

IL RUOLO DELLA SPECIE BOVINA E DI ALTRI RUMINANTI NELL'EPIDEMIOLOGIA DELLE INFEZIONI DA ESCHERICHIA COLI VEROCITOTOSSICI

THE ROLE OF CATTLE AND OTHER RUMINANTS IN THE EPIDEMIOLOGY OF VEROCYTOTOXIN - PRODUCING ESCHERICHIA COLI INFECTIONS

Silvia Bonardi¹, Carola Leccese²

PAROLE CHIAVE:

VTEC O157, VTEC non-O157, bovino, ruminanti, epidemiologia.

KEY WORDS:

VTEC O157, non-O157 VTEC, cattle, ruminants, epidemiology.

Riassunto

La presente review illustra le caratteristiche degli stipiti di *Escherichia coli* produttori di verocitotossine (VTEC), in particolare per quanto riguarda i fattori di virulenza, e indica i sierogruppi/sierotipi prevalenti sia nelle infezioni umane, sia negli animali serbatoio. In particolare si affronta il tema degli animali che fungono da "reservoir" di tali microrganismi, il bovino in particolare, ma anche il bufalo, la pecora, la capra e i ruminanti selvatici, mettendo in risalto soprattutto i risultati degli studi epidemiologici eseguiti in Italia. Accanto al ruolo dell'animale, è anche evidenziato il ruolo degli alimenti, da essi derivati, che hanno dato prova di poter veicolare all'uomo stipiti VTEC O157 e non-O157.

Summary

In this review, the features of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) were studied, in particular those regarding the microorganism virulence factors. The distribution of different serogroups/serotypes in human infections and animal reservoirs was also discussed. Nevertheless, the major goal of the review was the

¹ - Dipartimento di Salute Animale, Sezione di Ispezione degli alimenti di origine animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Parma

² - Veterinario libero professionista

role of the animals as VTEC reservoirs: cattle in particular, but also buffaloes, sheep, goats, and wild ruminants. The authors reported the results of several international studies, but focused mainly on Italian epidemiological surveys. Apart from the animals, the role of foodstuffs of animal origin in the transmission of VTEC strains to humans was investigated.

Introduzione

Escherichia coli è un batterio Gram negativo, appartenente alla vasta famiglia delle Enterobacteriaceae, generalmente conosciuto come un normale saprofito dell'intestino dell'uomo e degli animali (3).

All'inizio degli anni '80 sono stati identificati ceppi di *E. coli* in grado di elaborare una potente tossina simile a quella prodotta da *Shigella dysenteriae* di tipo 1, capace di indurre effetto citopatico su monostrati di cellule Vero. Questi ceppi sono stati denominati *E. coli* verocitotossici (VTEC) o *E. coli* produttori di tossine Shiga-like (STEC) (44, 45).

La scoperta degli stipiti VTEC è legata a due focolai epidemici riconducibili ad una tossinfezione alimentare, che si verificarono nel 1982 negli Stati Uniti e che il Centers for Disease Control and Prevention (CDC) di Atlanta associò ad *E. coli* che esprimeva l'antigene somatico O:157 e l'antigene flagellare H:7, un sierotipo allora ritenuto raro (53).

Da quegli anni, e in particolare dopo il verificarsi di numerosi focolai tossinfettivi segnalati dal CDC di Atlanta, *E. coli* O157:H7 venne considerato un microrganismo altamente patogeno per l'uomo, capace di indurre quadri sintomatologici estremamente variabili. Da una lieve diarrea di tipo acquoso, il quadro clinico infatti può evolvere in colite emorragica, eventualmente complicata dalla sindrome emolitico-uremica (SEU) o dalla porpora trombocitopenica (PTT) (37).

E. coli O157:H7 e la variante immobile O157:H- non sono i soli *E. coli* produttori di verocitotossine patogeni per l'uomo, in quanto altri sierotipi sono in grado di indurre quadri clinici indistinguibili da quelli descritti per VTEC O157. Stipiti VTEC appartenenti a numerosi sierotipi sono stati, infatti, descritti in diverse specie, soprattutto ruminanti come il bovino, la pecora e la capra (7, 16).

I sintomi che caratterizzano la colite emorragica si presentano a distanza di 1-2 giorni dall'ingestione di alimenti contaminati da VTEC (37). In una prima fase il soggetto presenta crampi addominali, seguiti dall'instaurarsi di una forma leggera di diarrea. In pochi giorni la diarrea da acquosa diventa emorragica ed è accompagnata da dolori addominali di forte intensità (49). Nella maggior parte dei casi la malattia si risolve senza conseguenze, ma nel 3-7% dei pazienti può invece evolvere in una forma sistemica, la sindrome emolitico-uremica (SEU), soprattutto nei bambini di età inferiore ai 5 anni e negli anziani (37).

La SEU si instaura per le lesioni vascolari indotte dalle tossine a carico degli endoteli dei glomeruli renali. Come conseguenza del danno endoteliale, si verifica un accumulo di piastrine in sede corticale renale, con formazione di trombi e piastrinopenia. Il passaggio dei globuli rossi all'interno dei vasi lesionati ne determina la rottura, con conseguente anemia emolitica microangiopatica. Le lesioni renali portano

ad un quadro di insufficienza renale acuta, caratterizzato da anuria o oliguria. La SEU è infatti caratterizzata dalla triade sintomatologica anemia emolitica microangiopatica, piastrinopenia e insufficienza renale acuta. L'aumento della volemia conseguente alla ritenzione idrica può indurre sintomi di tipo neurologico, quali convulsioni, sonnolenza e stato comatoso. Se la malattia non viene diagnosticata e correttamente trattata, la sintomatologia si complica con tutti i segni dell'insufficienza renale acuta (ipertensione, ritenzione idrica fino all'edema polmonare acuto) (61).

La porpora trombotica trombocitopenica (PTT) si manifesta prevalentemente nei soggetti adulti; il quadro clinico è caratterizzato da anemia emolitica microangiopatica, trombocitopenia e problemi neurologici. I danni vascolari sono a carico di diversi organi e per questo motivo il quadro clinico risulta più severo. A differenza della SEU, la PTT è causa di minori danni al rene, ma di disturbi più gravi a carico del sistema nervoso centrale, è meno prevedibile e gli esiti sono meno favorevoli per il paziente (39).

La trasmissione dell'infezione risiede spesso nell'assunzione di alimenti contaminati da stipiti VTEC (carne cruda o poco cotta, latte e derivati non pastorizzati, acqua contaminata, verdure non lavate accuratamente), ma non va trascurato il ruolo dei portatori asintomatici (61).

VTEC: caratteristiche e terminologia

Gli stipiti VTEC elaborano due citotossine (VT1 e VT2), codificate dai geni batteriofagici *vtx1* e *vtx2*, che rappresentano il loro fattore di virulenza determinante. Della VT1, per lungo tempo considerata una tossina altamente conservata, sono state individuate di recente due varianti, denominate VT1c e VT1d. Per la VT2 le varianti, note da tempo, sono denominate VT2c, VT2d, VT2e, VT2f e VT2g (57). Le tossine VT consistono di cinque subunità B identiche, responsabili del legame al recettore glicolipidico Gb3 presente sulla membrana delle cellule eucariote, e di una singola subunità A che, dotata di attività enzimatica, agisce sull'RNA ribosomiale e interrompe la sintesi proteica, causando la morte della cellula (38). Le VT vengono prodotte nel colon e per via ematica raggiungono le cellule endoteliali arteriolari del rene e del grosso intestino, che nell'uomo sono ricche di recettori Gb3, provocando seri danni a tali distretti vascolari (2). È stato anche dimostrato che le VT inducono apoptosi a carico delle cellule dell'epitelio intestinale (30). Oltre alla sintesi delle VT, un altro fattore associato alla virulenza espresso dagli stipiti VTEC è rappresentato da una proteina di membrana detta intimina, responsabile dell'adesione dei VTEC alle cellule dell'epitelio intestinale. L'adesione e le conseguenti modificazioni citoscheletriche a carico dell'enterocita portano alla caratteristica lesione A/E (attaching - effacing; adesione - elisione) con scomparsa dei microvilli e formazione di tipiche strutture a piedistallo che sostengono il batterio adeso. L'intimina è codificata dal gene cromosomiale *eae*, che fa parte dell'isola di patogenicità denominata "locus for enterocyte effacement" (LEE) (32). La diarrea severa, e soprattutto le forme di colite emorragica e di SEU, sono strettamente associate agli stipiti VTEC che sono provvisti del gene *eae*. Un altro fattore che può influire sulla virulenza degli *E. coli* verocitotossici è l'enteroemolisina (Ehx), una "pore-forming toxin" monomerica che si inserisce nel-

la membrana cellulare delle cellule eucariote, provocando la formazione di pori (5). I geni che codificano l'Eh_x sono localizzati su un plasmide di 60 mDal, denominato plasmide pEHEC (35).

Il termine *E. coli* verocitotossico o *E. coli* che produce verocitotossine (Verocytotoxin-producing *E. coli*, VTEC) è stato coniato dopo la dimostrazione che i filtrati colturali di alcuni ceppi di *E. coli* erano in grado di indurre effetto citopatico irreversibile su monostrati di cellule Vero (34), o successive osservazioni (33) che riportarono casi sporadici di SEU in associazione alla presenza contemporanea di una citotossina e di stipiti di *E. coli* nelle feci dei pazienti. Altri studi (44) riportarono che certi stipiti di *E. coli* erano capaci di produrre una tossina simile a quella di *Shigella dysenteriae* di tipo I (Shiga-Like Toxin, SLT), che aveva effetto citopatico sulle cellule HeLa come la tossina prodotta da *Shigella*. In seguito fu dimostrato che la tossina Shiga-like e la Verocitotossina erano la medesima tossina (45) e che il ceppo di *E. coli* O157:H7 descritto nei focolai tossinfettivi statunitensi del 1982 (53) era capace di produrla. Gli studi effettuati in quel periodo portarono ad un sistema di nomenclature parallele, che si ripresenta ancora oggi, per cui STEC (Shiga Toxin - producing *E. coli*) e VTEC sono acronimi equivalenti che si riferiscono a ceppi di *E. coli* che producono una o più tossine appartenenti alla famiglia delle Shiga Toxin (Stx) (43).

Una definizione che invece tiene conto del quadro clinico associato all'infezione predilige il termine *Escherichia coli* enteroemorragici (Enterohaemorrhagic *E. coli*, EHEC) per gli stipiti capaci di produrre le tossine, di indurre la lesione A/E a carico degli enterociti e di sintetizzare l'enteroemolisina (35). In un certo senso, tale definizione considera gli stipiti EHEC come i microrganismi capaci di indurre i quadri più severi di malattia (colite emorragica, SEU), mentre l'acronimo VTEC starebbe ad indicare i ceppi di *E. coli* produttori solo di verocitotossine e quindi privi, in particolare, del gene *eae*.

Molto interessante è la suddivisione dei microrganismi in linee evolutive diverse, a seconda del loro potere patogeno per l'uomo. La linea EHEC-1 comprende *E. coli* O157:H7 e stipiti ad esso strettamente correlati (quali O145:H-) che sono altamente patogeni per l'uomo, potendo indurre colite emorragica, SEU e PTT. Sono ceppi derivati dallo stipite EPEC O55, storicamente considerato il progenitore di questi microrganismi. La linea EHEC-2 raggruppa, invece, tutti gli stipiti EHEC che appartengono a sierogruppi diversi (ad esempio O5, O26, O103, O111, O118, ecc.) e che sono in grado di provocare, nell'uomo, quadri diarroici, colite emorragica e SEU. I ceppi compresi nella linea VTEC-1 appartengono al sierogruppo H21 (come O91, O113, ecc.) e nell'uomo causano SEU e PTT. Infine, all'ultimo gruppo appartengono gli stipiti della linea evolutiva VTEC-2, che comprendono ceppi VTEC poco o affatto patogeni, associati ad infezioni asintomatiche, forme lievi di diarrea e, raramente, a casi di SEU (35).

Infine, per completare il discorso sulla terminologia di questi microrganismi, va ricordato che il Comitato Scientifico per le misure veterinarie in relazione alla sanità pubblica (Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health, SCVPH) dell'Unione Europea, in un parere emesso il 21-22 gennaio 2003 (59), per gli *E. coli* verocitotossici patogeni per l'uomo ha utilizzato il termine HP-VTEC (Human Pathogenic - VTEC). Questo acronimo comprende, in effetti, tutti gli stipiti

capaci di indurre malattia nel consumatore, indipendentemente dalle caratteristiche del quadro clinico e dalla presenza di singoli geni associati alla virulenza.

***E. coli* O157**

Escherichia coli O157 (con i sierotipi O157:H7 e O157:H-), negli ultimi anni, si è imposto all'attenzione internazionale come importante patogeno veicolato dagli alimenti, in grado di causare danni severi all'uomo, con conseguenze potenzialmente letali. Molto è noto su questo microrganismo, ma le caratteristiche da non trascurare nell'epidemiologia della tossinfezione alimentare sono la sua spiccata acidotolleranza, che ne ha permesso la sopravvivenza anche in alimenti particolarmente acidi come il sidro di mela, e la bassa dose infettante, stimata talvolta inferiore alle 50 cellule (60).

***E. coli* non-O157**

A tutt'oggi, vengono riportati numerosi casi di infezione umana da VTEC non-O157, come per esempio O26:H11 o O26:H⁻, O91:H21 o O91:H⁻, O103:H2, O111:H⁻, O113:H21, O117:H7, O118:H16, O121:H19, O128:H2 o O128:H⁻, O145:H28 o O145:H⁻ e da O146:H21 (6, 14, 15, 24, 40, 46, 58, 63), ma il ruolo di altri sierotipi rimane ancora da chiarire. Nei diversi paesi europei ed extraeuropei, quali Stati Uniti, Canada, Giappone, Argentina, i sierogruppi VTEC più comunemente isolati dall'uomo sono comunque rappresentati da O26, O103, O111 e O145, tutti patogeni capaci di provocare severi quadri clinici (36, 46, 56, 58, 63).

Purtroppo le indagini sul ruolo degli animali nell'epidemiologia dei VTEC non-O157 sono piuttosto scarse e perciò in molti focolai di infezione umana non è possibile stabile un legame con animali serbatoio (29).

Fino a pochi anni fa si riteneva che il sierogruppo O26 fosse isolabile esclusivamente dai bovini e dai prodotti da essi derivati (4) ma recentemente stipiti VTEC O26 sono stati isolati anche da ovini non affetti da disturbi gastro-enterici (8). Indagini microbiologiche volte all'isolamento di VTEC appartenenti a sierogruppi diversi da O157 in feci bovine, hanno sempre individuato ceppi VTEC O26 in un numero significativamente più elevato di campioni rispetto ai sierogruppi O103, O111 e O145 (29, 47). Gli stipiti VTEC O26 possono essere considerati patogeni sia per l'uomo che per gli animali (4).

E. coli O111 è probabilmente il sierogruppo VTEC non-O157 più importante, poiché responsabile di un gran numero di epidemie umane. Gli stipiti VTEC O111 vengono isolati dal bovino (4), anche se recenti indagini condotte in Scozia (47), Inghilterra (29) e Italia (Bonardi, dati non pubblicati) non hanno mai identificato *E. coli* O111 nelle feci bovine. Più scarsi i dati relativi al sierogruppo O145, isolato da bovini asintomatici e dalle carni da essi derivate (4). Infine, VTEC O103 è stato isolato da feci bovine, anche se con prevalenze piuttosto modeste se comparate a quelle del sierogruppo O26 (29, 47).

Indagini recenti eseguite in Italia hanno portato all'isolamento di vari sierogruppi di *E. coli* produttori di verocitotossine dalle feci di bovini macellati, quali

O74, O109, O110, O116, e O117, provvisti dei geni *vtx1* e/o *vtx2*, ma privi del gene *eae*, oltre al sierotipo O91:H-, responsabile nell'uomo sia di infezioni enteriche non complicate, sia di quadri molto severi (sindrome emolitico-uremica), ed al sierogruppo patogeno O26 (12, 13).

Ruolo epidemiologico della specie bovina e di altri ruminanti nella trasmissione di *E. coli* produttori di verocitotossine

Il sospetto che il bovino potesse essere un *reservoir* di *E. coli* O157:H7 è andato consolidandosi durante il primo focolaio del 1982, legato al consumo di carne bovina macinata in alcuni Stati USA. Prima di allora questo sierotipo non era mai stato isolato da campioni carnei (53). In seguito, in diversi paesi è stato dimostrato che questo microrganismo è presente, con prevalenze variabili, nel tratto gastrointestinale dei bovini. L'acido-tolleranza del microrganismo potrebbe rappresentare un fattore di adattamento all'ambiente lievemente acido del rumine e la presenza del batterio in altri ruminanti sostiene infatti questa ipotesi (1). Tuttavia, contrariamente a quanto suggerito dalla presenza del rumine, è stato individuato un altro sito di colonizzazione di *E. coli* O157:H7, e precisamente la mucosa della giunzione retto-ale del bovino (28, 41, 52). L'escrezione fecale si protrae, generalmente, per meno di due mesi, ma alcuni bovini possono rimanere colonizzati per periodi più lunghi (35).

Gli alimenti responsabili della trasmissione all'uomo spesso derivano dal bovino, come carni crude o poco cotte e latte non pastorizzato. La contaminazione avviene durante la mungitura o nelle fasi di macellazione e lavorazione della carcassa. Alimenti originati da altri ruminanti, come latte di capra e formaggi caprini a latte crudo, carne di cervo, ecc., seppure in misura minore, sono stati coinvolti in episodi tossinfettivi (35).

In Italia sono stati effettuati diversi studi per dimostrare il ruolo del bovino come *reservoir* di VTEC O157. La prevalenza dei portatori intestinali tra i bovini macellati può variare dallo 0 al 16,5% e dipende dall'età e dallo stato nutrizionale dei bovini esaminati, nonché dalla stagione dell'anno e dai metodi analitici utilizzati (10, 11, 19). La variabilità nell'escrezione può incidere sulla contaminazione della carcassa durante il processo di macellazione, che si presenta anch'essa piuttosto variabile (11).

E. coli O157:H7 non è patogeno per il bovino adulto, dove si comporta da commensale, e solo in casi eccezionali è in grado di causare diarrea nel vitello (22, 31). Nel vitello con diarrea i sierotipi EHEC più importanti sono O5:H-, O26:H-, O26:H11, O111:H- e O118:H16, comunque associati con malattia anche nell'uomo. Dal bovino adulto, asintomatico, si possono isolare diverse decine di sierogruppi di *E. coli* produttori di verocitotossine, molti dei quali patogeni anche per l'uomo. Attualmente solo una minoranza dei microrganismi isolati dal bovino appartiene al sierogruppo O157, mentre tra i non-O157, si segnala con una certa frequenza l'isolamento dei sierogruppi O5, O26, O103, O111, O118 e O145 (35).

A discapito della rilevanza che assume il bovino nell'epidemiologia dell'infezione, le carni bovine, ed in particolare quelle macinate, che rappresentano uno degli alimenti a maggior rischio, raramente risultano contaminate. È quanto si è osservato

in un'indagine eseguita sull'intero territorio nazionale da 9 dei 10 Istituti Zooprofilattici Sperimentali, che hanno esaminato 931 campioni di carne bovina macinata ed hanno riscontrato ceppi VTEC O157 solo in quattro (0,43%) campioni carnei. Nello stesso studio sono stati esaminati anche 2948 prodotti a base di latte, dai quali non sono mai stati isolati stipiti di *E. coli* verocitotossici. I prodotti lattiero-caseari erano rappresentati da formaggi a latte crudo o pastorizzato, con meno di 60 giorni di stagionatura, prodotti con latte vaccino o con latte ovino, nonché da mozzarelle di bufala (21). Questa indagine, eseguita su vasta scala, ha indubbiamente evidenziato la forte discrepanza esistente tra il ruolo dell'animale portatore, da un lato, e la reale contaminazione dell'alimento, dall'altro, a tutto vantaggio del consumatore. Tuttavia, in uno studio eseguito nella regione Piemonte, si è rilevata un'elevata prevalenza di *E. coli* patogeni (EPEC, VTEC, ETEC) in formaggi prodotti sia a partire da latte crudo, che da latte trattato termicamente. Tra gli stipiti di *E. coli* verocitotossici è stato isolato un ceppo VTEC O26 (23).

Recentemente, nel nostro paese, è stato messo in luce il ruolo del bufalo (*Bubalus bubalis*) quale serbatoio di VTEC O157. In Campania, regione in cui la bufala è allevata per la produzione della mozzarella e per il consumo di carne, in forte crescita, un'indagine eseguita su 289 animali appartenenti a 65 allevamenti, ha evidenziato una prevalenza media di escretori fecali pari al 14,5%. Tutti gli stipiti di *E. coli* erano positivi per le sequenze geniche *vtx2*, oppure *vtx1* e *vtx2*, assieme al gene *eae* (26). Un'indagine triennale, eseguita sempre nella regione campana su diversi stabilimenti adibiti alla produzione della mozzarella di bufala, non ha invece mai riscontrato stipiti VTEC O157 nei prodotti (27) che, secondo il disciplinare, vengono ottenuti da latte non sottoposto a trattamento termico. Il raggiungimento delle temperature idonee alla filatura della pasta (58-65°C) è possibile mediante aggiunta, alla cagliata, di acqua che può raggiungere i 95°C (Decreto 10 maggio 1993): è proprio il rispetto delle condizioni igieniche durante il processo di filatura, ed il controllo delle contaminazioni post-processo, che garantisce la salubrità del prodotto finito.

Gli studi epidemiologici eseguiti sulla specie ovina hanno evidenziato la presenza di stipiti di *E. coli* O157 produttori di verocitotossine nelle feci di animali macellati in Gran Bretagna, con prevalenze variabili dal 2,2 % (17) al 7,5% (18). In Spagna, è stato dimostrato che una minoranza di agnelli (1%) eliminava VTEC O157 con le feci, a confronto del 35% dei soggetti che invece eliminavano stipiti VTEC appartenenti a 22 sierogruppi diversi, tra i quali O6, O91, O117, O128, O146, O166 (50). Molti sierotipi di *E. coli* verocitotossici isolati dalle pecore sono patogeni per l'uomo: in particolare, i sierotipi O76:H19, O91:H-, O128:H-, O128:H2 e O157:H7 sono responsabili di gravi infezioni che possono culminare con la sindrome emolitico uremica (50). In Italia, nella regione Lazio, sono stati isolati stipiti VTEC O157 dal latte ovino con una prevalenza pari allo 0,6% dei campioni esaminati e questo suggerisce che anche nel nostro paese le pecore possano fungere da *reservoir* di *E. coli* produttori di verocitotossine (54). Sempre dal latte ovino e da formaggi prodotti con latte ovino, in Spagna sono stati isolati diversi sierogruppi di *E. coli* verocitotossici, ma nessuno appartenente al sierogruppo O157 (51).

Accertato il ruolo della capra quale serbatoio di VTEC O157 (65), il latte caprino si dimostra il veicolo con il quale di norma il microrganismo, da questa

specie animale, può essere trasmesso all'uomo. Uno studio eseguito in provincia di Bergamo, ha infatti identificato uno stipo di *E. coli* O157 produttore di VT2 ed *eae* positivo in latte crudo di capra (48). Anche in Spagna, dal latte crudo di capra, ma non da formaggi caprini, è stato isolato VTEC O157 (51).

Per completare le conoscenze sul ruolo dei ruminanti quali serbatoi di *E. coli* verocitotossici, è stato studiato anche il ruolo dei selvatici. Da cervi, camosci e caprioli abbattuti o ritrovati morti nelle province di Trento e Pordenone è stato testato il contenuto intestinale ed alcuni soggetti (lo 0,3% dei caprioli e l'1,5% dei cervi) sono risultati positivi per VTEC O157. La presenza di questi microrganismi nelle feci dei ruminanti selvatici merita sicuramente ulteriori accertamenti, in quanto potrebbe esistere sia la circolazione di VTEC O157 in ambito selvatico, quanto la loro acquisizione da pascoli frequentati da ruminanti domestici (20).

Un'ipotesi molto interessante suggerisce che i ceppi VTEC isolati dall'uomo rappresentino popolazioni diverse da quelle riscontrabili negli animali, come per esempio nel bovino, o che ne siano soltanto una sottopopolazione. Pertanto, anche se gli stipi isolati dall'uomo e dagli animali di fatto condividono gli stessi antigeni di superficie e gli stessi meccanismi di virulenza, non è ancora chiaro se si tratti di medesimi cloni o, semplicemente, di sottopopolazioni diverse tra loro (9).

Conclusioni

Le infezioni da stipi VTEC rappresentano un serio problema di sanità pubblica in tutti i paesi industrializzati, in particolare USA, Europa, Giappone, Canada e Australia. In questi paesi si sono verificati focolai epidemici di vaste proporzioni a carico di consumatori che avevano assunto lo stesso alimento contaminato (42).

Il quadro saliente dell'epidemiologia delle infezioni da *E. coli* verocitotossici comprende: il tratto gastroenterico del bovino e di altri animali come serbatoio di microrganismi, la trasmissione attraverso un'ampia varietà di alimenti e una dose infettante bassa, che determina alte percentuali d'attacco e la possibile trasmissione interpersonale (42).

In Italia, dal 1988, è stato istituito un sistema nazionale di sorveglianza volontario della sindrome emolitico-uremica in età pediatrica. Dal 1988 al 2005 sono stati segnalati 460 casi di SEU pediatrica, con un tasso di incidenza medio annuale di 0,3 casi su 100.000 abitanti (età compresa tra 0 e 15 anni). L'incidenza più alta si è sempre registrata nei bambini con età inferiore a 5 anni. Nel nostro paese, nel 70-80% dei casi la SEU è riconducibile ad un'infezione da stipi VTEC ed in particolare da VTEC O157 (39%) e da VTEC O26 (21%), mentre meno frequenti risultano le infezioni da VTEC O111, O145 e O103. L'incidenza più elevata si è registrata in comuni del nord Italia densamente abitati e a forte vocazione agricola, a dimostrazione che nell'epidemiologia della SEU i fattori legati all'ambiente e all'attività agricola sembrano giocare un ruolo determinante (55, 62, 64).

Nel corso del 2005, nell'Unione Europea, si sono registrati 3.314 casi di infezione umana da stipi VTEC, con un'incidenza di 1,2 casi/100.000 abitanti. Pur di gran lunga inferiore all'incidenza europea di altre malattie a trasmissione alimentare, quali la campilobatteriosi (51,6 casi/100.000 abitanti) e la salmonellosi

(38.2/100.000), le infezioni da VTEC rimangono estremamente temibili a causa del decorso severo e delle possibili complicanze a lungo termine (25).

I dati sull'incidenza delle infezioni da VTEC a livello europeo sono ora disponibili grazie all'applicazione della Direttiva CE 2003/99, che ha incluso le infezioni da *E. coli* produttori di verocitotossine tra le zoonosi da sottoporre a sorveglianza obbligatoria in tutti i paesi membri. Tale direttiva è stata recepita dal nostro ordinamento giuridico con il Decreto Legislativo n. 191 del 4 aprile 2006 (Attuazione della Direttiva 2003/99/CE sulle misure di sorveglianza delle zoonosi e degli agenti zoonotici). Si auspica, pertanto, che le operazioni di sorveglianza previste dalla Direttiva 2003/99, che comprendono anche mirate indagini epidemiologiche atte a chiarire l'origine dei focolai tossinfettivi, permettano di colmare le lacune ancora esistenti e di fare luce su una zoonosi che può mettere in serio pericolo la vita umana.

BIBLIOGRAFIA

1. Armstrong G.L., Hollingsworth J., Glen Morris J. Jr. (1996). Emerging food-borne pathogens: *Escherichia coli* O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world. *Epidemiol Rev*, 18(1): 29-51.
2. Andreoli S.P., Trachtman H., Acheson. D.W, Siegler R.L., Obrig T.G.(2002) Hemolytic uremic syndrome: epidemiology, pathophysiology, and therapy. *Pediatr Nephrol*, 17: 293-298.
3. Batt C.A. (1999). *Escherichia coli*. In: *Enciclopedia of Food Microbiology*, Eds. Robinson R.K., Batt C.A., Patel P.P., 633-640, Academic Press, London.
4. Bettelheim K.A. (2003) Non-O157 Verotoxin-Producing *Escherichia coli*: A Problem, Paradox, and Paradigm. *Exp Biol Med* (Maywood), 228(4): 333-344.
5. Beutin L. (2000). Plasmids in VTEC: their role in virulence and their use in typing. In: *Verocytotoxinogenic Escherichia coli in Europe: Pathogenicity and Virulence. Proceedings of the 3rd Meeting of the Concerted Action FAIR6-CT98-3935*, Eds. Duffy G., Garvey P., Coia J., Wasteson Y., McDowell D.A., 126-139, Castlenock, Dublin, Ireland. Teagasc, The National Food Centre.
6. Beutin L., Krause G., Zimmermann S., Kaulfuss S., Gleier K. (2004). Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from human patients in Germany over a 3-year period. *J Clin Microbiol*, 42: 1099-1108.
7. Blanco J., Blanco M., Blanco J.E., Mora A., Alonso P.M., Gonzalez E.A, Bernardez M.I. (2001). Epidemiology and verocytotoxinogenic *Escherichia coli* (VTEC) in ruminants. In: *Verocytotoxinogenic Escherichia coli*, Eds. Duffy G., Garvey P., McDowell D., 113-148, Food and Nutrition Press Inc., Trumbull, Conn.
8. Blanco J., Blanco M., Blanco J.E., Mora A., Gonzàles E.A., Bernàrdez M.I., Alonso M.P., Coira A., Rodriguez A., Rey J., Alonso J.M., Usera M.A.

- (2003). Verotoxin-producing *Escherichia coli* in Spain: prevalence, serotypes, and virulence genes of O157:H7 and non-O157 VTEC in ruminants, raw beef products, and humans. *Exp Biol Med* (Maywood), 228(4): 345-351.
9. Boerlin P., McEven S.A., Boerlin-Petzold F., Wilson J.B., Johnson R.P., Gyles C.L. (1999). Associations between virulence factors of shiga toxin-producing *Escherichia coli* and disease in humans. *J Clin Microbiol*, 37(3): 497-503.
 10. Bonardi S., Maggi E., Bottarelli A., Pacciarini M.L., Ansuini A., Vellini G., Morabito S. Caprioli A. (1999). Isolation of Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 from cattle at slaughter in Italy. *Vet Microbiol*, 67: 203-211.
 11. Bonardi S., Maggi E., Pizzin G., Morabito S. Caprioli A. (2001). Faecal carriage of Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 and carcass contamination in cattle at slaughter in northern Italy. *Int J Food Microbiol*, 66: 47-53.
 12. Bonardi S., Foni E., Brindani F., Bacci C., Chiapponi C., Cavallini P. (2004a). Detection and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) O157 and non-O157 in cattle at slaughter. *New Microbiol*, 27: 255-261.
 13. Bonardi S., Brindani F., Foni E., Morabito S. (2004b). Isolamento di *Escherichia coli* verocitotossici O157 e non-O157 da bovini macellati in Italia. In: Proceedings IV Workshop nazionale Enter-net Italia. Sistema di sorveglianza delle infezioni enteriche, 36, Roma, 25-26 novembre 2004.
 14. Brooks J.T., Sowers E.G., Wells J.G., Greene K.D., Griffin P.M., Hoekstra R.M., Strockbine N.A. (2005). Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in the United States, 1983-2002. *J Infect Dis*, 192(8): 1422-1429.
 15. Caprioli A., Luzzi I., Rosmini F., Resti C., Edefonti A., Perfumo F., Farina C., Goglio A., Gianviti A., Rizzoni G. (1994). Community wide outbreak of hemolytic uremic syndrome associated with non-O157 verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. *J Infect Dis*, 169(1): 208-211.
 16. Chapman P.A., Siddons C.A., Wright D.J., Norman P., Fox J., Crick E. (1993). Cattle as a possible source of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 infection in man. *Epidemiol Infect*, 111: 439-447.
 17. Chapman P.A., Siddons C.A., Cerdan-Malò A.T., Harkin M.A. (1997). A 1-year study of *Escherichia coli* O157 in cattle, sheep, pigs and poultry. *Epidemiol Infect*, 119(2): 245-250.
 18. Chapman, P.A., Cerdan-Malò A.T., Ellin M., Ashton R., Harkin M.A. (2001). *Escherichia coli* O157 in cattle and sheep at slaughter, on beef and lamb carcasses and in raw beef and lamb products in South Yorkshire, UK. *Int J Food Microbiol*, 64 (1-2): 139-150.
 19. Conedera G., Marangon S., Chapman P.A., Zuin A. Caprioli A. (1997). Atypical strains of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in beef cattle at slaughter in Veneto region, Italy. *Zentralbl Veterinarmed B*, 44(5):

- 301-306.
20. Conedera G., Bregoli M., Job L., Pasolli C., Bellino M., Morabito S., Bozzoli R. (2004a). Primi isolamenti di *Escherichia coli* O157 in ruminanti selvatici in Italia. In: Proceedings IV Workshop nazionale Enter-net Italia - Sistema di sorveglianza delle infezioni enteriche, 39, Roma, 25-26 novembre.
 21. Conedera G., Dalvit P., Martini M., Galiero G., Gramaglia M., Goffredo E., Loffredo G., Morabito S., Ottaviani D., Paterlini F., Pezzotti G., Pisanu M., Semprini P., Caprioli A. (2004b). Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in minced beef and dairy products in Italy. *Int J Food Microbiol*, 96(1): 67-73.
 22. Cray W.C. Jr, Moon H.W. (1995). Experimental infection of calves and adult cattle with *Escherichia coli* O157:H7. *Appl Environ Microbiol*, 61: 1586-1590.
 23. Decastelli L., Martorana M., Gallina S., Bottero M.T., Civera T. (2004). Prevalenza di *Escherichia coli* patogeni (VTEC, EPEC, ETEC) in prodotti lattiero-caseari. Atti XVI Convegno Nazionale AIVI, Santuario di Vicoforte (CN), 4-6 giugno, 175-180.
 24. Eklund M., Scheutz F., Siitonen A. (2001). Clinical isolated of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: serotypes, virulence characteristics, and molecular profiles of strains of the same serotype. *J. Clin. Microbiol.* 39(8): 2829-2834.
 25. European Food Safety Authority (EFSA). 2006. Press release. Campylobacteriosis overtakes salmonellosis as the most reported animal infection transmitted to humans in the EU. www.efsa.europa.eu
 26. Galiero G., Conedera G., Alfano D., Caprioli A. (2005a). Isolation of verocytotoxin - producing *Escherichia coli* O157 from water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in southern Italy. *Vet Rec*, 156 (12): 382-383.
 27. Galiero G., Morena C., Condera G., Caprioli A. (2005b). Indagine sulla presenza di *Escherichia coli* O157 in mozzarella di bufala campana. *Industrie Alimentari*, 44: 633-634.
 28. Grauke L.J., Kudva I.T., Yoon J.W., Hunt C.W., Williams C.J., Hovde C.J. (2002). Gastrointestinal tract location of *Escherichia coli* O157:H7 in ruminants. *Appl Environ Microbiol*, 68(5): 2269-2277.
 29. Jenkins C., Pearce M.C., Smith A.W., Knight H.I., Shaw D.J., Cheasty T., Foster G., Gunn G.J., Dougan G., Smith H.R., Frankel G. (2003). Detection of *Escherichia coli* serogroups O26, O103, O111 and O145 from bovine faeces using immunomagnetic separation and PCR/DNA probe techniques. *Lett App Microbiol*, 37(3): 207-212.
 30. Jones N.L., Islur A., Haq R., Mascarenhas M., Karmali M.A., Perdue M.H., Zanke B.W., Sherman P. (2000). *Escherichia coli* Shiga toxins induce apoptosis in epithelial cells that is regulated by the Bcl-2 family. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 278(5): G811-G819.
 31. Kang S J., Ryu S.J., Chae J.S., Eo S.K., Woo G.J., Lee J.H. (2004). Occurrence and characteristics of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 in calves with diarrhoea. *Vet Microbiol*, 98(3-4): 323-328.

32. Kaper J.B., Nataro J.P., Mobley H.L.T. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*, 2(2): 123-140.
33. Karmali M.A., Steele B.T., Petric M., Lim C. (1983). Sporadic cases of haemolytic uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. *Lancet*, I (8325): 619-620.
34. Konowalchuk J., Speirs J.I., Stavric S. (1977). Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. *Infect Immun*, 18(3): 775-779.
35. Mainil J.C., Daube G. (2005). Verotoxigenic *Escherichia coli* from animals, humans and foods: who's who? *J Appl Microbiol*, 98(6): 1332-1344.
36. McMaster C., Roch E.A., Willshaw G.A., Doherty A., Kinnear W., Cheasty T. (2001). Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* serotype O26:H11 outbreak in a Irish creche. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 20(6): 430-432.
37. Mead P.S., Griffin, P.M. (1998). *Escherichia coli* O157:H7. *Lancet*, 352(9135): 1207-1212.
38. Melton-Celsa A.R., O'Brien A.D. (1998). Structure, biology and relative toxicity of Shiga Toxin members for cells and animals. In: *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin producing *E. coli* strains, Eds. Kaper J.D., O'Brien A.D., 121-128, ASM Press, Washington, D.C.
39. Moake J.L., Chow T.W. (1998). Increased von Willebrand factor (vWf) binding to platelets associated with impaired vWf breakdown in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Clin Apher*, 13(3): 126-132.
40. Morabito S., Karch H., Mariani-Kurkdjian P., Schmidt H., Minelli F., Bingen E., Caprioli. A. (1998). Enterocoagulative, Shiga-toxin producing *Escherichia coli* O111:H2 associated with an outbreak of hemolytic-uremic syndrome. *J Clin Microbiol*, 36(3): 840-842.
41. Naylor S.W., Low J.C., Besser T.E., Mahajan A., Gunn G.J., Pearce M.C., McKendrick I.J., Smith D.G., Gally D.L. (2003). Lymphoid follicle-dense mucosa at the terminal rectum is the principal site of colonization of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in the bovine host. *Infect Immun*, 71(3): 1505-1512.
42. Nataro J.P., Kaper J.B. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*, 11(1): 142-201.
43. O'Brien A.D., LaVeck G.D., Griffin D.E., Thompson M.R. (1980). Characterization of *Shigella dysenteriae* 1 (Shiga) toxin purified by anti-Shiga toxin affinity chromatography. *Infect Immun*, 30(1): 170-179.
44. O'Brien A.D., LaVeck G.D., Thompson M.R., Formal S.B. (1982). Production of *Shigella dysenteriae* type 1-like cytotoxin by *Escherichia coli*. *J Infect Dis*, 146(6): 763-769.
45. O'Brien A.D., Lively T.A., Chen M.E., Rothman S.W., Formal S.B. (1983). *Escherichia coli* O157:H7 strains associated with haemorrhagic colitis in the United States produce a *Shigella dysenteriae* 1 (Shiga) like cytotoxin. *Lancet*, I (8326): 702.
46. Paton A.W., Ratcliff R.M., Doyle R.M., Seymour-Murray J., Davos D., Lanser J.A., Paton J.C. (1996). Molecular microbiological investigation of an outbreak of hemolytic-uremic syndrome caused by dry-fermented sau-

- sage contaminated with Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli*. J Clin Microbiol, 34 (7): 1622-1627.
47. Pearce M.C., Evans J., McKendrick I. J., Smith A.W., Knight H.I., Mellor D.J., Woolhouse M.E.J., Gunn G.J., Low J.C. (2006). Prevalence and virulence factors of *Escherichia coli* serogroups O26, O103, O111, and O145 shed by cattle in Scotland. Appl Environmen Microbiol, 72 (1): 653-659.
 48. Picozzi C., Foschino R., Heuvelink A., Beumer R. (2005). Phenotypic and genotypic characterization of sorbitol-negative or slow-fermenting (suspected O157) *Escherichia coli* isolated from milk samples in Lombardy region. Lett Appl Microbiol, 40 (6): 491-496.
 49. Remis R.S., MacDonald K.L., Riley L.W., Puhf N.D., Wells J.G., Davis B.R., Blake P.A., Cohen M.L. (1984). Sporadic cases of hemorrhagic colitis associated with *Escherichia coli* O157:H7. Ann Intern Med, 101(5): 624-626.
 50. Rey J., Blanco J.E., Blanco M., Mora A., Dahbi G., Alonso J.M., Hermoso M., Hermoso J., Alonso M.P., Usera M.A., Gonzalez E.A., Bernardez M.I., Blanco J. (2003). Serotypes, phage types and virulence genes of Shiga-producing *Escherichia coli* isolated from sheep in Spain. Vet Microbiol, 94(1): 47-56.
 51. Rey J., Sanchez S., Blanco J.E., Hermoso de Mendoza J., Hermoso de Mendoza M., Garcia A., Gil C., Tejero N., Rubio R., Alonso J.M. (2006). Prevalence, serotypes and virulence genes of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from ovine and caprine milk and other dairy products in Spain. Int J Food Microbiol, 107(2): 212-217.
 52. Rice D.H., Sheng H.Q., Wynia S.A., Hovde C.J. (2003). Rectoanal mucosal swabs culture is more sensitive than fecal culture and distinguishes *Escherichia coli* O157:H7-colonized cattle and those transiently shedding the same organism. J Clin Microbiol, 41(11): 4924-4929.
 53. Riley L.W., Remis R.S., Helgerson S.D., McGee H.B., Wells J.G., Davis B.R., Hebert R.J., Olcott E.S., Johnson L.M., Hargrett N.T., Blake P.A., Cohen M.L. (1983). Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. New Engl J Med, 308: 681-685.
 54. Rubini S., Cardeti G., Amati S., Manna G., Onorati R., Caprioli A., Morabito S. (1999). Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in sheep milk. Vet Rec, 144 (2): 56.
 55. Scavia G., Tozzi A.E., Busani L., Minelli F., Procaccino M.A., Caprioli A. (2005). Sindrome emolitico uremica (SEU): studio di fattori di rischio attraverso dati di sorveglianza clinica. In: Proceedings V Workshop nazionale Enter-net Italia. Sistema di sorveglianza delle infezioni enteriche, 75, Istituto Superiore di Sanità, Roma, 1-2 dicembre.
 56. Scheutz F., Olesen B., Engberg J., Petersen A., Molbak K., Schiellerup P., Gerner-Smidt P. (2001). Clinical features and epidemiology of infections by Verocytotoxigenic *E. coli* (VTEC) from Danish patients 1997-2000, and characterisation of VTEC isolates by serotypes and virulence factors. Epidemiology of Verocytotoxigenic *E. coli* pp. 58-66. Verocytotoxigenic *E. coli* in

- Europe, Concerted Action Group CT98-3935.
57. Scheutz F., Persson S., Olsen K.E.P. (2005). Association between virulence genes and the clinical manifestations in humans. In: Consensus Meeting on: Pathogenesis of verocytotoxin (VT)-producing *Escherichia coli* (VTEC) infection: defining a new paradigm for pathogenic VTEC. Istituto Superiore di Sanità, December 5th-7th, Rome.
 58. Schmidt H., Geitz C., Tarr P., Frosch M., Karch, H. (1999). Non-O157:H7 pathogenic Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: phenotypic and genetic profiling of virulence traits and evidence of clonality. *J Infect Dis*, 179 (1): 115-123.
 59. SCVPH (Scientific Committee on Veterinary Measures relating to public Health). 2003. Verotoxigenic *E. coli* (VTEC) in foodstuffs, adopted on 21-22 January 2003. (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scv/out58_en.pdf).
 60. Tilden J. Jr., Young W., McNamara A.M., Custer C., Boesel B., Lambert-Fair M.A., Majkowski J., Vugia D., Werner S.B., Hollingsworth J., Morris J.G. Jr. (1996). A new route of transmission for *Escherichia coli*: infection from dry fermented salami. *Am J Public Health*, 86(8): 1142-1145.
 61. Todd W.T.A. (2001). Prospects for the prevention of haemolytic-uraemic syndrome. *Lancet*, 357(9269): 1636-1638.
 62. Tozzi A.E., Niccolini A., Caprioli A., Luzzi I., Montini G., Zacchello G., Gianviti A., Principato F., Rizzoni G. (1994). A community outbreak of haemolytic-uraemic syndrome in children occurring in a large area of northern Italy over a period of several months. *Epidemiol Infect*, 113: 209-219.
 63. Tozzi A.E., Caprioli A., Minelli F., Gianviti A., De Petris L., Edefonti A., Montini G., Ferretti A., De Palo T., Gaido M., Rizzoni, G. and the Hemolytic Uremic Syndrome Study Group (2003). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections associated with hemolytic uremic syndrome, Italy, 1988-2000. *Emerg Infect Dis*, 9(1): 106-108.
 64. Tozzi A.E., Rizzoni G., Procaccino M.A., Minelli F., Marziano M.L., Scavia G., Brigotti M., Caprioli A. (2004). Sorveglianza della Sindrome Emolitico-Uremica in Italia. In: Proceedings IV Workshop nazionale Enter-net Italia - Sistema di sorveglianza delle infezioni enteriche, p.7, Roma, 25-26 novembre.
 65. Zschöck M., Hamann H.P., Kloppert B., Wolter W. (2000). Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* in faeces of healthy dairy cows, sheep and goats: prevalence and virulence properties. *Lett Appl Microbiol*, 31(3): 203-208.