

- 2) *multiplex*-PCR per i Coronavirus 229E e OC43;
- 3) *multiplex*-PCR per i virus Parainfluenzali 1-4 (H1PV 1-4);
- 4) *emi-nested*-PCR per la determinazione delle sequenze geniche dei Rhinovirus;
- 5) *nested*-PCR per la ricerca di sequenze geniche dei Metapneumovirus umani (HPMV).

Risultati. La diagnosi virologico-molecolare ha evidenziato, nel 49.1% (53/108) dei campioni biologici analizzati la presenza di acido nucleico di uno o più degli agenti virali indagati. In particolare, i Coronavirus (33.3%) e i Rhinovirus (30%) erano i virus principalmente identificati ($p < 0.05$), seguiti da HMPV (9.4%), RSV (7.5%), Influenza A e H1PV-3 (5.7%), Influenza B (3.8%); nel 13.2% sono state evidenziate co-infezioni virali.

Il 51.4% delle infezioni delle *alte vie respiratorie* ed il 41.7% delle infezioni delle *basse vie respiratorie* era associata ad una eziologia di tipo virale, con Rhinovirus e Coronavirus come agenti eziologici principalmente coinvolti nelle prime, mentre Coronavirus (40%) e virus influenzali (26.6%) nelle seconde.

Conclusioni. I risultati ottenuti confermano la rilevanza dei virus come agenti eziologici delle ARI in età pediatrica, anche nel periodo primaverile. La caratterizzazione virologico-molecolare ha permesso sia di valutare la distribuzione epidemiologica stagionale dei virus associati alle ARI, sia di correlare patogeni e manifestazioni cliniche nei soggetti in età pediatrica.

095

SORVEGLIANZA DELL'INFLUENZA IN ETÀ PEDIATRICA (2004-2005)

Amendola A.,¹ Perin S.,² Ruzza ML.,³ Farina C.,² Pariani E.,¹ Podestà AF.,³ Zappa A.,¹ Tanzi E.¹

¹Dipartimento di Sanità Pubblica - Microbiologia - Virologia dell'Università degli Studi di Milano, Milano
²UO Microbiologia, ³UO Pediatria - AO 'Ospedale San Carlo Borromeo' - Milano

Introduzione. Le ARI (*Acute Respiratory tract Infection*) sono patologie sostenute da diversi agenti eziologici in grado di causare un quadro clinico con sintomatologia a carico dell'apparato respiratorio. Gli agenti eziologici spesso associati ad infezioni delle basse vie aeree, sono i virus influenzali.

Materiali e metodi: Durante la stagione influenzale 2004-2005 sono stati arruolati 100 pazienti (51 maschi e 49 femmine, età media: 19 mesi) con sintomatologia correlabile ad infezione respiratoria acuta afferenti ai servizi di Pronto Soccorso e Pediatria dell'A.O. San Carlo Borromeo di Milano. Ad ognuno di essi è stato effettuato un prelievo (aspirato naso-faringeo), sottoposto a diagnosi virologica mediante: 1) *multiplex nested* PCR per la simultanea rilevazione di frammenti genici codificanti per la proteina di matrice dei virus influenzali A e B; 2) *multiplex nested* PCR per l'amplificazione di frammenti genici dell'emoagglutinina dei virus influenzali di tipo A (H1 e H3); 3) analisi di sequenze del gene HA del virus influenzale di tipo A.

Risultati. La ricerca di sequenze geniche dei virus influenzali A e B ha permesso di rilevare nel 12% (12/100) dei soggetti una infezione da virus influenzale A, e nel 4% (4/100) da virus influenzale di tipo B. La sottotipizzazione dei campioni infetti con virus influenzale A, ha evidenziato 4/12 (33.3%) campioni positivi per H1 e 8/12 (66.7%) positivi per H3. Il sequenziamento genomico di campioni A/H3N2 positivi ha mostrato una elevata omologia (99%) con i ceppi virali isolati

nella stagione 2004-2005 e con il ceppo vaccinale (California-like) utilizzato in tale stagione influenzale.

Conclusioni. La diagnosi molecolare di infezione virale ha consentito di effettuare una sorveglianza virologica in tempo reale dei patogeni maggiormente correlati ad infezioni respiratorie in età pediatrica. Inoltre, l'identificazione dei match antigenici tra ceppi vaccinali ed epidemici contribuisce all'approfondimento delle dinamiche di evoluzione e di diffusione dei virus influenzali.

096

ENTERITI DA ASTROVIRUS E NOROVIRUS IN ETÀ PEDIATRICA: UN ANNO DI SORVEGLIANZA

Farina C.,¹ Gibelli M.,² Marini F.,¹ Pellizzari ML.,¹ Podestà AF.,² Scalfaro C.²

¹UO Microbiologia,
²UO Pediatria - AO 'Ospedale San Carlo Borromeo' - Milano

Introduzione. Sebbene l'eziologia virale delle enteriti sia stata prospettata già 50 anni fa, esse costituiscono ancora oggi una patologia largamente sottostimata.

Accanto a virus il cui ruolo eziologico è stato da tempo dimostrato (Enterovirus, Adenovirus 40 e 41 e Rotavirus) soprattutto in soggetti di età pediatrica od in pazienti immunocompromessi, esistono attualmente evidenze clinico-epidemiologiche relative al coinvolgimento di altri virus, quali i Calicivirus (Norwalk-like e Sapporo-like virus), e gli Astrovirus, in episodi sporadici e/o epidemici di gastroenterite.

Materiali e metodi. I campioni fecali di 292 bimbi ricoverati presso l'UO Pediatria dell'AO 'Ospedale San Carlo Borromeo' dal marzo 2005 a febbraio 2006 sono stati esaminati per la ricerca di *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp., Rotavirus, Astrovirus e Norovirus 1 e 2. Per la ricerca di Astrovirus e di Norovirus sono stati utilizzati immunodosaggi enzimatici in fase solida: IDEIA Norovirus (Dako Cytomation Ltd, Ely, UK) ed il dosaggio immunoenzimatico amplificato qualitativo Amplified IDEIA Astrovirus (Dako Cytomation).

I test utilizzano un'associazione di anticorpi mono- e policlonali genere-specifici per i Norovirus di genogruppo 1 e 2 e per Astrovirus per i quali, inoltre, è prevista l'amplificazione della marcatura.

Risultati. Sono stati complessivamente identificati 9 casi (3.1%) di infezione da Astrovirus, 4 (1.4%) da Norovirus 1 e 6 (2.1%) da Norovirus 2. I risultati sono compendati in tabella, che riporta l'andamento stagionale dei casi osservati.

Mese	Astrovirus	Norovirus 1	Norovirus 2
Marzo	-	1	1
Aprile	1	3	-
Maggio	4	-	1
Settembre	1	-	-
Dicembre	2	-	-
Gennaio	-	-	2
Febbraio	1	-	4

Conclusioni. I dati del nostro Centro, per quanto ancora preliminari, sono significativi per quanto attiene alle forme sporadiche di enterite da Noro- e Astrovirus, mostrando come la circolazione di questi virus, prevalentemente inverno-primaverile (15/23 casi tra dicembre e marzo), non sia circoscritta esclusivamente ad episodi epidemici, ma possa essere descritta routinariamente nella pratica clinica.