

COMUNICAZIONE 21

APPLICAZIONE DEL SISTEMA AUTOMATIZZATO (VIDAS®) PER LA RICERCA DI *SALMONELLA SPP*: COMPARAZIONE CON IL METODO MICROBIOLOGICO TRADIZIONALE

L. FIORENTINI¹, P. MASSI¹, G. TOSI¹, TABANELLI S.²

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Sez. Diagnostica di Forlì

²BioMerieux-Italy

Parole chiave: *Salmonella*, VIDAS, ELFA, microbiologia tradizionale

Comparative study between VIDAS system and microbiology test for detection of *Salmonella spp.*

Key words: *Salmonella*, VIDAS, ELFA, traditional microbiology

Summary: a comparative studies between VIDAS and microbiological test to detection *Salmonella*, was carried out on 353 samples during four months at diagnostic laboratory of I.Z.S.L.E.R. in Forlì. VIDAS *Salmonella* is a fully automated method for the immuno-concentration of *Salmonella* from foods. It replaces traditional selective enrichment procedures with an automated immunological capture and specific release process. The released organisms may then be transferred to a non selective broth for growth prior to detection by immunoassay, or directly plated on a specific *Salmonella* agar. Results of this trial showed an efficacy of this test very similar to traditional method.

Correspondence: Laura Fiorentini, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna- Sezione di Forlì- Via Marchini 1- 47100 Forlì. Email forli@bs.izs.it

Introduzione

In un periodo complessivo di circa quattro mesi, compreso tra aprile e luglio 2002, sono stati sottoposti ad esame per ricerca *Salmonella* 2291 campioni conferiti alla Sezione Diagnostica di Forlì dell'I.Z.S.L.E.R.. Di questi, 353 sono stati analizzati in doppio con metodo microbiologico "tradizionale" e con sistema automatizzato VIDAS® *Salmonella*, BioMerieux-Vitek U.S.A. (test qualitativo impiegato normalmente per i prodotti alimentari e per campioni ambientali, entrato quindi nell'uso comune di molti laboratori annessi alle industrie alimentari). Contemporaneamente alla routine diagnostica, sono state fatte prove sperimentali di comparazione tra metodo VIDAS *Salmonella* e microbiologico tradizionale a partire da 90 campioni "drogati" con 400 UFC/ml di *Salmonella typhimurium* (valore minimo rilevabile dal VIDAS).

Materiali e metodi

Sistema VIDAS® *Salmonella*

E' un sistema automatizzato selettivo per l'esecuzione di determinazioni immunoenzimatiche che permette l'individuazione di antigeni di *Salmonella* attraverso il metodo ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay). Le *Salmonelle* formano un gruppo antigenico complesso con più di 2200 *serovar* differenziati da antigeni somatici (O) di natura liposaccaridica, e da antigeni flagellari (H) di natura proteica. Il test VIDAS utilizza anticorpi monoclonali di cattura ad alta specificità, tutti diretti contro antigeni O ed H. Una volta terminato il test, al massimo dopo 24 ore, i risultati vengono analizzati automaticamente da un sistema informatico.

Metodo microbiologico tradizionale

E' un metodo qualitativo che richiede cinque successivi stadi:

- pre-arricchimento in terreno liquido non selettivo (acqua peptonata tamponata) inoculato con il campione in esame e, dopo omogeneizzazione, incubato a 37°C per 24 ore
- arricchimento in terreni liquidi selettivi (brodo selenito cistina o/e brodo Rappaport Vassiliadis), incubazione a 37°C o 42°C a seconda del terreno utilizzato per 24 ore

- piastratura su terreno solido selettivo e differenziale (Hektoen Enteric Agar) quindi incubazione a 37°C per 24 ore
 - trapianto di colonie sospette in Kligler Iron Agar, incubazione a 37°C per 24 ore
 - Identificazione biochimica e sierologica delle colonie trapiantate
- Il tempo necessario per la diagnosi è di almeno 72 ore.

Risultati

I risultati sono riportati nelle tabelle 1 e 2

Discussione

La ricerca della *Salmonella* richiede normalmente, per una corretta diagnosi, almeno tre giorni; è lecito considerare questi tempi necessari "piuttosto" lunghi. Sicuramente lo sviluppo e la messa a punto di mezzi diagnostici mirati consentirà il riconoscimento immediato del patogeno con la possibilità di intervenire tempestivamente. Il VIDAS consente di ridurre i rischi legati alle contaminazioni crociate durante l'esecuzione dell'analisi; ogni analisi ha una registrazione completa (codice a barre, *report* completo); l'automazione consente un'interpretazione obiettiva dei risultati indipendentemente dall'operatore; i *kits* pronti all'uso riducono al minimo le fasi che richiedono interventi manuali; sono ridotti i tempi necessari per giungere alla diagnosi (da 24 a 48 ore); viene meglio ripartito il carico di lavoro settimanale del laboratorio. I limiti del VIDAS sono soprattutto legati al non trascurabile costo degli esami, alla cattiva preparazione o conservazione dei campioni la quale può inficiare la prova; inoltre reazioni crociate possono essere osservate con alcuni ceppi di *Citrobacter* e *Hafnia*, anche se in percentuale trascurabile.

Sulla base dei risultati ottenuti, il sistema VIDAS si può considerare affidabile anche su matrici diverse (feci, residui di incubazione, uova embrionate, visceri prelevati in sede autoptica) da quelle testate fino ad oggi con tale metodo, applicabile quindi ai piani di controllo ufficiale ed di autocontrollo per *Salmonella spp.*

Ringraziamenti

Si ringrazia il personale tecnico del laboratorio di diagnostica batteriologica I.Z.S.L.E.R. Sez. di Forlì

Bibliografia

1. Division of Microbiology- Center for Food safety and applied nutrition – U.S. F.D.A. Bacteriological analytical. 6th Edition, Association of Official Analytical Chemists, Arlington, 1984, 7.01-7.18
2. ICMSF Microorganisms in food 1. Their significance and methods of enumeration. 2nd Edition, University of Toronto Press, Toronto, 1988, 160-172
3. F.D.A., Bacteriological Analytical Manual, 7th ed., 1992, publ. And dist. By AOAC International, Arlington, Virginia, 2201-3301, USA
4. Norme ISO 6579, Directives generales concernant les methods de recherche des *Salmonella*, AFNOR, Dicembre 1993
5. Kerrs., H.J. Ball, D.P. Mackie, D.A. Pollock and D.A. Finlay, Diagnostic application of monoclonal antibodies to outer membran protein for rapid detection of *Salmonella*, Journal of Applied Bacteriology, 1992, 72, 302-308

Tabella 1: Esami di diagnostica batteriologica eseguiti in doppio

Table 1: Bacteriological examinations carried out with both methods

Numero di campioni	353	
Metodo	VIDAS <i>Salmonella</i>	Tradizionale
Positivi	4 (1,1%)	3 (0,8%)
Negativi	349 (98,9%)	350 (99,2%)
Falsi Positivi*	2 (0,5%)	0

*Falsi positivi: due ceppi di *Citrobacter freendy*

Tabella 2: Esami sperimentali eseguiti in doppio a partire da campioni drogati con 400 UFC/ ml di *Salmonella typhimurium*

Table 2: Experimental tests carried out with both methods on samples added with 400 cfu/ml of *Salmonella typhimurium*

Numero di campioni	90	
Metodo	VIDAS <i>Salmonella</i>	Tradizionale
Positivi	79 (87,7%)	69 (76,6%)
Negativi	11 (12,3%)	21 (23,4%)
Falsi Positivi	0	0