

Escherichia coli O 157 : H 7

Antonietta Gattuso

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare
Istituto Superiore di Sanità

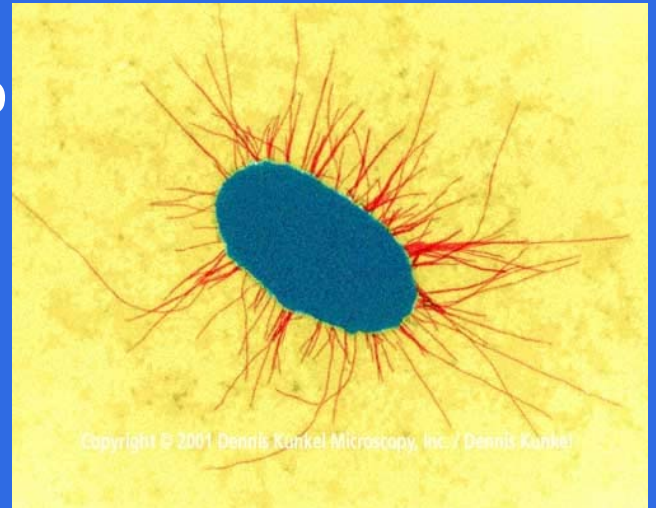


CARATTERISTICHE DI *E. coli*

Famiglia	→	Enterobatteri
Genere	→	Escherichia
Specie	→	Escherichia Coli

Bacillo Gram-negativi

- ⇒ Asporigeno
- ⇒ Mobile per ciglia peritriche
- ⇒ Aerobio-anaerobio facoltativo
- ⇒ Ossidasi negativo
- ⇒ Catalasi positivo
- ⇒ Temp.ott. 35-40°C
- ⇒ pH ott. 6-7
- ⇒ Aw ott. 0,99



Escherichia coli è una delle numerose specie batteriche di cui è composta la normale flora intestinale di uomini e animali sani

I diversi ceppi possono essere classificati sierologicamente sulla base dei tre principali antigeni di superficie:

- *Somatico (antigene O)*
- *Flagellare (antigene H)*
- *Capsulare (antigene K)*



Attualmente sono stati identificati:
174 antigeni O, 56 antigeni H, 80 antigeni K.

Nell'ambito della specie sono presenti dei ceppi dotati di fattori di virulenza e associati a ben definite patologie sia intestinali che extra intestinali

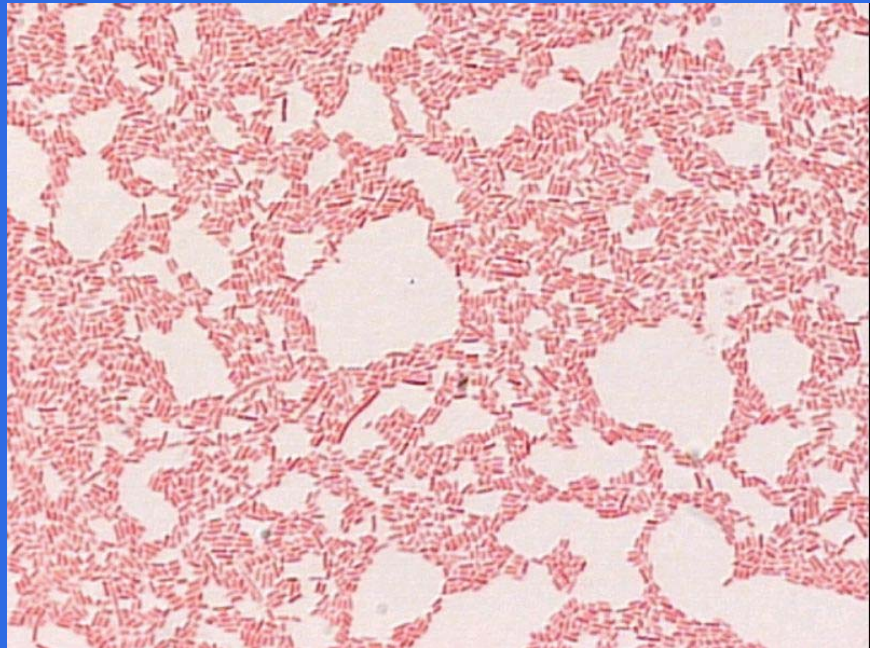
Ceppi di E. coli associati a patologie enteriche

ORGANISMO	ACRONIMO
E. coli enterotossigeno	ETEC
E. coli enteroinvasivo	EIEC
E. coli enteropatogeno	EPEC
E. Coli enteroaderente	EAEC
E. coli produttore di verotossine	VTEC
E. coli enteroemorragico *	EHEC

ceppi enteroemorragici sono un sottogruppo dei VTEC

I ceppi di *E. coli* responsabili di forme enteriche possono seguire strategie diverse per sviluppare il proprio potere patogeno:

- La produzione di enterotossine e/o citotossine
- L'invasione della mucosa intestinale
- L'adesione agli enterociti seguita dall'invio attraverso la membrana di "segnali biochimici" capaci di sovvertire l'organizzazione citoscheletrica.



Ceppi enterotossigeni di *E. coli* (ETEC)

- Sono provvisti di adesine fimbriali che consentono loro di aderire all'epitelio dell'intestino tenue, opponendosi alla rimozione determinata dalla peristalsi intestinale.
- Producono due differenti tipi di enterotossine:
 - ▷ Tossine termolabili (LT) inattivate a 60° C per 30 minuti
 - ▷ Tossine termostabili (ST) stabili a 100° C per 30 minuti
 - ▷ Alcuni ceppi sono in grado di produrle entrambe
- Le infezioni da ETEC sono endemiche nei paesi in via di sviluppo.
- In genere vengono colpiti i bambini al momento dello svezzamento e i viaggiatori provenienti dai paesi industrializzati, dove l'infezione è rara.

Ceppi enteroinvasivi di *E. coli* (EIEC)

- Il principale meccanismo di patogenicità è l'invasione della mucosa del colon.
- In molti casi l'infezione da EIEC è associata ad una diarrea acquosa, con presenza di sangue, muco e leucociti associata a febbre.

Ceppi enteropatogeni di *E. coli* (EPEC)

- Sono stati i primi ceppi di *E. coli* ad essere identificati quali patogeni intestinali.
- L'infezione è generalmente associata a diarrea profusa con vomito e febbre non elevata.
- La principale causa responsabile della diarrea consiste nell'adesione dei batteri alla mucosa intestinale.
- L'infezione si manifesta più frequentemente nei paesi in via di sviluppo nei bambini al di sotto di due anni .
- La trasmissione è generalmente oro-fecale.

Ceppi di *E. Coli* produttori di verocitotossine (VTEC)

- Alcuni studi sul finire degli anni '70 misero in evidenza che alcuni ceppi di *E. coli* EPEC producevano una sostanza citotossica per le cellule VERO ed HELA in coltura; questi ceppi furono chiamati *E. coli* verocitotossici (VTEC).
- I ceppi VTEC producono due tipi di tossina denominate VT1 e VT2 diversi per proprietà antigeniche e biologiche.
- *E. coli* O157:H7 rappresenta il prototipo del gruppo dei VTEC (*Verotoxin Escherichia coli*)

- *E. coli* O157:H7 fu descritto per la prima volta come causa di malattia nel 1982 negli Stati Uniti nel corso di una indagine epidemiologica su due focolai di diarrea emorragica associati al consumo di hamburger in ristoranti appartenenti alla stessa catena di fast-food.



- Il Centers for Diseases for Control and Prevention (CDC) di Atlanta identificò un ceppo di *E. coli* che esprimeva l'antigene somatico O157 e quello flagellare H7.
- **Mai in precedenza tale sierotipo era stato segnalato come patogeno per l'uomo.**
- Studi microbiologici, clinici ed epidemiologici hanno dimostrato che *E. coli* O157:H7 rappresenta una dei più temibili patogeni zoonotici a trasmissione alimentare.

MECCANISMI PATOGENETICI

La patogenicità di *E. coli* O157:H7 è dovuta ad un meccanismo multi fattoriale con almeno due fattori critici essenziali:

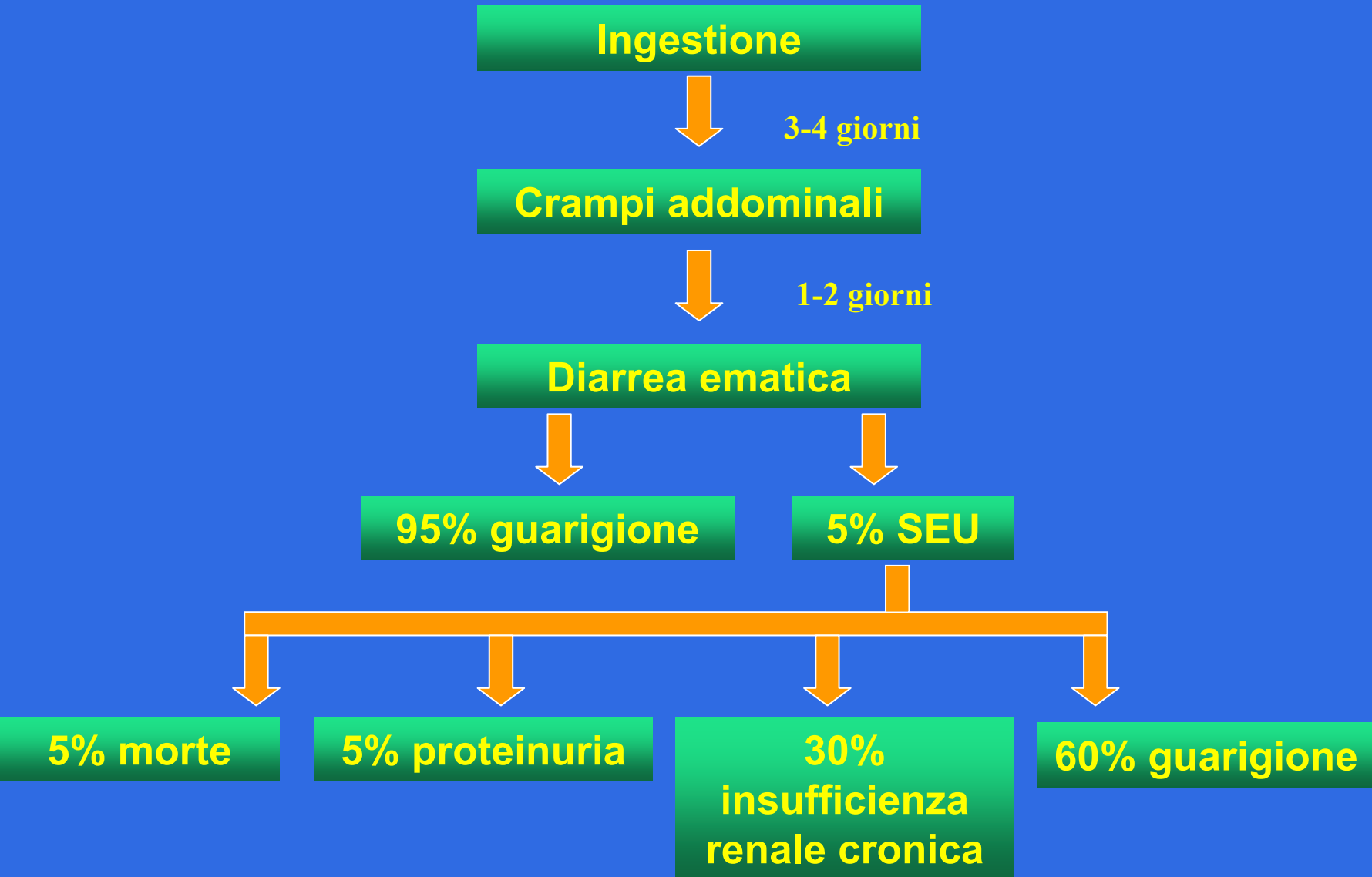
- ▷ La produzione di verocitotossine (VT)
- ▷ La capacità di aderire alle cellule della mucosa intestinale con un meccanismo caratteristico denominato “Attachment and Effacement” (A/E)

MECCANISMI PATOGENETICI (2)

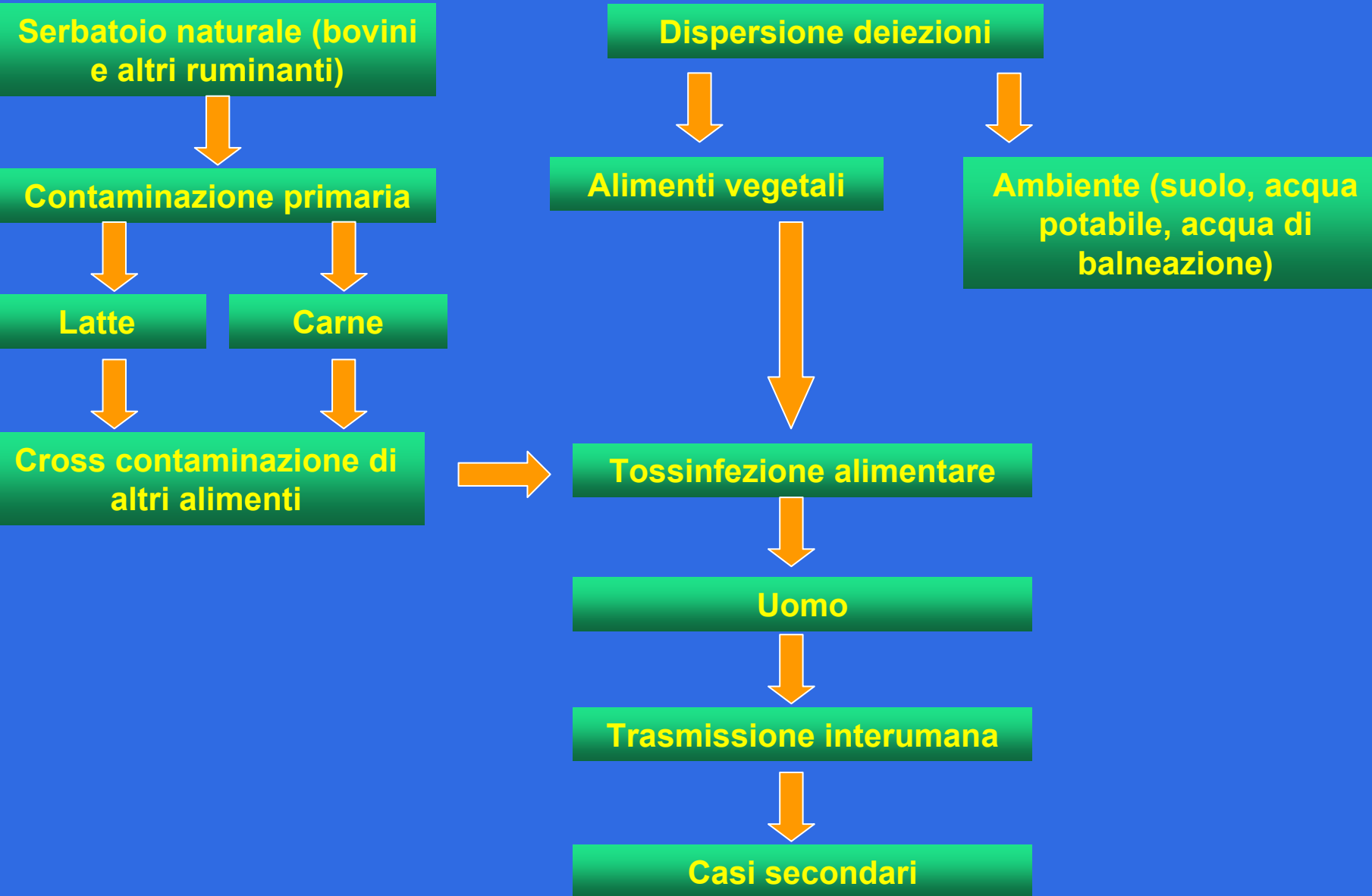
All'ingestione del microrganismo segue:

1. Fase di adesione
2. Colonizzazione della mucosa del colon
3. Rilascio di VT
4. Passaggio della tossina nel circolo sanguigno
5. VT raggiunge il tessuto bersaglio costituito dagli endoteli vasali del distretto intestinale e renale

MANIFESTAZIONI CLINICHE DELL'INFEZIONE



TRASMISSIONE DELL'INFEZIONE ALL'UOMO



E. COLI O157 NEGLI ALIMENTI

Un'ampia varietà di alimenti costituisce fonte d'infezione per l'uomo:

1. Carne macinata
2. Hamburger
3. Altri tipi di carne di origine bovina
4. Salami
5. Latte crudo sia bovino che caprino
6. Latte trasformato
7. Vegetali (lattuga e germogli)
8. Succhi di frutta non pastorizzati



PRINCIPALI VEICOLI DI TRASMISSIONE

Alimenti di origine bovina	Macinato di manzo (43%) Altro tipo di carne di manzo (6%) Latte (4%)
Altri alimenti	Sidro di mele Salsiccia stagionata Maionese Insalate
Acqua	(6%)
Trasmissione diretta	Interumana (20%) Da bovini a persona

PREVENZIONE E CONTROLLO

- Efficace attività di sorveglianza e notifica delle infezioni nella popolazione umana.
- Monitorare puntualmente la presenza dei VTEC negli animali e negli alimenti.
- Promuovere campagne informative destinate agli addetti del settore zootecnico, dell'industria alimentare e ai consumatori.
- Purificare e clorare le acque pubbliche e quelle delle piscine.
- Le normali operazioni di pulizia ambientale e di igiene personale (il lavaggio delle mani) sono sufficienti a evitare la diffusione dell'infezione.

Misure preventive: igiene e sicurezza d'uso degli alimenti

- La carne trita e i prodotti a base di carne trita devono essere cotti a una temperatura interna minima di 70°C per 2 minuti.
- Consumare solo latte pastorizzato.
- Consumare prodotti lattiero caseari ottenuti con latte pastorizzato.
- Lavare accuratamente frutta e verdura, soprattutto se sono del tipo che non viene sbucciato o cotto.
- La refrigerazione al di sotto di 5°C previene la crescita dei VTEC.

Misure preventive: igiene e sicurezza d'uso degli alimenti

- Lavare accuratamente le mani prima di manipolare alimenti e dopo aver toccato carne cruda.
- Lavare accuratamente tutte le superfici e gli utensili che sono stati a contatto con la carne cruda.
- Usare taglieri separati per la carne e gli altri alimenti.
- Mai riporre la carne cotta sui piatti che sono stati a contatto con la carne cruda.

EPIDEMIOLOGIA

- Da un punto di vista epidemiologico le infezioni da VTEC costituiscono un serio problema di sanità pubblica.
- Questi microrganismi sono stati implicati in gravissime epidemie di origine alimentare in quasi tutti i paesi industrializzati, epidemie che hanno coinvolto un gran numero di persone.
- L'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO) ha incluso E. Coli nella lista dei patogeni emergenti.

I dati del CDC relativi al 2003, riportano 73.000 casi /anno negli USA con ben 61 decessi.

Tra i paesi Europei in Inghilterra si è avuta la maggiore incidenza.

PRINCIPALI EPISODI EPIDEMICI NEL MONDO

Paese	Anno	Sierotipo EHEC	Casi identificati	Casi di SEU	Decessi	Veicolo di trasmissione
USA	1989-90	O157:H7	243	2	4	Acqua potabile
CANADA	1991	O157:H7	521	22	2	Carne macinata
USA	1992-3	O157:H7	732	55	4	Hamburger
Scozia	1994	O157:H7	>100	9	1	Latte bovino dopo pastorizzazione
Australia	1995	O111:H-	>200	22	0	Salami
Svezia	1995	O157:H7	110	29	0	Non identificato
Giappone	1996	O157:H7	8576	106	3	Germogli di ravanello bianco
Scozia	1996	O157:H7	501	27	20	Carne bovina non adeguatamente cotta

E. COLI O157 IN ITALIA

- In Italia il primo caso d'infezione da *E. coli O157:H7* è stato descritto nel 1988 quando è stato avviato dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) un sistema di sorveglianza nazionale della SEU in età pediatrica.
- Attualmente l'ISS coordina un sistema di sorveglianza nazionale delle infezioni da *E. coli O157* e da altri *E. coli* produttori di VTEC che coinvolge numerosi laboratori del Servizio Sanitario Nazionale.
- Tra il 1988 e il 2004 sono stati notificati complessivamente 344 casi di infezione sporadiche da VTEC.
- I dati sulle infezioni da VTEC in Italia sono disponibili sul sito WEB dell'ISS (<http://www.simi.iss.it/Enternet/index.asp>)

ENTERNET (Enteric Pathogen Network)

- è il sistema di sorveglianza europeo delle infezioni da Salmonella ed *E.coli* produttori di Verocitotossina (VTEC) nell'uomo.
- Il sistema comprende 23 paesi europei e collabora con paesi extra europei quali Giappone, Canada, Australia, Sud Africa.
- L'Italia è rappresentata nella rete dall'Istituto Superiore di Sanità che coordina il sistema di sorveglianza nazionale **ENTERNET - Italia** che coinvolge numerosi laboratori del Servizio Sanitario Nazionale.

SORVEGLIANZA DELLE INFEZIONI DA *E. COLI* O157 ED ALTRI *E. COLI* PRODUTTORI DI VTEC NELLA POPOLAZIONE ITALIANA

La sorveglianza si articola attraverso alcune iniziative a carattere volontario. Contribuiscono principalmente:

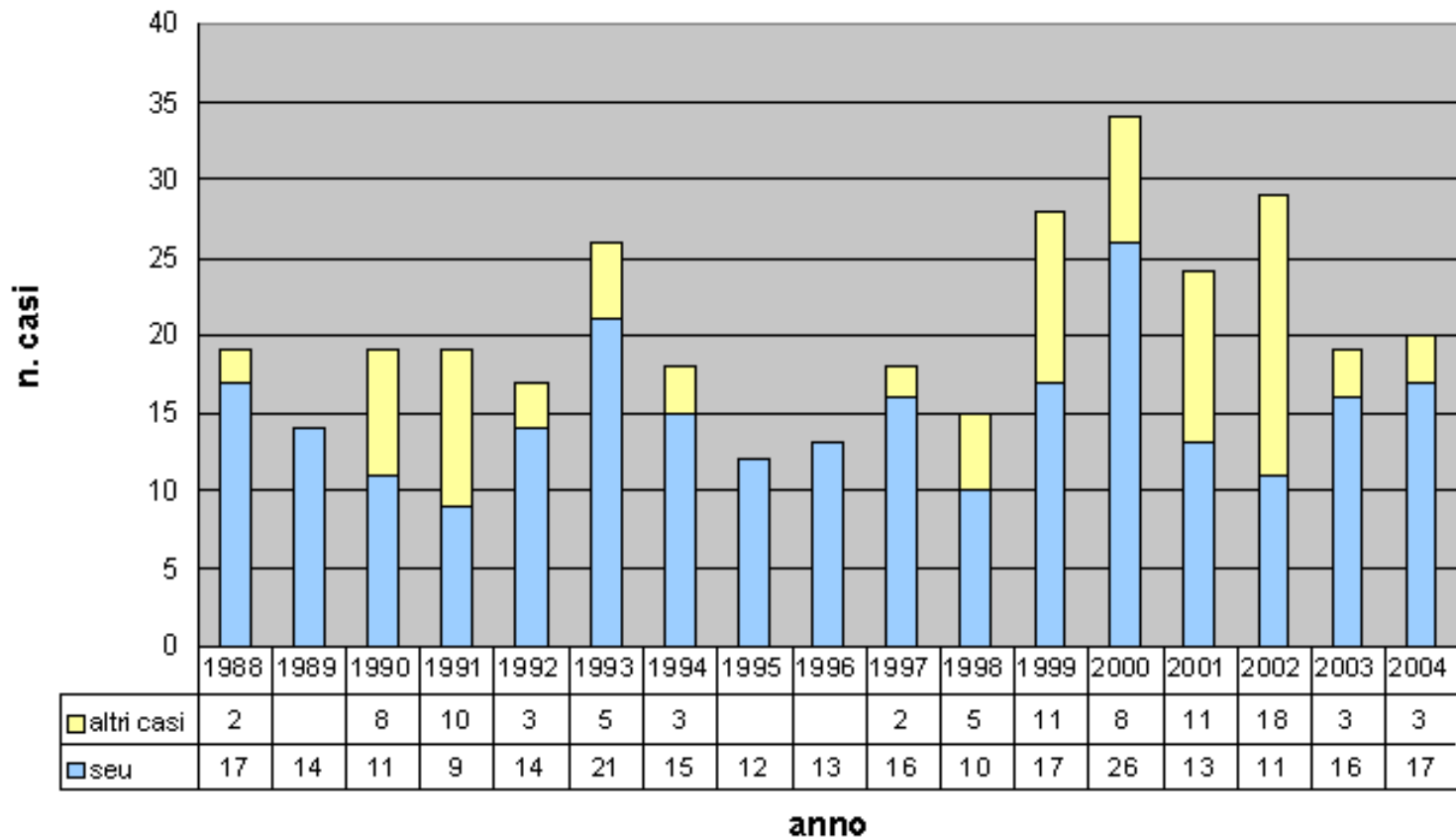
- Il sistema di sorveglianza nazionale della SEU in età pediatrica.
- Il programma di sorveglianza delle diarree emorragiche.
- I laboratori del SSN che inviano all'ISS ceppi VTEC, isolati dall'uomo, dagli animali e dagli alimenti per la conferma dell'identificazione e la registrazione dell'isolamento.

SORVEGLIANZA della SEU nella POPOLAZIONE PEDIATRICA: 1988 - 2004

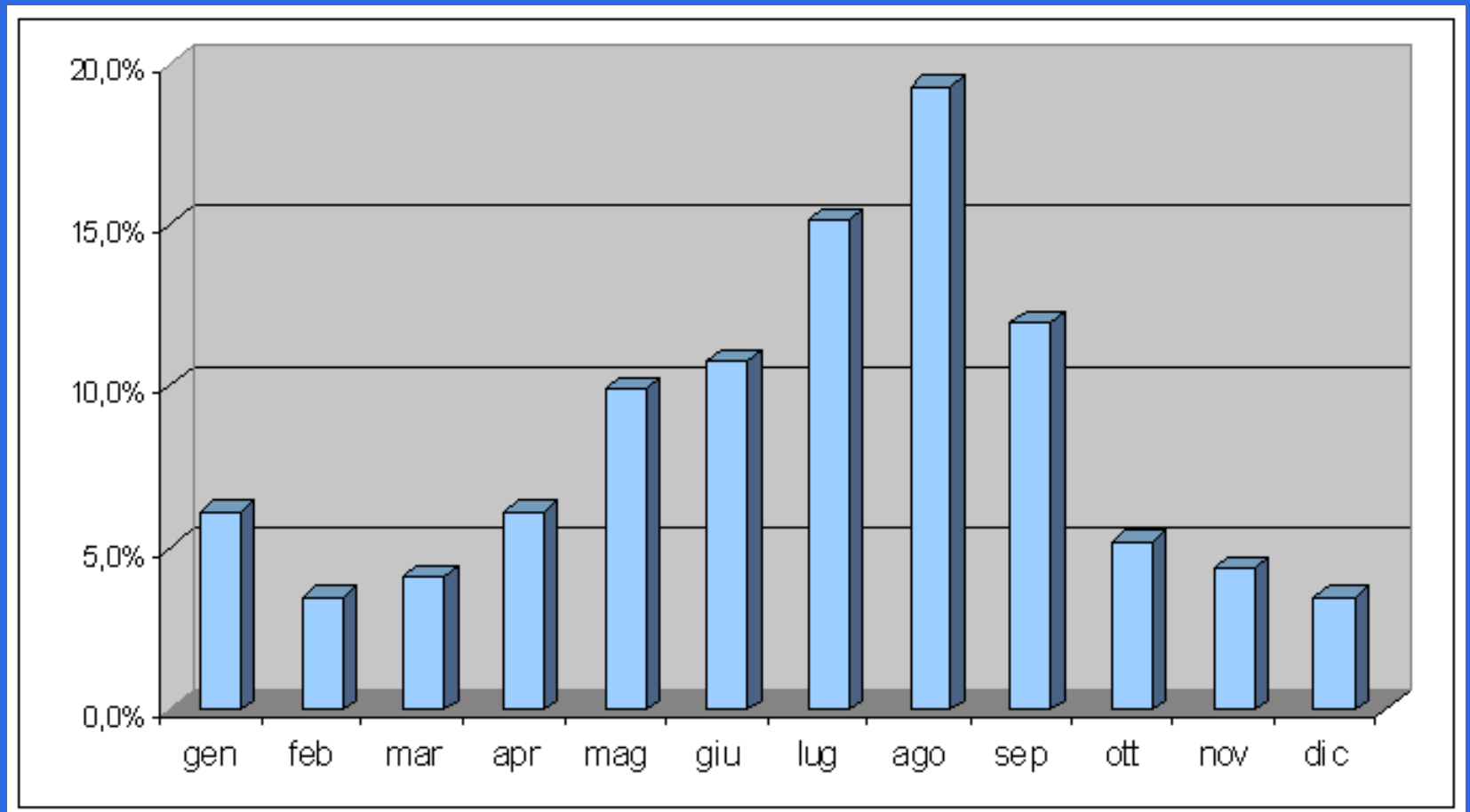
Il sistema di sorveglianza è stato attivato nel 1988 e raccoglie la maggior parte dei centri di nefrologia pediatrica italiani.

- Nell'ambito di tale sorveglianza sono stati complessivamente notificati 439 casi di SEU pediatrica nel periodo tra il 1988 e il 2004.
- Il tasso nazionale di incidenza media annuale nel periodo 1988 – 2004 è stato di 0.27 casi per 100.000 abitanti ed è stato calcolato utilizzando come riferimento la popolazione d'età compresa tra 0 e 15 anni.

Numero di casi di infezione da VTEC identificati per anno



STAGIONALITA'



METODI DI LABORATORIO PER LA RICERCA NEGLI ALIMENTI (1)

- La maggior parte dei ceppi di *E. coli* O157 possiede caratteristiche metaboliche distintive rispetto agli altri *E. coli*:
 - ▷ Incapacità di fermentare il sorbitolo in 24 ore
 - ▷ Incapacità a produrre β -glucuronidasi
 - ▷ Crescita inibita a 44° C
- Queste caratteristiche distintive sono largamente utilizzate per l'isolamento del microrganismo su terreni differenziali.
- Tra i terreni più spesso impiegati per isolare *E. coli* O157 troviamo l'agar MacConkey contenente sorbitolo al posto del lattosio.
- Su questi terreni le colonie appaiono incolore e non fluorescenti.



E. coli and Proteus on selective/differential media - MacConkeys

METODI DI LABORATORIO PER LA RICERCA NEGLI ALIMENTI (2)

La metodica ufficiale per l'isolamento di *E. coli* O157 da campioni alimentari è rappresentata dallo Standard **ISO/FDIS 16654** (metodo orizzontale)

- Il metodo è basato su 5 fasi:
 - ▷ **Prearricchimento** in terreno selettivo liquido (trypticase soy brot reso selettivo con l'aggiunta di Sali biliari e novobiocina)
 - ▷ **Arricchimento** mediante immunocentrificazione con anticorpi anti-O157
 - ▷ **Isolamento** delle colonie su piastre di Cefixime Tellurito Sorbitol MacConkey agar
 - ▷ **Conferma biochimica** (produzione di indolo)
 - ▷ **Dimostrazione della produzione di VT** mediante saggi di citotossicità su cellule VERO e/o della presenza di geni codificanti per i fattori di virulenza mediante PCR
- Metodi rapidi
 - ▷ **API 20E** Enterotube
 - ▷ **Metodo ELISA (agglutinazione di particelle di lattice sensibilizzate)**

CONCLUSIONI

- La comparsa e la diffusione delle infezioni da *E. coli* O157 hanno coinciso con:
 - ▷ **Cambiamenti radicali introdotti nell'allevamento intensivo degli animali**
 - ▷ **Concentrazione delle macellazioni in grandi impianti**
 - ▷ **Lavorazione di grandi quantità di carne di provenienza diversa**
 - ▷ **La grande distribuzione**
 - ▷ **La movimentazione di grandi quantità di animali**
 - ▷ **L'uso di grossi lotti per tipologie di alimenti quali carne macinata**

CONCLUSIONI

- Il controllo della diffusione dell'infezione dipende dalla applicazione di un sistema di tipo HACCP per individuare i punti critici da controllare e su cui è possibile intervenire con efficacia.
- Il primo punto critico è rappresentato dalla contaminazione delle carcasse durante la macellazione
- **Importante è la buona cottura dei cibi prima del consumo**
- **Evitare le successive contaminazioni**