

## REZUMAT

Rolul bacteriei *Escherichia coli*, cunoscută mult timp sub numele generic de bacilul coli sau colibacil, în producerea toxiinfecțiilor alimentare la om a fost în decursul timpului unul din cele mai controversate. Unii cercetători au privit cu multă rezervă incriminarea acestei bacterii, atât de ubicvitare și prezente în mod natural în număr foarte mare în tubul digestiv al omului și animalelor cu sânge cald, în declanșarea toxiinfecțiilor alimentare. Din acest motiv cazurile de îmbolnăviri la om în care se izola din alimente numai *Escherichia coli*, au fost raportate mult timp ca toxiinfecții alimentare cu etiologie necunoscută.

*Escherichia coli* a constituit totuși, un germene foarte important și luat în considerație de microbiologia alimentară încă de la începuturile ei, bacteria fiind considerată indicatorul sanitar cel mai frecvent folosit pentru aprecierea contaminării fecale a alimentelor. Interpretarea igienică a prezenței bacteriei în alimente și apă a suferit modificări pe măsură ce s-au obținut noi date. La început a existat tendința de a considera ca indicator al contaminării fecale a alimentelor și apei numai specia *Escherichia coli*. Treptat datele cercetărilor au reliefat că și speciile din genurile *Enterobacter* și *Klebsiella* sunt frecvent prezente în fecalele omului și animalelor și ca atare, s-a propus că și aceste bacterii, prezente pe alimente și în apă, să fie considerate ca indicator al contaminării fecale.

Considerată la început numai ca un germene patogen oportunist, în prezent *Escherichia coli*, este apreciată ca unul din cei mai frecvenți agenți enterici la animale și om

Semnificația speciei *Escherichia coli* pentru sănătatea publică și pentru igiena alimentară a crescut enorm în ultimii ani datorită identificării serotipului O<sub>157</sub> ; H<sub>7</sub> ca agent al unor îmbolnăviri grave la om. Acțiunea patogenă pentru om a acestui serotip este mult mai mare decât a celorlalte, datorită faptului că se poate multiplica rapid în intestinul omului, elaborează mai multe toxine care lezează grav mucoasa intestinală și alte organe, provocând pe lângă colită sau enterocolită hemoragică, sindromul hemolitic și uremic și purpura trombotică trombocitopenică, cu urmări din cele mai grave. Omul se poate îmbolnăvi și în cazurile în care ingeră odată cu alimentele un număr foarte mic de celule bacteriene, doza minimă infectantă fiind mai mică decât în cazul majorității serotipurilor de salmonele. *Escherichia coli* serotip O<sub>157</sub> ; H<sub>7</sub> nu se găsește în tubul digestiv al oamenilor sănătoși. Bacteria este purtată uneori de bovinele

sănătoase, considerate ca principal rezervor natural, o elimină prin fecale și poate să contamineze carnea lor în timpul operațiilor de tăiere, sau alte produse.

Odată cu descrierea pentru prima dată, în 1982 (Riley), a două episoade de infecție alimentară cu îmbolnăviri neobișnuit de grave, epidemiologii și microbiologii au făcut legătura între *Escherichia coli* O<sub>157</sub> ; H<sub>7</sub> și colita hemoragică a pacienților de la care au izolat-o. Din cauza asocierii cu enterocolita hemoragică, această bacterie a fost denumită *Escherichia coli* enterohemoragică, iar subgrupa din care face parte, Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). Acest patotip, prezintă o importanță deosebită pentru medicina umană și veterinară. În patologia umană *Escherichia coli* O<sub>157</sub>;H<sub>7</sub> a devenit în scurt timp unul din cei mai temuți agenți ai toxiinfecțiilor alimentare umane. Pentru medicina veterinară, studiile referitoare la *Escherichia coli* O<sub>157</sub> H<sub>7</sub> au scos în evidență că rezervorul principal este reprezentat de animalele aparent sănătoase, mai frecvent de vițeei sugari și de vacile în lactație.

Bacteria a fost izolată și de la alte specii de animale cum sunt porcinele, ovinele și păsările (Francis D.H. și col.,1989; Karcher HL., 1996; Kudva I.T. și col.,1997).

În prezent este stabilit că boala diareică produsă de *Escherichia coli* non - O<sub>157</sub> ; H<sub>7</sub> este frecventă în țările în curs de dezvoltare ca urmare a deficiențelor de igienă generală și alimentară, și foarte rară în țările dezvoltate, unde se semnalează însă mai des îmbolnăvirile produse de serotipul O<sub>157</sub> ; H<sub>7</sub>.

Având în vedere pe de o parte gravitatea toxiinfecțiilor alimentare la om , iar pe de altă parte rolul animalelor ca rezervor de germeni precum și a cercetărilor relativ reduse în România, ne-am propus a cerceta prezența serotipului *Escherichia coli* O<sub>157</sub> ; H<sub>7</sub> în unele produse de origine animală (fecale, carne și produse din carne, lapte și produse lactate) provenite de la diferite specii animale.

ooo OOO ooo

Teza este alcătuită din două părți distincte. În prima parte, pe baza datelor bibliografice, se face o sinteză a literaturii de specialitate privind stadiul actual al cunoașterii în tematica cercetată.. Între acestea sunt cuprinse referințe cu privire la taxonomie, morfologie, particularități biochimice, multiplicare și factorii care influențează dezvoltarea, precum și epidemiologia infecțiilor cu *Escherichia coli* serotip O<sub>157</sub> ; H<sub>7</sub>.

Partea a 2-a “Cercetări proprii” este redactată pe parcursul a 7 capitole, cuprinzând 106 pagini și abordează o paletă largă de fațete.

În cap. 4 intitulat “Metodologia izolării și identificării tulpinilor de *Escherichia coli* serotip O<sub>157</sub> ; H<sub>7</sub> din diverse produse de origine animală și neanimalieră” se prezintă metoda

utilizată (recomandată de FSIS-USDA), bazată pe fermentarea lentă a sorbitolului, caracterul beta-glucuronidază negativ al bacteriei și aglutinarea cu antiser specific față de antigenii O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>. Metoda include 3 etape: de detectare probabilă printr-un test screening prin tehnica ELISA, de izolare și de confirmare a bacteriei.

În Cap. 5, s-a cercetat prezența serotipului *Escherichia coli* O<sub>157</sub>; H<sub>7</sub> în materiile fecale la diferite categorii de bovine. În acest scop, s-a recoltat un număr de 652 probe de materii fecale din trei ferme de creșterea bovinelor pentru producția de lapte, de la viței sugari (224 probe), viței înțărcați (241) și de la vaci în lactație (187 probe).

Analiza rezultatelor obținute evidențiază că din cele 652 probe de materii fecale examinate, s-au izolat și identificat 306 tulpini de *Escherichia coli*, ceea ce reprezintă 45,39%. Dintre acestea 17 (5,55%) au fost identificate biochimic și serologic ca aparținând serotipului *Escherichia coli* O<sub>157</sub> : H<sub>7</sub>, iar 289 (94,45%) tulpini non-*Escherichia coli* O<sub>157</sub> : H<sub>7</sub>. Cele 17 tulpini de *Escherichia coli* serotip O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>, s-au izolat: 6 (35,29%) din materii fecale recoltate de la viței înțărcați, 4 (32,35%) de la viței sugari și 4 (32,35%) de la vaci în lactație.

Diferențele rezultate între categoriile de vârstă (viței sugari, viței înțărcați și vaci adulte în lactație), se pot explica prin gradul diferit de dezvoltare a rumenului și a sistemului imunitar, a dietei și a lipsei de colostru ingerat sau a altor factori. De asemenea, rezultatele se pot explica și prin diferența care există în funcționarea rumenului între o bovină tânără și una adultă. La bovinele adulte, rumenul este un compartiment în care asocierea unei puternice concentrații în acizi grași volatili și a unui pH slab inhibă creșterea de *Escherichia coli* O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>.

Rezultatele obținute evidențiază prezența și identificarea serotipului *Escherichia coli* O<sub>157</sub> : H<sub>7</sub> în probele de materii fecale recoltate de la diferite categorii de bovine sănătoase, care nu prezentau manifestări gastrointestinale, dar care s-au dovedit a fi purtătoare și eliminatoare ale bacteriei, ceea ce poate lăsa să se presupună că această bacterie face parte din flora digestivă convivă, în special a vițelilor și a vacilor crescute pentru lapte.

Rezultatele obținute evidențiază prezența serotipului *Escherichia coli* O<sub>157</sub>: H<sub>7</sub> în toate cele 3 ferme examinate și la toate categoriile de vârstă, în procente diferite, cuprinse între 4,50% și 6,12%. Astfel, în ferma "T", din 209 probe de materii fecale examinate, s-au izolat 128 (61,24%) tulpini de *Escherichia coli*, din care 6 (4,28%) serotip O<sub>157</sub>: H<sub>7</sub> și 122 (95,32%) non-O<sub>157</sub>: H<sub>7</sub>. Din rezultatele obținute se constată numărul mare de tulpini de *Escherichia coli* izolate și identificate, care nu aparțin serotipului O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>, dar care ar putea fi potențial patogene.

Prezența și izolarea *Escherichia coli* – serotip O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> (5,55%) din materiile fecale de la diferite categorii de vârstă, evidențiază riscul de răspândire al bacteriilor plecând de la animalele contaminate prin intermediul mediului înconjurător, sau al echipamentelor din adăposturi.

În cap. 6, s-a urmărit prezența și incidența serotipului *Escherichia coli* O<sub>157</sub> : H<sub>7</sub> în fecalele de porcine. Investigațiile s-au efectuat pe un număr de 362 probe, recoltate din 2 ferme de creșterea suinelor. Materiile fecale au fost recoltate de la purcei sugari, purcei înțărcați și scroafe în lactație.

Din cele 362 probe de materii fecale s-au izolat și identificat, morfologic, cultural și biochimic un număr de 272 tulpini de *Escherichia coli*. Din acestea 9 (3,30%) tulpini au fost identificate ca aparținând serotipului *Escherichia coli* O<sub>157</sub> : H<sub>7</sub>, iar 273 (96,70%) tulpini altor serotipuri întâlnite frecvent la suine.

Serotipul *Escherichia coli* O<sub>157</sub> : H<sub>7</sub> a fost izolat și identificat în ambele ferme, dar cu o incidență diferită. Astfel, din analiza datelor înregistrate se observă că în ferma "P" din cele 194 probe, s-au izolat și identificat 137 (70,10%) tulpini de *Escherichia coli*, din care 4 (2,85%) aparținând serotipului O<sub>157</sub> : H<sub>7</sub>, iar 133 (97,15%) altor serotipuri, non- O<sub>157</sub> : H<sub>7</sub>. În schimb, în ferma "B", din 168 probe de materii fecale s-au izolat 135 (80,35%) tulpini de *Escherichia coli*, din care 5 (3,70%) aparținând serotipului O<sub>157</sub> : H<sub>7</sub>, iar 130 (96,30%) non- O<sub>157</sub> : H<sub>7</sub>.

Incidența serotipului *Escherichia coli* O<sub>157</sub> : H<sub>7</sub> diferă și în funcție de categoria de porcine examinată. Cele mai multe tulpini de *Escherichia coli* O<sub>157</sub> H<sub>7</sub>, s-au izolat din materiile fecale recoltate de la purceii înțărcați 3(5,17%) tulpini în ferma "B" și 2 (4,08%) în ferma "P, urmat în ordine descrescătoare de purceii sugari și scroafele în lactație, unde s-a izolat, de la fiecare categorie câte o tulpină de *Escherichia coli* O<sub>157</sub>H<sub>7</sub>.

Cercetările privind prezența și izolarea serotipului *Escherichia coli* O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> în carne și produsele de carne (cap.7), s-au efectuat pe un număr de 558 probe de alimente în cadrul "Programului de supraveghere și prevenire a transmiterii de boli de la animale la om". Probele de alimente au fost reprezentate de: carne de vită tocată, cârnați proaspeți, carne de porc, carne de miel și mezeluri diferite.

Din analiza rezultatelor obținute rezultă că din cele 558 probe analizate, s-au izolat 286 (51,25%) tulpini de *Escherichia coli*, din care numai 7 tulpini au fost identificate biochimic și serologic ca aparținând serotipului O<sub>157</sub> : H<sub>7</sub>, ceea ce reprezintă 2,45%.

Tulpinile de *Escherichia coli* serotip O<sub>157</sub> : H<sub>7</sub> au fost izolate din carnea de vită tocată 2 (3,38 %), cârnați proaspeți 2 (4,65 %), mezeluri diferite 2 (2,75 %) și din carnea proaspătă de miel 1 (1,25 %). De menționat că, în carnea proaspătă de porc nu s-a evidențiat prezența serotipului *Escherichia coli* O<sub>157</sub> : H<sub>7</sub>.

Rezultatele obținute evidențiază o incidență redusă a bacteriei în carne și produsele din carne, cuprinsă între 1,25% în carnea de miel și 4,65% în cârnați, comparativ cu prezența serotipului în alimentele din alte zone geografice ale globului, dar asemănătoare altor investigații din România.

Cercetările privind prezența și izolarea speciei *Escherichia coli* serotip O<sub>157</sub>; H<sub>7</sub> din lapte și unele produse lactate (cap 8), s-au efectuat pe un număr de 572 probe reprezentate de: lapte crud 167, brânză proaspătă de vaci 128, smântână 47, caș de oaie 105 și lapte de oaie 125 probe.

Din analiza rezultatelor obținute rezultă că din cele 572 probe analizate, s-au izolat 364 (63,46%) tulpini de *Escherichia coli*, din care numai 6 tulpini au fost identificate biochimic și serologic ca aparținând serotipului O<sub>157</sub> : H<sub>7</sub> ceea ce reprezintă 2,45%, iar 358 (98,36%) de tulpini aparținând altor serotipuri non- O<sub>157</sub> : H<sub>7</sub>.

Tulpinile de *Escherichia coli* serotip O<sub>157</sub> : H<sub>7</sub> au fost izolate din laptele crud 2 (2,04%), brânză proaspătă de vaci 1 (1,03%), caș de oaie 1 (1,39%) și din lapte de oaie 2 (2,44%). De menționat prezența și izolarea serotipului *Escherichia coli* O<sub>157</sub> : H<sub>7</sub> în toate sortimentele examinate.

Prezența și izolarea serotipului *Escherichia coli* O<sub>157</sub> ; H<sub>7</sub>, în unele produse alimentare de origine animală, deși în număr redus, nu fac decât să atenționeze și să sporească interesul pentru respectarea cu rigurozitate a măsurilor de igienă în vederea prevenirii toxinfecțiilor alimentare la om.

Cercetările privind identificarea tulpinilor de *Escherichia coli* O<sub>157</sub> : H<sub>7</sub> verocitotoxigenice (VTEC) prin metoda PCR multiplex (cap.9), efectuate pe un număr de 33 tulpini izolate din diverse produse de origine animală, a evidențiat prezența genelor **eae** care codifică verotoxinele VT<sub>1</sub> și VT<sub>2</sub> și deci patogenitatea la 24 tulpini, ceea ce reprezintă 71,50. La un număr de 7 (20,55%) tulpini s-a evidențiat numai verotoxina VT<sub>2</sub>, iar la 2 (5,95%) tulpini nu s-a evidențiat prezența verocitotoxicității, fiind negative și nepatogene.

Cele mai multe tulpini posesoare a genelor **eae** s-au identificat la cele izolate din materii fecale de bovine și suine -17, urmate în ordine descrescătoare de sușele izolate din carne și produse de carne -4 și cel mai puține din lapte și produsele lactate -3 tulpini.

Pentru reducerea riscurilor contaminării și prevenirii apariției toxinfecțiilor alimentare determinate de *Escherichia coli* O<sub>157</sub> : H<sub>7</sub> s-a încercat elaborarea și aplicarea unor măsuri strategice de supraveghere (cap.10), unde sunt stipulate atât măsuri generale și specifice, cât și măsuri în caz de semnalare a prezenței serotipurilor enterohemoragice.

În cap.11 "Concluzii finale", sunt sintetizate în cele 20 de formulări, rezultatele cercetărilor efectuate.