

L'epidemiologia degli STEC al fine di riconoscere il potenziale epidemico e individuare misure di controllo

Michele Luca D'Errico¹, Piera Ceschi², Francesco Vairo³, Antonio Parisi⁴, Gaia Scavia¹

¹Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

²Dipartimento di Prevenzione, Azienda Sanitaria dell'Alto Adige - Südtiroler Sanitätsbetrieb, Bolzano

³Istituto Nazionale per le Malattie Infettive Lazzaro Spallanzani (INMI), Roma

⁴Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Puglia e Basilicata (IZSPB), Foggia

Sommario

STEC come agenti di zoonosi e principali reservoir	2
Principali vie di trasmissione all'uomo delle infezioni da STEC	3
Epidemiologia degli STEC e valutazione del rischio epidemico	4
Riconoscere il potenziale epidemico nei pazienti con infezione da STEC	6
Sospettare l'esistenza di un focolaio epidemico	7
Definizione di caso epidemico e rintracciamento dei casi	12
Generare ipotesi sull'origine del focolaio	14
La verifica delle ipotesi: evidenze robuste e deboli	18
Azioni di controllo e contrasto epidemico, in famiglia e comunità	19
Comunicazione in corso di focolai epidemici	21
Ruolo e funzione dei diversi attori del SSN in relazione al potenziale epidemico da STEC	22
Bibliografia	24

STEC come agenti di zoonosi e principali reservoir

Gli STEC sono agenti di zoonosi di importanza prioritaria in Unione Europea. Sebbene gli STEC siano stati identificati in una grande varietà di animali è noto che il reservoir principale sono i ruminanti (1), principalmente i bovini. I bovini sono in genere considerati portatori asintomatici degli STEC, sebbene casi di malattia clinica enterica siano comunque stati segnalati (2). Nel bovino, gli STEC sono infatti inglobati all'interno delle cellule epiteliali intestinali dell'ospite, ma la tossina viene accumulata nei lisosomi dove la sua tossicità viene contenuta (3). Inoltre, l'assenza dei recettori vascolari globotriaosylceramide-3 (Gb3), soprattutto nei vasi sanguigni intestinali, comporta che le Shiga tossine non possano essere trasportate verso altri organi sensibili alla tossina (4). Nei bovini, la parte terminale del colon e la giunzione retto- anale, sono il principale sito di colonizzazione degli STEC (5), per cui quest'ultimi vengono rilasciati nell'ambiente attraverso le feci. Anche i suini, insieme ad altri piccoli ruminanti quali pecore e capre, possono essere considerati come reservoir di STEC. Per quanto riguarda i suini, questi animali difficilmente trasmettono la patologia agli umani, mentre per le pecore e le capre il ciclo di infezione è simile a quello dei bovini e, come quest'ultimi, agiscono come portatori asintomatici. Inoltre possono essere considerati delle importanti fonti di infezione in quanto oltre al consumo di alimenti contaminati di origine ovina, c'è sempre la possibilità di trasmettere l'infezione tramite il contatto con questi animali e ciò è da tenere in considerazione soprattutto in particolari contesti, come i "petting zoo" o le fattorie didattiche, in cui pecore e capre, per la loro natura curiosa, tendono ad avere maggiori contatti con gli umani (6).

Altre specie animali domestiche e selvatiche, invece, possono essere considerate come "spillover host" cioè ospiti occasionali e accidentali. Questi animali possono essere colonizzati da STEC e trasmettere il patogeno o diffonderlo nell'ambiente; tuttavia, si tratta di una colonizzazione temporanea destinata a interrompersi nel tempo, una volta che sia cessata l'esposizione ad una fonte di STEC. Uccelli, cani e cavalli sono "spillover host". Infine, vi sono i

"dead-end host" i quali sono incapaci di trasmettere STEC ad altri animali. Tra questi vi potrebbero essere, per esempio, specie acquatiche come i pesci (6).

Principali vie di trasmissione all'uomo delle infezioni da STEC

A partire dai reservoir animali, la trasmissione all'uomo degli STEC può avvenire attraverso diverse vie (Figura 2). Si ritiene che il consumo di alimenti contaminati di origine animale (carni e derivati, latte, formaggi o latticini ecc.) non sottoposti a adeguata cottura o processo in grado di abbattere gli STEC (es. pastorizzazione), sia la causa principale di infezione. Anche il consumo di alimenti vegetali, in particolare verdure a foglia verde e frutti, a loro volta accidentalmente contaminati, durante la fase di coltivazione o raccolta da reflui di origine zootecnica o civile ed il consumo di acqua contaminata possono svolgere un ruolo importante nel determinare l'esposizione dell'uomo a STEC per via alimentare (7), come documentato in numerosi focolai epidemici. La manipolazione di alimenti sia in abito domestico sia lungo la filiera produttiva, se non adeguatamente controllata attraverso l'adozione di idonee misure igieniche, può comportare il rischio di cross contaminazioni tra alimenti e ambiente di lavorazione, determinando la contaminazione di alimenti multi-ingrediente ovvero di alimenti primariamente non contaminati. La contaminazione alimentare in questa fase può avvenire anche attraverso la manipolazione da parte di persone con infezioni da STEC (food-handler) (8). Un'altra importante via zoonotica di trasmissione degli STEC all'uomo è il contatto diretto con gli animali infetti o mediato dall'ambiente (es. aree ricreative in zone di pascolamento da parte di bovini infetti). Tale via di trasmissione è importante in relazione alle attività didattico ricreative nell'ambito di scuole fattoria, agriturismi, petting-zoo (9). Le infezioni da STEC possono trasmettersi poi per via persona-persona attraverso una contaminazione diretta o indiretta di tipo oro-fecale (7). La trasmissione diretta persona-persona ha particolare importanza nei contesti comunitari quali scuole, asili nido, centri ricreativi che ospitano bambini ed in famiglia.

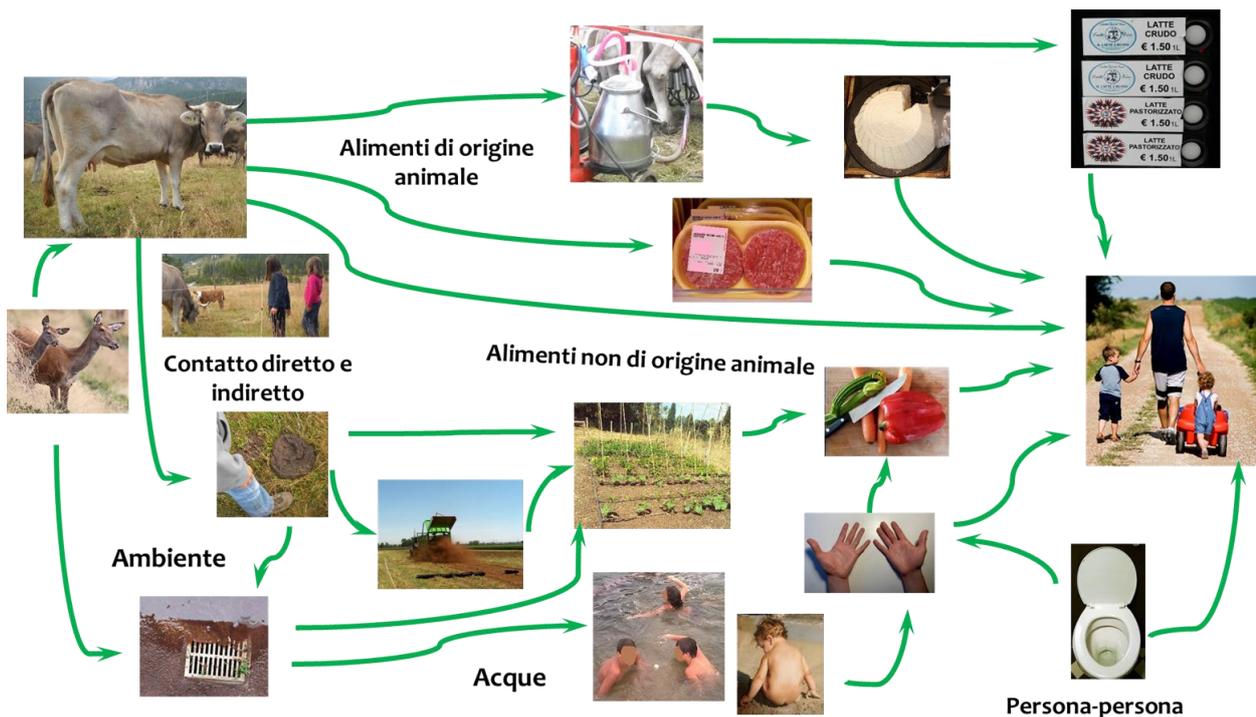


Figura 1: Vie di diffusione degli STEC negli animali, nell'ambiente e nell'uomo

Epidemiologia degli STEC e valutazione del rischio epidemico

Il potenziale epidemico delle infezioni da *Escherichia coli* produttore di Shiga tossina (STEC) in famiglia e in comunità è elevato. Spesso i focolai epidemici hanno un forte impatto mediatico a causa della gravità clinica della malattia, dei pazienti colpiti dalle forme gravi, in genere bambini, e della trasmissione alimentare dell'infezione. Le dimensioni dei focolai epidemici da STEC possono essere molto varie. La maggioranza dei focolai è caratterizzata dal coinvolgimento di pochi casi e si verifica in famiglia. I focolai di comunità possono invece arrivare a coinvolgere migliaia di casi anche a grande distanza. Compito del team di indagine è di indirizzare le attività di indagine relativa ai casi, contatti, alimenti (es. analisi microbiologiche e tracciabilità) e ai contesti in cui si sospetta sia avvenuta l'esposizione alla fonte di STEC, per costruire ipotesi sull'origine del focolaio ed ottenere prove che permettano di ridurre progressivamente l'incertezza sulle cause e sullo scenario epidemico. Si tratta di un'attività che richiede quasi sempre un approccio collaborativo multidisciplinare e multisetoriale poiché è indispensabile integrare conoscenze

e competenze tecniche che abbracciano una filiera molto ampia e diversificata di eventi.

Nella pianificazione e conduzione delle attività di indagine, il Center for Disease Prevention and Control (CDC) raccomanda un approccio sistematico basato su dieci passi fondamentali (10). Gli epidemiologi considerano questi passi come il 'gold standard' per indirizzare le attività di indagine epidemiologica che devono essere calate nel contesto specifico tenendo conto delle dinamiche relazionali tra patogeno, ospite e ambiente. Per fare ciò è necessaria una solida conoscenza dell'epidemiologia delle infezioni da STEC.

Complessità epidemiologica degli STEC e focolai

L'indagine epidemiologica dei focolai di STEC è complessa a causa della varietà delle potenziali fonti epidemiche, delle diverse vie di trasmissione dell'infezione all'uomo, della possibile coesistenza nello stesso episodio di casi primari e secondari di infezione, dei ritardi che spesso impediscono di analizzare gli alimenti sospetti e della complessità delle filiere di produzione, distribuzione e consumo degli alimenti. Va poi considerato che la trasmissione fra persone in ambiti familiari consente al focolaio di autoalimentarsi anche a distanza di tempo dall'individuazione e ritiro dal commercio degli alimenti contaminati. Gli STEC sono infatti in grado di trasmettersi in modo efficiente anche attraverso altre vie (persona-persona, acqua, contatto con animali, ambiente).

Esposizione alimentare

Fra gli alimenti a maggior rischio si annoverano le carni bovine (se consumate crude o poco cotte), il latte crudo non pastorizzato, formaggi, gelati e latticini a base di latte crudo, vegetali crudi. Gli alimenti rappresentano un veicolo importante e complesso: essi, infatti, possono venire contaminati a qualsiasi livello delle fasi di produzione, trasformazione, preparazione e conservazione. Da qui l'importanza di una conoscenza approfondita anche delle tecnologie alimentari e del coinvolgimento di esperti del settore nel team di indagine. Le indagini potrebbero, inoltre, far ipotizzare il coinvolgimento di prodotti composti da più ingredienti. La diffusione di nuove abitudini alimentari (consumo di pietanze crude) e pratiche di consumo degli alimenti (pasti pronti

da mangiare), catene di distribuzione alimentare su ampia scala o addirittura su scala globale, nuove tendenze negli stili di vita, patologie concomitanti, assunzione di farmaci (alcuni antimicrobici possono influire sulla produzione di Shiga tossine) sono fattori che possono incidere sul rischio di infezione da STEC, sulla sua diffusione e sulla gravità dei sintomi ad essa correlati.

Altre vie di trasmissione

Le reti sociali in cui le persone vivono e sono esposte ad una potenziale infezione da STEC possono avere dinamiche complesse. Pertanto, gli esperti chiamati a gestire un focolaio si troveranno ad operare in svariati ambiti, fra questi: luoghi per l'accudimento dei bambini e per la formazione (asili-nidi, scuole), luoghi di lavoro, strutture sanitarie, ambienti ricreativi (durante attività all'aria aperta), comunità, locali per la ristorazione, filiere alimentari, ricoveri per animali, aziende adibite alla ricezione di ospiti con annesse fattorie didattiche, territori a forte vocazione zootecnica. È, inoltre, possibile che nello stesso focolaio la trasmissione degli STEC avvenga in contesti e modalità multiple (es. consumo di alimenti in ambito domestico o in gruppi familiari estesi, all'interno di attività commerciali, trasmissione persona-persona presso strutture per l'infanzia ecc.).

Riconoscere il potenziale epidemico nei pazienti con infezione da STEC

Già ad una prima valutazione di un bambino con sospetta infezione da STEC il pediatra può acquisire informazioni utili a valutare il rischio di trasmissione epidemica di STEC nella comunità e segnalare tempestivamente il sospetto alla ASL. Alcuni elementi possono essere utili in questa sorta di "triage" epidemiologico:

- Il caso ha una SEU o c'è un collegamento epidemiologico con un caso con SEU?
- Il caso presenta diarrea emorragica o è ospedalizzato?
- Il caso ha meno di 5 anni?
- Sono già stati identificati contatti sintomatici?

La risposta affermativa ad almeno una delle domande dovrebbe attivare immediatamente il Servizio di Prevenzione della ASL di riferimento. È

importante raccogliere già in fase di prima valutazione informazioni che possano facilitare lo svolgimento dell’indagine epidemiologica e garantire la pronta messa in atto delle misure di controllo da parte della ASL (es. dettagli sul caso, storia alimentare ecc.). La raccolta delle informazioni procede in senso retrogrado rispetto all’evoluzione clinica progressiva della malattia (**Figura 2**). Occorre concentrarsi sul periodo antecedente la comparsa dei sintomi.

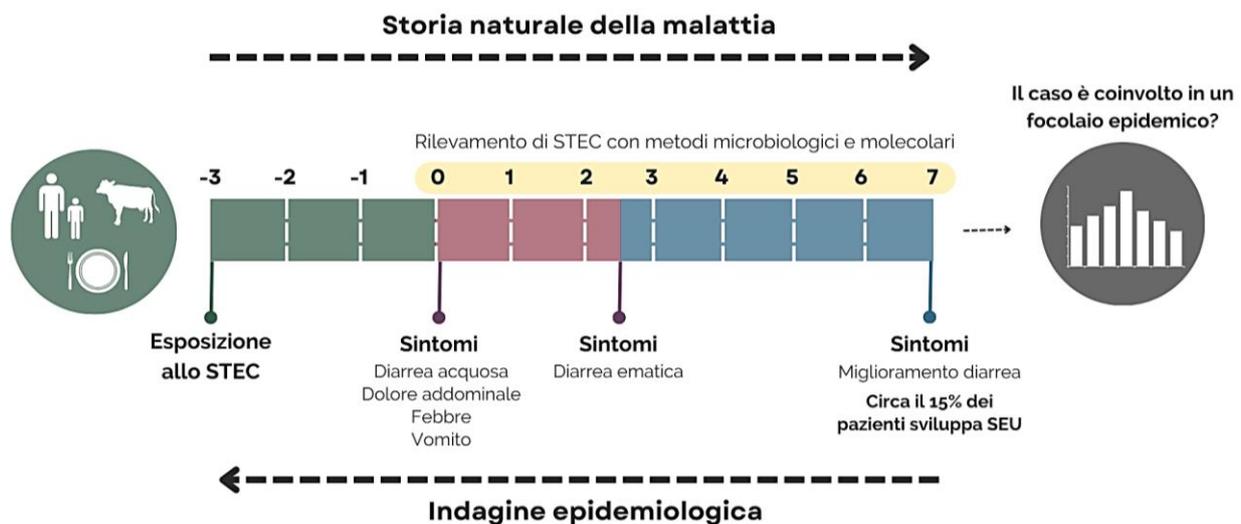


Figura 1: Timeline dell’evoluzione clinica della malattia da STEC e della raccolta retrospettiva di dati per l’indagine epidemiologica

Questa prima fase di indagine sui casi - le informazioni sono in genere raccolte dai genitori - può essere svolta del pediatra, medico curante o dai medici ospedalieri e dovrebbe contemplare anche dettagli sui consumi alimentari più importanti e sulla esposizione ad altre possibili fonti di infezione da STEC, per permettere di valutare preliminarmente il rischio epidemico. La successiva indagine dovrebbe essere condotta attraverso una stretta collaborazione tra il medico curante ed il servizio di prevenzione.

Sospettare l’esistenza di un focolaio epidemico

Il termine “**epidemia**” è in genere associato al verificarsi, in una determinata area geografica o gruppo di persone ed in un certo lasso di tempo, di un numero di nuovi casi di infezione o di malattia ad essa associata, in eccesso rispetto al numero atteso (10-12). La stessa definizione viene data a “**focolaio epidemico**”, sebbene questo termine venga spesso riservato agli eventi che

coinvolgono un'area geografica più circoscritta (10-12). Per "**cluster**" viene intesa un'aggregazione di casi di infezione o malattia, nello spazio e nel tempo, senza che vi sia necessariamente un aumento dei casi rispetto all'atteso (13).

Queste definizioni sono utili poiché richiamano la necessità di conoscere la frequenza con cui le infezioni da STEC si presentano nella nostra area di riferimento (es. regione, provincia, distretto sanitario), a seconda della stagione. Le infezioni da STEC hanno una spiccata **stagionalità** con incidenze più elevate nella stagione **tardo-primaverile ed estiva**. Dunque un numero di casi di infezione da STEC più elevato rispetto all'atteso stagionale può generare il sospetto di un focolaio epidemico, tuttavia è bene considerare che anche pochi casi pediatrici di diarrea emorragica o di Sindrome Emolitica Uremica (SEU), in un arco temporale ristretto, dovrebbero subito far scattare il sospetto di un focolaio epidemico, considerata la bassa incidenza delle infezioni da STEC nella popolazione (es. due casi di SEU nell'arco di un mese, nella stessa provincia e perfino nella stessa regione).

In Italia, l'osservazione di un aumento dei casi rispetto all'atteso può derivare dall'analisi di serie storiche di dati, raccolti regolarmente e continuativamente nel corso del tempo, attraverso le seguenti fonti:

1. registrazione dei casi di SEU da parte del Registro Italiano SEU o delle reti regionali di sorveglianza delle SEU e delle diarree pediatriche
2. dati di diagnostica di laboratorio per STEC raccolti dai laboratori di riferimento (regionali e/o territoriali)
3. notifica dei casi di infezione da STEC e SEU

La registrazione dei casi di SEU nella popolazione pediatrica può per prima rivelare l'esistenza di un focolaio poiché la SEU è considerata un evento sentinella della circolazione degli STEC nella popolazione.

Esempi di focolai epidemici identificati grazie alla notifica di casi di SEU

Nel 2011, una vasta epidemia di infezione da STEC O104:H4 in Germania causò in poco più di un mese migliaia di casi di infezione (quasi esclusivamente adulti) e 53 decessi. Le prime avvisaglie del focolaio furono rivelate da un cluster di tre casi di SEU in bambini provenienti dalla stessa zona, prima ancora che fosse apprezzabile il sostanziale aumento dei casi che qualche giorno più tardi avrebbe interessato quasi

esclusivamente gli adulti. L'origine dell'epidemia è stata tracciata nel consumo di germogli di fieno greco.

Nel 2017, nel Nord Italia, un vasto focolaio epidemico di infezione da STEC O26 fu identificato attraverso la registrazione di pochi casi di SEU in bambini provenienti dallo stesso comune. Evento inatteso per un piccolo comune considerando che in Italia si registrano annualmente meno di 100 casi di SEU. Le indagini permisero di accertare che l'esposizione alla fonte epidemica di STEC era stata ben più massiccia coinvolgendo l'intera popolazione del comune a causa della contaminazione da STEC dell'acquedotto.

Anche il monitoraggio dei dati diagnostici per STEC da parte dei laboratori clinici può consentire di formulare con buona tempestività un sospetto epidemico, qualora un flusso dati unitario permetta di accentrare in un unico osservatorio i dati dei diversi laboratori, per consentire valutazioni robuste sull'andamento dei casi. Attualmente, sono pochi in Italia i laboratori che eseguono sistematicamente la ricerca degli STEC nelle diarree pediatriche (Lombardia, Puglia, PA di Bolzano).

Il flusso delle notifiche ufficiali è il sistema più robusto che garantisce agibilità sul piano dell'azione di sanità pubblica ma è spesso scarsamente tempestivo e incompleto.

Dai cluster molecolari alla valutazione del rischio epidemico

L'indagine di un sospetto focolaio epidemico spesso comincia con l'identificazione di un cluster di casi di malattia, rivelato dal riscontro di ceppi STEC con caratteristiche microbiologiche simili, isolati da pazienti diversi (vedi obiettivo 5). Il riscontro di ceppi STEC di elevata similarità genetica è l'unico approccio metodologico che consente di ricondurre allo stesso focolaio epidemico, casi di malattia che si verificano anche a grandi distanze geografiche e che da soli non avrebbero determinato un aumento complessivo dei casi, rispetto all'atteso. La correlazione genetica dei ceppi STEC isolati dai pazienti indica che i pazienti potrebbero essere stati esposti alla stessa fonte di infezione, anche in luoghi diversi (per esempio attraverso il consumo di un alimento di larga distribuzione). L'epidemiologo utilizza questa informazione integrandola con altri dati, relativi ai pazienti e alle modalità con cui i casi si sono manifestati nel tempo e nello spazio, per valutare la plausibilità che i casi

siano effettivamente correlati sul piano epidemiologico ovvero per valutare se esiste un rischio epidemico cui la popolazione è esposta.

L'epidemiologia molecolare, basata cioè sulla caratterizzazione genetica dei ceppi STEC mediante metodiche molecolari, ha conosciuto un rapido sviluppo negli ultimi anni e costituisce una risorsa molto utile nella valutazione del rischio epidemico da STEC. Il confronto delle caratteristiche genetiche di ceppi STEC isolati dai casi di malattia, consente infatti di valutare la probabilità che ceppi clinici di STEC isolati da diversi pazienti abbiano una origine comune ovvero che i casi di malattia facciano parte di uno stesso cluster epidemico. Similmente, la valutazione del livello di correlazione tra ceppi STEC di diversa origine (es. uomo, animale, alimento) in corso di epidemia, aiuta a comprendere le catene di trasmissione delle infezioni da STEC all'uomo (14). L'integrazione delle informazioni di laboratorio che permettono di rivelare se esiste una correlazione tra i ceppi STEC (ovvero tra i pazienti) con le informazioni epidemiologiche, relative alla componente temporale (es. data di inizio sintomi, durata della malattia ecc.), alla dimensione geografica del sospetto focolaio (es. luogo di residenza o domicilio di un caso di malattia ecc.) e alle caratteristiche dei casi coinvolti (es. età, sesso, comportamenti ecc.) sono elementi importanti per caratterizzare un focolaio epidemico, comprendere la diffusione e costruire ipotesi sulla sua origine. Quando si identifica un cluster epidemico, è dunque importante analizzare attentamente le caratteristiche dei casi e le informazioni anamnestiche per identificare le possibili relazioni tra di essi e rivelare il nesso epidemiologico comune (es. frequentazione di una stessa catena di ristoranti o zona di balneazione)

Confermare l'esistenza di un focolaio epidemico

L'aumento del numero dei casi di infezione o malattia da STEC, in un dato luogo e periodo di tempo non è necessariamente sinonimo di focolaio epidemico (10). Prima di confermare l'esistenza di un focolaio epidemico è bene escludere che l'aumento delle segnalazioni sia legato a cambiamenti metodologici (es. nuove procedure di notifica, test diagnostici più sensibili, cambiamenti nella definizione di caso) o anche all'aumento del numero dei test

diagnostici eseguiti. Per esempio, vi è un crescente utilizzo da parte dei laboratori diagnostici clinici, di pannelli molecolari sindromici multipatogeno per gastroenterite che includono tra i target gli STEC. Questo potrebbe comportare un aumento delle diagnosi di infezione da STEC rispetto al passato, quando la diagnostica per STEC era raramente effettuata dai laboratori territoriali senza che vi sia un reale aumento di incidenza delle infezioni da STEC.

Quando si sospetta un focolaio epidemico di infezione da STEC, dimostrare la correlazione genetica tra i ceppi STEC isolati dai diversi casi, costituisce la prova più robusta a conferma dell'esistenza del focolaio. Il sequenziamento dei ceppi STEC e l'analisi comparativa genomica consente di effettuare tale valutazione con livelli di discriminazioni ottimale, tuttavia non è sempre necessario o possibile ricorrere al sequenziamento. Per esempio, il riscontro anche di pochi casi di infezione associati ad un sierogruppo STEC raro (es. O121) in un arco temporale ristretto, potrebbe considerarsi sufficiente a confermare un focolaio. Nel caso di sierogruppi più comuni come STEC O26 o STEC O157 è necessaria una caratterizzazione più fine (vedi obiettivo 5). La conoscenza delle caratteristiche dei ceppi STEC circolanti in un territorio (es. sierogruppo) è dunque importante per poter effettuare valutazioni sul rischio epidemico connesso all'aumento dei casi di malattia in quel determinato territorio. Può essere utile in tal senso la consultazione di risorse on-line come il Surveillance Atlas for Infectious Disease dell'ECDC (15), i dashboard EFSA sui focolai epidemici in UE (16) e il sito Epicentro dedicato ai dati del registro Italiano della SEU (17).

Focolai epidemici causati da STEC in Italia e in Europa

Ogni anno l'autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA) raccoglie i dati sui focolai epidemici di infezione da STEC in Europa per documentarne l'impatto sanitario, descrivere gli alimenti coinvolti, i luoghi in cui questi sono stati preparati e consumati (es. in ambito domestico o di ristorazione collettiva) ed i fattori di rischio che hanno contribuito al loro verificarsi. Questa raccolta costituisce un'utile base conoscitiva per indirizzare le attività di indagine dei focolai di STEC. I dati sono consultabili sui report pubblicati annualmente oppure on-line attraverso dashboard che consentono un'interrogazione dettagliata delle informazioni.

Negli ultimi cinque anni gli alimenti più frequentemente riscontrati nei focolai epidemici di STEC in EU sono stati alimenti a base di carne, latte e latticini, acqua ed altri alimenti non di origine animale. Anche In Italia, a partire dagli anni '90 sono stati

documentati vari focolai epidemici di infezioni da STEC, associati al consumo di acqua o alimenti contaminati e da trasmissione persona-persona, in asili nido. Molto frequente è poi l'identificazione di cluster familiari di infezione da STEC, specialmente nei contesti in cui sono presenti bambini piccoli.

Definizione di caso epidemico e rintracciamento dei casi

In corso di epidemia, la definizione di caso epidemico permette di discriminare i pazienti che effettivamente fanno parte del focolaio, dal resto dei casi di malattia o infezione incidenti nella popolazione (es. casi sporadici o non correlati). L'indagine epidemiologica mira infatti ad individuare quali caratteristiche, comportamenti, esposizioni alimentare ecc. accomunano tra loro i casi epidemici, rispetto al resto della popolazione e agli altri pazienti e permettere così di risalire alle fonti.

La definizione di caso epidemico si applica ai casi di malattia o di infezione che si verificano in uno specifico arco temporale (periodo epidemico), ed area geografica, e prevede in genere livelli crescenti di credibilità (10). Solitamente un caso viene classificato come "caso epidemico possibile" quando presenta caratteristiche cliniche tipiche dell'infezione (per esempio SEU o diarrea ematica), in assenza di una conferma diagnostica di infezione da STEC o dell'identificazione di un chiaro legame epidemiologico con un caso epidemico confermato. La credibilità che un caso di malattia da STEC sia effettivamente legato all'epidemia aumenta nella definizione di "caso epidemico probabile", quando oltre alle caratteristiche cliniche tipiche dell'infezione da STEC e alla correlazione spazio temporale, è anche possibile stabilire l'esistenza di un link epidemiologico con un caso epidemico (per esempio, l'aver frequentato lo stesso asilo nido). La definizione di "caso epidemico confermato", solitamente aggiunge ai precedenti criteri anche il riscontro diagnostico di un'infezione associata a un ceppo STEC con caratteristiche assimilabili a quelle del ceppo epidemico. Queste definizioni differiscono da quelle utilizzate ai fini della sorveglianza epidemiologica delle malattie infettive sia in UE che in Italia (18), poiché aggiungono elementi contingenti relativi al focolaio epidemico (dettagli temporali, geografici ed altre caratteristiche del ceppo epidemico, per esempio il sierogruppo e le tossine) rendendo la definizioni più restrittive (specifiche) e

consentendo così di differenziare i casi epidemici (tra loro epidemiologicamente correlati) rispetto agli altri casi di infezione da STEC non correlati all'epidemia.

L'identificazione e tracciamento del maggior numero di casi epidemici è fondamentale per costruire ipotesi circa il legame epidemico tra i casi ovvero sull'origine stessa del focolaio. I casi segnalati passivamente dall'autorità sanitaria o dai laboratori possono rappresentare solamente una piccola parte dei casi epidemici totali, specialmente all'inizio del focolaio. Pertanto è importante condurre una ricerca attiva dei casi nel territorio ad esempio verificando telefonicamente se altri casi potenzialmente coinvolti nel focolaio sono stati ospedalizzati presso le strutture territoriali (10). Quando si verifica un focolaio di STEC in un contesto ristretto come una scuola o un asilo nido, viene attivamente condotta un'indagine per ricercare le persone che hanno frequentato la comunità nel periodo specifico di insorgenza di focolaio, anche quelle con solo sintomi lievi o sono asintomatiche (10). Man mano che i casi vengono identificati è importante chiedere loro se hanno avuto contatti stretti con altri casi epidemici.

In un focolaio da STEC, la sorveglianza attiva dovrebbe sempre includere il campionamento delle feci per la ricerca degli STEC tra i contatti stretti, in famiglia o in comunità, anche in assenza di sintomi. L'adozione di un approccio primariamente basato su un criterio clinico per l'identificazione dei casi epidemici (es. testare per STEC solo i casi che hanno manifestato sintomi), potrebbe infatti risultare non abbastanza sensibile per rivelare i casi di infezione da STEC asintomatici o paucisintomatici (spesso negli adulti), impedendo di valutare la reale estensione del focolaio. Occorre sottolineare che a seguito di infezione da STEC, l'eliminazione dei patogeni attraverso le feci può avere una durata molto lunga (talvolta anche di alcuni mesi), pur in assenza di sintomi. Per questo motivo negli asili nido non deve essere trascurato il campionamento del personale coinvolto nelle attività educative ed assistenziale e di quello addetto alla di preparazione e somministrazione dei pasti.

Focolai epidemici da STEC e bambini

Nei bambini piccoli la trasmissione interumana degli STEC per via persona-persona è una evenienza molto frequente, sia in famiglia sia nei contesti comunitari affollati (asili, feste) nei quali il contatto stretto, unitamente a fattori comportamentali tipici di questa età, facilitano l'esposizione a STEC per via oro-fecale.

Spesso sono i bambini con malattia grave (colite emorragica, SEU) a rivelare per primi l'esistenza di un focolaio epidemico, fungendo da vere e proprie sentinelle epidemiologiche. Infatti, rispetto agli adulti, i bambini hanno maggiore probabilità di giungere all'attenzione dei sanitari, a causa della maggiore suscettibilità e gravità clinica della malattia. Ciò non significa che in un focolaio di STEC che vede coinvolti primariamente i bambini, i casi epidemici si limitino soltanto a questa fascia d'età. I casi meno gravi potrebbero sfuggire all'osservazione se non viene intensificata la sorveglianza attiva (active-case finding) tra i gruppi di popolazione meno suscettibili, come gli adulti.

Se questo aspetto viene ignorato e si trascura di estendere le indagini diagnostiche almeno ai contatti stretti dei bambini, si corre il rischio di sottovalutare l'esistenza di un focolaio di infezione da STEC o la sua reale estensione e di ricostruire uno scenario epidemico distorto e lontano dal reale. Ciò potrebbe portarci a costruire e indagare ipotesi errate sull'origine del focolaio, in quanto basate su osservazioni distorte (casi epidemici) e ricostruzioni errate del quadro epidemico.

Generare ipotesi sull'origine del focolaio

Costruzione delle ipotesi

La generazione e verifica delle ipotesi sulle cause e modalità di diffusione di un focolaio epidemico è un processo continuo durante l'indagine di un focolaio. La costruzione di ipotesi dovrebbe sempre seguire un criterio di plausibilità basato sulle conoscenze a priori dell'epidemiologia degli STEC e sulle più frequenti cause epidemiche. Il primo passo è la costruzione di una curva epidemica per tracciare il numero di casi di malattia nel tempo. Il profilo della curva aiuta a valutare se i casi sono stati esposti alla stessa fonte, per un breve periodo o se l'esposizione è durata più a lungo. I tempi e la diffusione geografica dei casi possono fornire indizi importanti sulle possibili cause del focolaio, incluso se un alimento sospetto ha una durata di conservazione breve o lunga e se è stato distribuito a livello regionale o nazionale.

Tramite interviste strutturate è possibile ricostruire nel dettaglio quali alimenti sono stati consumati dal paziente e dove è avvenuto il consumo, nei giorni precedenti l'esordio clinico. Queste interviste sono di solito molto dettagliate concentrandosi oltre che sugli alimenti specifici a rischio, anche su altre

esposizione non-alimentari ed in genere includono: Le interviste includono tipicamente domande su:

- Un elenco standardizzato di cibi e prodotti alimentari con la
- Descrizione dei cibi consumati in ogni pasto dalla persona prima di ammalarsi (compresi i ristoranti)
- Abitudini di spesa alimentare
- Viaggi
- Restrizioni dietetiche
- Partecipazione a eventi in cui sono stati serviti alimenti

Raccogliere le informazioni con questionari standardizzati è importante poiché anche quando sono apparentemente 'muti', cioè non permettono di formulare un sospetto sulla fonte epidemica, i questionari sono comunque utili ad escludere determinate esposizioni, contribuendo a restringere le ipotesi in studio. Molto utili sono poi gli approfondimenti attraverso la narrazione aneddotica da parte dei pazienti o dei loro genitori che aiutano a far emergere indizi utili alle indagini.

Conoscere le caratteristiche del ceppo STEC responsabile del focolaio epidemico è un'altra informazione che può aiutare a restringere l'elenco delle possibili cause. Il patogeno può essere stato coinvolto in altre epidemie in passato o essere stato recentemente isolato in alimenti, animali, ambiente nella stessa regione.

I focolai di STEC di grandi dimensioni, fortunatamente abbastanza rari, sono sempre associati al consumo di alimenti o acqua contaminati (**Tabella 2**). Derivano in genere da contaminazioni di grandi partite (lotti) di alimenti di larga distribuzione sia attraverso supermercati di ristorazione. I casi possono verificarsi in un arco temporale ristretto o più o meno ampio, a seconda della dinamica di contaminazione (puntuale, oppure persistente e ripetuta), della natura dell'alimento contaminato e della vita commerciale del prodotto.

Tabella 2: Grandi focolai epidemici sostenuti da STEC

Anno	Paese coinvolto	Sierotipo/i	Casi	Alimento coinvolto
1992-1993	USA	O157	732 casi	Hamburger (19)
1996	Japan	O157	Migliaia	Germogli (20)
2000	Canada	O157:H7	2300 casi	Acqua potabile (21)
2006	USA	O157:H7	225 casi	Spinaci (22)
2011	Germania	O104:H4	4321 casi	Germogli di fieno greco (23)
2016	USA	O121 e O26	63 casi	Farina (consumo di impasto per torte crudo) (24)

I focolai causati dal consumo di acqua contaminata, possono essere vastissimi, coinvolgendo migliaia di casi, come nella grave epidemia di Walkerton, o molto più limitati a seconda del numero di individui esposti alla risorsa idrica contaminata e delle caratteristiche dell'impianto distributivo coinvolto (es. acquedotti o pozzi domestici). In Irlanda la contaminazione ambientale da STEC ha determinato una vera e propria emergenza legata alla contaminazione delle acque di pozzo domestiche che ha portato le autorità sanitarie ad avviare un programma di sorveglianza per STEC dei pozzi domestici.

La contaminazione da STEC delle riserve idriche può essere di origine ambientale (contaminazione accidentale con reflui zootecnici o acque nere civili) o derivare dal contatto con reservoir animali liberi (es. bovini al pascolo, ruminanti selvatici) nelle aree prossime ai siti di captazione delle acque. Le forti precipitazioni con un effetto di dilavamento del terreno possono favorire la contaminazione delle acque. Lo stesso meccanismo può essere alla base della contaminazione di ortaggi e vegetali destinati ad essere consumati crudi. Per queste matrici il rischio di contaminazione può derivare anche da pratiche di fertirrigazione non idonee, ovvero dall'impiego di acque irrigue di scarsa qualità o accidentalmente contaminate da STEC, attraverso reflui zootecnici. Questo meccanismo di contaminazione è stato sospettato nel 2011 per spiegare la contaminazione dei semi di fieno greco egiziani, provenienti da aree di coltivazione alluvionali vicine al Nilo e distribuiti più tardi in Germania e Francia.

Anche nei focolai di medie e piccole dimensioni la trasmissione per via alimentare deve essere sempre sospettata. Il basso numero di casi di malattia si giustifica in questo caso, con la produzione in piccole quantità e/o con filiere di distribuzione corte. Tra gli alimenti a maggior rischio vi sono il latte crudo (non sottoposto a bollitura), formaggi e latticini artigianali a base di latte crudo e gelati a base di latte non pastorizzato. Un altro scenario da considerare è invece legato ad errori di conservazione e preparazione dei cibi, in ambito domestico o di ristorazione. Alimenti ed ingredienti accidentalmente contaminati da STEC, prodotti anche su larga scala ma destinati ad essere consumati previa cottura, possono occasionalmente causare infezione se consumati in modo improprio. Un caso emblematico è il consumo di 'pink hamburger'. Gli hamburger a base di carne macinata non sottoposti ad adeguata cottura in termini di temperatura e tempo possono diventare efficienti veicoli di STEC poiché la carica batterica al cuore del prodotto non viene abbattuta. Negli anni '80, nei Paesi anglossassoni questo meccanismo è stato alla base di gravi epidemie di infezione da STEC O157 in catene di fast-food a seguito delle quali sono state adottate rigorose procedure per la preparazione degli hamburger. Oggi questo rischio appare circoscritto all'ambito domestico o nei piccoli bar/ristoranti, nei quali la cottura dell'hamburger al sangue va purtroppo molto di moda.

La costruzione delle ipotesi alla base dei focolai piccoli o molto piccoli deve sempre considerare le esposizioni non alimentari. La trasmissione persona-persona è rara nei focolai che coinvolgono primariamente gli adulti, mentre va sempre ipotizzata nei focolai che coinvolgono i bambini, soprattutto di età inferiore ai 5 anni. Il comportamento tipico dei bambini a queste età li espone maggiormente al rischio di contrarre l'infezione per via oro-fecale diretta o indiretta mediata dall'ambiente. Tra le esposizioni ambientali, particolare attenzione deve essere dedicata alle acque ad uso ricreazionale (piscine e acqua park), acque di balneazione e soprattutto alle piscinette domestiche ove i bambini si possono infettare ingerendo involontariamente acqua contaminata. Infine il contatto diretto con bovini, ovi-caprini o altri ruminanti domestici o selvatici durante attività didattiche (fattorie didattiche) e ludico-ricreative ed in

ambienti di stabulazione o pascolamento o comunque contaminati da feci e deiezioni animali devono sempre essere considerati.

Comprendere l'importanza relativa delle diverse sorgenti epidemiche e la modalità di diffusione epidemica degli STEC è importante per indirizzare i programmi di controlli e prevenzione del rischio epidemico. Stime recenti condotte in Irlanda, indicano che il 56% dei focolai era causato da trasmissione persona-persona, il 25% dal consumo di acqua contaminata, il 10% da alimenti contaminati e il 9% da esposizione ad animali ed ambiente. Questa evidenza impone una riflessione sulla necessità di interpretare propriamente il concetto di rischio zoonotico dello STEC. Sebbene gli STEC siano agenti di zoonosi ed i ruminanti il loro principale reservoir, i programmi di sorveglianza epidemica che si concentrano esclusivamente su alimenti e sul contatto diretto con gli animali possono sottovalutare il ruolo della diffusione di STEC persona-persona, attraverso il consumo di acqua ed altre esposizioni ambientali che nella fascia pediatrica possono essere molto importanti.

La verifica delle ipotesi: evidenze robuste e deboli

Costruire ipotesi sulle cause e modalità di trasmissione degli STEC serve a indirizzare le attività di campionamento sugli alimenti e la raccolta di informazioni sulla loro origine. La verifica delle ipotesi consiste nell'ottenere una evidenza confermativa che provi la validità dell'ipotesi formulata, consentendo di adottare misure di contrasto epidemico. Per esempio, il rilevamento di un ceppo STEC con caratteristiche genomiche sovrapponibili al ceppo isolato dai pazienti è considerata un'evidenza 'forte' a supporto dell'ipotesi che l'alimento sia la causa del focolaio. Occorre poi interrogarsi sul meccanismo che avrebbe portato alla contaminazione dell'alimento. Questa potrebbe derivare dall'utilizzo di un ingrediente contaminato all'origine (per es. latte crudo non pastorizzato) oppure da una contaminazione durante la fase di preparazione dell'alimento da parte di un addetto (food-handler).

La verifica dell'ipotesi con 'evidenza forte', come il riscontro di elevata similarità genetica dei ceppi, consente di intervenire con sicurezza sulla sorgente primaria di STEC, abbattendo così il rischio che altre persone possano

infettarsi (es. con il ritiro dal mercato dell'alimento contaminato o la sanificazione di un asilo nido o la clorazione di acqua). Purtroppo non è sempre possibile riuscire a ottenere riscontri che provino la fondatezza delle nostre ipotesi sull'origine del focolaio (focolai ad evidenza deboli). In questi casi permane incertezza a discapito anche della possibilità di adottare azioni di controllo efficaci. Secondo EFSA, la natura dell'evidenza per provare il legame tra fonte epidemica e casi può essere microbiologica, come sopra descritta oppure epidemiologica (da studi di epidemiologia analitica ben condotti o valutazione sistematica delle storie alimentari dei casi o da studi analitici ben condotti) o da indagine di tracciabilità lungo la filiera produttiva dell'origine del prodotto. La possibilità di provare il legame tra il consumo di un alimento e i casi epidemici, con evidenza forte non di tipo microbiologico è importante, poiché non sempre in corso di focolaio è possibile procedere al campionamento dell'alimento (o dello stesso lotto).

Occorre dare priorità alla verifica delle ipotesi più plausibili sul piano scientifico, tenendo in considerazione, tuttavia, l'urgenza di proteggere per primi i contesti a maggior rischio per la salute pubblica, cioè quelli in cui altre persone potrebbero essere esposte alla stessa fonte di STEC, se questa non viene tempestivamente identificata e rimossa.

Azioni di controllo e contrasto epidemico, in famiglia e comunità

Le misure di controllo dei focolai epidemici da STEC si concretizzano in genere nel ritiro dal mercato, distruzione o trattamento degli alimenti contaminati da STEC, nel trattamento o esclusione delle fonti idriche in caso di contaminazione di acqua, dell'adozione di misure igieniche rafforzate nei contesti comunitari inclusa l'esclusione di potenziali portatori eliminatori, anche asintomatici, di STEC. Gli interventi dovrebbero essere proporzionati al rischio e possono invocare l'uso del principio di precauzione.

I casi epidemici ed i loro contatti dovrebbero ricevere adeguate informazioni e consigli su come ridurre il rischio di ulteriore diffusione dell'infezione, in famiglia e tra i contatti. Come per tutti i patogeni gastrointestinali, l'intervento chiave è una buona pratica di controllo delle infezioni, in particolare attraverso

l'igiene delle mani. Va sottolineata l'importanza di lavarsi le mani con sapone liquido e acqua calda corrente, e di asciugarsi accuratamente con un asciugamano separato, ogni volta che si usa il bagno e prima della preparazione dei cibi. Il lavaggio delle mani dovrebbe essere eseguito anche dopo qualsiasi altra attività in cui è possibile la contaminazione fecale, ad esempio la manipolazione di biancheria sporca, il contatto con animali e prima e dopo aver assistito i bambini più piccoli nell'andare in bagno, incluso il cambio del pannolino.

Gli individui sintomatici dovrebbero essere esclusi dalla preparazione e somministrazione dei cibi sia in ambito domestico sia in comunità. La pulizia ed igiene degli ambienti dovrebbe essere rafforzata, con particolare attenzione ai servizi igienici, cucine, zone di preparazione degli alimenti e ad altre superfici come i rubinetti dei lavandini e le maniglie delle porte.

Tutti i casi devono essere avvisati di astenersi dal frequentare luoghi di lavoro o scuole, asili ed altri centri ricreativi fino a 48 ore dopo la risoluzione della diarrea e/o del vomito. I casi e i contatti stretti che rientrano in uno o più dei gruppi di rischio da A a D (**Tabella 1**) dovrebbero essere esclusi dai luoghi di lavoro, dalle scuole fino al raggiungimento della clearance microbiologica.

I criteri per la valutazione della esclusione e della clearance microbiologica variano nelle diverse nazioni europee. In particolare per i contatti asintomatici bisogna prendere in considerazione l'esecuzione di screening e l'esclusione in base alla natura del contatto (convivente, familiari, ecc.); il gruppo di rischio (es bambini di età <5 anni, asili nido, ecc.); il numero di casi associati al focolaio e le interazioni tra i casi ed i contatti; la tipizzazione microbiologica del ceppo isolato (bassa ed alta virulenza). In generale, si raccomanda di continuare il follow-up solo dei casi infetti da STEC ad alta virulenza utilizzando un approccio basato sul rischio per ridurre eventuali misure di sanità pubblica non necessarie. Ulteriori studi ed informazioni sulla clearance microbiologica e sulla durata dello shedding in base al tipo e sottotipo di STEC isolato garantiranno un approccio di sanità pubblica più mirato.

Focolai associati ad asili nido, scuole primarie e altre strutture di assistenza all'infanzia

Prendere in considerazione quanto segue durante le indagini e la gestione dei casi collegati associati con una scuola materna, elementare o altra struttura per l'infanzia:

1. Collaborazione con il personale scolastico ed i genitori
2. Indagine accurata su collegamenti tra bambini e/o personale all'interno e all'esterno dell'istituto al fine di sviluppare ipotesi sulla fonte dell'infezione (ad esempio, servizi igienici comuni, fonte di cibo comune, gite scolastiche, doposcuola). Condivisione di attività, giocattoli o aree di gioco e la disposizione fisica dell'istituto dovrebbero essere valutati per determinare le potenziali vie di trasmissione da persona a persona
3. Casi e contatti nel gruppo di rischio B dovrebbero essere esclusi dalla frequentazione e i test microbiologici o lo screening devono essere organizzati. Dovrebbero essere fornite informazioni sulle misure igieniche all'interno dell'istituto e a casa, al personale e ai genitori per ridurre eventuale trasmissione successiva

Le comunicazioni dovrebbero essere concordate per fornire consigli e ridurre al minimo le preoccupazioni tra genitori o famiglie. Questo può essere di particolare importanza in situazioni in cui i bambini presentano una prolungata eliminazione dello STEC, che richiede un lungo periodo di esclusione dal contesto scolastico.

Comunicazione in corso di focolai epidemici

È indispensabile mantenere un costante aggiornamento di tutti gli attori coinvolti. Questo facilita la pronta messa in atto di azioni di controllo a partire dal MMG/PLS fino ai servizi di sicurezza alimentare.

È inoltre fondamentale mantenere un flusso di comunicazione con i diversi livelli del SSN, da quello periferico (ASL, MMG/PLS) sino a quello regionale e nazionale, al fine di garantire eventuali azioni di controllo che possano coinvolgere più ambiti territoriali.

L'adozione di strategie di comunicazione efficaci ed efficienti anche al di fuori del SSN è di fondamentale importanza in corso di focolai epidemici.

Le epidemie di STEC di grandi dimensioni, come quella verificatasi in Germania nel 2011, possono avere importanti conseguenze sulla credibilità delle istituzioni, oltre che delle conseguenze sul piano sanitario, sociale ed economico (25). È legittimo che l'opinione pubblica si interroghi sull'operato delle istituzioni, mettendo in discussione l'attività svolta durante l'indagine epidemiologica. Spesso il consumatore desidera essere informato e coinvolto, quindi è compito delle Autorità fornire indicazioni chiare e semplici su come prevenire il rischio di diffusione di STEC, soprattutto in ambienti domestici e all'interno di gruppi fragili e particolarmente a rischio.

In questo contesto, la promozione dell'alfabetizzazione sanitaria (*health literacy*) in tempi di pace, attraverso la progettazione di campagne di sensibilizzazione con distribuzione di materiale informativo attraverso i mezzi ritenuti più efficaci (stampa, social media ecc.), può rafforzare la fiducia dei cittadini verso le Istituzioni, e aumentare la loro consapevolezza sui rischi sanitari, riducendo i comportamenti a rischio e migliorando la salute ed il benessere della popolazione.

Le strategie di comunicazione rappresentano un insieme di strumenti che devono essere presenti nella cassetta degli attrezzi del gruppo di lavoro multidisciplinare che gestisce un focolaio.

Ruolo e funzione dei diversi attori del SSN in relazione al potenziale epidemico da STEC

L'identificazione e gestione dei focolai di STEC richiede una capacità di risposta coordinata da parte di molti attori del Servizio Sanitario Nazionale e non solo, che devono agire rapidamente e in sinergia, per individuare la/e fonte/i del focolaio, indagare tempestivamente i nuovi casi e contenere la diffusione del patogeno.

Settore SSN	Ruolo	Funzione
Clinica di base e specialistica	PLS/MMG GM, GM pediatriche	<ul style="list-style-type: none"> - Diagnosi e cura dei pazienti con infezione da STEC e SEU - Prescrizione diagnostica molecolare per STEC - Notifica casi di infezione da STEC - Segnalazione casi al Registro SEU
	Pediatratri e medici ospedalieri (PS, DEA, pediatrie)	
	Pediatrie specialistiche	
Dipartimenti di prevenzione	Referenti Malattie infettive Igiene Pubblica Servizi Igiene degli alimenti e Nutrizione Servizi Veterinari	<ul style="list-style-type: none"> - Sorveglianza delle malattie infettive, gestione flusso notifica e segnalazioni dei casi di infezione da STEC - Identificazione, conferma e notifica dei focolai epidemici, indagine epidemiologica - Tracciamento (ed eventuale campionamento) dei contatti - Sorveglianza attiva dei casi epidemici (case finding) - Indagini per l'identificazione delle fonti dai singoli casi (interviste) e in comunità - Studi di epidemiologia analitica (es. caso controllo) - Indagini su alimenti, animali, ambiente (campionamenti, ispezioni, controlli) - Valutazione del rischio epidemico - Adozione e prescrizione di misure di contrasto epidemico - Comunicazione del rischio
Laboratori diagnostica clinica	Laboratori diagnostici di primo livello e ospedalieri	<ul style="list-style-type: none"> - Test diagnostici per STEC - Isolamento STEC e invio ai laboratori di riferimento - Segnalazione incrementi inattesi di diagnosi STEC
	ISS / laboratorio regionali di riferimento per MTA	<ul style="list-style-type: none"> - Conferma diagnostica e caratterizzazione degli isolati clinici di STEC (<i>stx1</i>, <i>stx2</i>, <i>eae</i>, sierogruppo O) - Sequenziamento dei ceppi clinici di STEC e identificazione dei cluster genomici di STEC
Laboratori diagnostica su alimenti, animali, ambiente	IZS e laboratori di sanità pubblica e ambiente	<ul style="list-style-type: none"> - Forniscono supporto al SIAN e ai Serv. Veterinari nell'indagine epidemiologica - Eseguono campionamenti e analisi microbiologiche per la ricerca degli STEC - Supportano le valutazioni del rischio
	ISS (Laboratorio Nazionale di riferimento per E.coli)	<ul style="list-style-type: none"> - Conferma diagnostica e caratterizzazione degli STEC isolati da alimenti, animali, ambienti (<i>stx1</i>, <i>stx2</i>, <i>eae</i>, sierogruppo O) - Sequenziamento WGS ceppi STEC e analisi comparativa dei ceppi STEC isolati da uomo/alimento/animale/ambiente
Registro SEU	ISS/SINEPE (Centri di nefrologia pediatrici)	<ul style="list-style-type: none"> - Registrazione sistematica casi di SEU - Raccolta dati epidemiologici e clinici dei casi di SEU - Attività di sorveglianza della SEU in Italia e generazione di allerte epidemiche - Networking e comunicazione scientifica

Bibliografia

1. Gyles CL. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *J Anim Sci.* marzo 2007;85(13 Suppl):E45-62.
2. Besser TE, Richards BL, Rice DH, Hancock DD. *Escherichia coli* O157:H7 infection of calves: infectious dose and direct contact transmission. *Epidemiol Infect.* dicembre 2001;127(3):555-60.
3. Hoey DEE, Sharp L, Currie C, Lingwood CA, Gally DL, Smith DGE. Verotoxin 1 binding to intestinal crypt epithelial cells results in localization to lysosomes and abrogation of toxicity. *Cell Microbiol.* febbraio 2003;5(2):85-97.
4. Nguyen Y, Sperandio V. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) pathogenesis. *Front Cell Infect Microbiol.* 12 luglio 2012;2:90.
5. Naylor SW, Low JC, Besser TE, Mahajan A, Gunn GJ, Pearce MC, et al. 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.* marzo 2003;71(3):1505-12.
6. Persad AK, LeJeune JT. Animal Reservoirs of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*. *Microbiol Spectr.* agosto 2014;2(4):EHEC-0027-2014.
7. Ray R, Singh P. Prevalence and Implications of Shiga Toxin-Producing *E. coli* in Farm and Wild Ruminants. *Pathog Basel Switz.* 11 novembre 2022;11(11):1332.
8. DIERCKE M, KIRCHNER M, CLAUSSEN K, MAYR E, STROTMANN I, FRANGENBERG J, et al. Transmission of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 at a family party possibly due to contamination by a food handler, Germany 2011. *Epidemiol Infect.* gennaio 2014;142(1):99-106.
9. Schlager S, Lepuschitz S, Ruppitsch W, Ableitner O, Pietzka A, Neubauer

- S, et al. Petting zoos as sources of Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) infections. *Int J Med Microbiol.* 1 ottobre 2018;308(7):927–32.
10. Dicker RC, Coronado Ft, Koo D, Parrish RG. Principles of epidemiology in public health practice; an introduction to applied epidemiology and biostatistics. 3rd ed. Centers for Disease C, Prevention EPO, Centers for Disease C, Prevention OoW, Career D, editors. U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, Epidemiology Program Office, Office of Workforce and Career Development 2006.
 11. Kim JS, Lee MS, Kim JH. Recent Updates on Outbreaks of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli and Its Potential Reservoirs. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:273.
 12. Istituto Superiore di Sanità (ISS). Le parole dell'epidemia. 2020.
Disponibile da:
[\[https://www.iss.it/documents/20126/0/Glossario.pdf/fe8c209d-33b7-dbc4-b324-44eee879895f?t=1585325504835\]](https://www.iss.it/documents/20126/0/Glossario.pdf/fe8c209d-33b7-dbc4-b324-44eee879895f?t=1585325504835) ultimo accesso 3/5/2023]
 13. Ungchusak K, Iamsirithaworn S. 484 Principles of outbreak investigation. 2009 [cited 4/7/2023]. In: Oxford Textbook of Public Health [Internet]. Oxford University Press, [cited 4/7/2023]; [0]. Available from:
<https://doi.org/10.1093/med/9780199218707.003.0029>.
 14. Popovich KJ, Snitkin ES. Whole Genome Sequencing-Implications for Infection Prevention and Outbreak Investigations. *Curr Infect Dis Rep.* 2017;19(4):15.
 15. Worby CJ, Lipsitch M, Hanage WP. Within-Host Bacterial Diversity Hinders Accurate Reconstruction of Transmission Networks from Genomic Distance Data. *PLoS Computational Biology.* 2014;10(3):e1003549. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Surveillance Atlas of Infectious Diseases [Disponibile da: [ultimo accesso 3/5/2023](#)]

16. European Food Safety Authority (EFSA). Foodborne outbreaks - dashboard [Disponibile on-line: <https://www.efsa.europa.eu/en/microstrategy/FBO-dashboard> ultimo accesso 3/5/2023]].
17. Istituto Superiore di Sanità (ISS). EpiCentro - L'epidemiologia per la sanità pubblica. Sindrome emolitico-uremica. Dati del Registro Italiano SEU [Disponibile da: <https://www.epicentro.iss.it/seu/> ultimo accesso 3/5/2023].
18. Commissione europea. Decisione di esecuzione (UE) 2018/945 della Commissione del 22 giugno 2018 relativa alle malattie trasmissibili e ai problemi sanitari speciali connessi da incorporare nella sorveglianza epidemiologica, nonché alle pertinenti definizioni di caso. 2018.
19. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Update: Multistate Outbreak of Escherichia coli O157:H7 Infections from Hamburgers -- Western United States, 1992-1993 1998 [Disponibile da: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00020219.htm> ultimo accesso 3/5/2023].
20. Hauswaldt S, Nitschke M, Sayk F, Solbach W, Knobloch JKM. Lessons Learned From Outbreaks of Shiga Toxin Producing Escherichia coli. Current Infectious Disease Reports. 2013;15(1):4-9.
21. Danon-Schaffer MN. Walkerton's Contaminated Water Supply System: A Forensic Approach to Identifying the Source. Environmental Forensics. 2001;2(3):197-200.
22. Sharapov UM, Wendel AM, Davis JP, Keene WE, Farrar J, Sodha S, et al. Multistate Outbreak of Escherichia coli O157:H7 Infections Associated with Consumption of Fresh Spinach: United States, 2006. J Food Prot. 2016;79(12):2024-30.

-
23. Buchholz U, Bernard H, Werber D, Böhmer MM, Remschmidt C, Wilking H, et al. German outbreak of Escherichia coli O104:H4 associated with sprouts. N Engl J Med. 2011;365(19):1763-70.
 24. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). E. coli Outbreak Linked to Cake Mix 2021 [Disponibile da: <https://www.cdc.gov/ecoli/2021/o121-07-21/index.html> ultimo accesso 3/5/2023].
 25. Krause G, Frank C, Gilsdorf A, Mielke M, Schaade L, Stark K, et al. The 2011 HUS epidemic in Germany. Challenges for disease control: what should be improved? Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz. 2013;56(1):56-66.