

CORSO MICROBIOLOGIA ALIMENTARE:

Escherichia coli

1.0 GENERALITA'

Il genere *Escherichia* comprende sette specie tra cui *E. coli*, la specie più comune e più importante dal punto di vista clinico. Il nome deriva dal suo scopritore, *Theodor Escherich*, pediatra tedesco che isolò il batterio dalle feci di neonati e lo correlò ad un'enterite fatale che colpiva i bambini. Inizialmente il batterio prese il nome di *Bacillus communis coli* e solo dopo la morte del pediatra acquisì il nome di *Escherichia coli*.

Escherichia coli è un microrganismo bastoncellare Gram - appartenente alla famiglia delle *Enterobacteriaceae*, prevalentemente mobile, anaerobio facoltativo, avente temperatura ottimale di crescita a +37°C; fermenta il glucosio ed altri carboidrati, con produzione di acido e di gas. Ossidasi negativo e catalasi positivo riduce i nitrati a nitriti, e possiede una membrana esterna formata da un lipopolisaccaride (LPS) contenente tre componenti: un polisaccaride O (antigene somatico), un core polisaccaridico (antigene comune a tutte le *Enterobacteriaceae*) e un lipide A (endotossina).



Fig. 1: *Escherichia coli* al microscopio elettronico (le scienze)

Microrganismo che si trova nell'intestino di esseri umani ed animali a sangue caldo popola il tratto digerente insieme ad altri batteri facenti parte della flora intestinale ; tuttavia alcuni ceppi possono produrre malattie e causare patologie quali sepsi, meningiti, infezioni del tratto urinario e gastroenteriti. L'habitat intestinale di tale microrganismo lo rende un utile indicatore di contaminazione fecale per valutare la qualità e la sicurezza di alimenti e acque destinate ad uso umano.

2.0 E. COLI E TOSSINFEZIONI ALIMENTARI

Escherichia coli è un microrganismo abbondantemente presente in natura e come detto in precedenza vive abitualmente nell'intestino dell'uomo e degli animali. La trasmissione dei ceppi patogeni per via alimentare avviene tramite l'ingestione di acqua e cibi contaminati, ed esistono per tale motivo normative che disciplinano la presenza di questo germe nelle suddette matrici.

Il Decreto Legislativo n. 31/2001 regola la qualità delle acque destinate al consumo umano, nominando parametri microbiologici e chimici che devono essere soddisfatti al fine di considerare l'acqua potabile; *E. coli* insieme agli enterococchi rientrano in tali criteri di giudizio ed entrambi devono essere assenti in 100 ml di acqua campionata (valore espresso come <1/100 ml).

Il Regolamento CE n. 2073/2005 e successive modifiche nomina *E. coli* fra i parametri microbiologici per la sicurezza dei prodotti alimentari e specifica per tipologia di prodotto il limite massimo, la metodologia d'analisi, la fase di processo cui va applicato e le azioni correttive da adottare in caso di non conformità. Il rilievo del mancato rispetto del limite stabilito per la concentrazione di *E. coli* in una determinata categoria di alimenti, come di qualsiasi altro microrganismo considerato un criterio di sicurezza (*Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*) comporta da parte dell'azienda operante:

- ritiro e/o richiamo del prodotto;
- informazione dell'autorità competente;
- collaborazione con l'autorità competente;
- intraprendere azioni correttive;
- rivalutazione ed eventuale revisione delle procedure di conduzione e controllo del processo.

E. coli non solo è considerato un criterio di sicurezza alimentare dalla normativa vigente, ma anche un criterio di igiene del processo, poiché la presenza di tale microrganismo al di sopra di determinati valori indica delle falle nei processi di sanificazione dei locali e delle attrezzature di lavoro e/o nell'igiene del personale.

I principali veicoli alimentari implicati nelle epidemie da *E. coli* sono rappresentati da :

- preparati a base di carne mal cotti (hamburger, polpette);
- latte non pastorizzato;
- acqua non potabile;
- formaggi;
- carne cruda;
- vegetali lavati con acqua non potabile.

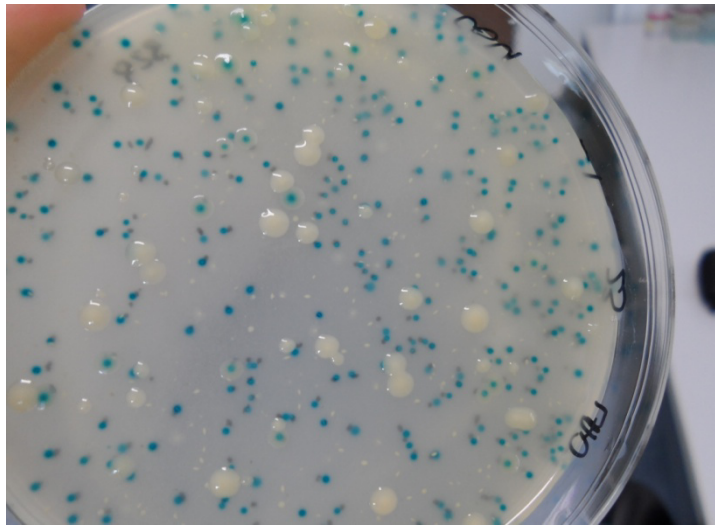


Fig. 2: *Escherichia coli* (colonie azzurre) isolato da alimenti in terreno di coltura TBX medium

Esistono vari ceppi di *E. coli*, alcuni capaci di causare gastroenteriti nell'uomo e in alcuni animali:

- *Escherichia coli* enteropatogeni (EPEC);
- *Escherichia coli* enteroinvasivi (EIEC);
- *Escherichia coli* enterotossigeni (ETEC);
- *Escherichia coli* enteroemorragici (EHEC);
- *Escherichia coli* enteroaderenti (EACE).

Le tossinfezioni alimentari causate da *Escherichia coli* possono essere differenziate nelle seguenti forme, in base al ceppo che le scatena:

- tossinfezione da ceppi enteroinvasivi (EIEC): causata dalla penetrazione dei germi nella mucosa del colon si manifesta dopo un periodo di incubazione di 8-24 ore con brividi, febbre, mal di testa, diarrea profusa e disidratazione. Nelle feci sono presenti globuli bianchi in grande quantità;
- tossinfezione da ceppi enteropatogeni (EPEC): compare prevalentemente nei bambini ospedalizzati e più raramente nei soggetti adulti. I sintomi compaiono 16-72 ore dopo l'ingestione del pasto con vomito, febbre, dolori addominali e diarrea mucosa che può durare da 6 ore a 3 giorni. Nelle feci solitamente, non è presente sangue;
- tossinfezione da ceppi enterotossigeni (ETEC): sono i microrganismi più frequentemente chiamati in causa nella cosiddetta "diarrea del viaggiatore", una malattia che compare spesso per assunzione di acqua contaminata. I sintomi provocati da tali batteri compaiono dopo 8-48 ore dall'ingestione dell'alimento e sono attribuibili alla produzione di tossine che determinano nausea, malessere, diarrea acquosa e crampi addominali;
- tossinfezione da ceppi enteroemorragici (EHEC-VTEC): ne è esempio quella scatenata da *Escherichia coli* O157:H7 caratterizzata da diarreie sanguinolente, che può sfociare in una complicanza definita sindrome emolitica uremica, più frequente nei bambini di età inferiore ai 5 anni e negli anziani. La malattia è determinata dalla produzione di tossine fra le quali la più importante sembra essere la verocitotossina;

- tossinfezione da ceppi enteroaderenti (EAEC): ingeriti con i cibi raggiungono l'intestino tenue dove aderiscono agli enterociti e causano diarrea acquosa, vomito e febbre.

I diversi ceppi di *E. coli* causano tossinfezioni più o meno gravi in dipendenza della carica infettante presente nell'alimento e della suscettibilità dell'individuo che lo ingerisce; in generale la dose minima infettante si aggira tra 10^7 - 10^9 UFC/g, tranne per gli *E. coli* enteroemorragici che possono causare la malattia con 10-100 UFC/g.

Le misure di controllo delle tossinfezioni sostenute da *Escherichia coli* sono incentrate:

- ad evitare le contaminazioni fecali del cibo o delle bevande durante tutte le fasi di preparazione. Particolarmente importante risulta essere nel caso delle carcasse la macellazione che rappresenta un punto estremamente critico di inquinamento; lo stesso dicasi per la contaminazione del latte durante la mungitura;
- ad applicare buone pratiche di lavorazione ovvero rispettare le norme igieniche, ad esempio il lavaggio mani, ed impedire contaminazioni crociate fra gli alimenti;
- ad utilizzare alte temperature per la cottura degli alimenti a rischio e conservare le pietanze in condizione di refrigerazione.

3.0 MECCANISMO PATOGENETICO DI *E. COLI*

Come specificato sopra esistono vari ceppi di *E. coli*, ognuno caratterizzato da determinate forme di virulenza che determinano la patogenicità del microrganismo, ovvero la sua capacità di determinare una malattia nell'uomo. Possiamo riassumere i fattori di virulenza di *E. coli* in tre categorie:

- adesività;
- invasività;
- capacità di produrre tossine.

Di seguito riportiamo la modalità con cui i diversi ceppi di *E. coli* causano gastroenteriti nell'uomo:

- **ceppi ETEC:** producono due tipi di tossine, termolabili e termostabili, entrambe evocate da geni localizzati su plasmidi trasferibili. Le tossine causano attraverso meccanismi cellulari la perdita di liquidi da parte delle cellule dell'intestino tenue, con conseguente diarrea acquosa;
- **ceppi EPEC:** questi ceppi formano microcolonie adese alle cellule epiteliali dell'intestino tenue attraverso elementi che ricordano il piedistallo di un calice. Per attaccarsi alla mucosa i germi usano delle adesine particolari, fra cui l'intimina. I sintomi sono diarrea accompagnata da febbre, nausea, vomito e feci non sanguinolente;
- **ceppi EIEC:** simili alle shigelle, possiedono un gruppo di geni collocati su un plasmide responsabili dell'invasione dell'epitelio del colon. I batteri entrano nelle cellule lisando il vacuolo, si moltiplicano nel citoplasma e migrano verso altre cellule adiacenti seguendo dei percorsi formati da filamenti di actina; questo tipo di movimento assomiglia a quello delle listerie. I sintomi sono febbre, crampi, diarrea acquosa;
- **ceppi EHEC:** le tossine si legano a un glicolipide della cellula ospite che abbonda nei villi intestinali e nelle cellule renali. La distruzione dei villi intestinali causa una diminuzione

dell'assorbimento e quindi, un maggior rilascio di fluidi. La complicazione più temuta è la sindrome emolitico uremica, dovuta alla tossina che distrugge le cellule renali del glomerulo con conseguente diminuzione della capacità filtrante e insufficienza renale acuta. I sintomi possono scomparire spontaneamente dopo 4-10 giorni, ma permangono rischi di complicazioni (30%) e di mortalità (3-5%);

- **ceppi EAEC:** i batteri si dispongono a forma di mattoni ammassati grazie a fasci di fimbrie (organi di aderenza) e stimolano la secrezione di muco, per cui si formano dei biofilm batterici stratificati sulle cellule dell'intestino tenue con conseguente diarrea acquosa, vomito, e febbre lieve.

4.0 E. COLI E ANTIBIOTICO RESISTENZA

L'Istituto Superiore di Sanità mostra un panorama poco confortante: nel giro di 4 anni è aumentata notevolmente la resistenza in due specie di batteri sotto sorveglianza: *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*.

Queste due specie mostrano un aumento nelle percentuali di resistenza alle cefalosporine di terza generazione, fluorochinoloni ed aminoglicosidi, resistenze che sono spesso combinate tra di loro generando batteri multi-resistenti, causa di infezioni difficilmente trattabili. Negli ultimi anni tra le resistenze si è aggiunta quella ai carbapenemi, antibiotici di ultima risorsa, che può rendere l'infezione intrattabile. L'antibiotico-resistenza di tali microrganismi non è uniforme nei paesi dell'Unione Europea, ma è maggiore nei paesi del sud e dell'est Europa, tra cui l'Italia.

Gli andamenti registrati sono preoccupanti: rimangono poche opzioni terapeutiche disponibili per il trattamento di pazienti infettati da questi ceppi, e per i prossimi anni si ipotizza una situazione anche peggiore.

5.0 BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

1. Germano Mucchetti, Erasmo Nevian. Microbiologia e tecnologia lattiero casearia, pp 781-784.
2. Giorgio Gilli. Professione igienista. Manuale dell'igiene ambientale e territoriale, Casa editrice ambrosiana, 2010. Lo Nostro Antonella, malattie trasmesse da alimenti pp 336-375.
3. <http://www.camera.it/parlam/leggi/deleghe/01031dl.htm>
4. <http://www.cdc.gov/ecoli/>
5. http://www.ceirsa.org/docum/allegato_punto3.pdf
6. http://www.epicentro.iss.it/focus/resistenza_antibiotici/rapportoEarss.asp
7. <http://www.iss.it/pres/?lang=1&id=1383&tipo=6>
8. http://www.izsto.it/images/stories/Osservatorio/TC_reg._2073.pdf
9. http://www.lescienze.it/news/2012/09/21/news/batterio_chiave_evoluzione_escherichia_coli_geni-1265370/
10. http://195.45.99.79/csra/index.php?option=com_content&task=view&id=96&Itemid=229

11. Maurizio Zavanella. Escherichia coli, una scoperta continua. Fondazione iniziative zooprofilattiche e zootecniche brescia.
12. Pasquale Galetta et al. ENTER-NET: sorveglianza delle infezioni da patogeni enterici. Isolamenti di Salmonella spp., E. coli produttori di verocitotossina e Campylobacter spp. da infezioni umane e da fonti ambientali in Italia nel 2006.