

FLORA INTESTINALE NEL PERIODO NEONATALE DOPO SOMMINISTRAZIONE DI LATTOBACILLI

A. Sciacca & L. Caltabiano

Clinica Pediatrica 2°, Università degli Studi, Catania, Italia

Riassunto. - E' stata effettuata una indagine qualitativa e quantitativa della flora aerobia ed anaerobia di otto neonati trattati con lattobacilli e di un gruppo di controllo. Si è evidenziata una colonizzazione di lattobacilli nel gruppo trattato, che tuttavia non ha apportato differenze di rilievo alla flora enterica tutta dei neonati.

Summary (Intestinal flora in newborns treated with lactobacilli). - We have carried out a quantitative and qualitative study on the intestinal microflora, both aerobic and anaerobic, of eight newborn infants treated orally with lactobacilli and of a control group made up of eight newborn infants fed on a diet free of lactobacilli. We have found a colonization of lactobacilli in the treated group with no remarkable modification of the intestinal microflora as a whole.

Introduzione

L'accertata importanza dell'enteroflora normale nei primi mesi di vita ha determinato una continua ricerca di "fattori" che possono riprodurre, nel bambino che viene alimentato con latti artificiali, l'ecosistema con prevalenza di lattobacilli tipico del bambino allattato al seno (1).

A tal proposito ci è sembrato interessante notare gli effetti della somministrazione orale di lattobacilli studiando la flora intestinale di neonati immaturi durante tale trattamento.

Materiali e Metodi

A otto neonati immaturi è stata somministrata tre volte al giorno una preparazione orale contenente Bifidobacterium bifidum (10^9 in 0,25 gr) e Lactobacillus acidophilus (10^9 in 0,25 gr). Il gruppo di controllo era costituito da otto neonati alimentati con diete prive di fermenti lattici. I neonati di entrambi i gruppi non erano diarroici né trattati con antibiotici. Campioni di feci sono stati raccolti ogni quattro giorni per venti giorni.

Un grammo di feci appena emesse è stato omogeneizzato in brodo e diluito fino a 10^{-8} gr/ml; nelle varie diluizioni 0,1 ml è stato seminato su piastre con terreni selettivi e non, per evidenziare la carica batterica totale aerobia, gli E.coli, gli enterobatteri lattosio negativi, gli Streptococchi fecali, i Lattobacilli, i miceti, gli Stafilococchi, gli anaerobi totali e sporigeni.

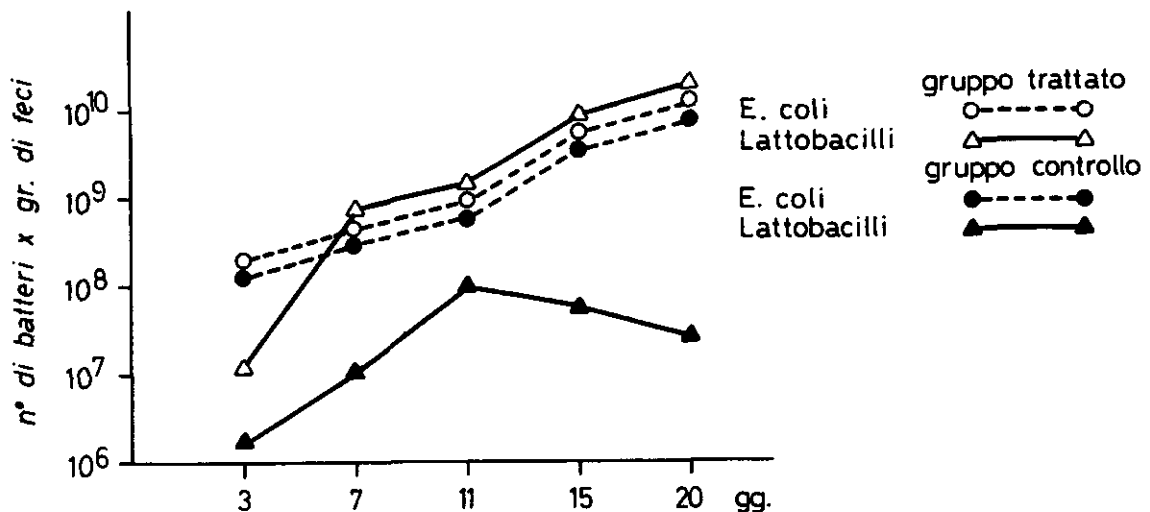
Tabella 1. - Concentrazioni medie della flora intestinale per gr di feci

Stipiti batterici	Concentrazioni medie/gr di feci	
	Gruppo trattato	Gruppo controllo
Aerobi totali	$1,10^{10}$	$1,10^{10}$
<u>Escherichia coli</u>	$8,10^9$	$8,10^9$
Enterobatteri lattosio negativi	$6,10^7$	$3,10^8$
Streptococchi fecali	$2,10^9$	$2,10^9$
Stafilococchi albi	$3,10^5$	$1,10^5$
Miceti (Candide)	$1,10^5$	$2,10^4$
Lattobacilli	$5,10^9$	$1,10^8$
Anaerobi totali	$1,10^{10}$	$1,10^{10}$
Anaerobi sporigeni	$2,10^2$	$2,10^2$

Risultati

Nella Tabella 1 sono riportate, dei vari stipiti batterici ricercati nei due gruppi, le concentrazioni medie riscontrate in tutti i prelievi.

Nella Fig. 1 sono invece riportate le concentrazioni medie relative ai lattobacilli ed a Escherichia coli, riscontrate nei cinque prelievi effettuati durante i venti giorni di osservazione.

Fig. 1. - Valori medi per gr di feci di E.coli e Lattobacilli nei due gruppi.

Discussione

Nel nostro studio il numero totale di lattobacilli aumenta nei neonati trattati progressivamente raggiungendo valori notevoli negli ultimi prelievi. Questa massiva colonizzazione non ha determinato una riduzione di E.coli, ma solo un numero ridotto di Enterobatteri lattosio negativi senza alcuna capacità di modificare la flora tutta. I nostri dati concordano con quelli di altri AA. (2), infatti mediante la batterio-terapia noi cerchiamo di creare un ecosistema intestinale che sebbene somigliante non è interamente paragonabile a quello presente nel bambino allattato al seno.

BIBLIOGRAFIA

1. REITANO, G. 1978. Enteroflora e allattamento. Min. Ped. 30: 435-441.
2. ZOPPI, G. 1981. Ecosistema intestinale e batteriologia orale. Riv Ital. Ped. 7: 675-680.

THE EFFECT OF YOGHURT ON THE PERFORMANCE AND GASTROINTESTINAL MICROFLORA OF BABY PIGS

R. Fuller, C.B. Cole, M.J. Newport & B. Ratcliffe

Food Research Institute, Shinfield, Reading, UK

Summary. - Pigs weaned at two days of age were fed yoghurt and compared with pigs fed the base milk. Pigs fed base milk gained more weight than the pigs fed yoghurt and this was reflected in a significant difference in the ratio of feed to gain.

Yoghurt had a strong depressing effect on the coliform count in the stomach and duodenum and a smaller reduction in count in the colon. The lactobacillus count was increased throughout the gut. The pH value of the stomach was lower in the pigs fed yoghurt. Pigs fed acidified base milk gave results similar to those fed yoghurt.

Riassunto (Effetto dello yogurt sulla flora intestinale e sulla crescita dei suinetti). - Suini svezzati a 2 giorni sono stati nutriti con yogurt e comparati con suini nutriti con latte. I suini che ricevevano latte guadagnavano più peso dei maiali che ricevevano yogurt e questo si rifletteva in una differenza significativa nel rapporto nutrimento/aumento di peso.

Lo yogurt ha avuto un forte effetto depressore sulla conta dei coliformi nello stomaco e nel duodeno e una riduzione minore sulla conta nel colon. La conta dei lattobacilli è aumentata in tutto l'intestino. Il pH dello stomaco era più basso nei maiali alimentati con yogurt. I suini che ricevevano latte acidificato hanno dato risultati simili a quelli che ricevevano yogurt.

Many claims have been made about the beneficial effects of eating yoghurt but good evidence in support of these claims is difficult to obtain in human beings. In our experiments we used the baby pig as a model for the bottle-fed human infant and assessed the effect of feeding on growth and on the intestinal microflora.

Large White pigs were weaned at 2 days on to the experimental diets. They were maintained on the treatments for 2 weeks and the body weights and food intakes recorded. At the end of the experimental period viable counts of lactobacilli and coliforms were made on the gut contents using MRS medium and McConkey's agar respectively.

The pigs fed base milk grew better than pigs fed yoghurt on acidified base milk. The ratio of feed to gain was also best in pigs fed base milk. Yoghurt and acidified base milk reduced the pH of the stomach but did not affect the duodenum and colon. There was a small increase in the lactobacillus count throughout the gut of pigs fed yoghurt but with acidified base milk the lactobacillus count was reduced in the stomach and duodenum.

Lactobacillus bulgaricus was recovered from the stomach and duodenum of pigs fed yoghurt. Throughout the gut the coliform count was reduced by yoghurt and acidified base milk although the effect was always greater with yoghurt.

The inferior growth and food conversion figures for yoghurt compared with base milk do not agree with previous suggestions that yoghurt is more easily digested than milk.

The increase in lactobacillus count in the anterior gut and the detection of L.bulgaricus in large numbers confirms that this organism is surviving in the gut but does not indicate that growth is taking place. The reduction in coliform count in the colon may be due to upgrowth of indigenous lactobacilli.

The similarity of the effects of yoghurt and acidified base milk indicates that at least part of the effect of yoghurt is due to the lactic acid content and the reduced pH which it produces in the stomach. Although the difference in pH is small it may be affecting the coliform count by keeping the pH of stomach contents persistently low whereas on pigs fed base milk the pH will rise on ingestion and allow growth of E.coli. The low numbers in the duodenum merely reflect the low count in the stomach.

In the present experiments the pigs suffered from diarrhoea but this was not caused by E.coli and was not affected by the experimental diets. However, the reduction in coliform counts suggests that the yoghurt may have some value in prevention of diarrhoea caused by Escherichia coli.

MODIFICAZIONI DELLA FLORA INTESTINALE INDOTTE DALLA RIFAXIMINA DURANTE IL TRATTAMENTO DELL'ENCEFALOPATIA EPATICA

C. Eftimiadi, C. De Leo & G.C. Schito

Istituto di Microbiologia, Università di Genova, Italia

Riassunto. - Sono state studiate le modificazioni della flora intestinale indotte dal trattamento con rifaximina in pazienti affetti da encefalopatia porto-sistemica. L'azione di questa rifamicina, che non viene assorbita dal tratto gastroenterico, è risultata particolarmente efficace sugli enterococchi e sui ceppi anaerobi; l'azione di un farmaco di riferimento, la paromomicina, è risultata invece efficace prevalentemente sulle Enterobacteriaceae.

Summary (Modifications of the intestinal flora during the treatment with rifaximina in patients with hepatic encephalopathy). - The modifications of the intestinal flora during the treatment with rifaximina in patients with hepatic encephalopathy were investigated. This topically active antibiotic proved to be particularly useful against enterococci and anaerobes; in comparison, paromycin was more active against Enterobacteriaceae.

Introduzione

E' stata recentemente sintetizzata una nuova rifamicina, le cui caratteristiche fisico-chimiche ne impediscono l'assorbimento da parte del tratto gastrointestinale (1). E' stato proposto l'uso di questo farmaco come agente antibatterico per uso topico sulla flora intestinale, in soggetti affetti da coma epatico e da encefalopatia porto-sistemica. E' noto che sia la flora batterica aerobia, sia quella anaerobia sono responsabili della produzione di ammoniaca a livello intestinale, alla quale può ricondursi una parte considerevole della patogenesi dell'encefalopatia (2). Il classico trattamento farmacologico con un aminoglicoside è in grado di sopprimere solamente la flora aerobia (3), ma non ha alcun effetto sulla flora anaerobia. Poiché la rifampicina ha una buona attività sui germi anaerobi, è stato quindi deciso di esaminare la sua attività terapeutica in questi pazienti. L'indagine è stata condotta confrontando l'uso della rifaximina (L/105) con quello della paromomicina, antibiotico già ampiamente utilizzato in tali patologie.

Materiali e Metodi

L'indagine clinica è stata condotta su venti pazienti affetti da cirrosi, che presentavano segni di encefalopatia epatica ed elevati livelli ematici di ammoniaca. Dieci pazienti sono stati trattati per cinque giorni con 1200 mg/die di rifaximina, in tre dosi giornaliere, gli altri dieci con 1500 mg/die di paromomicina, sempre in tre dosi frazionate. La raccolta dei campioni di feci avveniva giornalmente ed è stata effettuata inoltre anche un'indagine ad una e

due settimane dalla sospensione del trattamento. Per la raccolta e la preparazione dei campioni e per la coltivazione e l'identificazione dei microrganismi sono state utilizzate procedure già descritte in letteratura (4).

Risultati e Discussione

Nella sperimentazione clinica, sono state confrontate le modificazioni della flora intestinale indotte dalla somministrazione orale di rifaximina e di paromomicina: entrambi gli antibiotici hanno dato risultati clinici sovrapponibili, con generale miglioramento e normalizzazione dei livelli ematici di ammoniaca. Le variazioni del contenuto batterico delle feci sono riportate nelle Tabelle 1 e 2 e sono espresse come CFU/grammo di feci.

Tabella 1. - Modificazioni della flora intestinale indotte dalla somministrazione orale di rifaximina (g/feci)

Specie batteriche	Giorni di trattamento		
	0	3	5
<u>Escherichia coli</u>	$3,0 \pm 1,1 \times 10^8$	$1,0 \pm 0,7 \times 10^8$	$4,8 \pm 1,3 \times 10^7$
<u>Proteus sp.</u>	$3,2 \pm 0,6 \times 10^7$	10^7	10^6
<u>Altre Enterobatt.</u>	$1,0 \pm 0,7 \times 10^7$	$0,6 \pm 0,3 \times 10^7$	$1,0 \pm 0,5 \times 10^6$
<u>Enterococchi</u>	$5,9 \pm 1,7 \times 10^7$	$8,3 \pm 2,0 \times 10^6$	$8,4 \pm 1,9 \times 10^5$
<u>Altri Streptococchi</u>	$2,1 \pm 0,8 \times 10^7$	$1,5 \pm 0,4 \times 10^6$	$2,0 \pm 0,4 \times 10^4$
<u>Bacteroides sp.</u>	$4,8 \pm 1,2 \times 10^7$	$1,0 \pm 0,2 \times 10^9$	$1,1 \pm 0,3 \times 10^8$
<u>Cocchi anaerobi</u>	$6,2 \pm 1,2 \times 10^7$	$4,1 \pm 1,1 \times 10^6$	$1,8 \pm 0,4 \times 10^5$
<u>Clostridium sp.</u>	$1,0 \pm 0,3 \times 10^8$	$3,1 \pm 1,0 \times 10^7$	$4,5 \pm 1,3 \times 10^6$
<u>Bifidobacterium sp.</u>	$2,0 \pm 0,4 \times 10^7$	$1,0 \pm 0,5 \times 10^6$	$0,6 \pm 0,1 \times 10^6$
<u>Eubacterium sp.</u>			
<u>Lactobacillus sp.</u>	$1,1 \pm 0,2 \times 10^7$	$0,9 \pm 0,1 \times 10^7$	$2,0 \pm 0,3 \times 10^6$
<u>Fusobacterium sp.</u>			

Tabella 2. - Modificazioni della flora intestinale indotte dalla somministrazione orale di paromomicina (g/feci)

Specie batteriche	Giorni di trattamento		
	0	3	5
<u>Escherichia coli</u>	$2,9 \pm 1,0 \times 10^8$	$8,7 \pm 1,7 \times 10^6$	$1,7 \pm 0,4 \times 10^5$
<u>Proteus sp.</u>	$3,0 \pm 0,5 \times 10^7$	10^6	10^2
<u>Altre Enterobatt.</u>	$1,0 \pm 0,8 \times 10^7$	$0,4 \pm 0,1 \times 10^6$	$0,8 \pm 0,2 \times 10^4$
<u>Enterococchi</u>	$5,9 \pm 1,9 \times 10^7$	$4,2 \pm 1,4 \times 10^7$	$5,8 \pm 1,7 \times 10^6$
<u>Altri Streptococchi</u>	$2,2 \pm 0,8 \times 10^9$	$1,2 \pm 0,5 \times 10^9$	$9,2 \pm 1,3 \times 10^5$
<u>Bacteroides sp.</u>	$4,6 \pm 1,4 \times 10^7$	$4,0 \pm 0,9 \times 10^9$	$4,0 \pm 0,8 \times 10^9$
<u>Cocchi anaerobi</u>	$5,9 \pm 1,4 \times 10^8$	$4,6 \pm 1,1 \times 10^7$	$1,1 \pm 0,3 \times 10^7$
<u>Clostridium sp.</u>	$1,0 \pm 0,4 \times 10^8$	$8,8 \pm 0,4 \times 10^7$	$7,8 \pm 0,4 \times 10^7$
<u>Bifidobacterium sp.</u>	$2,0 \pm 0,3 \times 10^7$	$0,9 \pm 0,2 \times 10^7$	$0,9 \pm 0,3 \times 10^7$
<u>Eubacterium sp.</u>			
<u>Lactobacillus sp.</u>	$1,1 \pm 0,3 \times 10^7$	$1,0 \pm 0,1 \times 10^7$	$1,0 \pm 0,1 \times 10^7$
<u>Fusobacterium sp.</u>			

Come si può notare dai dati riportati nelle tabelle, l'attività antibatterica della rifaximina sulle Enterobacteriaceae risulta piuttosto bassa, mentre quella sui cocchi sia aerobi, sia anaerobi appare decisamente significativa. L'effetto sui bastoncini anaerobi non sembra molto rilevante alle dosi impiegate in questi pazienti. La paromomicina ha un effetto opposto a quello della rifaximina: è molto attiva sulle Enterobacteriaceae, ma ha un'efficacia scarsa sugli enterococchi e addirittura nulla sugli anaerobi. Al quinto giorno di trattamento, sia con rifaximina (due pazienti), sia con paromomicina (un paziente), è stata rilevata la comparsa nelle feci di Candida albicans in quantità significativa. I controlli effettuati dopo una e due settimane dalla sospensione della terapia hanno mostrato il ritorno ai valori iniziali della carica batterica. Dai dati ottenuti si può affermare che i due antibiotici esercitano la loro attività su bersagli diversi: il loro uso combinato sembrerebbe quindi quanto mai opportuno, sia per potenziarne la rispettiva efficacia terapeutica, sia per limitare l'insorgenza di ceppi resistenti alla rifaximina, evenienza abbastanza frequente con gli antibiotici di questo gruppo.

BIBLIOGRAFIA

1. MARCHI, E., MASCELLANI, G., MONTECCHI, L., BRUFANI, M. & CELLAI, L. 1982. L/105, a new semisynthetic derivative of Rifamycin SV. Synthesis and structure-activity relationship. 3rd Mediterranean Congress of Chemotherapy, Dubrovnik, 21-26 September 1982. Chemioterapia 1 (4) (Suppl.) 106.
2. CROSSLEY, I.R., WARDLE, E.N. & WILLIAMS, R. 1983. Biochemical mechanisms of hepatic encephalopathy. Clin. Sci. 64: 247.
3. BYUNGSE, S., STEPHENS, J.L. & KUNIN, C.M. 1979. Oral neomycin dosage schedules for suppression of ammonia production by bowel flora. Antimicrob. Agents Chemother. 16: 519.
4. LENNETTE, E.H., BALOWS, A., HAUSLER, W.J.jr. & SHADOMY, H.J. (Eds) 1985. Manual of clinical microbiology. ASM, Washington, D.C. 143-472.

QUANTITATIVE AND QUALITATIVE MICROBIAL ANALYSIS OF ILEOSTOMY EFFLUENTS IN A PEDIATRIC POPULATION

C. Neut (a), D. Turck (b), E. Jerome (a), C. Romond (a), H. Beerens (a) &
G. Fontaine (b)

(a) Laboratoire de bactériologie, Faculté de Pharmacie, Lille;
(b) Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier Universitaire, Lille, France

Summary. - Microbial analysis of ileostomy effluents in infants shows a heavy and regular colonization of the ileum (mean count 8,15 log.₁₀/ml) Streptococci, Staphylococci, Enterobacteria and anaerobes are part of the complex flora.

Riassunto (Analisi microbiologica qualitativa e quantitativa del materiale effluente da ileostomia in pazienti pediatriche). - L'analisi microbiologica del materiale effluente da ileostomie in bambini mostra una consistente e regolare colonizzazione dell'ileo (media della conta 8,15 log.₁₀/ml). Streptococchi, Stafilococchi, Enterobatteri ed anaerobi sono parte della flora complessa.

Introduction

The aim of our study was to assess the level of bacterial colonization of the ileum in infants presenting an ileostomy in relation to pathological conditions like malabsorption of sugars.

Materials and Methods

Studied population: 10 infants aged from 2 to 9 months presenting an ileostomy for various gastrointestinal disorders: gastroschisis (3 cases), meconial peritonitis (3 cases), necrotizing enterocolitis (2 cases), small bowel atresia (1 case) and idiopathic intestinal pseudo-obstruction (1 case). Three infants never received enteral feeding, the others are fed either by banked human milk or an elemental diet.

Sampling: immediately after emission of liquid, the ileostomy bag is removed, placed in an anaerobic transport system (Bio-Bag type A, Marion Scientific) and transported to the laboratory.

Bacteriological analysis: tenfold dilutions are spread on modified Columbia Blood agar, after one week's anaerobic incubation (GasPak system, BBL) the colonies are outnumbered and subcultured for identification.

Results

1. Quantitative analysis

The ileum is in all cases heavily colonized, the total bacterial count is stable in time in infants from whom several samples were obtained. The upper and lower limits in our population are 6,72 and 9,30 (expressed as log.₁₀ of CFU/ml of effluent), the mean count is 8,15. Similar (1, 2) or inferior (3)

counts have been obtained in ileostomy effluents of adults but values observed in healthy infants or adults are always inferior (4).

2. Qualitative analysis

The flora is constituted of 8,6 bacterial types (mean value). High levels of Streptococcus, Staphilococcus and E.coli are always present (Table 1), other enterobacteria are often associated, the mean number of enterobacteria per sample is 2,7.

Table 1. - Quantitative of bacterial types and frequency of isolation

Bacterial types	LOG ₁₀ Count of CFU/ml							Frequency of isolation
	2	3	4	5	6	7	8	
<i>Facultative anaerobes</i>								
Streptococcus								10 / 10
Staphylococcus								10 / 10
Escherichia coli								10 / 10
Corynebacteria								5 / 10
Lactobacillus								4 / 10
Citrobacter								4 / 10
Levinea								4 / 10
Serratia								3 / 10
Proteus								3 / 10
Klebsiella								1 / 10
Providencia								1 / 10
Salmonella								1 / 10
<i>Strict anaerobes</i>								
Bifidobacterium								7 / 10
Clostridium								4 / 10
Peptostreptococcus								2 / 10
Fusobacterium								2 / 10
Eubacterium								1 / 10
Veillonella								1 / 10

Among anaerobes, present in all infants, Bifidobacteria are most frequently encountered; the genus Clostridium is present with different species among them C.perfringens, C.difficile, C.butyrlicum and C.paraputrificum.

Discussion

The ileum in our population is heavily colonized by numerous potentially pathogenic bacteria (during our study one infant died from septicemia due to Serratia). Because of the lack of the contact with the colon, the colonic flora seems not to be at the origin of this colonization, this fact is underlined by the absence of Bacteroides of the fragilis group throughout our study. The oral flora might contribute to this ileal flora, another source might be the environment.

This abundant flora seems in relation to the malabsorption of sugars: from the 7 infants receiving enteral feeding, 5 show at least at one occasion reduced absorption of lactose.

REFERENCES

1. FINEGOLD, S.M., SUTTER, V.L., BOYLE, J.D. & SHIMADA, S. 1970. The normal flora of ileostomy and transverse colostomy effluents. J. Infect. Dis. 122: 376-381.
2. GORBACH, S.L., NAHAS, L., WEINSTEIN, L., LEVILAN, R. & PATTERSON, J.F. 1967. Studies of intestinal microflora. IV: the microflora of ileostomy effluent a unique microbial ecology. Gastroenterology 53: 874-880.
3. FERNANDEZ, F., KENNEDY, H., HILL, M. & TRUELOVE, S. 1984. The effect of diet on the composition of the bacterial flora on the terminal ileum. In: Models of anaerobic infection Hill M.J., (Ed.). Martinus Nihhoff Publishers, DorDrecht, The Netherlands.
4. CHALLACOMBE, D.N., RICHARDSON, J.M. & ANDERSON, C.M. 1974. Bacterial microflora of the upper gastrointestinal tract in infants without diarrhoea. Arch. Dis. Childhood 49: 264-269.

INTESTINAL MICROBIC ECOSYSTEM MONITORING IN NEONATES OPERATED ON FOR EXTRAHEPATIC BILIARY ATRESIA

R. Bisicchia (a), F. Buzi (b), D. Alberti (c), M. Bertelli (a) & A. Dessanti (c)

(a) Laboratorio di Analisi; (b) Clinica Pediatrica; (c) Chirurgia Pediatrica, Ospedale dei Bambini "Umberto I", USL 41, Brescia, Italia

Summary. - The influences of nourishment and antibiotic therapy on the intestinal microbial ecosystem in postoperative course of neonates operated on for extrahepatic biliary atresia are discussed.

Riassunto (Monitoraggio dell'ecosistema microbico intestinale in neonati operati per atresia biliare extraepatica). - Viene discussa l'influenza dell'alimentazione e della terapia antibiotica sull'ecosistema microbico intestinale nel decorso postoperatorio di neonati operati per atresia delle vie biliari extraepatiche.

Introduction

Ascending cholangitis is the main cause of failure in the postoperative course of neonates operated on portoenterostomy (PE) according to Kasai's technique for extrahepatic biliary atresia (EHBA) and in whom a postoperative bile drainage was restored (1). A balanced intestinal microbic ecosystem (IME) may be considered as an opposition way to the growth of potentially pathogenous bacteria and to their probable expansion. The aim of this work is to single out the permissive conditions for the establishment of the best possible IME.

Materials and Methods

Our series includes 12 neonates operated on PE (Kasai's operation) for EHBA. They received a standard postoperative prophylactic chemotherapy: amikacin (15 mg/kg/die) from 1st to 12th day and cefalexin (75 mg/kg/die) from 1st to 30th day. Of these 12 pts., 4 received only breast milk (BM), 3 received formula milk (S₂₆ and/or Alprem) and breast milk (FABM), and 5 received only formula milk (FM). Samples of their feces collected just before surgery and again after each week were analyzed quantitatively and qualitatively so as to identify the main aerobic bacteria (E. coli, Pseudomonas, Enterobacteriaceae, Enterococci) and anaerobic bacteria (Bifidobacteria, Bacteroides) (2). Thanks to a score test grading from ++ to - and based on the quantitative analysis of the cultured bacteria, we were able to evaluate the IME. The score ++ was given by us at the optimal state of IME; this condition is characterized by high concentration of Bifidobacteria, low growth of E. coli, Bacteroides and of other remaining Enterobacteriaceae. Antibiograms were done to every microbic identified strains to evaluate the dynamic of resistance to antibiotic acquisition.

Results

As shown in Table 1, independently from chemotherapy and from restoration of bile drainage, a balanced IME was observed in every patient nourished only with BM. On the contrary FM has induced 4/5 times an unbalanced IME. An intermediate condition was observed in patients nourished with FABM.

As shown in Table 2, cefalexin is the antibiotic which more has selected resistant bacteria strains. In particular this selection has been evident towards E.coli. Amikacin does not show a tendency to select resistant bacteria strains except for Enterococci almost resistant just before the drug administration.

Discussion

This work reports on our analysis of the IME of neonates with EHBA. We conducted this analysis before and during the antibiotic therapy in a quantitative way more than in a qualitative one. On the basis of this analysis we think that: 1) just because BM was the only food which has always kept a balanced IME, it must be given as much as possible; 2) our data on the selection antibiotic-resistant bacteria strains may be a reference point for the comparison with other schemes of antibiotic prophylaxis.

Table 1. - Relationships between feeding and IME

Feeding	N. Cases	IME				Bile Drainage
		++	+	±	-	
BM	4	2	2			3
FABM	3		1	1	1	2
FM	5	1			4	3

++ very balanced; + fairly balanced; ± scarcely balanced; - unbalanced

Table 2. - Selection of antibiotic resistant bacteria during antibiotic therapy

	Amikacin				Cefalexin			
	before		during		before		during	
	S	R	S	R	S	R	S	R
<u>E.coli</u>	12	0	11	1	11	1	0	12
<u>Enterococci</u>	3	9	0	12	5	7	1	11
<u>Pseudomonas</u>	-	-	6	0	-	-	0	6
<u>Proteus M.</u>	-	-	2	0	-	-	0	2
<u>Bacteroides</u>	0	12	0	12	0	12	0	12
<u>Bifidobacteria</u>	12	0	12	0	12	0	12	0

S = sensitive; R = resistant

REFERENCES

1. KASAI, M. 1983. Advances in treatment of biliary atresia. JPN. J. Surg. 13: 265-276.
2. HOLDEMAN, L.U. & MOORE, W.E.C. 1972. Anaerobe laboratory manual. Virginia Polytechnic Institute and State University. Blackburg, Virginia.

PROBLEMI DI REIDRATAZIONE IN CORSO DI DIARREA ACUTA

E. Vignati (a), G. Carducci (b), C. Merluzzo (a), M. Mariani (a), G. Morino (a)
& V. Martinelli (a)

(a) II Divisione, Servizio Diarree Acute; (b) Laboratorio Analisi, Servizio di Microbiologia, Ospedale "Bambino Gesù", Roma, Italia

Riassunto. - Sono riportati i risultati di alcuni esami eseguiti sulle feci di 66 bambini ricoverati per Diarrea Acuta (D.A.) e le conseguenti indicazioni per una corretta soluzione terapeutica reidratante.

Summary (Rehydration problems in case of acute diarrhoea). - Results of stool examinations in 66 children presenting acute diarrhoea are reported and a proper rehydration solution therapy is suggested.

Introduzione

Scopo del nostro lavoro è quello di fornire delle indicazioni per una corretta reidratazione nel trattamento della diarrea osmotica e/o secretiva, (1) sulla base delle diverse perdite idroelettrolitiche, della conta dei leucociti fecali e della presenza degli zuccheri e del sangue nelle feci.

Materiali e Metodi

Abbiamo preso in considerazione 66 bambini (33 maschi e 33 femmine), di età compresa tra 1 e 36 mesi, tra quelli ricoverati per D.A., presso la II Divisione dell'Ospedale "Bambino Gesù" di Roma, nel periodo luglio '84 - giugno '85.

In tutti i bambini, all'ingresso, sono state valutate le condizioni di idratazione tramite esame obiettivo ed indici laboratoristici e sono state eseguite, sulle feci, la ricerca degli zuccheri (Clinitest), del sangue occulto (Occultest), dei leucociti e degli elettroliti (2). E' stato ricercato l'agente eziologico tramite coprocultura, allestita su terreni comuni e selettivi e ricerca del Rotavirus (ELISA Test).

Risultati

Tutti i 66 bambini considerati hanno presentato disidratazione di diversa entità (Fig. 1), valutata sulla base della perdita di peso, della presenza o meno di acidosi e dell'alterazione degli elettroliti sierici.

Risulta evidente la netta prevalenza di forme gravi (78% del totale) nei 30 bambini sotto i 12 mesi di età.

Tra i germi in causa il Rotavirus è responsabile del maggior numero di diarree (36,5%).

La bassa incidenza di forme diarroiche puramente secretive è evidenziata

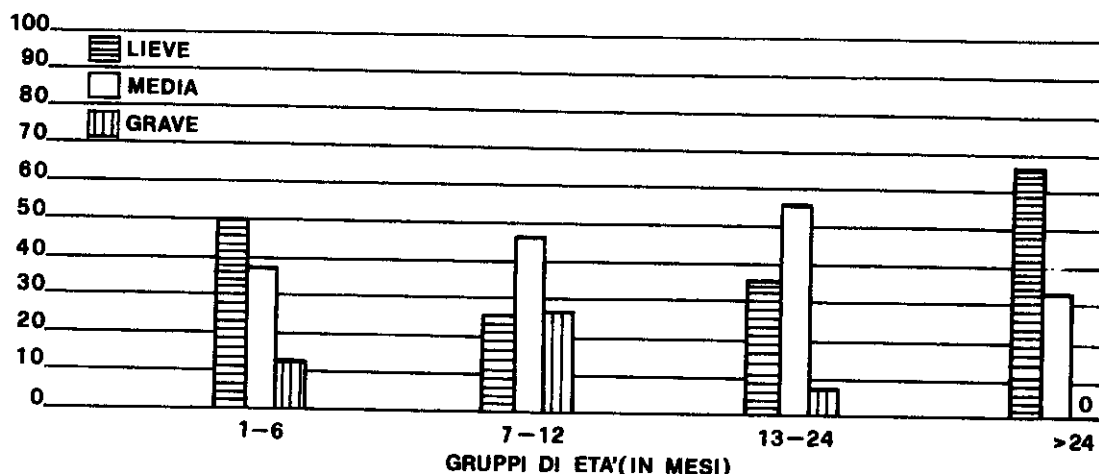


Fig. 1. - Grado di disidratazione in rapporto all'età.

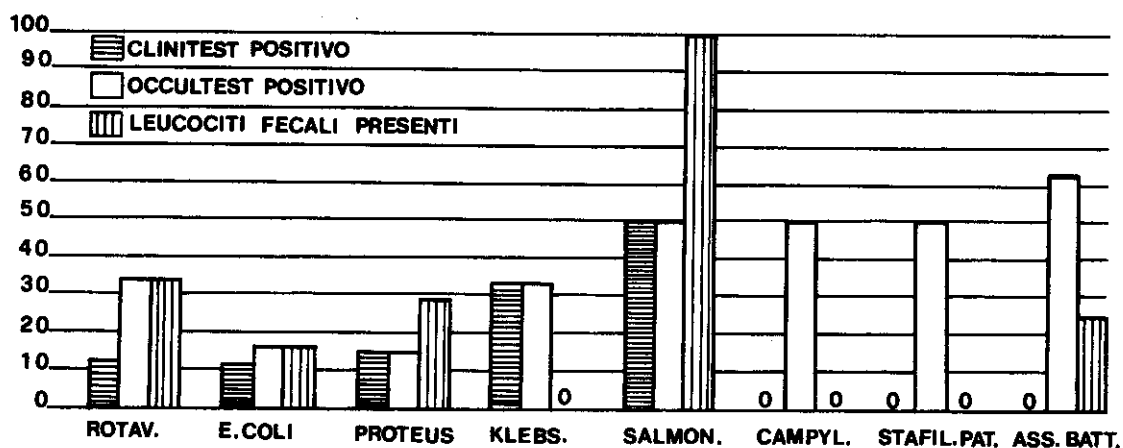


Fig. 2. - Positività di Clinitest, Occultest e Leucociti fecali in rapporto al germe.

dalla modesta perdita di Na fecale (Tabella 1), che solo in due casi era superiore ad 80 m Eq/l e dalla positività della ricerca sulle feci del sangue occulto e dei leucociti (Fig. 2).

Tabella 1. - Valori medi di elettroliti fecali in relazione al germe

Germe	N. Casi	%	Na m Eq	K mEq
Rotavirus	24	36,5	46,2	54,4
E.coli	18	27	28,4	44,2
Proteus	7	11	35,7	31,7
Klebsiella	3	4,5	37	45
Salmonella	2	3	10	40
Campylobacter	2	3	40	54,5
Stafil.Patog.	2	3	52,5	56,5
Associaz.Batt.	8	12	30,1	43,9

Discussione

La validità delle soluzioni reidratanti orali glucoelettrolitiche nel trattamento della diarrea acuta è ormai ampiamente riconosciuta (3).

Alla luce dei diversi meccanismi eziopatogenetici in causa, molte controverse permangono circa la composizione elettrolitica di tali soluzioni.

Le limitate perdite elettrolitiche nelle feci e la maggiore incidenza di Rotavirus e di germi enteroinvasivi, pur in presenza di disidratazione medio/grave, suggeriscono nel nostro Paese una reidratazione con soluzioni a ridotto contenuto di sali.

BIBLIOGRAFIA

1. KEUSCH, G.T. & DONOWITZ, M. 1983. Pathophysiological mechanisms of diarrhoeal diseases: diverse aetiologies and common mechanisms. Scand. J. Gastroenterol. 18: 33 (Suppl. 84).
2. MOLLA, M., RAHMAN, M., SARKER, A., SACK, D. & MOLLA, A. 1981. Stool electrolyte content and purging rates in diarrhoea caused by Rotavirus, enterotoxigenic E.coli, and V.cholerae in children. J. Pediatr. 98: 835-838.
3. FINBERG, L., HARXER, P.A., HARRISON, M.P. & SACK, R.N. 1982. Oral rehydration of diarrhoea. J. Pediatr. 4: 979.

IL SONDAGGIO BATTERIOLOGICO INTESTINALE. COMPARAZIONE TRA SONDA APERTA E SONDA CHIUSA E TRA PRELIEVI A DIFFERENTI LIVELLI

L. Rasciti (a), D. Vaira (a), A. Strocchi (a), M.G. Menozzi (b), P. Avanzini (b), C. Chezzi (b), G.R. Corazza (a) & G. Gasbarrini (a)

(a) III Patologia Medica, Policlinico S. Orsola, Bologna;
(b) Istituto di Microbiologia, Università degli Studi, Parma, Italia

Riassunto. - In 28 pazienti abbiamo confrontato l'aspirato digiunale ottenuto da una sonda aperta e da una sonda protetta accoppiate. Non è stata evidenziata ai fini diagnostici, differenza fra i due tipi di aspirato in 25 su 28 pazienti. In 13 dei 28 pazienti i campioni di succo digiunale erano ottenuti in 2 differenti livelli intestinali; l'analisi microbiologica ha portato alla medesima diagnosi in tutti i casi meno 1.

Summary (Microbial flora in jejunal aspirates. Comparison among an open, a closed tube system and samples obtained from different jejunal areas). - We have compared jejunal aspirates obtained by an open and by a closed tube system. No differences between the two types of aspirates with regard to the final diagnosis were registered in 25 out of 28 patients. In 13 of these 28 patients samples were obtained from two different jejunal areas, the microbiological evaluation of the samples led to the same diagnosis in all cases but one.

Introduzione

Attualmente la metodica ritenuta più attendibile e specifica per la diagnosi di sindrome del tenue contaminato (STC) è l'analisi batteriologica del succo intestinale (1). Le possibili riserve all'impiego di tale metodica sono rappresentate oltre che dall'esigenza di intubare il paziente e di disporre di un laboratorio microbiologico particolarmente attrezzato, dalla necessità di sonde protette (che mantengono l'anaerobiosi e non consentano contaminazioni con altre secrezioni) e dalla possibilità di "falsi negativi" dovuti alla presunta distrettualità della contaminazione (2). In questo studio abbiamo valutato se l'analisi batteriologica condotta su campioni prelevati con sonda aperta o protetta ed a due differenti livelli ha portato, o meno, alla stessa diagnosi finale.

Materiali e Metodi

Sono stati studiati 34 pazienti con sospetto clinico di STC. I campioni di succo intestinale sono stati prelevati mediante due sonde radiopache, una aperta ed una protetta (3), accoppiate, posizionate sotto controllo fluoroscopico in tutta prossimità dell'ansa di Treitz. L'analisi batteriologica è stata effettuata secondo le modalità standard (4). In 28 dei 34 pazienti i campioni di succo sono stati ottenuti, allo stesso livello, sia dalla sonda protetta sia dalla sonda aperta. In 13 dei 34 pazienti sono stati effettuati prelievi a due differenti livelli a partire dalla regione del Treitz.

La diagnosi di STC era basata sulla presenza nei vari campioni di una carica microbica \geq a 10^7 UFC/ml di aspirato e/o sulla presenza di specie batteriche di tipo fecale.

Risultati

In 25 dei 28 pazienti ai quali il prelievo era stato effettuato allo stesso livello non si sono evidenziate differenze qualitative e/o quantitative nei due campioni di aspirato tali da portare a diagnosi divergenti (in 11 pazienti vi era una concordanza positiva per STC, in 14 vi era una concordanza negativa per STC). In 2 dei 3 pazienti nei quali vi era discordanza tra le due metodiche di campionamento, il succo intestinale prelevato con la sonda protetta presentava una carica batterica superiore rispetto al campione ottenuto dalla sonda aperta, tale differenza quantitativa non era imputabile alla presenza di germi anaerobi. Nel terzo caso di discordanza dei risultati la carica batterica ottenuta dalla sonda aperta era di 10^7 contro 10^4 UFC/ml della sonda protetta, in entrambi i campioni erano assenti germi anaerobi.

In 12 campioni di succo intestinale ottenuti a due differenti livelli, su 13 esaminati non si sono riscontrate differenze sia nella positività per STC (7 casi) sia nell'escludere una STC (5 casi). Nell'unico caso di discordanza di valori la maggior carica batterica era presente nel campione ottenuto più distalmente.

Discussione

I risultati del nostro studio evidenziano una buona accuratezza diagnostica usando la sonda aperta, tale metodica è inoltre notevolmente più rapida nell'esecuzione con conseguente minor disturbo per il paziente. Nell'unico caso di discordanza, con maggior carica batterica riscontrata nel campione prelevato con la sonda aperta, si può ipotizzare una contaminazione oro-faringea della sonda stessa. L'ipotesi di contaminazione segmentaria dell'intestino (2) non è stata sufficientemente confermata dal nostro studio, che ha mostrato viceversa una considerevole uniformità del contenuto batterico presente in diversi segmenti intestinali.

BIBLIOGRAFIA

1. SIMON, G.L. & GORBACH, S.L. 1984. Intestinal flora in health and disease. Gastroenterology 86: 174-193.
2. TILMAN, R., KING, C. & TOSKES, P. 1981. Continued experience with the xilose breath test: evidence that the small bowel culture as the gold standard for bacterial overgrowth may be tarnished. Gastroenterology 80: 1304.
3. SHINER, M., WATERS, T.E. & GRAY, J.D.A. 1963. Culture studies of the gastrointestinal tract with a newly devised capsule. Result of the tests in vitro and in vivo. Gastroenterology 45: 625-632.
4. GORBACH, S.L. 1971. Intestinal microflora. Gastroenterology 60: 1110-29.

POSSIBILITA' DI UNA DIAGNOSI ALTERNATIVA DI SINDROME DEL TENUE CONTAMINATO (STC). COMPARAZIONE TRA SONDAGGIO DIGIUNALE, H₂ BREATH TEST E GASCROMATOGRAFIA DEGLI ACIDI GRASSI VOLATILI

A. Strocchi (a), L. Rasciti (a), C. Prati (a), M.G. Menozzi (b); P. Avanzini (b), C. Chezzi (b), G.R. Corazza (a) & G. Gasbarrini (a)

(a) III Patologia Medica, Policlinico S. Orsola, Bologna;

(b) Istituto di Microbiologia, Università degli Studi, Parma, Italia

Riassunto. - In questo studio abbiamo valutato la predittività diagnostica del breath test all'idrogeno e della gascromatografia degli acidi grassi a catena corta nella sindrome del tenue contaminato. A paragone dell'analisi batteriologica dell'aspirato digiunale la gascromatografia è provvista di una produttività + del 100%, ma di scarsa sensibilità. Il breath test all'idrogeno è provvisto di migliore sensibilità (77%).

Summary (A possible alternative diagnosis in the bowel overgrowth syndrome. A comparison between breath test and volatile fatty acids gas-chromatography). - In this study we have evaluated the predictability of H₂ breath test and gaschromatography of volatile fatty acids in the diagnosis of small bowel bacterial overgrowth. Compared to bacteriological analysis gaschromatography showed 100% positive predictability but poor sensitivity. Lactulose H₂ breath test is provided by a better sensitivity (77%).

Introduzione

La diagnosi di sindrome del tenue contaminato (STC) risulta, nella pratica clinica, difficile ed indaginoso. L'analisi batteriologica del succo intestinale rappresenta la metodica più affidabile, ma è limitata dalla necessità di attrezzature sofisticate, dagli alti costi, e dalla esigenza di intubare il paziente. Per tali motivi abbiamo verificato la predittività diagnostica di alcune metodiche indirette ma di più facile e rapida esecuzione quali la gascromatografia degli acidi grassi a catena corta (GC) ed il breath test all'idrogeno (H₂BT).

Materiali e Metodi

In 70 pazienti con sospetto clinico di STC campioni di succo digiunale prelevati mediante sonda protetta (1) sono stati sottoposti ad una completa analisi microbiologica secondo le modalità standard (2). Inoltre, nel succo intestinale di 61 pazienti, è stata effettuata la ricerca gascromatografica di acidi grassi a catena corta (3). L'H₂BT è basato sulla capacità della maggior parte dei batteri intestinali di fermentare carboidrati presenti nel lume intestinale con produzione di idrogeno, successivamente riassorbito ed espirato (4).

Sono stati somministrati, a pazienti a digiuno da almeno 12 ore, 12 g di lattulosio disciolti in 24 cc di acqua (36 casi) e 75 g di glucosio in 375 cc di acqua (15 casi). Immediatamente dopo l'ingestione della soluzione venivano

effettuati sciacqui al cavo orale con 40 cc di Clorexidina gluconato 0.02%. Campioni di aria alveolare sono stati prelevati per ciascun paziente al tempo 0 ed ogni 10 minuti fino a 180 minuti dall'ingestione della soluzione. La concentrazione di idrogeno nei campioni è stata misurata mediante gascromatografo Microlyzer Mod. 12, Quintron, Milwaukee, WI ed espressa in parti per milione (ppm.).

La diagnosi di STC con l' H_2 BT al lattulosio era basata sulla presenza di un incremento dell'escrezione dell'idrogeno di almeno 10 ppm rispetto al valore più basso riscontrato, e precedente di almeno 20 minuti un secondo picco dovuto alla fisiologica fermentazione del substrato a livello colico. La diagnosi di STC mediante H_2 BT al glucosio era basata sulla comparsa di un incremento dell'escrezione di idrogeno di almeno 10 ppm rispetto ai valori basali.

Risultati

Su 70 pazienti 39 sono risultati portatori di STC diagnosticata mediante l'analisi batteriologica del succo intestinale. La sensibilità, specificità e predittività diagnostica della GC, dell' H_2 BT al lattulosio e dell' H_2 BT al glucosio, valutate sulla base dei risultati dell'analisi batteriologica, sono espresse nella tabella seguente.

	GC	Lact. H_2 BT	Gluc. H_2 BT
Sensibilità	51%	77%	60%
Specificità	100%	61%	70%
Predittività -	57%	73%	75%
Predittività +	100%	66%	50%

Discussione

A paragone dell'analisi batteriologica del succo intestinale i nostri risultati dimostrano che:

- la GC quando positiva consente una sicura diagnosi di STC; è però poco sensibile per cariche microbiche ai limiti o per assenza di batteri anaerobi. Inoltre non evita l'intubazione del paziente;
- l' H_2 BT, la metodica più semplice e meno invasiva, è provvista di una predittività diagnostica sufficientemente buona. La maggior sensibilità del test si è ottenuta utilizzando il lattulosio come substrato fermentabile.

BIBLIOGRAFIA

1. SHINER, M., WATERS, T.E. & GRAY, J.D.A. 1963. Culture studies of the gastrointestinal tract with a newly devised capsule. Results of tests in vitro and in vivo. Gastroenterology 45: 625-632.
2. GORBACH, S.L. 1971. Intestinal microflora. Gastroenterology 60: 1110-1129.
3. GORBACH, S.L., MAYHEW, J.W., BARTLETT, J.C., THADEPALLI, H. & OUNDERDONK, A.B. 1976. Rapid diagnosis of anaerobic infections by direct gas-liquid chromatography of clinical specimens. J. Clin. Invest. 57: 478-484.
4. LEVITT, M.D. & DONALDSON, R.M. 1970. Use of respiratory hydrogen (H_2) excretion to detect carbohydrate malabsorption. J. Lab. Clin. Med. 75: 937-945.

RUOLO DEGLI IMMUNOCOMPLESSI CIRCOLANTI NELLA GASTROENTERITE ACUTA

D. Torre, T. Gandini & F. Maggiolo

Divisione di Malattie Infettive, Ospedale di Circolo, Varese, Italia

Riassunto. - Viene documentata la presenza degli immunocomplessi circolanti (CIC) nelle gastroenteriti acute e correlato l'eventuale danno renale con la loro presenza.

Summary (The role of the circulating immunocomplexes in the acute gastroenteritis). - We tried to assess CIC levels in patients affected by acute gastroenteritis and to demonstrate an eventual and possible correlation with renal involvement.

Introduzione

La presenza di immunocomplessi è un fenomeno noto in patologia. La loro produzione è un processo fisiologico che viene utilizzato per allontanare dallo organismo gli antigeni. Vi sono malattie causate dagli immunocomplessi quali il Lupus Eritematoso Sistemico, la Poliartrite Nodosa, L'Artrite Reumatoide e la Sclerodermia. Altre patologie sono accompagnate dalla presenza degli immunocomplessi in circolo, quali le Epatiti Virali A - B - NANB, il morbo di Chron e la Rettocolite Ulcerosa. Un ruolo patogenetico diretto è probabile anche in alcune forme di glomerulonefrite associate alle malattie autoimmuni od in alcune infezioni virali, batteriche o protozoarie (1). Il rene è l'organo maggiormente predisposto ad essere colpito durante la circolazione di immunocomplessi nel torrente circolatorio. In alcuni casi è possibile una correlazione tra l'andamento della malattia ed il livello di CIC (2-4).

Il nostro studio vuole evidenziare la presenza di CIC in pazienti affetti da gastroenterite acuta e correlare l'eventuale danno renale con l'andamento di livelli serici di CIC.

Materiali e Metodi

La presenza di immunocomplessi circolanti è stata messa in evidenza mediante precipitazione con Polietilene Glicole acquisite dalla loro caratterizzazione in classi immunoglobuliniche mediante immunodiffusione radiale (SRID).

Abbiamo raccolto i sieri di 54 pazienti affetti da gastroenterite (GE) acuta. 42 (77%) pazienti erano affetti da GE batteriologicamente indifferenziata - 3 da GE batterica (1 Salmonella gruppo B, 1 Salmonella gruppo C, 1 Stafilococco Aureo) - 1 GE da Rotavirus - 1 GE da Entoameba Hystolytica e Ancylostoma duodenale - 3 casi di intossicazione alimentare - 1 Morbo Celiaco - 1 Malassorbimento - 1 Diverticolosi del Colon-Sigma.

Trenta pazienti furono sottoposti a 2 prelievi, di cui 1 all'ingresso in

reparto e 1 a distanza di 15 giorni. 35 pazienti presentarono screezio renale (Azotemia 50 mg/100 ml, Creatinina 1,20 mg/100 ml, Proteinuria, Leucocituria e Cilindruria).

Risultati

Tabella 1. - Numero pazienti positivi per immunocomplessi circolanti contenenti le diverse classi immunoglobuliniche e frazioni di complemento. Valori medi (\pm ds) espressi in g/ml

Diagnosi	IgA		IgG		IgM	
	casi positivi	casi positivi	\pm dS	casi positivi	\pm dS	
Batteriologicamente indifferenziate (42)	0	(mean 106,38) 21 (50%)	53,89	(mean 71,30) 13 (30,95%)	30,37	
infezioni batteriche (3)	0	(mean 125,33) 3 (100%)	26,23	0	0	
infezioni virali (1)	0	1 95		1 42		
sepsi (1)	0	0	0	0	0	
infezioni protozoarie (1)	0	1 52		1 46		
intossicazioni alimentari (3)	0	(mean 79,33) 3 (100%)	35,21	(mean 70,5) 2 (66,66%)	26,15	
altri (3)	0	0	0	0	0	

Diagnosi	Clq		C3c	
	casi positivi	\pm dS	casi positivi	\pm dS
batt. indifferenziate (42)	13 (30,95%) (mean 98,76)	40,86	15 (35,71%) (mean 33,36)	13,38
inf. batteriche (3)	3 (100%) (mean 66,66)	5,04	3 (100%) (mean 40,5)	13,74
inf. virali (1)	1 (96)	-	1 (42)	-
sepsi (1)	-	-	-	-
inf. protozoarie (1)	-	-	-	-
intoss. alimentari (3)	2 (66,66%) (mean 53,5)	2,12	3 (100%) (mean 32,33)	19,10
altri (3)	-	-	-	-

Discussione

Il lavoro presentato dimostra che anche nelle gastroenteriti acute è possibile ritrovare in circolo immunocomplessi. Questi immunocomplessi contengono classi immunoglobuliniche e parti del complemento. L'unica classe di immunoglobuline non rappresentata è quella della IgA. 35 soggetti dei 54 presi in esame hanno presentato screezio renale e immunocomplessi circolanti si sono trovati in concentrazioni più elevate durante la fase di alterazione dei parametri di funzionalità renale. Ciò potrebbe far supporre un certo ruolo patogenetico rivestito dagli immunocomplessi circolanti nel determinismo delle alterazioni renali. Lo screezio renale si è risolto, nella maggiore parte dei casi, a distanza di 15 giorni, dimostrando come le alterazioni fossero, in questo caso, del tutto transitorie.

BIBLIOGRAFIA

1. DIXON, F.J. 1978. Immunological renal injury produced by formation and deposition of immune complexes. In: Immunological mechanism in renal disease. Wilson, C.B., Breuner, B.M. and Stein, J.H. (Eds). Churchill Livingstone, New York, pp. 1-34.
2. HARKISS, G.D. 1979. A longitudinal study of increasing immune complexes, DNA antibodies and complement in patients with systemic lupus erythematosus: an analysis of their relationship to disease activity. J. Clin. Lab. Immun. 2: 275-283.
3. COHEN, S.L., FISHER, C., MOWBRAY, J.F., HOPP, A., BURTON-KEE, J. 1979. Circulating and deposited immune complexes in renal disease and their clinical correlation. J. Clin. Pathol. 32: 1135-1139.
4. JONES, V.C., JACOBY, R.K., WALLINGTON, T. & HOLT, P. 1981. Immune complexes in early arthritis. Clin. Exp. Immunol. 44: 512-521.