

# VALUTAZIONE DELLA TECNOLOGIA BASATA SULLE PROTEINE FAGICHE PER LA RILEVAZIONE DI *ESCHERICHIA COLI* O157

## ***EVALUATION OF A PHAGE PROTEIN-BASED ASSAY FOR THE DETECTION OF ESCHERICHIA COLI O157***

Bonardi S., Bassi L., Paris A., Bacci C., Boni E., Brindani F.  
Sezione di Ispezione degli Alimenti di origine animale, Dipartimento di Salute Animale, Facoltà di  
Medicina Veterinaria, Università di Parma

### **SUMMARY**

Phage tail recombinant protein technology developed by VIDAS UP O157 was used to detect *E. coli* O157 from bovine raw milk and milk filters. Sensitivity and specificity of VIDAS UP O157 was identical to a m-PCR assay for verocytotoxigenic *E. coli* detection.

### **KEYWORDS**

*Escherichia coli* O157, recombinant phage proteins, immunofluorescence assay, milk, milk filters

La contaminazione del latte crudo da parte di *Escherichia coli* O157 produttori di verocitotossine (VTEC O157) rappresenta un potenziale pericolo per il consumatore, dato il ruolo svolto dalla specie bovina quale serbatoio asintomatico del microrganismo (1). Per questo motivo, come sancito dall'Intesa Stato-Regioni del 25 gennaio 2007, il controllo microbiologico del latte crudo prevede obbligatoriamente la ricerca di VTEC O157, che deve risultare assente in 25 ml di prodotto. Nel presente lavoro sono state valutate sensibilità e specificità del sistema VIDAS® UP O157 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France), che sfrutta l'innovativa tecnologia basata sull'affinità di legame di una proteina ricombinante della coda del fago specifico per *E. coli* O157:H7 (e per la sua variante H-). L'accuratezza del sistema VIDAS UP O157 è stata comparata con quella del metodo ISO 16654:2001, contaminando 10 campioni di latte crudo vaccino con un ceppo di *E. coli* O157 provvisto delle sequenze *vtx1*, *vtx2*, *eae* ed *hlyA*. Dieci campioni di latte non inoculati sono stati utilizzati come controlli negativi. La contaminazione è stata eseguita a due livelli di inoculo, rispettivamente basso (0,8-16 UFC/ml) e medio-alto (100-900 UFC/ml). I campioni sono stati contemporaneamente

testati con PCR per l'identificazione delle sequenze deputate alla sintesi delle verocitotossine. Sensibilità e specificità dei metodi applicati e della PCR sono risultate pari al 100%. Successivamente, il metodo VIDAS UP è stato impiegato per la ricerca di *E. coli* O157 in 28 campioni di latte crudo vaccino e 24 filtri del latte, prelevati in provincia di Parma e di Mantova. I risultati delle analisi sono stati comparati con quelli ottenuti con il metodo ISO 16654:2001 e con una multiplex-PCR per i geni *vtx1*, *vtx2*, *eae* ed *hlyA* (2). I campioni di latte crudo sono risultati negativi per *E. coli* O157; dai filtri solo il metodo ISO 16654:2001 ha dato esito negativo, mentre il sistema VIDAS UP e l'analisi molecolare hanno individuato 3 campioni positivi. Pertanto il sistema VIDAS UP, già validato AFNOR per la ricerca di *E. coli* O157 in prodotti carnei, offre validi risultati anche se applicato a matrici lattiero-casearie.

### **BIBLIOGRAFIA**

1. Chapman P.A., Siddons C.A., Wright D.J., Norman P., Fox J., Crick E. (1993). Cattle as possible source of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 infections in man. *Epidemiology and Infection* 111, 439-447

2. Paton A.W., Paton J.C. (1998). Detection and characterization of Shiga toxigenic *Escherichia coli* by using multiplex PCR as-

says for *stx*<sub>1</sub>, *stx*<sub>2</sub>, *eaeA*, enterohemorrhagic *E. coli* *hlyA*, *rfb*<sub>O111</sub>, and *rfb*<sub>O157</sub>. *Journal of Clinical Microbiology* 36, 598-602.