

Norovirus circulation in pediatric patients

Sara Giordana Rimoldi¹, Cristina Pagani¹, Fabrizio Stefani², Nadia Zanchetta¹, Gian Vincenzo Zuccotti³, Ilaria di Bartolo⁴, Franco Ruggeri⁴, Maria Rita Gismondo¹

¹ Unità Operativa di Microbiologia e Virologia Azienda Ospedaliera e Polo Universitario Luigi Sacco

² Dipartimento di Biotecnologie e Bioscienze, Università Bicocca Milano

³ Clinica pediatrica A.O. e Polo Universitario L.Sacco

⁴ Dipartimento di Sanità alimentare ed animale, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Key words: Norovirus, sequencing, circulating strands, paediatric patients

Valutazione dei ceppi circolanti di Norovirus in pazienti pediatrici ricoverati per gastroenterite

SUMMARY

An eighteen-month study (2008-2009) was carried out on patients, aged on average 30 months, admitted with gastroenteritis to the Paediatric Unit of the L. Sacco Hospital in Milan, Italy. Faecal samples of 154 patients were investigated for Rotavirus, Norovirus, Adenovirus, Enterovirus and Bocavirus. A total of 25 norovirus positive samples were selected for nucleotide sequence analysis, that allowed identify GII.2, GII.3 and GII.4 2006 virus variants (06 a, 06 b).

INTRODUZIONE

Dal 2006 l'Unità Operativa Complessa di Microbiologia e Virologia dell'Azienda Ospedaliera Luigi Sacco in collaborazione con la Clinica Pediatrica dello stesso ente ha messo in atto una sorveglianza delle infezioni gastrointestinali in pazienti pediatrici ricoverati per gastroenterite acuta (4, 5); con il presente lavoro ci siamo prefissati di valutare l'epidemiologia dei ceppi circolanti di Norovirus mediante analisi di sequenza.

METODI

In un periodo compreso tra Gennaio 2008 e Ottobre 2009 sono stati collezionati 154 campioni fecali di pazienti pediatrici (età media 30 mesi, 80% maschi) ricoverati per gastroenterite acuta, saggiati per *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Clostridium difficile*, Rotavirus, Norovirus, Bocavirus, Adenovirus, Enterovirus. I campioni risultati positivi alla real time PCR per Norovirus (Argene) sono stati sottoposti a RT/PCR impieganti due coppie di primers sulla regione capsidica ORF2 specifici per il genogruppo II (G2SKF/G2SKR) e I (G1SKF/G1SKR) di Norovirus umano e successiva PCR di sequenza. La comparazione delle sequenze nucleotidiche è stata eseguita con quelle depositate in banca dati (NCBI) (1).

RISULTATI

Venticinque campioni fecali risultati positivi per Norovirus in real time, sono stati saggiati con RT/PCR dando origine a una banda distinta di DNA in gel di agarosio della dimensione di circa 310 coppie di basi. L'analisi di sequenza, tuttavia, è stata possibile solo su 10 campioni.

La comparazione delle sequenze ottenute con quelle di riferimento nella banca dati ha rilevato un'identità nucleotidica del 100% confermando il coinvolgimento dello stesso ceppo virale.

In 6 dei 10 casi sottoposti a sequenziamento (60%) è stata documentata la presenza del ceppo di Norovirus umano (Lordsdale) di genogruppo GII.4, variante 2006 b (GII.4 2006b), ceppo circolante in Europa durante il secondo semestre del 2006. Altri 2 ceppi, invece, hanno mostrato un'elevata omologia con il genogruppo GII.4 variante 2006a (20%), che ha circolato nel primo semestre dello stesso anno. Due casi ulteriori si sono rivelati positivi per il ceppo GII.2 (10%) e GII.3 (10%) (Tabella 1).

CONCLUSIONI

I risultati ottenuti dall'analisi di sequenza di casi sporadici Norovirus collezionati in pazienti pediatrici affetti da gastroenterite acuta, ricoverati presso la Clinica Pediatrica durante 18 mesi di studio (2008-2009), provano un prevalente coinvolgimento del ceppo Lordsdale GII.4 varianti 2006b (60%) e 2006 a (20%) seguito dai genogruppi GII.2 (10%) e GII.3 (10%).

La circolazione dei tre differenti genotipi riportata nel nostro studio concorda con quanto documentato da altri autori (2, 3).

Tabella 1. Risultati del sequenziamento dei ceppi di norovirus rilevati tra Gennaio 2008 e Ottobre 2009 in pazienti pediatrici ricoverati per gastroenterite acuta presso la Clinica Pediatrica dell'Azienda Ospedaliera L. Sacco.

Ceppi	Varianti	Età (mesi)	Sesso	casi
GII.4 Lordsdale	2006b	17		
		13		
		21	M	6
		12		
		9		
GII.4 Lordsdale	2006a	4	F	
		7	M	2
GII.2		11	M	1
GII.3		132	F	1

BIBLIOGRAFIA

- Kojima S, Kageyama T, Fukushi S, et al. Genogroup-specific PCR primers for detection of Norwalk-like viruses. *J Virol Methods* 2002; 100: 107-14.
- Medici MC, Martinelli M, Abelli LA, et al. Molecular epidemiology of norovirus infections in sporadic cases of viral gastroenteritis among children in northern Italy. *J of Med Virol* 2006; 78: 1486-92.
- Medici MC, Martinelli M, Arcangeletti MC, et al. Epidemiological aspects of human rotavirus infection in children hospitalized with acute gastroenteritis in an area of northern of Italy. *Acta Bio Medica* 2004; 75: 100-6.
- Rimoldi SG, Bartolone R, Calvagna N, et al. New viral gastrointestinal agents associated with paediatrics illness. *Microbiologia Medica* 2009; 24 (2): 92-5.
- Rimoldi SG, Pagani C, Lombardi A, et al. Epidemiological evaluation of sporadic cases of Norovirus infection in community and hospitalized patients. *Microbiologia Medica* 2009; 24 (1): 47-9.

Corresponding author: Sara Giordana Rimoldi

Tel.: +390239042479

E-mail: rimoldi.sara@hsacco.it