

Ricerca Corrente IZSVE 18/07 Definizione e sviluppo di metodiche diagnostiche innovative per la ricerca di *Escherichia coli* verocitotossici (VTEC) in matrici alimentari

Responsabile scientifico: dott.ssa Gabriella Conedera

Abstract

Sin dagli inizi degli anni '80, stipiti di *Escherichia coli* produttori di Verocitotossine (VTEC), in particolare quelli classificati come enteroemorragici (EHEC) e appartenenti a specifici sierototipi, sono emersi come agenti causali di infezioni umane a trasmissione alimentare. Tali microrganismi possono causare gravi patologie, quali la colite emorragica e la Sindrome Emolitico-Uremica (SEU), che può avere esito fatale soprattutto in bambini ed anziani; hanno inoltre rilevanza di sanità pubblica, essendo stati responsabili di eventi epidemici in vari Paesi.

Il sierogruppo VTEC più noto e studiato è *E. coli* O157, per il quale esiste una metodica ISO (16654:2001) per l'isolamento da matrici alimentari basata essenzialmente su immunoseparazione magnetica e successiva semina su terreni selettivo-differenziali. Non sono invece per ora disponibili metodiche ufficiali di riferimento per la ricerca di VTEC di sierogruppo non-O157 dagli alimenti. Tali ceppi, a differenza di *E. coli* O157, non presentano caratteristiche di crescita tali da permetterne una facile identificazione mediante metodiche microbiologiche tradizionali, che pertanto si rivelano molto laboriose e di scarsa sensibilità. Tali limiti diagnostici ostacolano anche lo sviluppo di conoscenze sulla epidemiologia delle infezioni umane da VTEC e sui possibili veicoli di trasmissione all'uomo. In Italia attualmente la prevalenza di infezioni umane da VTEC non-O157 è superiore a quella da VTEC O157: nel periodo 2000-2005 almeno 69 dei 99 casi di Sindrome Emolitico Uremica (SEU) rilevati dal Sistema Nazionale di Sorveglianza delle SEU in età pediatrica sono stati ricondotti a VTEC non-O157, per lo più senza riuscire a stabilirne la fonte d'infezione. Inoltre, anche in recenti emergenze e allerte comunitarie (come quella del 2006, a seguito di infezioni umane da VTEC O26 in Francia associate al consumo di formaggi), si è evidenziata la carenza di metodiche rapide applicabili per i

controlli dei grandi numeri di campioni alimentari che pervengono in questi casi contemporaneamente ai laboratori.

L'importanza di poter disporre di metodiche adeguate per il controllo dei VTEC trova conferma anche nei contenuti della "Direttiva zoonosi" 2003/99/EC, che include i VTEC fra gli agenti zoonosici che gli Stati Membri (MS) devono monitorare nella filiera alimentare. I dati relativi ai VTEC, che devono essere inseriti dai vari MS nel "report annuale sulle zoonosi" dell'EFSA, attualmente si presentano molto disomogenei e poco significativi proprio per la diversità dei metodi impiegati. Ciò è stato sottolineato in una recente opinione dell'EFSA relativa al monitoraggio dei VTEC, con raccomandazione ai MS di utilizzare metodi armonizzati, standardizzati e validati. Proprio al fine di fissare le linee guida per lo sviluppo di un metodo standardizzato per la determinazione di VTEC in alimenti, è stato istituito un gruppo di lavoro *ad hoc* (CEN/TC 275 WG6) a livello europeo. In tale contesto, obiettivo del presente progetto è quello di sviluppare i passaggi di una metodica di tipo innovativo per la ricerca in matrici alimentari dei principali sierogruppi VTEC associati a patologia umana e rilevanti in sanità pubblica; verrà sperimentata una procedura basata su uno screening preliminare con metodiche biomolecolari (PCR/real-time PCR) e successiva applicazione di procedure di isolamento sui soli campioni risultati positivi allo screening.

Si intende inoltre valutare l'applicabilità di una metodica di array in fase fluida (sistema Bio-Plex) per identificare in maniera simultanea i principali fattori di virulenza e marker associati a patogenicità di *E. coli*, in particolare VTEC.