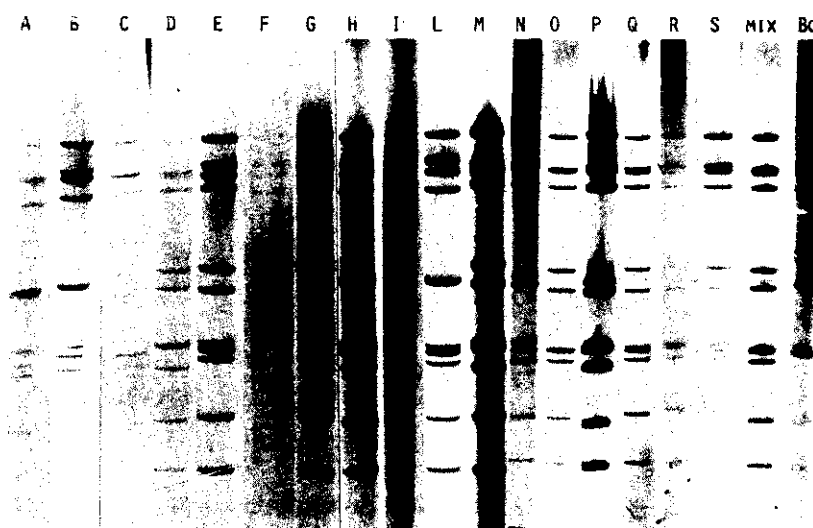


Fig. 2. - Elettroferotipi di rotavirus circolanti a Roma negli anni 1982-1984

Discussione

I nostri risultati confermano il coinvolgimento dei rotavirus in una porzione rilevante dei casi di gastroenterite acuta nei primi anni di vita. Le infezioni da altri virus enterici risultano più rare e nel complesso non raggiungono il 10% dei casi. La diarrea da rotavirus appare diffusa in tutti i mesi dell'anno anche se l'incidenza dell'infezione è massima nel periodo invernale, come descritto per altri paesi a clima temperato (5, 6).

Attraverso la caratterizzazione elettroforetica del genoma virale, è stata accertata nel triennio studiato la circolazione di 17 diversi stipiti di rotavirus. La stretta somiglianza di alcuni degli elettroferotipi osservati e la costante sostituzione dei ceppi virali circolanti nella popolazione con nuovi stipiti suggeriscono una continua evoluzione dei rotavirus.

Questo lavoro è stato realizzato con il parziale contributo (Contratto n. 84.03102.52) del Progetto Finalizzato "Controllo delle Malattie da infezione" del Consiglio Nazionale delle Ricerche.

BIBLIOGRAFIA

1. BLACKLOW, N.R. & CUKOR, G. 1981. Viral gastroenteritis. N. Engl. J. Med. 304: 397-406.
2. BEARDS, G.M. & FLEWETT, T.H. 1984. Serological characterization of human rotavirus propagated in cell cultures. Arch. Virol. 80: 231-237.
3. ESTES, M.K., GRAHAM, D.Y. & DIMITROV, D.H. 1984. The molecular epidemiology of rotavirus gastroenteritis. Prog. Med. Virol. 29: 1-22.
4. HERRING, A.J., INGLIS, N.F., OJEH, C.K., SNODGRASS, D.R. & MENZIES, J.D. 1982. Rapid diagnosis of rotavirus infection by direct detection of viral nucleic acid in silver-stained polyacrylamide gels. J. Clin. Microbiol. 16: 473-477.
5. KAPIKIAN, A.Z., KIM, H.W., WYATT, R.G., et al. 1976. Human reovirus-like agent as the major pathogen associated with "winter" gastroenteritis in hospitalized infants and young children. New Engl. J. Med. 294: 965-972.
6. KONNO, T., SUKUKI, H., KATSUSHIMA, N., et al. 1983. Influence of temperature and relative humidity on human rotavirus infection in Japan. J. Infect. Dis. 147: 125-128.

BLASTOCYSTIS HOMINIS AND DIARRHOEA

M. Caselli (a), M. Libanore (a), P.M. Toma (b), S. Gullini (a), A. Mirizio (a) & N. Ricci (b)

(a) Department of Infectious Diseases, USL 31, Ferrara;
(b) Hospital Laboratory, USL 30, Cento di Ferrara, Italy

Summary. - We report on five patients with chronic recurrent diarrhoea likely due to Blastocystis hominis, an agent recently re-classified among the protozoans and considered as a common and harmless inhabitant of the gut.

Riassunto (Blastocystis hominis e diarrea). - Gli autori riportano cinque casi di diarrea cronica da Blastocystis hominis, un agente recentemente riclassificato tra i protozoi e considerato un comune e innocuo abitante dell'intestino umano.

Introduction

Blastocystis hominis was first described in 1912 by Brumpt (1). It has been classified as the cystic form of a flagellate (2), a vegetable organism related to blastomyces (3), a member of the genus Protheca (4), and a yeast of the genus Saccharomyces (5). Recently it has been noted that the characteristics of Blastocystis justify its reclassification as a Protozoan (6, 7). It has been observed in three distinct forms: vacuolar, granular and amoeba-like.

B.hominis has generally been considered a common and innocuous inhabitant of the intestines of human beings and many animals as well (8). In recent years, however, there have been reports of diarrhoea in animals and humans which suggested B.hominis as a possible cause (8, 9).

We report on five cases of chronic diarrhoea in which B.hominis seems to be the likely etiologic agent: two other cases have been the object of our previous short report (10).

Materials and Methods - Results

Of the stool specimens microscopically by us examined during the past year, five had large numbers of cells containing prominent granules around the edge and a large central vacuole. Giemsa stained smears and wet preparation with Indian Ink to bring out the capsule surrounding the microorganism confirmed that these cells were B.hominis. Number of cells, as evaluated by counting a diluted preparation (1/20 in saline) in a Burkner haematocytometer, was around 10,000,000/ml (10^7 /ml). Three specimens examined for each case excluded the presence of amoeba and other Protozoans. Cultures and serological tests for other known bacterial or viral causes were negative (Salmonella, Shigella, Campylobacter, Yersinia, enteropathogenic E.coli, Rotavirus). The patients were given barium enemas and one underwent volonscopy with multiple biopsies. In this case the pathologist was unable to find the microorganism in the

intestinal epithelium, as was instead found in guinea pigs by Phillips and Zierdt (9). Routine tests of immune status were normal. The five patients (24, 26, 38, 40, 56 years old) had chronic diarrhoea, sometimes associated with abdominal discomfort. None travelled in the last year nor used drugs in the three months. We tried a short course of treatment with metronidazole (2gr/day for 5 days in the first two cases and 1 gr/day for 5 days in the last three). This treatment led to rapid disappearance of B.hominis in faeces, as evaluated by three consecutive specimens, and the return of normal bowel function in all five patients.

Discussion

According to Zierdt (7), it is axiomatic that any agent capable of seriously altering the normal equilibrium of the intestinal flora has the potential to produce diarrhoea and B.hominis in large numbers certainly has such a potential. In our case microscopic examination of stools showed so many of these microorganism that this possibility could not be ignored. The lack of other significant cultural, serological and morphological findings make the causal role of B.hominis even more likely. Though metronidazole has a wide spectrum of activity, so that other explanations cannot be ruled out, the patients' prompt response to treatment seems to be a significant ex-adiuvantibus criterion in support of this possibility. Following our recent report on two cases of mild chronic diarrhoea in which B.hominis was considered as possible cause (10), other authors have reconsidered the possible pathogenicity of this microorganism: Casemore et al. (11) describe a case of diarrhoea possibly due to B.hominis; Garcia et al. (12) review their laboratory reports over a period of 20 months: of 6133 faecal smears examined in their laboratory 29 revealed a large numbers of B.hominis; Taylor et al. (13) in an investigation of causes of "traveller's diarrhoea" in 20 patients found two cases of mild intermittent diarrhoea associated with large numbers of B.hominis.

REFERENCES

1. BRUMPT, E. 1912. Blastocystis hominis in sp. et formes voisines. Bull. Soc. Pathol. Exot. Ses. Fil. 5: 725-730.
2. PROWAZEK, S. 1904. Untersuchungen über einige parasitische flagellaten. Arb. d. Gsndh. Amte 21: 1-41.
3. ALEXEIFF, A. 1917. Sur la cycle evolutif et les affinites de Blastocystis enterocola. Arch. Zool. Exper. Gen. Not. Rev. 56: 113-128.
4. CLIFERRI, R. & RADAELLI, P. 1938. A new hypothesis on the nature of Blastocystis. Mycopathologica 1: 3-6.
5. KNOWLES, R. & DAS GUPTA, B.M. 1924. On the nature of Blastocystis. Ind. J. Med. Res. 12: 31-38.
6. ZIERDT, C.H. 1978. Blastocystis hominis, an intestinal protozoan parasite of man. Public Health Lab. 36: 147-160.
7. ZIERDT, C.H. & TAN H.K. 1976. Endosymbiosis in Blastocystis hominis. Exp. Parasitol. 39: 422-430.
8. MC CLURE, H.M., STROBERT, E.A. & HEALY, G.R. 1980. Blastocystis hominis in a big tailed Macaque: a potential enteric pathogen for nonhuman primates. Lab. Anim. Sci. 30: 890-894.
9. PHILLIPS, B.P. & ZIERDT, C.M. 1976. Blastocystis hominis: pathogenic potential in human patients and in gnotobiotics. Exp. Parasitol. 39: 358-364.
10. RICCI, N., TOMA, P.M., FURLANI, M., CASELLI, M. & GULLINI, S. 1984. Blastocystis hominis: a neglected cause of diarrhoea? Lancet i: 966.
11. CASEMORE, D.P., ARMSTRONG, M. & JAKSON, F.B. 1984. Clinical relevance of Blastocystis hominis. Lancet i: 1234.

12. GARCIA, L.S., BRUCKNER, D.A. & CLANCY, M.N. 1984. Clinical relevance of Blastocystis hominis. Lancet i: 1233-1234.
13. TAYLOR, D.N., ECHEVERRIA, P., BLASER, M.J., PITARANGSI, C. BLACKLOW, N., CROSS, J. & WENIGER, B.G. 1985. Polimicrobial aetiology of traveller's diarrhoea. Lancet i: 381-383.

I LIEVITI NELLE FECI DI UN CAMPIONE DI 1372 PERSONE SANE

G. Alegente, I. Pieri, A. Saturni, G.C. Progenia, F. Mugnaini, V. Vigni, P. Galgani & B. Marchi

Microbiologia 2, USL 30, Siena, Italia

Riassunto. - E' stata valutata la quantità di lieviti per grammo di materiale fecale di 1372 persone sane. Il riscontro di lieviti è stato in 340 campioni (24,7%). Candida albicans e Candida stellatoidea sono state isolate più frequentemente (30,6% e 28,6% rispettivamente). I dati di sensibilità e resistenza dimostrano la migliore attività della nistatina.

Summary (Yeasts in faeces of 1372 healthy subjects). - *Candida* is a common commensal of the upper gastrointestinal tract. Bacteriological studies are carried out on samples of faeces collected from 1372 healthy subjects for detecting *Candida* sp. Positive fungous cultures are 340 (24,7%); *Candida albicans* (30,6%) and *Candida stellatoidea* (28,6%) are more frequently isolated. The present study shows a favorable response rate to nystatin (97,6% for *Candida albicans*). The response rate to other five antifungal drugs is lower than would be expected.

Introduzione

Sono state esaminate le feci di un campione di 1372 persone sane (64% uomini, 36% donne) di età compresa fra i 18 ed i 64 anni con lo scopo di rilevare la presenza di lieviti in condizioni normali e le caratteristiche di resistenza e sensibilità a 6 farmaci antifungini (1-3).

Materiali e Metodi

Un grammo di feci era sospeso in 10 ml. di soluzione fisiologica e omogenizzato al Vortex; quindi venivano allestite delle diluizioni 1:100 e 1:10.000 e seminate in agar Sabouraud ed in Biggy agar adottando l'ansa calibrata da 10 µl. Valori maggiori a 10^6 ml della prima diluizione erano considerati molto positivi, poco positivi valori inferiori. L'identificazione è stata effettuata con API 20C. Le prove di sensibilità sono state effettuate con terreno semisintetico per antibiogramma e con dischetti di 5-fluorocitosina, nistatina, amfotericina B, econazolo, clotrimazolo e miconazolo dell'Istituto Pasteur (4).

Risultati

Il riscontro di lieviti è stato in 340 campioni (24,7%). Per quanto riguarda la quantità di lieviti per grammo di materiale fecale si sono avuti 217 campioni molto positivi (63,8%) e 123 poco positivi (36,2%). Nel totale dei

positivi Candida albicans è stata isolata 104 volte (30,6%), Candida stellatoidea 97 volte (28,6%), Candida glabrata 30 volte (8,8%), Saccaromices Cerevisae 29 volte (8,5%), Candida tropicalis 26 volte (7,7%), Candida Krusei 20 volte (5,8%), Geotricum candidum 15 volte (4,5%), Candida pseudotropicalis 7 volte (2,1%), Candida parapsilosis 11 volte (3,2%), Candida guilliermundii 1 volta (0,2%).

Le prove di sensibilità sono riportate nella seguente tabella:

	% di sensibilità (metodo diffusione in agar)					
	AMS	NYS	CLO	MIC	ECO	5FC
<u>Candida albicans</u>	72,9	97,6	23,3	41,8	44,1	46,5
<u>Candida stellatoidea</u>	62,2	100	47,9	70,8	64,5	54,1
<u>Candida tropicalis</u>	46,1	100	46,1	61,5	76,9	84,6
altri lieviti	41,4	100	47,6	63,6	58,1	19,2

AMR = Amphotericina B NYS = Nistatina CLO = Clotrimazolo
 MIC = Miconazolo ECO = Econazolo 5FC = 5Fluoro-Citosina

Discussione

Circa 1/4 delle persone sane esaminate ha presentato coprocultura positiva per lieviti, e di questi soggetti circa 2/3 in quantità notevole. Le prove di sensibilità hanno messo in evidenza una ottima attività della nistatina mentre inferiore alle attese ed ai dati della letteratura si è rivelata l'attività degli altri farmaci antimicotici saggiati.

BIBLIOGRAFIA

1. CACHIN, M. & PETITE, J.P. 1968. Les mycoses digestives. Rev. Prat. 18: 2917-2927.
2. ERAS, P., GOLDSTEIN, M.J. & SHERLOCK, P. 1972. Candida infection of the gastrointestinal tract. Medicine 51: 367-379.
3. CEHEN, R. & ROTH, F. 1969. Fungal flora of the normal human small and large intestine. N. Engl. J. Med. 280: 638-641.
4. DROUHET, E. 1976. Biologie des Candida: rappel mycologique et phisiopathologique. Rev. Fr. Allerg.

STUDIO SULLA COLONIZZAZIONE BATTERICA INTESTINALE NEI NEONATI IMMATURI

R. Cardines (a), M. Occhionero (a), I. Luzzi (a), P. Gianfrilli (a), G. Menichella (b), C. Concato (b), L. Bonito (b)

(a) Laboratorio di Batteriologia e Micologia Medica, Istituto Superiore di Sanità, Roma;

(b) Ospedale Bambino Gesù, Roma, Italia

Riassunto. - E' stato effettuato uno studio della flora intestinale, nelle prime settimane di vita, di neonati immaturi ricoverati in un reparto ospedaliero di terapia intensiva neonatale. I dati dimostrano che l'intestino dei neonati immaturi risulta colonizzato già dal primo giorno di vita prevalentemente da cocchi gram-positivi aerobi, mentre l'incidenza di isolamento degli enterobatteri è maggiore nei giorni successivi. Per quanto riguarda i batteri anaerobi la colonizzazione intestinale da parte del Bacteroides e dei Clostridi è risultata tardiva rispetto a quella dei lattobacilli che sono risultati sempre presenti. Il C.difficile è stato isolato in circa il 50% dei neonati esaminati.

Summary (Study on the intestinal microflora of preterm infants). - Intestinal microflora of pre-term infants, during the first week of life, was studied. Data show that the large bowel of these neonates was colonized, from the first day of life, mainly by gram-positive aerobe cocci, while the isolation rate of Enterobacteria was higher in the following days. Bacteroides spp. and Clostridia spp. appeared later than lactobacilli, which were isolated from the first day of life. C.difficile was found in about 50% of the examined neonates.

Introduzione

La colonizzazione batterica dell'intestino di neonati prematuri riveste particolare importanza dal momento che la microflora intestinale può svolgere un ruolo eziologico nello sviluppo di gravi patologie gastroenteriche. Ad esempio, l'enterite necrotizzante (1), che colpisce prevalentemente i neonati prematuri, probabilmente è dovuta all'invasione della mucosa intestinale danneggiata da parte di componenti normali della microflora intestinale. Molti fattori influenzano la composizione della flora intestinale: organismi presenti nel tratto genitale materno, il tipo di alimentazione (2), l'eventuale trattamento antibiotico e l'ambiente. In questo lavoro abbiamo studiato la composizione della flora intestinale aerobia ed anaerobia di 11 neonati immaturi durante il primo mese di vita.

Materiali e Metodi

Pazienti: sono stati esaminati 11 neonati di età gestazionale media di 29 settimane (range 27-38) e di peso medio alla nascita di 1700 gr (range 970-2500 gr) ricoverati in una unità intensiva neonatale.

Sei neonati sono stati alimentati con latte materno (pool di diversi

donatori) pastorizzato ad 80°C e 5 con latte artificiale. I campioni fecali (pool di 24 hr) venivano prelevati al momento del ricovero (corrispondente al 1° giorno di vita) e ad intervalli regolari di 10 giorni fino al 30° giorno dalla nascita.

Raccolta e lavorazione del campione: i campioni fecali venivano raccolti in mezzo di trasporto preridotto e conservati a -80°C fino alla lavorazione. Per la conta dei batteri aerobi ed anaerobi, opportune diluizioni del campione fecale venivano seminate su terreni selettivi e non (3). La conta vitale è stata espressa come numero di colonie formanti unità per grammo di feci.

Risultati

La presenza di batteri aerobi (Fig. 1) nel primo giorno di vita è maggiore nei neonati allattati con latte materno rispetto a quelli allattati artificialmente. La colonizzazione da parte di questi batteri tende a diventare omogenea in entrambi i gruppi nei successivi prelievi. Gli stafilococchi sono presenti in quasi tutti i campioni. L'incidenza di Escherichia coli e di Streptococchi aumenta durante il campionamento. Soltanto pochi neonati sono colonizzati in prima giornata da batteri anaerobi (Fig. 2). I lattobacilli aumentano progressivamente in entrambi i gruppi e diventano predominanti dalla decima giornata. I Bifidobatteri sono presenti in pochi bambini. Il Bacteroides colonizza più tardivamente. I Clostridi sono presenti in prima giornata solo in bambini allattati artificialmente. Il C.difficile e il C.perfringens sono più tardivi.

ST = Stafilococchi
SP = Streptococchi
EC = Escherichia coli
KL = Klebsiella spp.

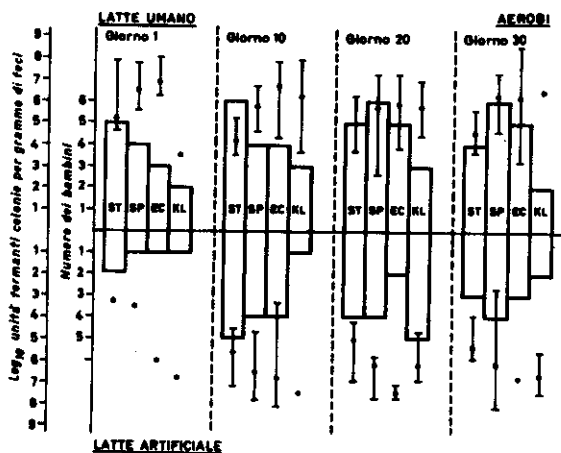


Fig. 1. - Colonizzazione intestinale dei neonati da parte di batteri aerobi durante il primo mese di vita in relazione all'alimentazione.

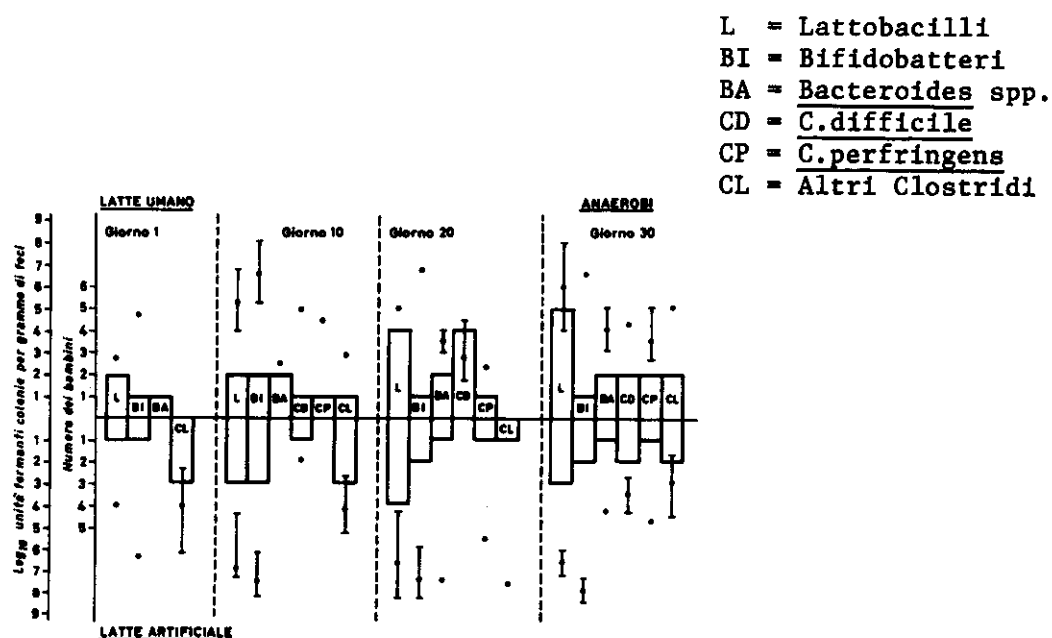


Fig. 2. - Colonizzazione intestinale dei neonati da parte di batteri anaerobi durante il primo mese di vita in relazione all'alimentazione.

Discussione

I nostri dati indicano che la maggior parte dei neonati immaturi da noi esaminati sono colonizzati da organismi patogeni entro i primi giorni di vita. I batteri aerobi costituiscono la flora predominante in entrambi i gruppi diversamente alimentati. L'Escherichia coli è la specie predominante tra i gram-positivi. La flora anaerobia sembra colonizzare meno frequentemente rispetto ai neonati a termine. I Lattobacilli sono i batteri anaerobi prevalenti. Le conte vitali dei batteri aerobi rimangono a livelli elevati, come si verifica nei neonati a termine allattati artificialmente. Probabilmente quindi i meccanismi che limitano la moltiplicazione delle specie aerobie nei neonati allattati al seno, nei neonati prematuri non sono completamente sviluppati, o forse l'esposizione del latte materno ad alta temperatura probabilmente distrugge la sua attività protettiva.

Questo lavoro è stato realizzato con il parziale contributo (Contratto n. 84.03102.52) del Progetto Finalizzato "Controllo delle Malattie da infezione" del Consiglio Nazionale delle Ricerche.

BIBLIOGRAFIA

1. KOLOSKE, A.M. 1984. Pathogenesis and prevention of necrotizing enterocolitis: a hypothesis based on personal observations and a review of the literature. Pediatrics 74: 1086-1092.
2. SIMON, A., DOUGLAS, Y.R., DRASAR, B.S. & SOOTHILL, Y.F. 1982. Effect of feeding on infants' faecal flora. Arch. Dis. Child. 57: 54-58.
3. SUTTER, V.L., CITRON, B.S. & FINEGOLD, S.M. 1980. Wadsworth anaerobic bacteriology manual. C.V. Mosby Company. St. Louis.

FECAL COLONIZATION BY CLOSTRIDIA DURING THE 1ST WEEK OF LIFE

J.A. García-Rodríguez (a), J.E. García-Sánchez (a) & M.L. Merino Marcos (b)

(a) Department of Microbiology; (b) Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Clinical Hospital, University of Studies, Salamanca, Spain

Summary. - Fecal colonization by Clostridia was studied in 9 neonates, during the first week of life. Colonization was observed in 8 of the newborns. In order of frequency, the following microorganisms were isolated: C.difficile, C.butyricum, C.perfringens and C.paraputrificum.

Riassunto (Colonizzazione intestinale da Clostridi nella prima settimana di vita). - La colonizzazione del grosso intestino da parte di Clostridi è stata studiata in 9 neonati durante la prima settimana di vita. Colonizzazione è stata osservata in 8 dei neonati. In ordine di frequenza sono stati i seguenti microrganismi: C.difficile, C.butyricum, C.perfringens e C.paraputrificum.

Introduction

Clostridia have been implicated as causative agents in clinical processes appearing in young children such as infant botulism and necrotizing enterocolitis in the newborn. Because study has been performed on fecal colonization by these bacteria in the neonate over the first seven days of life.

Materials and Methods

Children: nine children were studied. Six were delivered and three by caesarean section. Four were fed formula milk, including the caesarean-delivered babies; the others were breast-fed.

Specimens: samples of the first meconium and of the faeces deposited on days 2, 4 and 7 were taken.

All the samples, except that of the 7th days, were taken at the University Hospital either in the Department of Obstetrics or in the Neonatology Section. Once deposited the faeces were collected in sterile tubes and rapidly sent to the Department of Microbiology for analysis. The 7th day samples were collected by the infants' mothers and analyzed on the same morning they were collected.

Culture media: for fecal dilution a 0.05% solution of yeast extract reduced by boiling was employed.

For isolation of the Clostridia the following media were used Cycloserine mannose agar, egg-yolk agar (1), Clostridium difficile agar (Oxoid), Clostridium botulinum isolation agar (2) and sulphite polymixin-milk agar (3).

Processing of specimens: the standards of Sutter, Citron and Finegold (1), were followed. Two progressive serial dilutions were performed on the faeces in a solution of yeast extract.

One of these solutions was heated to 80°C over 10 min and then plated onto a non-selective medium egg-yolk agar. The unheated dilutions were plated onto

selective medium.

Examination and processing of cultures: following 48 hrs of incubation the cultures were examined, performing Gram staining, counts and isolation of each type of colony. The bacteria isolated were identified biochemically and by chromatography (2).

Results

In the first child on the 2nd day, C.butyricum, C.difficile and C.paraputrificum were isolated. On the 4th day no clostridia were isolated and on the 7th day, C.butyricum and C.difficile.

In the second child, who had been caesarean-delivered, C.butyricum and C.perfringens were isolated on days 2, 4 and 7.

In the third child, on the 2nd and 4th days, C.paraputrificum was isolated. On the 4th day C.butyricum and C.difficile were found and these were also encountered on the 7th day.

In the fourth child only C.perfringens was isolated on day 7.

It was not possible to study the first meconium in the fifth child and at 20th hr C.perfringens was isolated. This bacterium, together with C.butyricum and C.difficile were found on the 2nd, 4th and 7th days. The child was delivered by caesarean-section.

In the sixth child, no clostridia were isolated. The sample from the 7th was unavailable for study.

In the seventh child, C.paraputrificum was isolated at 20th hr and was still present at days 2, 4 and 7. It was not possible to study the first meconium. Furthermore, on days 4 and 7, C.butyricum and C.difficile were isolated.

The eighth child, caesarean-delivered, was uncolonized until the 4th day, isolating C.butyricum. On the 7th day C.difficile and C.perfringens were also found.

In the ninth child C.difficile was isolated on days 2, 4 and 7; C.perfringens was also isolated on the 7th day.

Clostridia were isolated on the fecal samples of 8 out of the 9 children studied. The species isolated were C.perfringens, C.butyricum, C.difficile and C.paraputrificum.

C.difficile and C.butyricum were isolated in 6 newborns (63.7%), C.perfringens in 5 (55.5%) and C.paraputrificum in 3 (33.3%).

Over the first 24 hrs of life C.perfringens and C.paraputrificum were isolated from two neonates, respectively. These bacteria were isolated from transition faeces taken at 20th hr of life since in these cases it was not possible to sample the first meconium (in one of these cases the amniotic fluid was meconial).

When there was colonization by clostridia, this was confirmed after 48 hrs of life, except in the two aforementioned cases and in another two children in which it appeared at 4th and 7th days, respectively.

In two children, colonization by C.paraputrificum was lost on the 4th and 7th days respectively.

In one case, no clostridia were isolated from the sample from the 4th day even though once were found on days 2 and 7.

REFERENCES

1. SUTTER, V.L., CITRON, D.M. & FINEGOLD, S.M. 1980. Wadsworth anaerobic bacteriology manual. C.V. Mosby Company. St. Louis.
2. DEZFULIAN, M., McCROSKEY, L.M., HATHEWAY, C.L. & DOWELL, Jr., V.R. 1981. Selective medium for isolation of Clostridium botulinum from human faeces. J. Clin. Microbiol. 13: 526-531.
3. VOS, N. de, MEVISSSEN-VERHAGE, E., HARMSSEN VAN AMEROGEN, W. & MARCELIS, J. 1982. A new selective medium for the culture of clostridia from human faeces. Eur. J. Clin. Microbiol. 1: 267-271.

FECAL COLONIZATION OF THE NEONATE BY THE BACTEROIDES FRAGILIS GROUP

J.A. García-Rodríguez (a), J.E. García-Sánchez (a) & M.I. Heras de Pedro (b)

(a) Department of Microbiology; (b) Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Clinical Hospital, University of Studies, Salamanca, Spain

Summary. - The fecal colonization by Bacteroides of the fragilis group of 9 children during the first month of life was studied. These bacteria were found in some of the samples from the children studied. In order of frequency, the following microorganisms were isolated: B.distasonis, B.vulgatus, B.fragilis, B.ovatus and B.thetaiotaomicron. Colonization was delayed in the two children born by caesarean section.

Riassunto (Colonizzazione intestinale da Bacteroides del gruppo B.fragilis nei neonati). - La colonizzazione del grosso intestino da parte dei Bacteroides del gruppo B.fragilis è stata studiata in 9 bambini durante il primo mese di vita. Questi batteri sono stati trovati in alcuni campioni dei bambini studiati. In ordine di frequenza sono stati isolati i seguenti microrganismi: B.distasonis, B.vulgatus, B.fragilis, B.ovatus e B.thetaiotaomicron. La colonizzazione è avvenuta in ritardo in 2 bambini nati da parto cesareo.

Introduction

A qualitative study was conducted on fecal colonization by the Bacteroides fragilis group in neonates from birth to the first month of life wherever possible. These bacteria are of great importance for the host from the nutritional and digestive viewpoints. They are also of interest in that they create a digestive resistance against the overgrowth of pathogenic germs. Moreover, certain species included in this group play an important role as opportunist germs in infections whose origin is abdominal.

Materials and Methods

Children: the fecal colonization of 9 neonates was studied. Of these, two were delivered by caesarean section and the rest by the vaginal route; in all cases membrane breakage had taken place less than 12 hrs prior to that. Those infants born by caesarean section were fed formula milk; of those remaining, 4 were breast-fed and the other 3 artificially fed.

Samples: samples of the first meconium were taken from 9 infants and further samples of faeces deposited on days 2, 4, 7, 15 and 30 after birth from the same infants wherever possible. Up to the 4th day the samples were collected at the hospital and by the mothers at home thenceforth. The samples taken were rapidly sent to the Department of Microbiology in sterile containers for immediate analysis.

Culture media: for the dilution of the fecal samples, a 0.05% solution of yeast extract reduced by boiling was employed (1); for plating, brucella blood

agar, kanamycin-vancomycin-laked blood agar, bacteroides bile esculin agar, phenylethyl alcohol blood agar (1), Wilkins-Chalgren blood agar with G-N-anaerobe supplement (Oxoid) and Wilkins-Chalgren blood agar with 50 µg/ml of phosphomycin.

Processing of specimens: the criteria of Sutter, Citron and Finegold (1) were followed. Progressive dilutions of the faeces were made in a solution of yeast extract. These were plated in selective and non-selective media and cultured under anaerobic conditions for 48 hrs.

Examination and processing of cultures: the bacteria isolated were identified by colony morphology, Gram staining, biochemical properties, gas-liquid chromatography and their susceptibility to antibiotics.

Results

In the 1st child, on the 2nd day we isolated B.vulgatus; on the 4th day, B.vulgatus and B.distasonis and on the 7th day B.vulgatus. It was not possible to study further samples.

In the 2nd child of the 4th and 7th days only B.distasonis was isolated (the child was caesarean-delivered).

In the 3rd child, on the 2nd day we isolated B.vulgatus; on the 4th day, B.vulgatus, B.distasonis and B.fragilis; on the 7th day B.ovatus was also found and on the 15th day, B.vulgatus, B.distasonis and B.ovatus.

In the 4th child, at 24th hr. after birth and on the 2nd day we isolated B.vulgatus. On the 4th day B.fragilis was isolated. On the 7th day we only isolated B.fragilis and on the 15th day, B.fragilis, B.distasonis and B.ovatus.

In the 5th child, at 24th hr and on the 2nd day we isolated B.fragilis. On the 4th day B.fragilis, B.vulgatus and B.distasonis were found.

In the 6th child (caesarean-delivered) on the 7th day we isolated B.vulgatus and B.distasonis.

In the 7th child, B.vulgatus was isolated on days 2, 4, 7 and 15. On the 4th day, B.distasonis was also found.

In the 8th child, on the 2nd day we found B.vulgatus and B.fragilis. On the 4th day, B.vulgatus, B.fragilis and B.distasonis; on the 7th day, B.fragilis and on days 15 and 30, B.fragilis, B.vulgatus, B.distasonis and B.ovatus.

In the 9th child, B.distasonis was isolated from the fecal samples taken on days 2, 4, 7, 15 and 30. On the 4th day B.fragilis was also found, later to disappear, together with B.vulgatus, which remained present. On days 15 and 30 we found B.ovatus and on day 30, B.thetaiotaomicron.

Microorganisms of the B.fragilis group were detected in all the 7 neonates delivered normally from 48th hour of birth onwards and in two of them from 24th hour onwards.

In the two caesarean-delivered neonates, B.fragilis group microorganisms did not appear until the 4th and 7th days, respectively.

No differences were found in the appearance of colonization by members of the B.fragilis group between the 5 infants fed artificially (2 caesareans and 3 others), and the other 4 breast-fed neonates.

B. distasonis was isolated in some of the fecal samples of the 9 neonates studied (100%); B.vulgatus in 8 infants (88.8%), B.fragilis in 5 children (55.5%), B.ovatus in 4 children (44.4%) and B.thetaiotaomicron in one case (11.1%).

REFERENCES

1. SUTTER, V.L., CITRON, D.M. & FINEGOLD, S.M. 1980. Wadsworth anaerobic bacteriology manual. C.V. Mosby Company. St. Louis.

FLORA INTESTINALE E SINTOMATOLOGIA GASTROENTERICA NEL NEONATO.
INDAGINE LONGITUDINALE RETROSPETTIVA (1983)

C. Grandis (a), M.E. Balagna (a), V. Isolato (b) & M.T. Norelli (b)

(a) Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche-Batteriologiche; (b) Divisione Pediatria-Neonatalogia, Ospedale degli Infermi USL 25, Rivoli, Torino, Italia

Riassunto. - Furono revisionati i referti di microbiologia su 184 neonati patologici (25,4% dei nati nel 1983). La flora batterica riscontrata nelle feci e/o materiale gastrico del gruppo con patologia enterica (134 casi) risultava significativamente correlata con la sintomatologia: si propose l'adozione di protocollo adeguato.

Summary (Intestinal flora and gastroenteric pathology in newborns. Retrospective longitudinal survey (1983)). - Microbiological data on cultures performed in 184 pathological newborns, out of 724 born in 1983, were retrospectively examined. The isolated bacteria in faeces and/or in gastric material of newborns suffering from gastroenteric pathology (134 cases) proved to be correlated to the symptomatology: therefore systematic and timely cultures are valuable means of diagnosis and possible prevention.

Introduzione

La patologia gastroenterica neonatale è tutt'ora rilevante; ci siamo pertanto proposti di studiare possibili misure preventive.

Materiali e Metodi

Mediante analisi retrospettiva delle cartelle cliniche dei neonati patologici abbiamo correlato i dati microbiologici con sintomatologia e diagnosi alla dimissione. Nel 1983 vi furono 724 nascite, 365 maschi e 359 femmine, di cui 534 nati fisiologici (73,9%), 184 patologici (25,4%), 4 deceduti (0,5%), 2 trasferiti (0,2%).

Dalla Tabella 1 risulta la costituzione del gruppo dei patologici.

Protocollo concordato con i neonatologi: coprocultura in prima giornata; identificazione del microrganismo presente in coltura pura o in carica elevata nettamente prevalente. Controllo prima della dimissione. Coltura del materiale gastrico in presenza di vomito. Emocultura su indicazione clinica. Urocultura su indicazione clinica o su esame del sedimento. Coltura della punta della canula intravenosa centrale al termine della terapia. Isolamento su terreni classici. Identificazione con gallerie miniaturizzate.

Risultati

Nel gruppo A coproculture sterili o normale colonizzazione n. 58 (43,3%); riscontro di flora considerata patogena n. 76 (56,7%); nel gruppo B rispettivamente n. 34 (70,8%), n. 14 (29,2%).

Nelle coproculture positive i germi furono: gram+ 16 (21%), gram- 58 (76,4%), Miceti 2 (2,6%) nel gruppo A e rispettivamente 4 (28,6%), 10 (71,4%) nel gruppo B. La Tabella 2 considera specificamente i germi riscontrati.

Tabella 1. - Costituzione del gruppo dei neonati patologici

	Gruppo A: 134 sintomat. gastroenterica	Gruppo B: 48 sintomat. resp. e/o neurolog.	Gruppo C : 2 sintomat. settica
Terapia antibiotica	52%	36%	100%
Can.intraven. centrale	28%	10%	100%
% neonati peso 2501-4250 gr	80,5%	93,7%	100%
Degenza media	11 gg.	7,5 gg.	22 gg.

Tabella 2. - Germi riscontrati nelle coproculture positive

	Gruppo A		Gruppo B	
	n.	%	n.	%
<u>E.coli</u>	18	23,7	3	21,4
<u>Pseudomonas spp.</u>	16	21	3	21,4
<u>Proteus</u>	12	15,8	2	14,3
<u>Klebsiellae</u>	11	14,5	1	7,1
<u>Staph.aureus</u>	8	10,5	2	14,3
<u>Strept. species</u>	8	10,5	2	14,3
<u>Vari</u>	3	4	1	7,1
Totale	76	100	14	100

Nel gruppo A infezioni delle vie urinarie causate dallo stesso germe isolato nelle feci presenti nel 7,5% dei casi (E.coli nel 60% di tali infezioni, Klebsiellae in coltura pura nelle feci quando la diarrea era predominante); un solo caso di infezione da streptococco di gruppo B non seguita da sepsi tardiva.

Nel gruppo B cocchi gram+ nel 28,6% delle coproculture positive. Mai isolammo Salmonelle, Shigelle né Campylobacter. Le punte delle cannule risultarono sempre sterili.

In entrambi i gruppi vi fu patologia ospedaliera causata ad ondate da Pseudomonadi presentanti lo stesso antibiotipo. Vi fu inoltre sortita di Candida albicans dopo terapia antibiotica nel 13,6% dei casi. I neonati vennero dimessi a flora normalizzata.

Discussione

Nel nostro campione la patologia gastrointestinale incise per il 18,5% su tutti i nati; fu riscontrata prevalentemente in neonati di basso peso e benché mai letale richiese terapia antibiotica nel 52% dei casi e terapia infusioneale

centrale nel 28%; prolungò inoltre la degenza media neonatale di 5 giorni.

Una precoce abnorme colonizzazione intestinale risultò correlata con la sintomatologia gastroenterica ($\chi^2 = 11,6$ S.).

Proponiamo pertanto come valido sussidio diagnostico il sistematico controllo precoce della colonizzazione intestinale come da protocollo sopra indicato.

Intendiamo inoltre valutare su casistica più ampia eventuali correlazioni tra colonizzazione intestinale da cocchi gram+ e sintomatologia respiratoria.