

# INFEZIONI DA *ESCHERICHIA COLI* PRODUTTORI DI VEROCITOTOSSINA (VTEC) NEI PAZIENTI DEL REGISTRO ITALIANO DELLA SINDROME EMOLITICO UREMICA PEDIATRICA NEGLI ANNI 2005-2006



Gaia Scavia<sup>1</sup>, Maurizio Brigotti<sup>2</sup>, Marta Luisa Ciofi degli Atti<sup>3</sup>, Martina Escher<sup>1</sup>, Alfonso Ferretti<sup>4</sup>, Alessandro Fioravanti<sup>1</sup>, Maria Luisa Marziano<sup>1</sup>, Fabio Minelli<sup>1</sup>, Stefano Morabito<sup>1</sup>, Carmine Pecoraro<sup>4</sup>, Alberto E. Tozzi<sup>5</sup>, Rosangela Tozzoli<sup>1</sup>, Susan Babsa<sup>1</sup>, **Alfredo Caprioli<sup>1</sup>** e le strutture ospedaliere che hanno partecipato alla sorveglianza\* (lista a fine articolo)

<sup>1</sup>Dipartimento di Sanità Alimentare ed Animale, ISS

<sup>2</sup>Università degli Studi di Bologna

<sup>3</sup>Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute, ISS

<sup>4</sup>Azienda Ospedaliera "Santobono-Pausilipon", Napoli

<sup>5</sup>Ospedale Pediatrico "Bambino Gesù", Roma

Questo articolo è dedicato alla memoria di Gianfranco Rizzoni, che ha avviato e dato impulso alle attività di studio e sorveglianza della Sindrome Emolitico Uremica in Italia

**RIASSUNTO** - La Sindrome Emolitico Uremica (SEU), causa principale di insufficienza renale acuta in età pediatrica, si sviluppa prevalentemente a seguito di un'infezione intestinale da *Escherichia coli* produttore di verocitotossina (VTEC). Il Registro Italiano della SEU pediatrica raccoglie dati clinici ed epidemiologici e collabora con l'Istituto Superiore di Sanità per la diagnostica dei VTEC. Tra il 2005 e il 2006 sono stati registrati 76 casi; in 39 è stata riscontrata infezione da VTEC. Le attività del Registro rivestono grande rilevanza in sanità pubblica, poiché consentono un efficace monitoraggio delle infezioni da VTEC, con particolare riferimento alla dinamica dei sierogruppi e all'identificazione degli episodi epidemici.

**Parole chiave:** Sindrome Emolitico Uremica, *Escherichia coli* verocitotossina produttori, Italia, microbiologia

**SUMMARY** (*Infection with verocytotoxin-producing Escherichia coli (VTEC) in patients enrolled by the Italian Register for Hemolytic Uremic Syndrome in the years 2005 and 2006*) - The hemolytic uremic syndrome (HUS) is associated with acute renal failure in early childhood. Usually HUS occurs as consequence of intestinal infection of VTEC. The Italian Register for HUS collects clinical and epidemiological data on pediatric cases of HUS in cooperation with ISS as far as VTEC laboratory investigation is concerned. In the years 2005 and 2006, 76 cases were registered and diagnosis of VTEC was obtained in 39 patients. The activities of the Italian Register for HUS represent the basis of surveillance of VTEC infections in Italy.

**Key words:** verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC), hemolytic uremic syndrome, Italy, microbiology  
gaia.scavia@iss.it

La Sindrome Emolitico Uremica (SEU) è una malattia rara, di notevole gravità, che colpisce in modo particolare i bambini. Rappresenta la causa principale di insufficienza renale acuta in età pediatrica ed è anche caratterizzata da anemia emolitica microangiopatica e piastrinopenia (1). I pazienti colpiti da SEU necessitano, nella maggior parte dei casi, di terapia dialitica e trasfusionale che può essere eseguita soltanto da centri di nefrologia pediatrica specializzati.

Per oltre l'80% dei casi, la SEU si sviluppa come complicanza di un'infezione intestinale da stipiti di *Escherichia coli* produttori di verocitotossina (VTEC), dei quali *E. coli* O157 rappresenta il sierogruppo più diffuso e noto, sia sotto il profilo epidemiologico sia patogenetico (2). Negli ultimi anni, tuttavia, si è assistito a un notevole aumento di incidenza delle infezioni sostenute da sierogruppi diversi da *E. coli* O157, in particolare O26, O111, O145 e O103 (3). ▶



In Italia non è previsto l'obbligo di notifica ufficiale per la SEU. La registrazione dei casi, tuttavia, risulta importante nell'ambito della sanità pubblica poiché consente di sorvegliare la dinamica delle infezioni da VTEC nella popolazione. Tali infezioni sono considerate una zoonosi in quanto il *reservoir* naturale di questi microrganismi è costituito dall'intestino dei ruminanti, in particolare i bovini, per i quali non risultano patogeni (2). La trasmissione all'uomo avviene per contatto diretto con gli animali oppure per via alimentare, attraverso l'ingestione di alimenti contaminati all'origine (mungitura, macellazione) o lungo la filiera produttiva (cross contaminazione) e non sottoposti ad adeguata cottura o altro equivalente procedimento tecnologico (pastorizzazione, sterilizzazione). Anche l'acqua e i vegetali contaminati da feci di ruminanti infetti, in seguito a spargimento dei reflui zootecnici, pratiche di ferti-irrigazione o per contaminazione accidentale, possono rappresentare fonti d'infezione non trascurabili, come testimoniano le frequenti epidemie associate al consumo di ortaggi contaminati verificatesi negli ultimi anni in Europa e in Nord America (2).

Nel nostro Paese le infezioni da VTEC sono oggetto di sorveglianza della rete Enter-Net Italia (4); esse sono anche sottoposte a denuncia obbligatoria (classe II) ai sensi del DM 15 dicembre 1990, poiché responsabili di diarrea infettiva non da Salmonella. In assenza di una specifica diagnosi etiologica, tuttavia, questo tipo di notifica risulta essere troppo generica e non può essere utilizzata ai fini di una specifica sorveglianza epidemiologica.

Nel 2005 si è costituito in Italia il Registro Italiano della Sindrome Emolitico Uremica (SEU) nei pazienti pediatrici, che ha raccolto e consoli-

dato le attività di studio e sorveglianza epidemiologica intraprese, fin dal 1988, dalla Società Italiana di Nefrologia Pediatrica in collaborazione con l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) (3, 5). Il Registro è attualmente coordinato dall'Azienda Ospedaliera "Santobono-Pausilipon" di Napoli, con la collaborazione dell'ISS per quanto attiene agli aspetti di sanità pubblica. Le indagini microbiologiche sui casi di SEU sono svolte presso l'ISS che, inoltre, coordina le indagini epidemiologiche sugli episodi epidemici identificati.

## Metodi

Per ogni paziente sono stati raccolti dati anamnestici e clinici. Campioni di feci, sangue e siero sono stati prelevati appena possibile dopo la diagnosi di SEU. La diagnosi di infezione da VTEC era basata sulle seguenti indagini:

1. esame delle feci per la presenza di VTEC mediante semina su Agar MacConkey ed esame delle colonie per produzione di verocitotossina (VT) mediante saggio di citotossicità su colture di cellule Vero e presenza di geni codificanti per VT e fattore di adesione *attaching/effacing* (eae) mediante PCR (3). I ceppi isolati sono stati tipizzati mediante identificazione dell'antigene somatico O di sierogruppo;



2. esame delle feci per la presenza di VT fecale libera mediante saggio di citotossicità su colture di cellule Vero (3, 5);
3. esame dei sieri mediante ELISA per la presenza di anticorpi sierici diretti contro il lipopolisaccaride (LPS, antigene O) dei principali sierogruppi VTEC: O157, O26, O103, O111, O145 (3, 6);
4. esame dei campioni di sangue per la presenza di VT legata ai leucociti polimorfonucleati

(PMN) circolanti. Tale metodica si basa sulla marcatura della VT con anticorpi monoclonali e sulla sua successiva messa in evidenza con metodiche di fluoro-citometria (7). Essa è stata condotta su campioni provenienti dai pazienti segnalati dai centri di Milano, Roma e Napoli.

Le metodiche ai punti 2 e 4, pur permettendo la diagnosi di infezione da VTEC, non consentono la determinazione del sierogruppo del ceppo infettante.



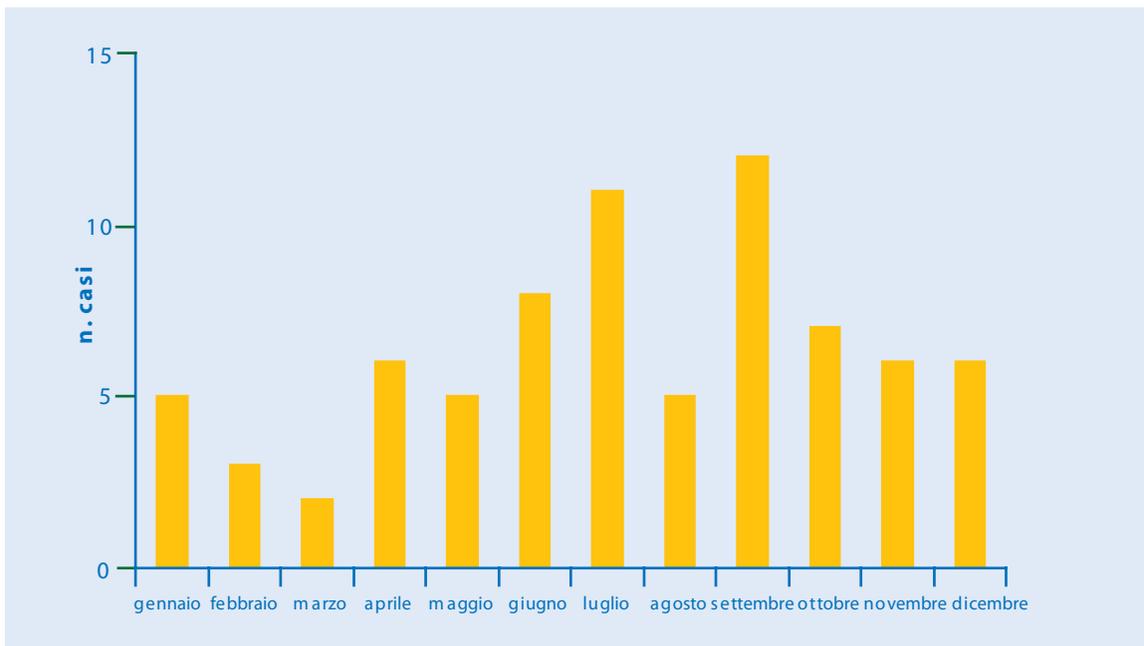
**Figura 1** - Numero dei casi di SEU segnalati al Registro negli anni 2005-2006 (totale: n. 66)

### Attività del Registro Italiano SEU Pediatrica negli anni 2005-2006

Tra il 2005 e il 2006, 14 centri ospedalieri hanno segnalato al Registro Italiano SEU Pediatrica 76 casi, dei quali 43 maschi e 33 femmine.

L'età mediana dei pazienti era di 2 anni e 4 mesi (range 4 mesi-15 anni). I pazienti provenivano da 13 Regioni, prevalentemente Campania, Lombardia e Veneto (Figura 1). In 16 casi la SEU si è manifestata in un luogo diverso da quello di residenza dei pazienti, in concomitanza con periodi di soggiorno per vacanza. Due pazienti ricoverati in Italia, ove si trovavano in soggiorno, provenivano da altri Paesi dove era presumibilmente avvenuta l'esposizione all'infezione da VTEC.

La stagionalità dei casi di SEU è rappresentata nella Figura 2. ▶



**Figura 2** - Casi di SEU per mese di insorgenza



**Terreni colturali per l'isolamento di *E. coli* O157**

Una diarrea prodromica è stata riscontrata nella maggior parte dei casi (89%) per i quali è stato possibile reperire tale informazione (Tabella 1). La diarrea era acquosa in 29 pazienti, emorragica in 27.

## Infezioni da VTEC

Le indagini di laboratorio per la diagnosi di infezione da VTEC sono state eseguite su 70 pazienti, dei quali sono pervenuti all'ISS i campioni biologici. I risultati dei saggi diagnostici eseguiti sui campioni, suddivisi in base alla sintomatologia clinica, sono riportati nella Tabella 1.

Evidenze di infezione da VTEC sono state riscontrate in 39 (55,7%) dei casi esaminati mentre per tre pazienti è stato possibile accertare familiarità per SEU, ovvero attribuire la malattia a cause non infettive.

L'infezione da VTEC è stata riscontrata in 34 dei 56 casi con diarrea prodromica esaminati, mentre era assente in tutti i 7 casi di SEU che non presentavano tale sintomo. Tale differenza è risultata significativa (Test di Fisher:  $p \leq 0,01$ ) sottolineando, una volta di più, la possibilità di individuare in questo sintomo un valido indicatore della probabile eziologia infettiva dei casi di SEU.

L'informazione sui sierogruppi VTEC associati a SEU è derivata dalla sierotipizzazione dei ceppi isolati (4 casi) e dall'identificazione degli anticorpi anti-LPS sierogruppo specifici (31 casi). I dati sono riportati nella Tabella 2 e indicano come l'infezione da VTEC O26 sia risultata molto più frequente di quella da VTEC O157.

## Episodi epidemici

Nel corso del 2005 sono stati identificati due episodi epidemici di SEU associata a infezione da VTEC O26, ciascuno dei quali includeva tre casi. Entrambi i focolai sono stati riscontrati nel territorio di Vallo della Lucania (SA) rispettivamente nei mesi di luglio e settembre. Non è stato possibile accertare le cause dei due episodi anche se il consumo di latticini prodotti artigianalmente e l'ingestione di acqua di pozzo sono stati sospettati quali fonti d'infezione (8).

**Tabella 1** - Evidenza di infezione da VTEC nei casi di SEU sottoposti a indagini di laboratorio, per metodica e sintomatologia clinica

Sintomatologia		n. casi esaminati per infezione da VTEC				
Diarrea non emorragica		27				
Diarrea emorragica		26				
Assenza diarrea		7				
Sintomatologia prodromica sconosciuta		10				
<b>Totale</b>		<b>70</b>				
		n. casi positivi				
Saggio diagnostico (n. casi esaminati)	Diarrea non emorragica	Diarrea emorragica	Assenza diarrea	Sintomatologia prodromica sconosciuta	Totale n.	%
Isolamento VTEC (n. 29)	2	2	0	0	4	14
Presenza di VT fecale libera (n.29)	9	6	0	3	18	62
Presenza di anticorpi anti-LPS (n. 36)	12	14	0	5	31	86
Presenza di VT sui PMN (n. 20)	4	1	0	2	7	35
Qualunque evidenza (n. 70)	18	16	0	5	39	56

Tabella 2 - Sierogruppi VTEC identificati nei casi di SEU

Sierogruppo	n. casi positivi
O26	13
O145	7
O103	5
O111	5
O157	5
Non determinabile	4

## Conclusioni

La recente istituzione del Registro Italiano della SEU Pediatrica si propone di consolidare le attività di studio e sorveglianza di questa malattia, avviate già nel 1988 da Gianfranco Rizzoni nell'ambito della Società Italiana di Nefrologia Pediatrica con la collaborazione dell'ISS (1, 3, 5-7).

Le attività del Registro rivestono grande rilevanza per la sanità pubblica poiché a tutt'oggi costituiscono l'unico sistema efficace di monitoraggio e caratterizzazione delle infezioni da VTEC in Italia, con particolare riferimento alla dinamica dei relativi sierogruppi e all'identificazione degli episodi epidemici in comunità.

Le attività di sorveglianza costituiscono inoltre una buona opportunità per favorire l'integrazione del comparto clinico con le strutture di sanità pubblica operanti a livello territoriale e coinvolte nel controllo delle infezioni da patogeni enterici di origine zoonosica (Dipartimenti di Prevenzione, Servizi Igiene Alimenti e Nutrizione e Servizi Veterinari delle ASL). ■

## Riferimenti bibliografici

1. Gianviti A, Rosmini F, Caprioli A, et al. Haemolytic-uraemic syndrome in childhood: surveillance and case-control studies in Italy. *Pediatr Nephrol* 1994;8:705-9.
2. Caprioli A, Morabito S, Brugère H, et al. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Vet Res* 2005;36:289-311.
3. Tozzi AE, Caprioli A, Minelli F, et al. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections associated with hemolytic uremic syndrome, Italy, 1988-2000. *Emerg Infect Dis* 2003;9:106-8.
4. Galetta P, Dionisi AM, Filetici E, et al. Enter-Net. Sorveglianza delle infezioni da patogeni enterici. *Not Ist Super Sanità* 2007;20(2):11-7.
5. Caprioli A, Luzzi I, Rosmini F, et al. Hemolytic-uremic syndrome and verocytotoxin-producing *Escherichia coli* infection in Italy. *J Infect Dis* 1992;166:154-8.
6. Caprioli A, Luzzi I, Rosmini F, et al. Communitywide outbreak of hemolytic-uremic syndrome associated with non-O157 verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. *J Infect Dis* 1994;169:208-11.
7. Brigotti M, Caprioli A, Tozzi AE, et al. Shiga toxins present in the gut and in the polymorphonuclear leukocytes circulating in the blood of children with hemolytic-uremic syndrome. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 313-7.
8. Scavia G, Botta A, Ciofi Degli Atti ML, et al. Episodio epidemico di sindrome emolitico uremica (SEU) associata a infezione da E. coli O26, in provincia di Salerno. Roma: Istituto Superiore di Sanità (ISTISAN Congressi 05/C12). p. 73-4.

### \* Strutture ospedaliere partecipanti alla sorveglianza della SEU Pediatrica

Struttura	Responsabili
Ospedale "Salesi", Ancona	Hilde Ratsch
Ospedale "Giovanni XXIII", Bari	Tommaso De Palo
Ospedale, Azienda Ospedaliera, Cosenza	Teresa Papalia
Ospedale "Meyer", Firenze	Ivana Pela, Daniela Seracini
Ospedale "G. Gaslini", Genova	Francesco Perfumo, Enrico Verrina
Ospedale di Manerbio (BS)	Palmino Pedroni, Bruno Milanese, Mario Colombo
Clinica Pediatrica "De Marchi", Milano	Alberto Edefonti, Fabio Paglialonga, Gianluigi Ardissino
Ospedale "Santobono-Pausilipon", Napoli	Carmine Pecoraro, Alfonso Ferretti
Clinica Pediatrica, Università di Padova	Giovanni Montini, Manuela Della Vella, Luisa Murer, Carla Carasi
Ospedale di Pordenone	Giorgio Mucignat
Ospedale "Bambino Gesù", Roma	Francesco Emma, Alessandra Gianviti
Ospedale "Regina Margherita", Torino	Maurizio Gaido, Licia Peruzzi, Roberta Camilla
Ospedale Civile "Borgo Trento", Verona	Paolo Biban, Stefano Marzini
Policlinico "G.B. Rossi, Borgo Roma", Verona	Marco Zaffanello