

Diffusione di *S. aureus* in un ambiente ospedaliero ad alto rischio

G. OREFICI e F. SCOPETTI

Laboratorio di Malattie Batteriche e Virali, Istituto Superiore di Sanità

È noto il ruolo che patogeni opportunisti svolgono nelle infezioni polmonari, in cui microrganismi saprofiti, commensali e ubiquitari possono in particolari circostanze, dare luogo a infezioni gravi. È questo il caso di *Candida*, *S. pneumoniae*, *Klebsiella*, ma anche di *Legionella pneumophila* ed altri microrganismi.

Di solito non è tanto una accresciuta virulenza del microrganismo a causare malattia, quanto una deficienza dei meccanismi di difesa dell'ospite (ad esempio una depressione dell'attività macrofagica per ipossia dei macrofagi stessi o in corso di trattamenti steroidei [1]), o una concomitante infezione virale (es. influenza) che permette l'instaurarsi di un'infezione batterica acuta [2].

Per il nostro studio abbiamo scelto, fra i casi ricoverati per affezione respiratoria nel Reparto Rianimazione Pediatrica dell'ospedale Santobono di Napoli che avevano seguito nell'inverno 1978-79, quelli nei quali era stato isolato *S. aureus* in almeno un campione.

Dallo studio dei tipi fagici e degli spettri di antibioticoresistenza abbiamo quindi cercato di capire in quali casi la colonizzazione poteva essere precedente al ricovero e in quali era presumibile ritenerla intraospedaliera.

Una particolare attenzione è stata dedicata a questo scopo all'individuazione dei ceppi meticillino resistenti.

MATERIALI E METODI

Popolazione.

È stata presa in considerazione una popolazione di 67 bambini di età fra 4 mesi e 2 anni circa ricoverata presso il reparto di rianimazione con diagnosi di affezione respiratoria acuta.

Materiale studiato.

Sono stati esaminati tamponi faringei in 30 casi, emocolture in 29 casi, tamponi rettali in 25 casi, colture di liquor in 17 casi e reperti polmonari autoptici in 55 casi. Sui ceppi isolati è stata eseguita la tipizzazione fagica [3]. L'antibiotico resistenza è stata saggiata col metodo multidisco di Bauer e Kirby [4]; la meticillina è stata saggiata da sola a 30° [5]; la fosfomicina da sola a 37° su piastre di nutrient agar [6].

RISULTATI

In 18 soggetti su 67 (27 % circa) è stato possibile mettere in evidenza *S.aureus* in almeno uno dei campioni esaminati. In totale sono stati isolati 26 ceppi di *S.aureus*.

La Tab. 1 mostra i risultati degli isolamenti a seconda del materiale di provenienza. La Tab. 2 mostra i fagotipi e gli antibiotipi dei ceppi isolati e i casi nei quali, dal punto di vista istopatologico risultavano focolai di broncopolmonite.

In 3 casi è stato isolato dal tampone faringeo e dal tampone rettale uno stafilococco con uguale spettro fagico ed antibiotico, in tre casi da tampone faringeo e da polmone. In 6 casi su 25 (24 %) è stato isolato da materiali diversi uno stafilococco appartenente al fagotipo 80/81 con identico spettro di resistenze. In 6 casi su 25 (24 %) si è isolato uno stafilococco appartenente al I° gruppo fagico che in 2 casi è risultato meticillino resistente. In questo gruppo erano evidenziabili almeno due fagotipi: 3A; 29; 3A/29 e 52A/79/80.

In 7 casi su 25 (28 %) sono stati isolati ceppi appartenenti a fagotipi del III° gruppo. Anche in questo caso è stato possibile mettere in evidenza

TABELLA 1

Risultati degli isolamenti

CAMPIONI CLINICI	N. ceppi isolati	N. casi esaminati	%
Tampone faringeo	8	27	~ 29
Tampone rettale	4	24	~ 17
Polmone	14	55	~ 26
Sangue	0	29	—
Liquor	0	17	—

TABELLA 2

Fagotipi e antibiotici dei ceppi isolati

CASO	Mate-riale	Gruppo	Tipo	Resistenza
C. S.	TF	Miscellanea	80/81	P Te Am
	TR	Miscellanea	80/81	P Te Am
A. G.	TF	Miscellanea	80/81	P Te Am
	TR	Miscellanea	80/81	P Te Am
F. G. (a)	TF	Miscellanea	80/81	P Te Am
	P	Miscellanea	80/81	P Te Am
M. D.	TF	III	80	DP P Te S K Ox Am Gm
	P	III	54/84	DP P Te S K Ox Am Ra Sis An
	P	III	54/75, 84/85	DP P Te S K Ox Am Ra Sis An
J. E. (a)	P	III	54	DP P Te S K Ox Am C E
B. S.	P	III	6/47/75	DP P Te S K Ox Am Ra Sis Gm An
P. G.	P	III	75/84	DP P Te S K Ox Am Sis Gm
A. F.	P	III	54/85 F	DP P Te S K Ox Am Ra Sis Gm An
P. G.	TF	I	3 A/29	P Te Am
	TR	I	3 A	P Te Am Gm
G. A. (a)	TF	I	29/52 A/79/80	DP P S Am Ox
P. A.	TF	I	29	DP P Am Ox
	P	I	3 A	P Te Am
B. S.	P	I	29/52 A/79	P Am
R. M. (a)	P	Non tipizzabile		P Te Am
F. M. (a)	P	Non tipizzabile		P Am
F. R.	TF	Non tipizzabile		P Am
D. L. S.	P	Non tipizzabile		F DP P Te S K Am Ox Ra Sis Gm
V. A.	TR	Non tipizzabile		F DP P Te S K Am Ox Ra Sis Gm
R. F. (a)	P	Non tipizzabile		DP P Te S K Am Ox Ra Sis GM

(a) L'esame istopatologico del tessuto polmonare dei casi contrassegnati da asterisco ha messo in evidenza focolai di broncopneumite.

Abbreviazioni: F = fosfomicina; DP = meticillina 5 mg; E = eritromicina 15 mg; OI = oleandomicina 15 mg; I = lincomicina 2 mg; Ne = neomicina 30 mg; P = penicillina 10 mg; FA = Ac fusidico 10 mg; Te = tetraciclina 30 mg; Nb = novobioicina 30 mg; B = bacitracina 10 mg; S = streptomina 10 mg; Gm = gentamicina 10 mg; C = cloramfenicolo 30 mg; K = kanamicina 30 mg; Ct = cefalotina 30 mg; Cl = clindamicina 2 mg; Sis = sisomicina 10 mg; An = amikacina 10 mg; Ox = oxacillina 1 mg; Am = ampicillina 10 mg; Vu = vancomicina 30 mg; Cd = cefaloridina 30 mg; Ra = rifampicina 30 mg. La meticillina è stata saggiata a 30%.

almeno 2 fagotipi, ma lo spettro di resistenza, molto esteso, era simile per entrambi. Tutti questi ceppi eccetto uno sono stati isolati dal polmone; tutti erano meticillino resistenti.

Dei 6 ceppi non tipizzabili isolati 3 erano meticillino resistenti e presentavano spettri di resistenza molto estesi. La percentuale di ceppi meticillino resistenti isolati è del 44 % ma sale al 61,5 % se si considerano solo gli isolamenti dal polmone, paragonabile o superiore quindi ai dati per la Danimarca del 1967 [7, 8].

si. e.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Considerando i ceppi isolati, la presenza nel 24 % degli isolamenti del fagotipo 80/81, che ha caratterizzato per molti anni i ceppi ospedalieri in tutto il mondo, e l'isolamento dal polmone di ceppi con spettri fagici simili e con ampio e spesso identico ventaglio di resistenze, rendono improbabile una contaminazione accidentale in sede di prelievo e sembrano invece indicare una colonizzazione ospedaliera che potrebbe essere stata favorita dall'intubazione.

È interessante a questo proposito notare che mentre ci è stato possibile isolare *S.aureus* dal polmone nel 25 % dei casi non ci è mai stato possibile isolarlo dal sangue o dal liquor.

Anche se in alcuni di questi casi sono stati evidenziati focolai di bronco-polmonite [9], è difficile tuttavia determinare quale possa essere stato il peso di questa infezione nell'evolversi complessivo della malattia. In realtà potrebbe essersi trattato di episodi terminali sovrappostisi alla patologia primaria.

Una particolare attenzione ci sembra meritino i risultati ottenuti circa la resistenza alla meticillina. Come è noto essa non indica ceppi particolarmente virulenti: si tratta infatti di una caratteristica espressa solo da una parte della popolazione batterica che si riproduce più lentamente e quindi in condizioni normali è svantaggiata rispetto alla popolazione sensibile [10].

Tuttavia, poiché tale carattere si accompagna solitamente a spettri di resistenze molto estesi, i ceppi che ne sono portatori sono particolarmente adatti a sopravvivere in ambiente ospedaliero, dove vengono avvantaggiati dalla pressione selettiva esercitata dagli antibiotici. Per questo motivo essi vengono isolati quasi esclusivamente in ospedale, e in questo ambiente possono causare malattia perché all'aumentata circolazione e alla diminuzione della flora antagonista si unisce l'aumentata recettività alle infezioni dei pazienti ricoverati.

La letteratura riporta diverse percentuali di isolamento nei vari paesi: dal 6 % della Danimarca [11], allo 0,7 % degli USA [9], al 3 % della Svizzera [10].

Negli ultimi anni si è assistito in tutto il mondo ad una riduzione nella frequenza degli isolamenti e questo fatto è stato attribuito sia ad un generale miglioramento dell'igiene ospedaliera [12], che alla diminuzione dell'uso di particolari antibiotici la cui resistenza è correlata a quella della meticillina [13].

Di conseguenza il riscontro nel nostro caso di una percentuale così elevata di resistenza, pur nell'ambito di una particolare casistica di un reparto ad alto rischio, se da un lato deve indurre a riflettere sull'opportunità di agire ai due livelli di intervento sopra citati, dall'alto sottolinea la possibile rilevanza di un controllo sistematico dei reperti autoptici che, attraverso la correlazione fra dati istopatologici e batteriologici, possa aiutare a distinguere semplici colonizzazioni da vere e proprie infezioni. Ciò permetterebbe fra l'altro di attribuire il giusto peso a particolari fagotipi o antibiotipi riscontrati in casi di sospetta infezione ospedaliera.

BIBLIOGRAFIA

1. ROCHEMAURE, J. & BLENZ, M. 1977. Les infections polmonaires opportunistes. *Med. Hyg.* **35**: 3058.
2. BAREER, P. V. & STANBRIDGE, T. N. 1977. Bacterial septicaemia with multiple organisms complicating influenzal pneumonia. *Brit. Med. J.* **6**: 1511.
3. INTERNATIONAL COMMITTEE ON SYSTEMATIC BACTERIOLOGY. Subcommittee on Phage-Typing of Staphylococci 1975. *Int. J. Sist. Bact.* **25**: 241.
4. BAUER, A. W., KIRBY, M. M. & SHERRIS, J. C. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* **45**: 493.
5. HEWITT, J. H., COE, A. W. & PARKER, M. T. 1969. The detection of methicillin resistance in *S. aureus*. *J. Med. Microbiol.* **2**: 443.
6. WODRUFF, H. B., MOTO, J. M., HERNANDEZ, S. *et al.* 1977. Chemiotherapy. **23**: (Suppl. 1): 1.
7. BULOW, P. 1971. Staphylococci in Danish Hospital during the last decade: Factors influencing some properties of predominant epidemic strains. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **182**: 21.
8. JENSEN, O., ROSENDAL, K., BÜLOV, V. *et al.*, 1971. Changing Staphylococci and staphylococcal infection. *New Engl. J. Med.* **281**: 627.
9. VECCHIONE, R., D'ARMIENTO, M., D'ARMIENTO, F. P., & CALI, A. Osservazioni stotologiche relative a 57 soggetti in età pediatrica deceduti per infezioni respiratorie acute. *Ann. Ist. Super. Sanità.* **17**: 761-776.
10. KAISER, F. H. 1975. Methicillin resistant Staphylococci 1965-1975. *Lancet.* 650.

11. ROSENDAL, K., JENSSEN, O., BENTZON, M. W., BÜLOW, P. 1977. Antibiotic policy and spread *S. aureus* strains in Danish hospitals 1969-1974. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sec B.* **85**: 143.
12. PARKER, M. T., ASHESHOW, E. H., HEWITT, J. H. *et al.* 1974. Epidemic staphylococcal infections in hospitals. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **236**: 466.
13. PLOUDE, J. J. & SHERRIS, J. C. 1974. Staphylococcal resistance to antibiotics: origin, measurement, and epidemiology. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **236**: 413. Fig. 21

**Osservazioni e reperti microbiologici
in 81 casi clinici di sindrome neuro-respiratoria
ricoverati al Centro di rianimazione pediatrica in Napoli (*)**

B. CACCIAPUOTI

Laboratorio di Malattie Batteriche e Virali, Istituto Superiore di Sanità

INTRODUZIONE

Nel mese di luglio 1978 il Ministero della Sanità segnalava all'Istituto Superiore di Sanità il decesso dei bambini:

- S.S.: nato il 17 maggio 1977, morto il 29 giugno 1978;
- I.G.: nato il 16 novembre 1976, morto il 1° luglio 1978;
- R.M.: nato il 22 novembre 1976, morto il 2 luglio 1978;

domiciliati in Napoli e sottoposti a vaccinazione difto tetanica presso condotte mediche locali nelle 24-48 ore precedenti il decesso.

Tutti i casi risultavano ricoverati al reparto rianimazione dell'Ospedale Santobono, con le seguenti diagnosi:

- S.S., cianosi e convulsioni di n.d.d.;
- I.G., meningoencefalite post vaccinica;
- R.M., broncopolmonite dispneizzante in soggetto con sospetta encefalopatia.

I vaccini impiegati, Anatoxal Di Te Berna serie 13718 e H-Adiftetall ISM, serie 24/4, venivano sottoposti, presso il Laboratorio di Malattie Batteriche e Virali a controlli di tossicità specifica e anomala e di sterilità, con esito favorevole.

(*) Dalla relazione omonima alla Commissione ministeriale di esperti per la problematica connessa con i decessi di minori in Campania.

Nel settembre 1978 il Ministero della Sanità segnalava all'Istituto Superiore di Sanità il decesso di un quarto bambino:

- M.B.: nato il 9 maggio 1977, morto il 29 settembre 1978;

domiciliato in Napoli ed ivi sottoposto a vaccinazione difto-tetanica il giorno precedente il decesso.

Il bambino era stato ricoverato all'Ospedale Loreto Mare e quindi trasferito al Centro di Rianimazione del Santobono con la diagnosi: com'a di n.d.d., ematemesi.

La vaccinazione risultava praticata con vaccino DifTetAll Sclavo, serie 79/D.

Considerato che nei quattro casi i bambini risultavano vaccinati con vaccini di tre diverse ditte, e che la sintomatologia presentava evidenti analogie nei singoli casi, si suggeriva alle autorità sanitarie locali di ricercare e segnalare casi clinici a sintomatologia analoga in bambini non vaccinati. Immediatamente e in successione venivano segnalati ricoveri al Centro di Rianimazione di bambini con analoga sintomatologia, non vaccinati.

I sintomi dominanti della malattia conclamata nei piccoli pazienti erano essenzialmente costituiti da *disfunzione respiratoria* e *deficit cerebrale*, ingravescenti fino all'*exitus*. Il deficit cerebrale risultava preminente e caratterizzato da convulsioni, areflessia, ipotonia generalizzata, coma ingravescente fino all'EEG piatto. Per tali caratteristiche cliniche, il Centro di Rianimazione pediatrica, unico nella Regione, veniva ad essere il naturale punto di raccolta dei casi.

Una inchiesta condotta presso i centri di rianimazione per adulti della regione campana e presso le direzioni sanitarie dei principali ospedali pediatrici meridionali, indicava l'esistenza di un focolaio epidemico avente caratteri clinici ed epidemiologici peculiari, limitato a bambini di una ristretta fascia di età e di una ristretta area geografica in provincia di Napoli.

Di concerto con le autorità sanitarie locali veniva organizzato il prelievo da tutti i soggetti ricoverati con la sintomatologia riferita di doppi campioni di materiale biologico, rispettivamente congelati e refrigerati, ed il successivo invio mediante corriere al laboratorio di Malattie Batteriche e Virali dell'ISS, per accertamenti microbiologici.

I campioni dal vivente erano costituiti da siero, liquor, tampone rettale o liquido di lavaggio rettale, tampone faringeo. I campioni dal cadavere erano costituiti da prelievi di tessuto nervoso: (corteccia del lobo temporale, plessi corioidei, cervelletto, bulbo, mesencefalo, talamo) di polmoni, fegato, rene, milza.

Dal 3 ottobre 1978 al 25 marzo 1979 venivano complessivamente segnalati dal Centro di rianimazione 81 casi ricoverati con una sintomatologia clinica avente i caratteri sopra indicati, di ciascuno dei quali il laboratorio di MBV acquisiva i materiali per le ricerche microbiologiche.

ORIENTAMENTI DELLA RICERCA

I sintomi clinici rilevati all'atto del ricovero dei piccoli bambini nel centro di rianimazione, deficit cerebrale e disfunzione respiratoria, erano preceduti da una sintomatologia clinica estremamente scarsa o assente. I riscontri autoptici segnalati erano: edema cerebrale senza evidenti segni macro o microscopici di flogosi cerebrale e/o meningea, con compromissione polmonare e/o epatica modesta o assente.

Questi dati orientavano verso una diagnosi generica di encefalopatia tossica.

Nell'ambito di una possibile etiologia virale della sindrome il Laboratorio MBV iniziava ricerche sul liquor e sui pezzi autoptici di corteccia temporale e bulbo di virus neurotropi: enterovirus, arbovirus, virus respiratori.

Nell'ambito di una possibile etiologia batterica, oltre alle comuni ricerche batteriologiche su sangue e su liquor, venivano considerate in particolare le ipotesi di una patologia da *Legionella pneumophila* [1] di cui non è attualmente nota una specifica sindrome infantile; di un botulismo infantile da colonizzazione intestinale di *Cl. botulinum*, [2, 3] di una tossinfezione stafilococcica.

Si sollecitava, senza successo, la raccolta di sieri di convalescente per evidenziare movimenti anticorpali specifici verso virus e/o batteri. L'insuccesso del tentativo è da ricercarsi nella elevatissima percentuale di mortalità tra i casi segnalati e nel rifiuto dei genitori a far sottoporre a prelievi i piccoli sopravvissuti.

Esami istopatologici, i cui primi risultati venivano comunicati nel dicembre 1978, mettevano in evidenza, in alcuni dei casi esaminati, focolai di polmonite interstiziale e/o bronchiolite.

Sulla base di questi reperti il Laboratorio di Malattie Batteriche e Virali allargava la ricerca di virus respiratori ai tamponi faringei e ai pezzi autoptici di tessuto polmonare.

Le caratteristiche cliniche della sindrome, il rilevante numero dei casi, la elevatissima percentuale di mortalità richiamavano l'attenzione delle strutture sanitarie e scientifiche centrali e regionali, con l'intervento di centri universitari e ospedalieri, la costituzione di apposite commissioni e l'embricarsi di ricerche e indagini nei diversi settori, epidemiologico, chimico-clinico, microbiologico, tossicologico, anatomoistopatologico.

Dal 22 gennaio 1979, sulla base dei riscontri istopatologici polmonari, l'assessorato alla Sanità della regione promuoveva ricerche microbiologiche sulle cause di mortalità infantile per patologia respiratoria nella Regione Campania, allargando la ricerca ai bambini ricoverati nei reparti pediatrici ospedalieri con diagnosi di affezioni respiratorie.

Il laboratorio di Malattie Batteriche e Virali collaborava con i Centri Campani incaricati di tali ricerche:

- a) Laboratorio di Virologia, Ospedale Cotugno, Napoli;
- b) Istituto di Virologia Oncologica, II^a Facoltà di Medicina e Chirurgia, Napoli;
- c) Istituto di Igiene, II^a Facoltà di Medicina e Chirurgia, Napoli;
- d) Istituto di Microbiologia, II^a Facoltà di Medicina e Chirurgia, Napoli.

La collaborazione ha riguardato i seguenti punti:

- a) tipizzazione di agenti virali e batterici isolati dalle strutture regionali;
- b) invio periodico di culture primarie di rene, fornitura iniziale di linee cellulari e di ceppi virali di controllo (RS virus, Parainfluenzale 1, 2, 3) all'Istituto di Virologia Oncologica;
- c) ricerche virologiche eseguite in parallelo con l'Istituto di Virologia oncologica su tamponi farinegi, aspirato bronchiale, tessuto polmonare autoptico dei casi ricoverati alla rianimazione dell'Ospedale Santobono;
- d) attivazione di un laboratorio di virologia presso l'Istituto di Igiene della II^a Facoltà di Medicina con addestramento di personale locale alle tecniche fondamentali di isolamento, titolazione e tipizzazione virale su colture cellulari.

Una ulteriore ipotesi diagnostica contemplava la possibilità di uno stato di depressione immunitaria nei piccoli bambini ricoverati con i sintomi descritti al reparto di rianimazione.

La II^a Clinica Medica dell'Università di Roma svolgeva indagini in tal senso e il Laboratorio di Malattie Batteriche e Virali forniva a detto Istituto i sieri di 41 bambini ricoverati in rianimazione per le ricerche immunologiche del caso.

RISULTATI

Isolamenti virali

Su 81 bambini ricoverati al Centro di Rianimazione pediatrica dello Ospedale Santobono, Napoli, con diagnosi di disfunzione respiratoria e/o deficit cerebrale, dal 3 ottobre 1978 al 25 marzo 1979, sono stati effettuati isolamenti di virus in 18 casi (Tab. 1). I risultati completi sono riportati e discussi in altro lavoro del presente numero [4].

TABELLA I

Isolamento di virus in 81 bambini ricoverati in riamazione per disfunzione respiratoria e/o deficit cerebrale

N.	Caso	Sesso	Età in mesi	Esito malattia	Campioni (a)		Virus identificati
					Esaminati	Positivi	
10	M. M.	m	4	+ Ottobre 1978	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5	Coxsackie A 10 Poliovirus tipo 1
18	C. R.	m	5	+ Novembre 1978	1 2	2	Adenovirus
20	G. A.	m	8	+ Novembre 1978	1 2 3 4	1 4	Poliovirus tipo 3
25	S. V.	m	11	+ Dicembre 1978	1 2 4	1 2	Adenovirus
35	B. V.	m	8	+ Gennaio 1979	4	4	ECHO 27
38	F. G.	f	12	+ Gennaio 1979	1 2 4	2	RS virus
44	B. S.	m	9	+ Gennaio 1979	1 2 3 4	1	Herpes virus tipo 1
47	R. F.	m	8	+ Gennaio 1979	1 2 3 4 5	4 (b)	RS virus
49	D. C. M.	f	15	Sopravvissuto	1	1 (b)	RS virus
55	O. G.	m	4	+ Gennaio 1979	1 2 4 5 6	1 4 (b)	RS virus Adenovirus
56	D. V. M.	f	7	+ Gennaio 1979	4 5 6	4 (b)	Coxsackie A 9
58	I. E.	m	16	+ Febbraio 1979	1 3 4 5 6	1 4 5	Influenzale B
62	A. F.	m	10	+ Febbraio 1979	1 2 4 5 6	1	Herpes virus tipo 1
69	O. L.		18	Sopravvissuto	1	1	Herpes virus tipo 1
70	P. C.		7	Sopravvissuto	1	1	Herpes virus tipo 1
77	S. S.	m	5	+ Marzo 1979	1 4	1 (b) 4	Adenovirus
79	M. M. G.	f	8	+ Marzo 1979	1 4	1 (b) 4	Herpes virus tipo 1
80	M.		3	Sopravvissuto	1	1 (b)	RS virus

(a) 1. Tampone faringeo; 2. Tampone rettale; 3. Liquori; 4. Polmonari; 5. Corteccia temporale; 6. Bulbo.

(b) Isolamenti effettuati e/o Istituto di Virologia Oncologica, II Facoltà Medicina e Chirurgia, Napoli.

TABELLA 2

Isolamenti di batteri in 81 bambini ricoverati in reparto di rianimazione per deficit cerebrale e disfunzione respiratoria

N.	Caso	Sesso	Età in mesi	Esito malattia	Campioni (e)		Batteri identificati
					Esaminati	Positivi	
1	D. A. V.	m	8	+ Ottobre 1978	1 2 3 4 5	5	K. pneumoniae
2	G. C.	m	7	+ Ottobre 1978	1 2 3 4 5	2 5	S. aureus 2, K. pneumoniae, Ps. maltophilia, Candida
5	R. M.	f	8	+ Ottobre 1978	4 5	5	E. coli, Ent. cloacae, S. aureus, Ps. aeruginosa, Candida
6	V. A.	m	11	+ Ottobre 1978	5	5	Citrobacter freundii, Ent. cloacae
9	B. C.	f	6	+ Ottobre 1978	5	5	S. aureus
10	M. M.	m	4	+ Ottobre 1978	1 3 4 5	5	Ps. aeruginosa
11	F. I.	f	16	+ Ottobre 1978	4 5	4	Eu. lentum
13	C. S.	m	18	Sopravvissuto	1 2 3 4	1	K. pneumoniae
14	O. A.	m	11	+ Novembre 1978	1 5	2	S. aureus 80/81, Candida
15	M. E.	m	23	+ Novembre 1978	1 2 3 4 5	1	S. aureus
16	S. E.	f	5	+ Novembre 1978	1 2 3 4 5	5	Ps. aeruginosa, K. pneumoniae, Candida
						5	Candida
						1	Ps. aeruginosa, S. aureus
						1	Candida
						5	E. coli, Candida

(e) 1. Tampone faringeo; 2. Tampone rettale o liquido di lavaggio rettale; 3. Sangue; 4. Uquor 5. Polmone o aspirato bronchiale.

Segue: TABELLA 2

N.	Caso	Sesso	Età in mesi	Esito malattia	Campioni (a)		Batteri identificati
					Esaminati	Positivi	
18	C. R.	m	11	+ Novembre 1978	1 2 3 4	1 2	Candida, S. aureus S. aureus
19	M. D.	m	23	+ Novembre 1978	1 2 3 4 5	1 2 5	Candida, S. aureus S. aureus E. coli, Candida
20	G. A.	m	8	+ Novembre 1978	1 2 3 4 5	1 2 5	Candida E. coli Candida, E. coli, Ps. aeruginosa
23	V. A.	m	4	+ Novembre 1978	1 2 5	2 5	Candida, S. aureus
24	M. G.	m	4	+ Novembre 1978	1 2 5	1 5	Candida, Ps. aeruginosa, K. pneumoniae Candida,
25	S. V.	m	12	+ Dicembre 1978	3 5	5	Proteus, Candida
26	P. G.	f	12	+ Dicembre 1978	1 2 3 4 5	5 1 2	Str. pyogenes S. aureus 3 A
27	G. A.	f	10	+ Dicembre 1978	1 2 3 5	5 1	Ps. aeruginosa, E. coli, Candida S. aureus
28	F. G.	m	9	+ Dicembre 1978	1 2 3 5	5 5	Ps. aeruginosa, K. pneumoniae
29	P. A.	m	5	+ Gennaio 1979	1 2 3 4 5	5 1 5 5	Ent. cloacae S. aureus Ps. aeruginosa

(a) 1. Tampone faringeo; 2. Tampone rettale o liquido di lavaggio rettale; 3. Sangue; 4. Liquori; 5. Polmone o aspirato bronchiale.

Segue: TABELLA 2

N.	Caso	Sesso	Età in mesi	Esito malattia	Campioni (a)		Batteri identificati
					Esaminati	Positivi	
30	F. R.	f	7	+ Gennaio 1979	5	5	E. coli, Salmonella B, Candida
32	S. G.	m	22	+ Gennaio 1979	1 2 3 5	5	K. pneumoniae
33	M. R.	f	5	+ Gennaio 1979	1 2 3 4 5	1 5	Candida
35	A. G.	m	8	+ Gennaio 1979	1 2 3	2	E. coli
36	B. V.	m	8	+ Gennaio 1979	2 5	5	S. aureus
37	C. M.	f	9	+ Gennaio 1979	1 3 4 5	5	K. pneumoniae, Ps. aeruginosa, E. coli, Candida
38	F. G.	f	12	+ Gennaio 1979	1 3 4 5	1 5	Cl. freundi, Candida
44	B. S.	m	18	+ Febbraio 1979	1 2 3 5	5	S. aureus
46	T. A.	m	19	+ Gennaio 1979	1 2 3 5	4 5	Ps. aeruginosa
47	R. F.	m	8	+ Gennaio 1979	1 2 3 4 5	5	Candida
48	T. F.	f	22	+ Gennaio 1979	1 2 3 5	5	E. coli S. aureus, Ent. cloacae
49	D. A.	f	6	+ Gennaio 1979	5	5	Ps. aeruginosa, Candida
50	O. A. A.	m	30	+ Gennaio 1979	5	5	K. pneumoniae, Ps. aeruginosa, S. aureus, Candida
					1 2 3 5	5	E. coli, Ps. aeruginosa, S. aureus
					5	5	Candida, E. coli, S. aureus
					5	5	E. coli, Ps. aeruginosa, Candida

(a) 1. Tampone faringeo; 2. Tampone rettale o liquido di lavaggio rettale; 3. Sangue; 4. Liquor; 5. Polmone o aspirato bronchiale. §

Segue: TABELLA 2

N.	Caso	Sesso	Età in anni	Esito malattia	Campioni (a)		Batteri identificati
					Esaminati	Positivi	
54	D. A. F.	f	2	+	5	5	E. coli
55	O. G.	m	4	+	5	5	E. coli, Candida
56	D. V. M.	f	7	+	5	5	E. coli
57	D. C. L.	f	a. 6	+	5	5	E. coli, S. aureus, Ps. aeruginosa, Candida
58	I. E.	m	17	+	5	5	K. pneumoniae, S. aureus
59	G. V.	m	11	+	5	5	Ps. aeruginosa, Candida
62	A. F.	f	10	+	5	5	Ps. aeruginosa, Candida
63	L. R.	f	10	+	1 3 5	5	K. pneumoniae, Ps. aeruginosa
65	D. L. S.	f	4	+	1 3 4 5	5	S. aureus, Candida
66	P. G.	m	12	+	5	5	E. coli, Ent. cloacae, Candida
67	P. A.	m	8	+	5	5	E. coli, Ent. cloacae, Candida
68	B. A.	f	9	+	5	5	Ps. aeruginosa, Candida
71	P. M.	f	10	+	5	5	Ps. aeruginosa, Str. B. emol
72	L. D.	m	7	+	5	5	Ps. aeruginosa
73	C. A.	f	8	+	5	5	Ps. aeruginosa
74	A. C.	f	6	+	5	5	Ps. aeruginosa, E. coli
75	I. L.	f	8	+	5	5	E. coli

(a) 1. Tampone faringeo; 2. Tampone rettale o liquido di lavaggio rettale; 3. Sangue; 4. Liquori; 5. Polmone o aspirato bronchiale.

Isolamenti batterici

Negli stessi casi sopraindicati sono state eseguite ricerche batteriologiche per i comuni germi patogeni, aerobi ed anaerobi, su tampone faringeo, tampone rettale o liquido di lavaggio rettale, sangue, liquor e nei casi deceduti, esami su frammenti di tessuto polmonare. Tali ricerche hanno condotto all'isolamento di germi patogeni in 51 casi (Tab. 2).

In 19 casi in cui era disponibile un campione di feci o liquido di lavaggio rettale è stata eseguita la ricerca di *Clostridium botulinum*. Tale ricerca ha dato esito costantemente negativo.

In 18 casi è stata ricercata tossina botulinica nel siero e nel liquor, con esito costantemente negativo.

In 34 casi è stata eseguita la ricerca di anticorpi per la *Legionella pneumophila* con il metodo della immunofluorescenza indiretta. In 6 casi si sono riscontrati anticorpi a titolo maggiore o uguale ad 1/64 (Tab. 3).

L'esame di tessuto polmonare per la identificazione diretta di *L. pneumophila* con i metodi della immunofluorescenza e della colorazione di Giménez è stato eseguito in 28 casi con risultati negativi in tutti i campioni esaminati.

Su alcuni ceppi di *Klebsiella pneumoniae* e di *Pseudomonas aeruginosa* isolati dal polmone sono state eseguite prove di resistenza agli antibiotici allo scopo di avere indicazioni sulla omogeneità degli stipiti (Tabb. 4, 5).

I risultati completi sono riportati e discussi in altri lavori del presente numero [5-8].

TABELLA 3

Ricerca di anticorpi anti *L. pneumophila* nel siero

N.	Caso	Anticorpi LD (a) Reazione 1F1
15	M. E.	+ 1:64
19	M. D.	+ 1:256
21	A. G. I c.	+ 1:64
21	A. G. II c.	+ 1:64
26	P. G.	+ 1:128
27	G. A.	+ 1:64
31	S. G.	Negativo
48	T. F.	+ 1:128

(a) Titolazione eseguita su diluizioni di siero $\geq 1:64$.

TABELLA 4

**Saggi di resistenza agli antibiotici dei ceppi
di *Ps. aeruginosa* isolati da polmone**

N.	Caso	Car- benicillina Gentamicina	Collimicina Tobramicina
14	O. A.	s	s
15	M. E.	r	s
20	G. A.	r	s
20	G. A. II 'c.	s	s
23	V. A.	s	s
27	G. A.	s	s
29	P. A.	s	s
68	B. A.	s	s
71	P. M.	r	s
72	L. D.	r	s
73	C. A.	r	s
74	A. C.	r	s

TABELLA 5

**Saggi di resistenza agli antibiotici dei ceppi
di *K. pneumoniae* isolati da polmone**

N.	Caso	Resistenza (a)
11	F. I.	—
23	V. A.	CF, C, K, S, T, ST, A
58	I. E.	—
14	O. A.	S, ST, A
27	G. A.	Na, S
31	S. G.	A
63	L. R.	CF, C, GM, K, S, ST, A

(a) CF = cefalotina; C = cloramfenicolo; GM = gentamicina; K = kanamicina; S = streptomina; St = sulfatiazolo; A = ampicillina; T = tetraciclina; Na = acido nalidixico.

DISCUSSIONE

Reperti batterici

In nessuno dei casi esaminati si sono isolati batteri dal sangue circolante (Tab. 2). La costante assenza di germi patogeni nelle emocolture è un importante elemento contro l'ipotesi di una malattia batterica perché le forme gravi quasi costantemente presentano una viremia in fase preterminale.

Dal liquor si sono ottenuti due isolamenti batterici.

L'isolamento di *Eubacterium lentum* (caso 11) può essere attribuito ad un inquinamento all'atto del prelievo in considerazione del quadro biochimico e citologico normale del liquor.

In un paziente (caso 38) si è isolato dal liquor e dal tessuto polmonare *Pseudomonas aeruginosa*. Il doppio isolamento tenderebbe ad escludere l'ipotesi dell'inquinamento dei campioni, tuttavia trattandosi di un batterio residente della flora cutanea, il suo reperto nel liquor può essere interpretato come dovuto a trasporto passivo all'atto della puntura lombare; si citano infatti casi di meningite da pseudomonas da tale meccanismo. L'ipotesi è confortata dal quadro liquorale normale.

In 14 casi l'esame batteriologico colturale ha messo in evidenza *Ps. aeruginosa* nel tessuto polmonare sola o associata con altri microrganismi. Le infezioni da pseudomonas interessanti l'apparato respiratorio sono rare [9]. Il frequente reperto polmonare di pseudomonas nella presente casistica può essere correlato alle manovre rianimatorie a livello di apparato respiratorio, intubazione endotracheale e respirazione assistita, costantemente eseguite nei piccoli ricoverati.

Una caratteristica delle infezioni da pseudomonas in soggetti debilitati ed in bambini è l'invasione del torrente circolatorio e la sepsi. La costante negatività delle emocolture nei casi in esame fa ritenere che il reperto polmonare del germe sia solo un evento accidentale e preterminale nei piccoli bambini deceduti.

In 10 casi l'esame colturale del tessuto polmonare ha messo in evidenza *K. pneumoniae*, sola o in associazione con altri microrganismi. La Klebsiella è presente nel tratto respiratorio in circa il 5 % di soggetti normali ed è responsabile del 2 % di polmoniti batteriche che un quadro di consolidazione emorragica estesa del polmone, con un alto tasso di mortalità, nei soggetti non trattati (40-90 %) [10].

Nella presente casistica la mancanza di batteriemia e la associazione a livello polmonare di altri patogeni depongono a favore di infezioni batteriche secondarie e preterminali.

Le prove di antibiotico resistenza sui ceppi di *Pseudomonas* e *Klebsiella* isolati dai casi in esame dimostrano spettri di resistenza diversi nei

singoli ceppi e consentono di escludere una sorgente esogena di infezione unitaria dei casi.

Stafilococchi patogeni ed invasivi della specie *S. aureus* sono stati isolati dal polmone (13 casi), dal tampone faringeo (8 casi), dal tampone nasale (7 casi). L'importanza dell'isolamento è ridimensionata dalla costante assenza di batteriemia stafilococcica, caratteristica delle infezioni sostenute da questo germe. Anche il reperto polmonare di *S. aureus* nei casi in esame può essere fatto rientrare nella categoria delle infezioni batteriche secondarie preterminali. Sulla interpretazione data alla distribuzione di tipi fagici isolati nel corso dell'indagine vedi [7].

Le considerazioni esposte per le infezioni di *Klebsiella*, *Pseudomonas* e *stafilococcus* sono a maggior ragione applicabili agli isolamenti di germi potenzialmente patogeni isolati dai casi in esame, dei generi *Escherichia*, *Enterobacter*, *Streptococcus*, *Citrobacter*, *Candida*. La presenza saltuaria di questi germi in tamponi faringei, rettali e tessuto polmonare può essere interpretata come colonizzazione preterminale dei piccoli pazienti. In particolare l'isolamento di lieviti del genere *Candida* è stato considerato per i soli casi e nei campioni in cui era evidente una colonizzazione massiva da parte del microorganismo.

Il reperto sierologico di anticorpi per *L. pneumophila* riveste un notevole interesse epidemiologico in considerazione della novità assoluta del reperto in piccoli bambini [6].

Non è possibile definire il significato diagnostico di questo reperto sierologico in relazione alla sindrome in esame per una serie di considerazioni: la ricerca diretta di *L. pneumophila* nel tessuto polmonare ha dato costantemente esito negativo; la ricerca di variazione di titolo anticorporeale nei casi in esame non è stata possibile per il decorso rapido e fatale della sindrome; il titolo anticorporeale, poco elevato, non consente illazioni sul periodo del possibile contagio da *L. pneumophila*.

Reperti virali

Il reperto di virus in 18 casi su 81 osservati [4] può apparire suggestivo per una etiologia virale della sindrome, in quanto è nota la difficoltà di isolamenti virali da infezioni umane. L'esame dei differenti reperti servirà ad inquadrarne il significato in relazione alla sindrome in studio.

In due casi è stato isolato un virus *Coxsackie* da tessuto nervoso (casi 10, 58). Nel primo caso il virus è stato anche isolato dal liquor, dal tessuto polmonare, dai tamponi faringeo e rettale. Nel secondo caso anche dal tessuto polmonare e dal tampone faringeo [4].

I virus *Coxsackie* producono una varietà di malattie che includono: la meningite asettica, l'erpangina, la pleurodinia, la encefalomiocardite [11].

Nei due casi in esame il reperto del virus a livello di tessuto nervoso, confermato dall'isolamento in altri organi e tessuti, è un indice incontrovertibile di infezione in atto e generalizzata.

In 5 casi è stato isolato un *Adenovirus* da tessuto polmonare (casi 20, 35, 55, 56, 77) *Adenovirus* sono stati associati a sindromi che includono: malattia respiratoria acuta indifferenziata, febbre faringocongiuntivale, faringite essudativa non-streptococcica, polmonite primaria atipica. Nei casi in esame, l'isolamento del virus dal tessuto polmonare, sede atipica nei confronti delle sedi adenoidea e tonsillare, dove il virus è presente in soggetti sani, è coerente con la diagnosi di una possibile polmonite primaria atipica.

Herpes virus tipo 1 è stato isolato dal tessuto polmonare di 3 casi (casi 47, 69, 79). L'infezione iniziale da herpes virus è descritta in bambini dai 6 ai 18 mesi di età, il più spesso in forma inapparente. Nel 10-15 % dei casi si sviluppa una malattia, usualmente una gengivo-stomatite. Infezioni più gravi, rare, includono: infezioni neonatali generalizzate, meningoencefalite, eczema erpetico. Nei 3 casi indicati il reperto polmonare del virus potrebbe indicare una infezione generalizzata da herpes virus.

In 5 casi (casi 44, 47, 49, 55, 80) è stato isolato virus Respiratorio Sinciziale da tampone faringeo. In due casi era contemporaneamente isolato un adenovirus (caso 47) ed un herpesvirus (caso 55) dal tessuto polmonare. Benché RS virus sia stato isolato in piccoli bambini con forme vere di broncopolmonite, il virus è prevalente in piccoli bambini sani viventi in comunità [12]. In uno studio caso-controllo il 50 % di bambini ospedalizzati in assenza di malattia respiratoria svilupparono sierconversione per RS virus, in confronto del 7 % di sierconversione riscontrato nel gruppo controllo di bambini non ricoverati. È anche noto che l'infezione spesso asintomatica è precoce. In una indagine, il 77 % dei bambini di 3 anni di età presentava anticorpi neutralizzanti per RS virus. I dati sulla circolazione del virus rendono incerto il significato patologico da attribuire al reperto di virus RS nel faringe dei 5 casi in esame. È noto d'altra parte che il virus è reperibile nella gola dei soggetti solo per breve periodo dopo l'infezione. Si deve quindi ritenere che i 5 soggetti in esame abbiano contratta l'infezione nei giorni immediatamente precedenti l'esecuzione del tampone faringeo.

In due casi (casi 18, 25) sono stati isolati virus Polio rispettivamente di tipo 1 e tipo 3 da tampone rettale e rettale e faringeo. In un caso (caso 38) è stato isolato un ECHO virus tipo 27 da tampone rettale. In un caso (caso 62) è stato isolato virus influenzale tipo B da tampone faringeo.

Anche gli ultimi quattro isolamenti riferiti non possono essere correlati con la sindrome clinica in esame in assenza di isolamenti da organi interni e in assenza del rilievo del fenomeno di sierconversione.

Gli isolamenti di virus RS invitati dal laboratorio dell'Ospedale Cotugno all'Istituto Superiore di Sanità per conferma di identificazione (10 casi), non hanno dato sviluppo a virus.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Gli isolamenti batterici e virali effettuati nel laboratorio di Malattie Batteriche e Virali dell'Istituto Superiore di Sanità consentono le seguenti conclusioni:

- 1) non si è individuato un agente infettante comune, batterio o virus, negli 81 casi esaminati;
- 2) i singoli batteri isolati possono ritenersi con ragionevole certezza agenti di infezioni secondarie preterminali;
- 3) i singoli virus isolati da tessuto cerebrale e/o da tessuto polmonare (Coxsackie A9 e A10, Adenovirus, Herpesvirus tipo 1) possono ritenersi agenti di infezioni primitive in atto nei soggetti esaminati.

Si deduce che la sindrome del Santobono non appare unificabile sotto una etiologia batterica o virale, comune, anche se i reperti indicano la presenza di infezioni virali primarie e di superinfezioni batteriche secondarie in una significativa percentuale di casi.

Per gli evidenti caratteri clinici ed anatomopatologici di uniformità nei casi ricoverati al Centro di rianimazione pediatrica campano e in mancanza di una etiologia batterica o virale unitaria, due ipotesi unificanti ai fini di una individuazione della sindrome meritano ulteriori controlli:

(i) l'ipotesi di una encefalopatia acuta tossica, frequentemente associata ad infezioni virali, di cui la sindrome di Rye è una forma ben inquadrata [13, 14], è suggerita da reperti chimico-clinici ed isto-chimici altrove riferiti;

(ii) l'ipotesi di una sindrome anafilattica di natura da determinarsi è suggerita dai reperti autoptici e clinici di edema, stasi ed emorragie viscerali e dalla associazione in alcuni casi di una vaccinazione difto-tetanica di richiamo precedente la sindrome.

BIBLIOGRAFIA

1. BRENNER, D. J., STEIGERWALT, A. G. & MC DADE, J. E. 1979. Classification of the Legionnaires' disease bacterium: *Legionella pneumophila*, genus novum, species nova, of the family *Legionellaceae*, familia nova. *Ann. Intern. Med.* **90**: 656-658.

2. MIDURA, J. F. & ARNON, S. S. 1976. Infant botulism. *Lancet*, ii: 934-936.
3. PICKETT, J., BERG, B., CHAPLAIN, E. & BRUNSTETTER-SCHAFFER, M. A. 1976. Syndrome of botulism in infancy: clinical and electrophysiologic study. *N. Engl. J. Med.* 295: 770-772.
4. VECCHIO, G., FUSCO, A., FERRENTINO, M., MANCINI, M., VERANI, P., RAPICETTA, M., ARANGIO RUIZ, G., LOPES, M. C., CIUFOLINI, M. G., DONATELLI, I., MORACE, G., NICOLETTI, L. & ROZERA C. 1981. Isolamento e identificazione degli agenti eziologici virali in un episodio di mortalità infantile verificatosi a Napoli dall'ottobre 1978 all'aprile 1979. *Ann. Ist. Super. Sanità.* 17: 789-802.
5. CASTELLANI PASTORIS, M. & FANTASIA MAZZOTTI, M. 1981. Ricerca di *Clostridium botulinum* e di altri batteri patogeni Gram-negativi in campioni fecali di soggetti deceduti in età pediatrica. *Ann. Ist. Super. Sanità.* 17: 831-836.
6. FANTASIA MAZZOTTI, M. & CASTELLANI PASTORIS, M. 1981. Ricerca di *Legionella pneumophila* e di altri batteri patogeni Gram-negativi in campioni autoptici polmonari di bambini deceduti in seguito ad affezioni respiratorie acute. *Ann. Ist. Super. Sanità.* 17: 837-842.
7. OREFICI, G. & SCOPETTI, F. 1981. Diffusione di *S. aureus* in un ambiente ospedaliero ad alto rischio. *Ann. Ist. Super. Sanità.* 17: 843-848.
8. OREFICI, G., SCOPETTI, F., OCCHIONERO, M. & BIONDI, F. 1981. Isolamento e caratterizzazione di ceppi batterici in soggetti ricoverati in un reparto di rianimazione pediatrico. *Ann. Ist. Super. Sanità.* 17: 819-830.
9. PENNINGTON, J.E., REYNOLDS, H.Y. & CARBONE, P.P. 1973. Pseudomonas pneumonia. *Am. J. Med.* 55:155-160.
10. JAWETZ, E., MELNICK, J.L. & ADELBERG, E.A. 1978. *Review of Medical Microbiology* 13th ed., p. 309, Lange Medical Publications, Los Altos, California.
11. JAAR, J.H.S. & MEASROCH, V. 1973. Coxsackie virus infections of the newborn. *Progr. Med. Virol.* 15:42-62.
12. KIM, H.V., ARROBIO, J.O., BRANDT, C.D., JEFFRIES, B.C., PYLES, G., REID, J.L., CHANOCK, R.M. & PARROT, R.H. 1973. Epidemiology of respiratory syncizial virus infection in Washington, DC. I. Importance of the virus in different respiratory tract disease syndromes and temporal distribution of infection. *Am. J. Epidemiol.* 98:216-225.
13. COREY, L., RUBIN, R.J., HATTWICK, M.A.W., NOBLE, G.R. & CASSIDY, E. 1976. A nation wide outbreak of Reye's syndrome. *Am. J. Med.* 61:615-625.
14. PARTIN, J.C., HUBERT, W.K., PARTIN, J.S., JACOB, R. & SAALFELD, K. 1976. Isolation of influenza A virus from liver and muscle biopsy specimens from a surviving case of Reye's syndrome. *Lancet*. ii: 599-602.