

FULL PAPERS

New viral gastrointestinal agents associated with paediatrics illness

Sara Giordana Rimoldi¹, Rosaria Bartolone¹, Nunzia Calvagna¹, Dario Dilillo²,
Maria Rita Gismondo¹, Alessandra Lombardi¹, Nadia Zanchetta¹, Gian Vincenzo Zuccotti¹

¹Unità Operativa di Microbiologia AO Polo Universitario "L.Sacco", Milano, Italy

²Clinica Pediatrica "L.Sacco", Milano, Italy

Key Words: Noroviruses, Bocaviruses, gastroenteritis

Infezioni gastroenteriche sostenute da patogeni emergenti in età pediatrica

SUMMARY

Objective

Aim of our study was investigate the presence of enteric viruses like Norovirus, Bocavirus and Rotavirus in hospitalized children belong to Paediatrics Clinics of L. Sacco Hospital.

Material and methods

150 faecal samples were investigated from January 2008- 2009, by PCR real time for Norovirus and Bocavirus; Rotavirus was detected by enzyme immunoassay.

Results

We obtain a positive result on total samples in percentage of 36%: Rotaviruses are estimated to cause more than 20% of gastroenteritis cases; Noroviruses 7.3% cases; Bocaviruses 6.6% cases. Rotaviruses infections occurred in children 1-4 years of age and for 2 cases at 7 and 13 years old. Illness typically happened in the cooler months from January to March even if there were few positive cases in September/October. Noroviruses and Bocaviruses infections occurred in children 1-2 years of age and their seasonality were respectively from September to December and from January to March for Bocaviruses.

Conclusions

The present results point out the importance to detect new viral gastrointestinal agents associated with paediatric illness.

Received January 29, 2009

Accepted March 3, 2009

INTRODUZIONE

La diarrea intesa come aumento della frequenza, del volume e della fluidità delle evacuazioni è un sintomo appartenente a varie condizioni morbose di cui sono noti milioni di casi/anno, tanto da rappresentare un grosso problema di sanità pubblica, per le visite specialistiche necessarie e i ricoveri ospedalieri conseguenti.

La causa infettiva di diarrea nota come gastroenterite (GE) è tra i maggiori responsabili di morbosità e mortalità nel mondo in tutte le fasce d'età, anche se sono più colpite quelle agli estremi della vita, tanto da risultare un grosso problema nosocomiale nei reparti pediatrici e geriatrici (1).

In Italia, nonostante l'elevata morbilità di tale patologia, manca di un sistema organico di sorveglianza nazionale delle patologie acute del tratto gastroenterico in età infantile, non permettendo

un'accurata conoscenza dell'epidemiologia italiana, tanto che gastroenteriti non adeguatamente diagnosticate rimangono di causa sconosciuta.

Dalla letteratura emerge che le GE infantili endemiche siano dovute per il 70% ad agenti virali, un 30% sostenuta da batteri e solo 3% siano di natura parassitaria.

I virus maggiormente responsabili di GE sono Rotavirus, Adenovirus, Norovirus e Astrovirus. Possono dare anche sintomatologia gastroenterica anche gli Enterovirus specialmente con coxachie ed Echovirus; Bocavirus, identificati inizialmente come virus espiratori che possono dare sintomatologia gastroenterica (2).

Caratteristica che accomuna tali patogeni è la loro struttura a RNA, eccezion fatta per Bocavirus e Adenovirus che sono a DNA (3, 4).

Il meccanismo patogenetico che porta a malattia è

Corresponding author: Sara Giordana Rimoldi

Ospedale "L. Sacco" - Laboratorio Microbiologia

Via G.B. Grassi, 74 - 20155, Milano, Italy

E-mail: rimoldi.sara@hsacco.it

per tutti dovuto all'infezione da parte dei virus citati degli enterociti dell'epitelio villosa del piccolo intestino, con conseguente replicazione nelle cellule epiteliali, distruzione delle stesse e trasudazione dei liquidi e dei Sali nel lume intestinale. Il danno morfologico conseguente porta all'emissione di feci non formate per più volte nell'arco della giornata. Infatti, anche se la maggior parte delle infezioni gastroenteriche virali è asintomatica, in quelle sintomatiche la diarrea è il sintomo più frequente. La durata della stessa può variare da patogeno a patogeno: 5/7 giorni per Rotavirus, fino a due settimane nel caso di Adenovirus.

MATERIALI E METODI

Per questo studio, condotto nel periodo compreso tra Gennaio 2008 e Gennaio 2009, sono stati raccolti 150 campioni fecali di pazienti pediatriche provenienti dalla Clinica Pediatrica dell'Azienda Ospedaliera Polo Universitario L.Sacco, dove erano stati ricoverati per gastroenterite acuta.

I pazienti selezionati presentavano una sintomatologia propriamente gastroenterica, con diarrea o dissenteria profusa e vomito della durata di più giorni, febbre, disidratazione. Tutti i pazienti arruolati sono stati valutati mediante lo Score di classificazione della severità clinica della gastroenterite in lieve, moderata e grave secondo Ruska e Vesikari (5).

Tale score di valutazione della gravità delle diarreie permette di assegnare un punteggio sulla base di parametri clinici che riguardano la durata della diarrea (giorni), le scariche diarroiche per die, il numero dei giorni di vomito, febbre, disidratazione ed eventuale terapia idratante osservata per os o mediante ospedalizzazione

I campioni raccolti venivano testati dapprima mediante coprocultura per la ricerca di *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* e *Yersinia*; successivamente venivano testati per Rotavirus mediante la ricerca dell'anti-

gene specifico (Meridian).

Bocavirus e Norovirus sono stati testati mediante Real time PCR (Argene, Francia)

RISULTATI

I dati ottenuti dal presente studio eseguito su pazienti pediatriche hanno documentato un ruolo importante dei patogeni virali emergenti testati nel sostegno delle infezioni gastroenteriche. Come è possibile osservare in Tabella 2, da una valutazione condotta su 150 campioni fecali pervenuti al Laboratorio di Microbiologia e Virologia da pazienti pediatriche ricoverati presso la Clinica Pediatrica dell'A.O e Polo Universitario L.Sacco tra Gennaio 2008 e Gennaio 2009, è emerso che 32 campioni testati erano positivi per Rotavirus; (21.3%); 11 positivi per Norovirus (7.3%); 10 positivi per Bocavirus (6.5%). La percentuale di campioni risultati positivi per virus è stata del 36%; in soli due casi i campioni erano positivi per batteri, rispettivamente *C. difficile* e per *Salmonella* (1.3%)

Nel Grafico 1, si mostra la distribuzione per età dei pazienti positivi per Norovirus (colonna blu) e Bocavirus (colonna rossa). Un solo paziente con test per Bocavirus positivo aveva un'età inferiore al mese di vita, due pazienti con 3 mesi di vita, 5 pazienti avevano 9 mesi; non si sono avute positività per Bocavirus a 2, 5, 12, 18 e 24 mesi.

Il test per Norovirus è risultato positivo per 3 pazienti sotto il mese di vita, 2 pazienti di 2 mesi, 3 pazienti rispettivamente di 5, 12, 18 e 24 mesi. Nessun paziente è risultato avere una positività per Norovirus all'età di tre mesi.

Tabella 2. Frequenza e distribuzione delle infezioni virali in pazienti pediatriche ricoverati per gastroenterite nel periodo Gennaio 2008-Gennaio 2009

Microrganismo	Norovirus	Bocavirus	Rotavirus
Frequenza[%]	7,3%	6,5%	21,3%
Distribuzione	11 (150)	10 (150)	32(150)

Tabella 1. Caratteristiche dei principali agenti virali implicati nelle infezioni gastroenteriche

Virus	Segni e sintomi	Incubazione	Durata	Modalità d'infezione	Stagionalità
Astrovirus	Sindrome simile ad una lieve infezione da Rotavirus	1-3 giorni	2-3 giorni	Acqua, cibo	Mesi invernali
Adenovirus	Diarrea	8-10 giorni	1-2 settimane	Trasmissione oro-fecale	Prevalenza nei mesi estivi
Bocavirus	Sintomi respiratori e gastroenterici	1-4 giorni	2-10 giorni	Trasmissione aerogena	Mesi invernali
Rotavirus	Diarrea acquosa, vomito, febbre > 39 °C	1-3 giorni	5-7 giorni	Trasmissione oro-fecale	Novembre - Marzo
Norovirus	Vomito ad inizio acuto, diarrea, crampi addominali, occasionalmente febbre, mialgie e cefalea	12-17 ore	1-2 giorni	Cibi, superfici infette, contatto persona-persona	Mesi invernali

Nel Grafico 2 sono state, invece, riportate le sole distribuzioni per età dei pazienti positivi al test per Rotavirus: tali pazienti avevano un'età maggiore rispetto a quelli precedentemente mostrati nel Grafico 1 (14 casi avevano un anno d'età; 7 avevano 2 anni d'età, 5 avevano 3 anni d'età, 2 avevano 4 anni e a uno solo caso rispettivamente 7 e 13 anni).

Non si sono riscontrate positività all'età di 5, 6, 8, 9, 10, 11 e 12 anni. È stata quindi eseguita una valutazione della stagionalità di Rotavirus, Norovirus e Bocavirus. La positività massima è stata raggiunta tra Gennaio e Febbraio (Grafico 3); nei mesi di Marzo, Aprile e Maggio c'è stata una diminuzione e quindi una ripresa lieve a Settembre ed Ottobre.

Nel Grafico 4 è stata rappresentata la stagionalità complessiva di tutti i patogeni considerati.

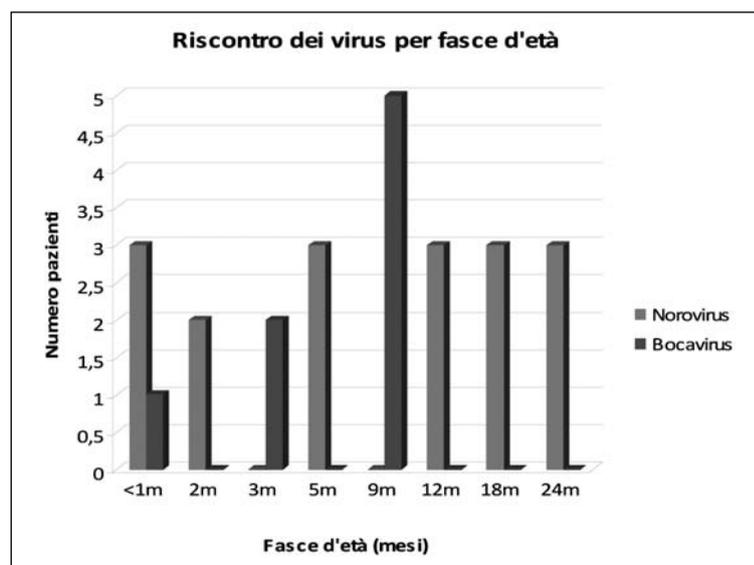


Grafico 1. Valutazione per fasce d'età dei pazienti al test per Norovirus e Bocavirus

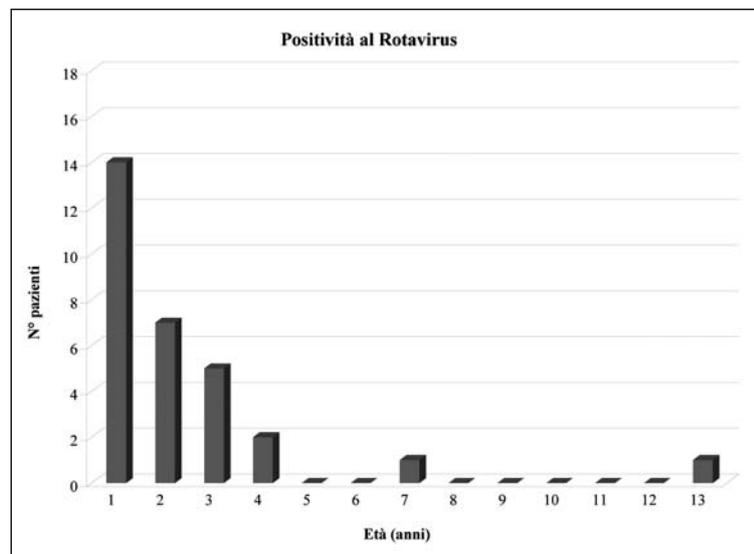


Grafico 2. Valutazione per anni d'età dei pazienti risultati positivi al test per Rotavirus

All'interno delle positività per i rispettivi patogeni considerati sono state riscontrate delle coinfezioni: 7 pazienti dei 32 positivi a Rotavirus risultavano positivi sia a Norovirus (1 caso) che a Bocavirus (6 casi).

DISCUSSIONE

Diversi sono gli agenti eziologici responsabili di gastroenterite virale (43) e scarsi sono i sistemi di sorveglianza in grado di documentare nel nostro Paese l'epidemiologia delle infezioni gastroenteriche in età pediatrica. Notevole interesse nella letteratura internazionale stanno acquisendo i Norovirus e Bocavirus (44), considerati patogeni emergenti nelle infezioni gastroenteriche.

Il nostro studio, che ha coinvolto attivamente l'U.O. Complessa di Microbiologia e Virologia e la Clinica

Pediatria dell'A.O. Polo Universitario L Sacco, prevedeva l'ampliamento dello screening del pannello dei virus enterici coinvolti nelle gastroenteriti pediatriche, permettendo così di rilevare un'alta incidenza di tali agenti eziologici nei pazienti di età inferiore ai due anni, anche in assenza di epidemia (45). I dati da noi osservati hanno reso possibile la rilevazione di casi sporadici di infezione da NoV in un periodo di osservazione compreso tra Settembre-Dicembre 2008 con 10 casi positivi riscontrati e supportati da sintomatologia propriamente gastroenterica, non osservata invece nell'inverno precedente.

La stagionalità osservata è in linea con quanto osservato in letteratura (46).

Significativa è la percentuale di coinfezioni sostenute da Rotavirus vs Norovirus e Rotavirus vs Bocavirus (6). Per quanto la tendenza di pediatri e medici di base a fronte di diarrea e disenteria sia di attendere la risoluzione della malattia (se il patogeno identificato con test batteriologici non rientra tra quelli maggiormente aggressivi e invasivi, come *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Shigella* spp., *Escherichia coli*), appare importante poter inserire nella routine di laboratorio lo screening di patogeni quali quelli da noi indagati al fine di poter assegnare un agente eziologico a tutte quelle GE di causa sconosciuta.

Tale informazione è utile sia per una valutazione epidemiologica locale dei patogeni circolanti, sia per evitare l'uso di rimedi farmacologici

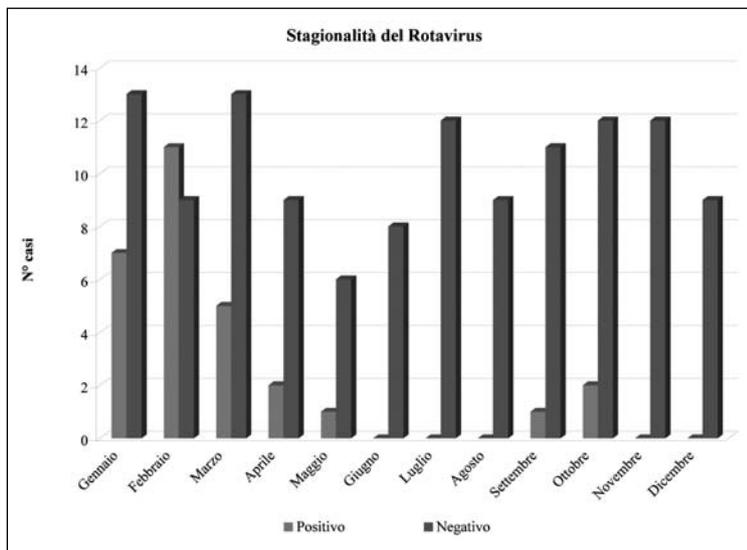


Grafico 3. Valutazione della stagionalità del Rotavirus osservata nell'anno 2008

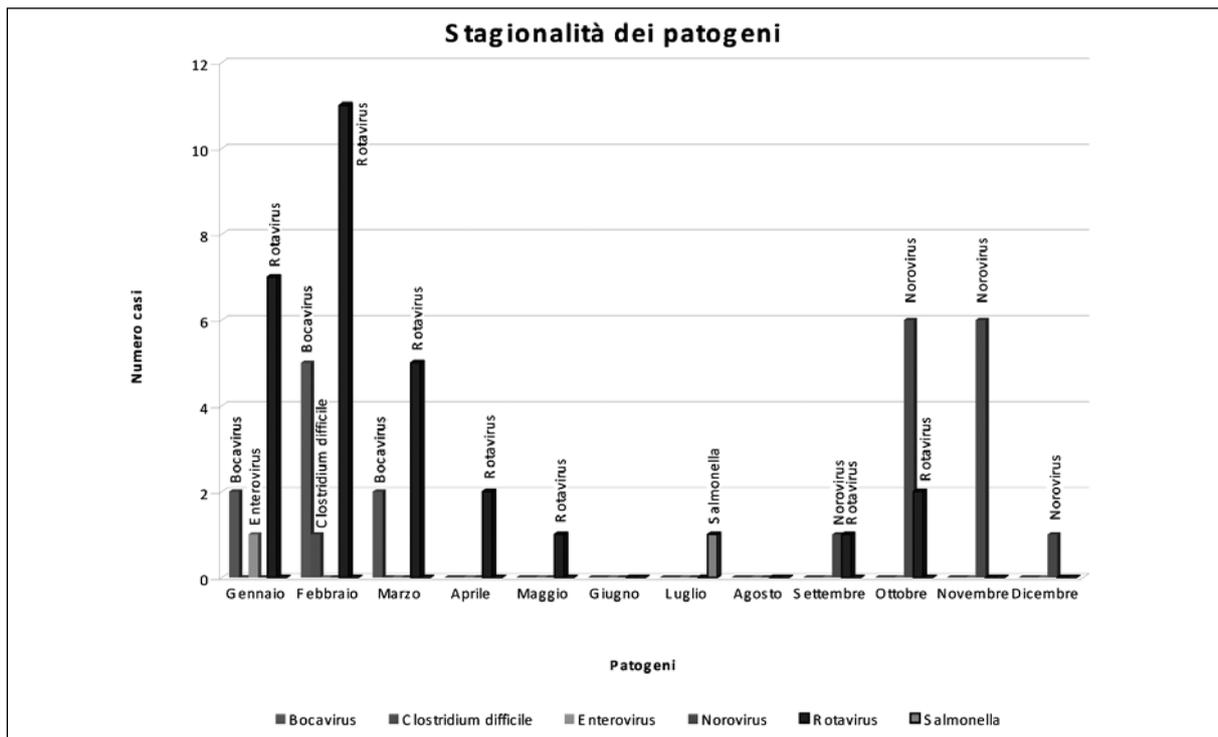


Grafico 4. Valutazione della stagionalità dei patogeni indagati osservata nell'anno 2008

BIBLIOGRAFIA

- Albuquerque MC, et al. Human Bocavirus infection in children with gastroenteritis, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2007 Nov; 13(11): 1756-8
- Baez NR, et al. Astrovirus, Adenovirus and Rotavirus in hospitalized children: prevalence and association with gastroenteritis. *J of pediatric gastroenterology and nutrition*; 35(1), 2002
- Campe H, et al. Role of Human Bocavirus infections in outbreaks of gastroenteritis. *J clin virol.* 2008; 43(3): 340-342
- Colomba C, et al. *Emerging Infectious Diseases*; Norovirus and Gastroenteritis in hospitalized children, Italy. 2007 (13): 1389-1391
- Esposito S, et al. Impact of Human Bocavirus on children and their families *J Clinical Microbiology* 2008;46(4):1337-1342
- Koh H, et al. Coinfection of viral agents in Korean children with acute watery diarrhea. *J Korean Med Sci.*2008; 23:937-940
- Maggi F, et al. Human Bocavirus in Italian patients with respiratory diseases. *J Clin Virology* 2007; 38: 321-325
- Ruska T, Versikari T. Rotavirus disease in Finnish children: use of numerical scores for clinical severity of diarrhoeal episodes. *Scand J Infect Dis*, 1990; 22:259-267
- Santos R, et al. Astrovirus infection in children living in the Central West region of Brasil, 2007; 102(2): 209-213