



ISTITUTO DI ENTOMOLOGIA AGRARIA  
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

I - 20133 MILANO  
Via G. Celoria, 2  
Tel. 0250316751  
Telefax 0250316748  
E-mail: mario.colombo@unimi.it

## **Prova per la valutazione dell'uso del kit VITA AFB test usato per la diagnosi della peste americana.**

### **Introduzione**

Lo scopo della sperimentazione è stato quello di verificare la sensibilità e la praticità d'uso in campo del kit (VITA AFB Test) per la diagnosi della peste americana.

I risultati ottenuti con il test standard sono stati comparati con quelli ottenuti dal kit VITA AFB Test, utilizzando gli stessi campioni biologici.

### **Schema sperimentale**

Sono stati saggiati 22 VITA AFB Test raggruppati in tre gruppi: il 1° formato da 10 campioni inviati all'Istituto di Entomologia agraria di Milano nel settembre 2003, il 2° formato da otto campioni inviati a luglio 2003, il 3° formato da quattro campioni inviati ad agosto 2003. Questi ultimi sono stati conservati in congelatore prima dell'utilizzo, come indicato sulla confezione.

I Test sono stati applicati a campioni provenienti da alveari colpiti da peste americana; su larve a diversi stadi di malattia (larva filante, larva scura, scaglia, larve senza sintomi prima dell'opercolatura) e su un campione di miele prelevato da un favo contenente larve con sintomi evidenti di peste americana.

E' stata valutata l'intensità del tratto corrispondente alla lettera T del VITA AFB Test, rispetto a quella della lettera C (controllo), mediante una scala a 5 valori (-, +, ++, +++, +++++), indicando con meno (-) l'assenza del tratto, con + un'intensità rispetto al controllo poco marcata, con ++ un'intensità media tra la + e la +++, con +++ un'intensità uguale al controllo e con +++++ un'intensità maggiore rispetto al controllo.

Il test standard consisteva nel conteggio delle spore al microscopio ottico attraverso il vetrino contaglobuli di Bürker provenienti dalla stessa soluzione appartenente al kit VITA AFB Test.

Sono inoltre stati provati in campo alcuni VITA AFB Test per determinare la semplicità d'uso.

## Risultati

Batch	Numero campione	Stadio del sintomo nel reperto	Valore di lettura KIT	n° spore per ml in extraction buffer
C11	3	Larva filante	+++	300*10 <sup>6</sup>
C11	7	No sintomo, Larva prima dell'opercolatura	-	40*10 <sup>6</sup>
C11	8	Scaglia	+++	270*10 <sup>6</sup>
C11	9	No sintomo, Larva prima dell'opercolatura	+	40*10 <sup>6</sup>
C11	10	Larva filante	++++	300*10 <sup>6</sup>
C11	11	Larva scura	+++	160*10 <sup>6</sup>
C11	12	Scaglia	++++	350*10 <sup>6</sup>
C11	13	Larva filante	++++	270*10 <sup>6</sup>
C11	15	Larva filante	+++	370*10 <sup>6</sup>
C11	17	Miele	-	0

A06	2	Larva filante	++	300*10 <sup>6</sup>
A02	6	Larva filante	+	350*10 <sup>6</sup>
A07	14	Larva filante	++	270*10 <sup>6</sup>
B16	16	Scaglia	+	360*10 <sup>6</sup>
A01	18	Larva liquida	-	260*10 <sup>6</sup>
B13	19	Larva filante	+	340*10 <sup>6</sup>
B14	21	Larva filante	+	400*10 <sup>6</sup>
B13	22	No sintomo, Larva prima dell'opercolatura	+	20*10 <sup>6</sup>

A03	1	Larva filante	-	300*10 <sup>6</sup>
A05	4	Scaglia	-	400*10 <sup>6</sup>
A10	5	Larva filante	-	350*10 <sup>6</sup>
A07	20	Larva filante	-	400*10 <sup>6</sup>

## **Discussione**

La facilità d'uso in campo del kit VITA AFB Test è stata buona.

Si è notata una differenza di risposta fra i tre gruppi: il 3° gruppo, messo come indicato in congelatore, ha sempre avuto risultati negativi anche se la conta delle spore al microscopio era alta; inoltre la stessa soluzione è stata provata su supporti ELISA appartenenti al 1° gruppo e l'intensità del tratto di questi ultimi era alta.

Il 2° gruppo ha dato risultati sempre positivi, tranne che in un caso in cui la conta al microscopio è stata di  $260 \times 10^6$ ; l'intensità del tratto T è sempre stata bassa.

Il 1° gruppo si è rilevato quindi il più sensibile, anche se lo stadio della malattia non ha influenzato l'intensità del tratto. In un caso il risultato è stato negativo: la larva in esame non presentava sintomi evidenti della malattia, ma il calcolo delle spore è stato di  $40 \times 10^6$ ; in un'altro caso, pur avendo la stessa conta, c'è stato un risultato positivo.

VITA AFB Test può quindi essere usato per confermare diagnosi fatte in campo in situazioni in cui lo stadio del sintomo della malattia è molto avanzato; negli stadi più precoci della malattia, quando il sintomo non è visibile, non dà risposte ben evidenti.

A seguito delle osservazioni fatte sul gruppo conservato in congelatore prima dell'utilizzo, sarebbe utile stabilire l'intervallo di temperatura di conservazione del kit.

26/11/03

Marco Giorgetti