

CONFRONTO TRA METODICHE PER LA CARATTERIZZAZIONE DI *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ENTEROTOSSIGENO

METHODS COMPARISON FOR ENTEROTOXIC STAPHYLOCOCCUS AUREUS CHARACTERIZATION

Decastelli L.¹, Bellio A.², Nogarol C.², Bianchi D.M.¹, Gallina S.¹, Brunetto T.², Ghia C.², Gramaglia M.²

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta.

²NRL Stafilococchi coagulasi positivi compreso *S.aureus*; 2 S.C. Controllo Alimenti e Igiene delle Produzioni, Torino.

SUMMARY

The aim of this study was to compare two different methods for enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* characterization. 110 *S.aureus* strains were isolated from foods and tested with ELISA method able to detect toxins type A to E in culture medium and PCR protocols able to detect the presence of genes (*sea* to *see*; *seg* to *sej*; *sep*; *ser*) encoding for staphylococcal enterotoxins. 27 strains came out positive with ELISA; 68 resulted to have at least one encoding gene. *sea* and *ser* genes were detected respectively in 29,1% and 27,3% of strains.

KEYWORDS

Staphylococcus aureus, enterotoxin, PCR

Staphylococcus aureus è un batterio Gram positivo, ubiquitario, spesso presente a livello di cute e mucose negli animali e nell'uomo. *S.aureus* e altri stafilococchi coagulasi positivi sono in grado di produrre enterotossine (SE) resistenti sia ai trattamenti termici che all'azione della pepsina gastrica. Ad oggi sono stati identificati 21 tipi di SE: di queste almeno 11 hanno azione emetica ad insorgenza rapida dopo l'ingestione. Le SE sono incluse tra i criteri di sicurezza alimentare del Reg. CE 1441/2007 e il metodo ufficiale per la loro ricerca negli alimenti è il *European screening method of the CRL Version 3*, September 2009 (1). Nessun metodo per la determinazione di SE da ceppo è attualmente normato.

Nel presente studio si sono confrontate due metodiche per la verifica della capacità produttiva di SE in ceppi di *S.aureus*. La prima si basa su un test ELISA (Transia® Plate SE) in grado di rilevare in brodocoltura le SE da A a E; la seconda, messa a punto dal Central Reference Laboratory for Coagulase Positive Staphylococci, including *Staphylococcus aureus*, prevede l'impiego di due protocolli in multiplex PCR volti all'identificazione biomolecolare dei

geni codificanti per le SE. I geni target sono *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, *sej*, *sep* e *ser*.

Entrambe le metodiche sono state impiegate presso il NRL Stafilococchi coagulasi positivi compreso *S.aureus* per esaminare 110 ceppi isolati nel primo trimestre del 2010 presso il Laboratorio del Controllo Alimenti dell'IZS PLV.

Dei 110 ceppi di *S.aureus* testati 27 sono risultati produttori di SE al test ELISA (24,5%) mentre 68 (61,8%) possiedono almeno uno dei geni codificanti le SEs e 49 (53,9%) risultano positivi per almeno uno dei geni *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*. I risultati mostrano una maggiore prevalenza dei geni *sea* (29,1%) e *ser* (27,3%) spesso presenti anche contemporaneamente (22%), di *seg* (26,4%) e *sei* (22,7%). Il gene *seb* è riscontrato in 3 dei 110 ceppi (3,3%); *sec* nel 6,4%; *sed* nel 11,8%; *see* 2,7%. Tutte le positività al test ELISA sono state confermate dalla presenza di almeno uno dei geni codificanti per le tossine target del kit; viceversa, dei 49 ceppi che possiedono almeno uno dei geni da *sea* a *see*, solo il 55% è risultato produttore di SE in brodo e positivo al test ELISA. Nonostante i target differenti delle due metodiche, il loro impiego

congiunto può essere un valido strumento per i laboratori di analisi: per la loro rapida esecuzione, i protocolli in PCR potrebbero infatti essere impiegati come screening e seguiti, in caso di positività per i geni da *sea* a *see*, dal test ELISA.

BIBLIOGRAFIA

Reg CE n.1441/2007 che modifica il Reg CE 2073/2005 sui criteri microbiologici applicabili agli alimenti.