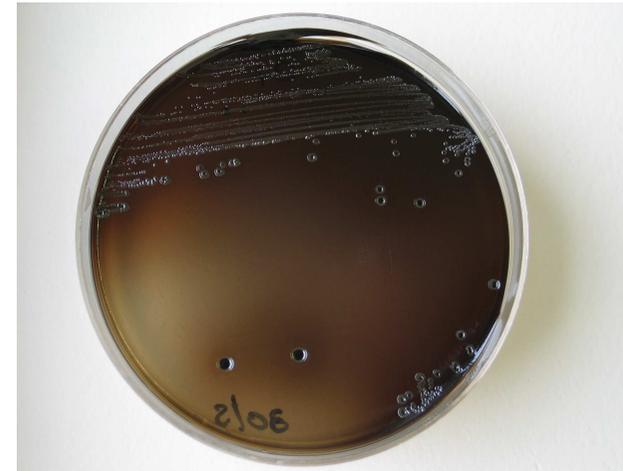
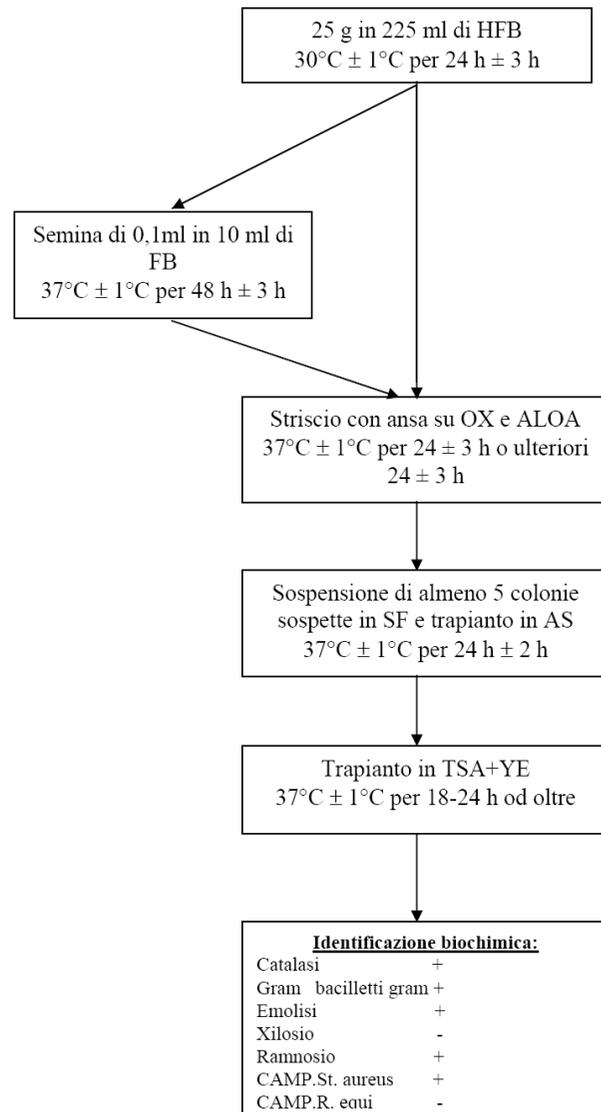


RICERCA DI *LISTERIA MONOCYTOGENES* A 37°C

ISO 11290-1:1996/Amd 1 2004



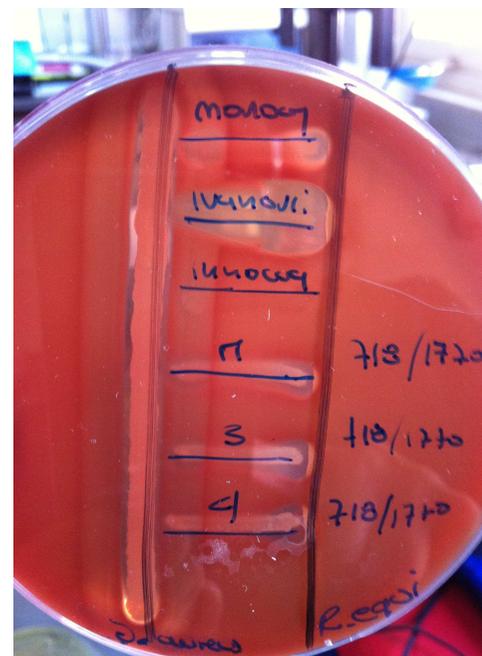
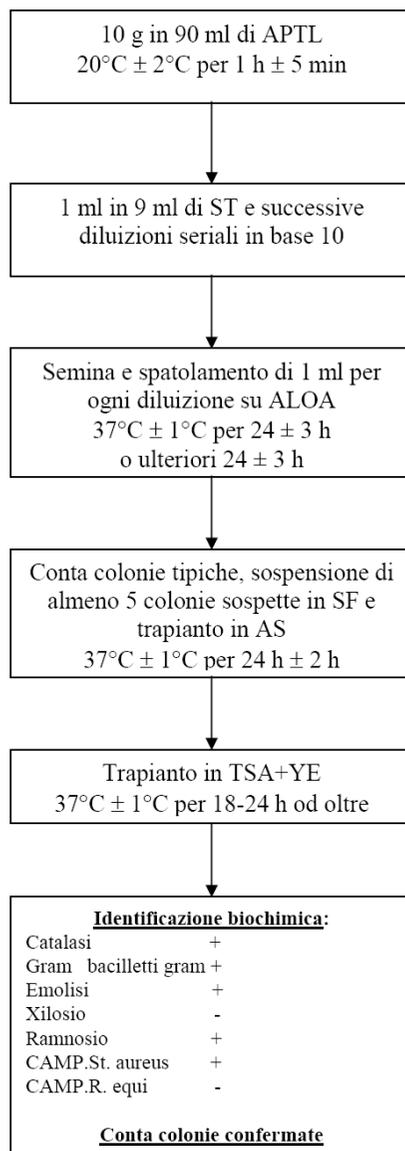
Listeria monocytogenes su Oxford



Listeria monocytogenes su ALOA

NUMERAZIONE DI *LISTERIA MONOCYTOGENES* A 37°C (CONTA IN PIASTRA)

ISO 11290-2:1998/Amd 1 2004



Camp test

**NUMERAZIONE DI *LISTERIA MONOCYTOGENES*
(MPN)**

OM 07/12/1993 (GU n. 291 13/12/1993)

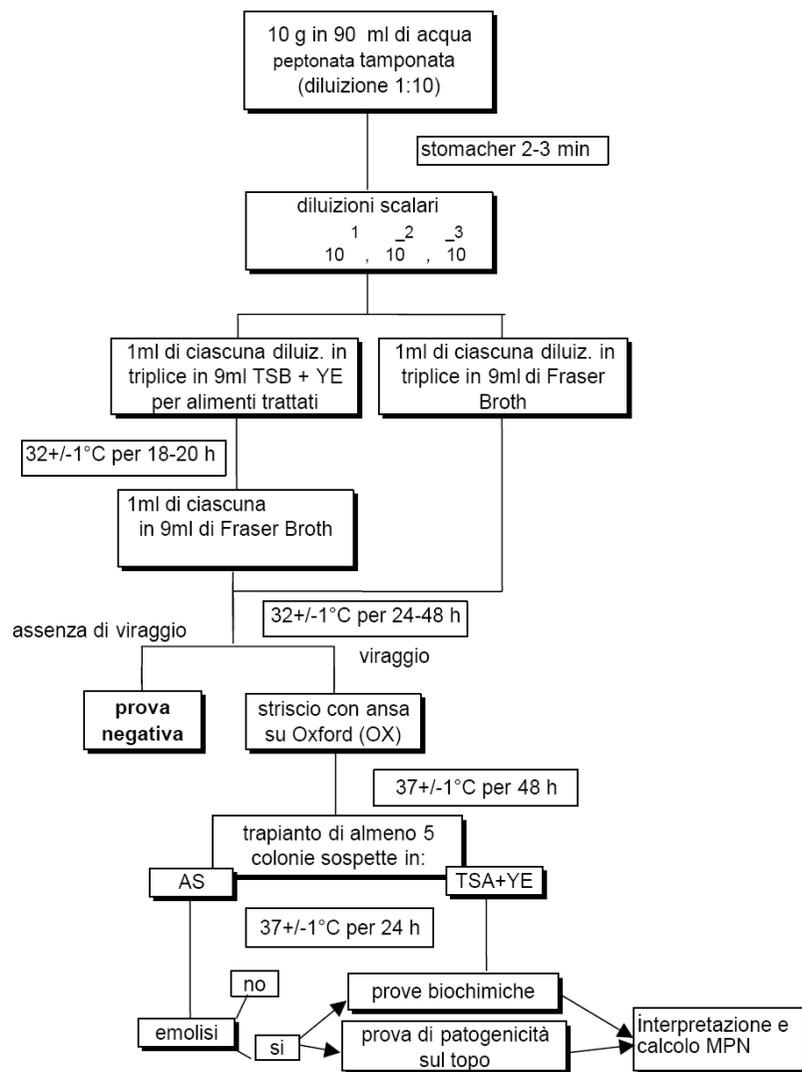
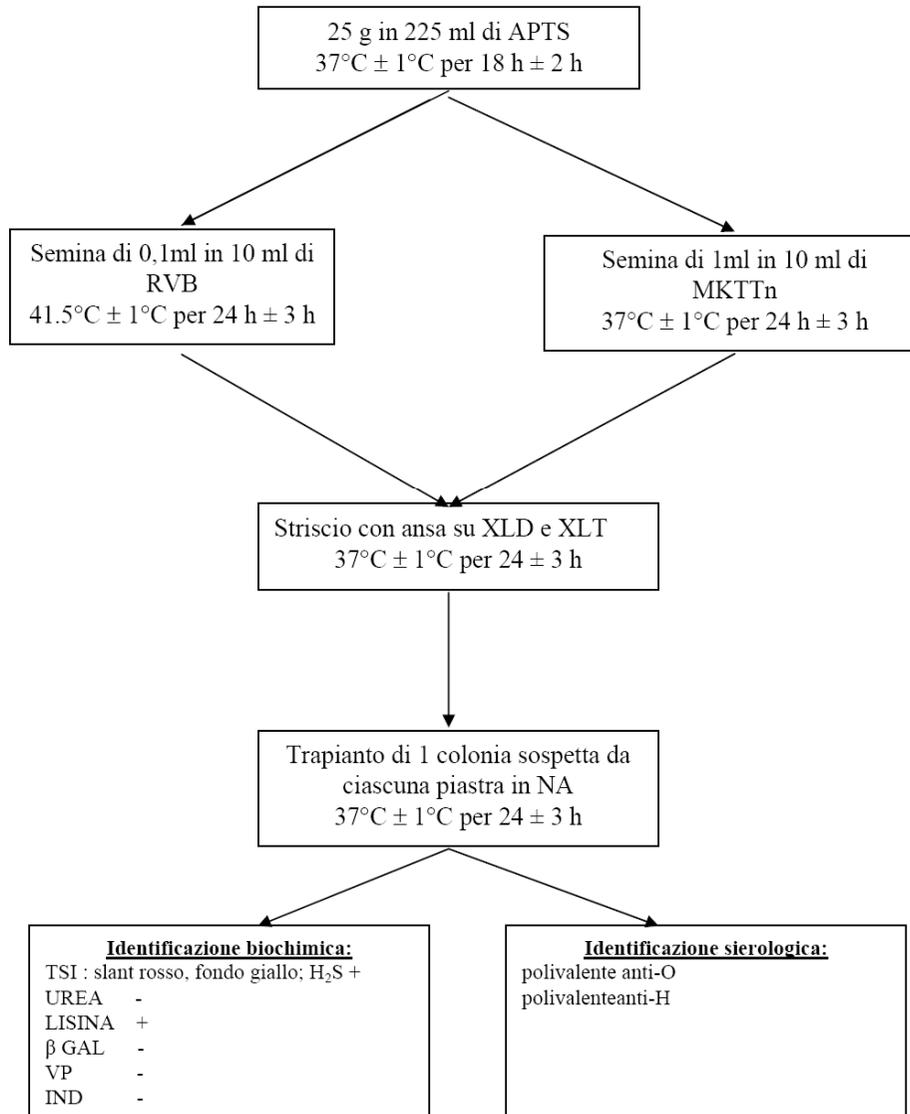


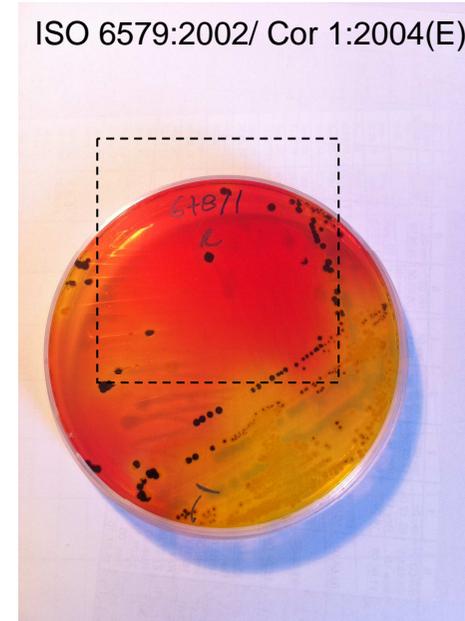
TABELLA 1 : MPN

Numero di tubi positivi			MPN in ml o g	Limiti di confidenza $\geq 95\%$	
1 ml 0,1 g	0,1 ml 0,01 g	0,01 ml 0,001 g	1 ml 0,1 g	Inferiore	Superiore
0	0	0	<0,3	0	0,94
0	0	1	0,3	0,01	0,95
0	1	0	0,3	0,01	1,0
0	2	0	0,6	0,12	1,7
1	0	0	0,4	0,02	1,7
1	0	1	0,7	0,12	1,7
1	1	0	0,7	0,13	2,0
1	1	1	1,1	0,4	3,5
1	2	0	1,1	0,4	3,5
1	2	1	1,5	0,5	3,8
1	3	0	1,6	0,5	3,8
2	0	0	0,9	0,15	3,5
2	0	1	1,4	0,4	3,5
2	1	0	1,5	0,4	3,8
2	1	1	2,0	0,5	3,8
2	2	0	2,1	0,5	4,0
2	2	1	2,8	0,9	9,4
2	3	0	2,9	0,9	9,4
3	0	0	2	0,5	9,4
3	0	1	4	0,9	10,4
3	0	2	6	1,6	18,1
3	1	0	4	0,9	18,1
3	1	1	7	1,7	19,9
3	1	2	12	3	36
3	2	0	9	1,8	36
3	2	1	15	3	38
3	2	2	21	3	40
3	2	3	29	9	99
3	3	0	20	4	99
3	3	1	50	9	198
3	3	2	110	20	400
3	3	3	>110		

RICERCA DI *SALMONELLA* SPP.

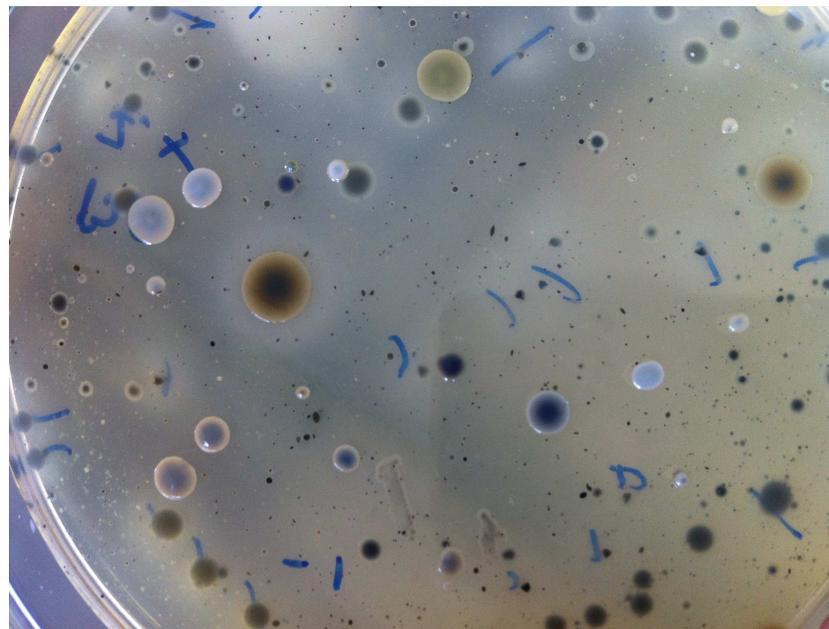
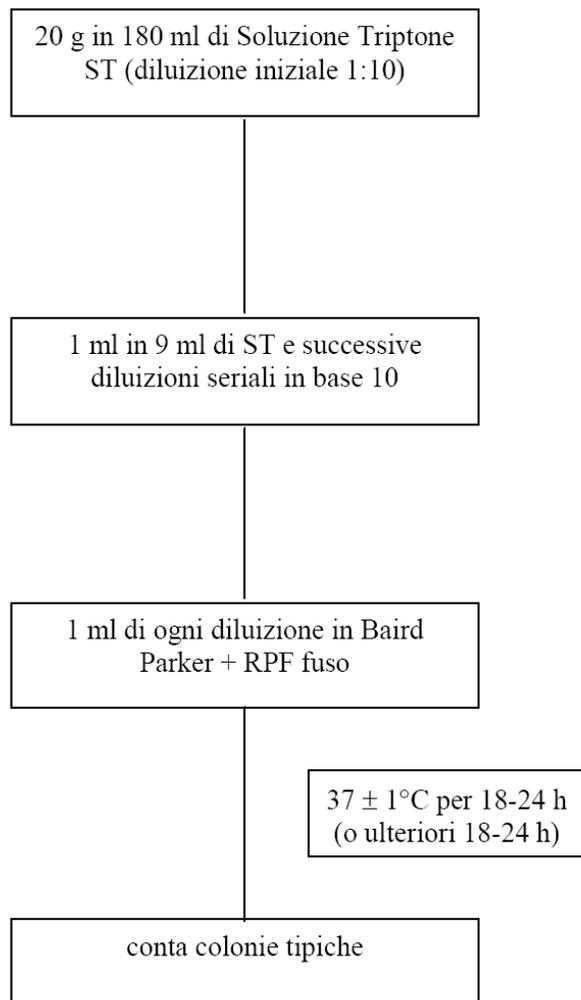


ISO 6579:2002/ Cor 1:2004(E)



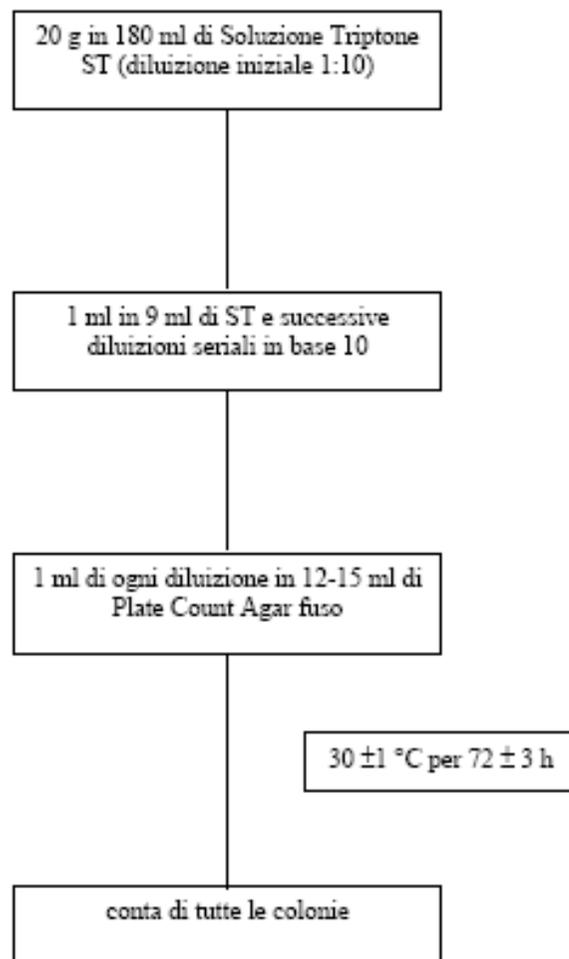
STAFILOCOCCHI COAGULASI POSITIVI

ISO 6888-2:1999/Amd 1 2003



MICROORGANISMI MESOFILI A 30°C

ISO 4833:2003



DELVOTEST

- **4.4.1 Preparazione della soluzione standard di penicillina 0,004 µg/ml (0,0067 U.I.)**
- Prelevare 4 ml della soluzione madre di penicillina 0.125 U.I./ml e aggiungere 71 ml di latte UHT
- parzialmente scremato, purchè sicuramente esente da sostanze inibenti (testare con il Delvotest).
Si ottiene una soluzione contenente 0.0067 U.I./ml, corrispondenti a 0,004 µg/ml.
- Conservare in frigorifero per 24 ore

DELVOTEST

- **4.4.2 Esecuzione Delvotest**

- • Staccare dalla piastra del Delvotest un numero di pozzetti pari a quello dei campioni da analizzare più due. Tagliare, lungo la linea di rottura, la copertura in alluminio e staccare i blocchi con una forbice o un coltello. Fare attenzione a non danneggiare il foglio che copre la parte della piastra non utilizzata perché ciò potrebbe causare l'asciugatura dei pozzetti
- • Rimuovere il foglio protettivo in alluminio dai blocchi da utilizzare per l'analisi.
- • Contrassegnare i pozzetti con un pennarello indelebile.
- • Trasferire 0,1 ml di ogni campione di latte da analizzare nei pozzetti secondo l'ordine riportato, cambiando puntale ad ogni campione.
- Introdurre negli ultimi due pozzetti 0,1 ml di latte vaccino (controllo negativo) e 0,1 ml di soluzione standard di penicillina (controllo positivo) contrassegnando le due cellette rispettivamente con il segno – e il segno +.
- • Collocare attentamente il nastro sigillante sopra i blocchi, verificando che siano ben chiusi.
- • Mettere i blocchi chiusi a incubare a $64^{\circ} \pm 1^{\circ}C$.
- • Dopo 2 h e 15' di incubazione si possono cominciare a leggere i risultati. Il risultato va letto giudicando la colorazione sul fondo del pozzetto. Quando il colore del campione di controllo negativo è diventato giallo, si possono leggere i risultati di tutti gli altri pozzetti (campioni). Se la colorazione del controllo negativo non cambia diventando gialla, si devono rimettere i pozzetti in incubazione fino a quando non si ottiene una colorazione gialla del controllo negativo (si consiglia di ripetere le letture ad intervalli di 5 minuti).

DELVOTEST

- **4.4.3 Interpretazione dei risultati**

- • La **colorazione gialla** del terreno di coltura nel pozzetto del campione in analisi indica l'**assenza** di sostanze antibatteriche in una concentrazione uguale o superiore alle soglie di rilevamento (le spore di *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* sviluppandosi in assenza di sostanze inibenti fanno virare al giallo l'indicatore bromocresol-porpora).
- • La **colorazione viola o giallo/viola** del terreno di coltura indica la **presenza** di sostanze antibatteriche.
- • I pozzetti di controllo + e - devono risultare rispettivamente di colore viola e giallo. La colorazione viola del controllo negativo indica l'assenza di spore vive nel Kit diagnostico. In questo caso ripetere l'analisi con un'altro kit diagnostico. La colorazione gialla del campione standard positivo indica che la soluzione di penicillina non è più efficace. In questo caso preparare una nuova soluzione standard di penicillina e ripetere l'analisi.
- • I campioni risultati positivi vengono analizzati nuovamente per conferma con il metodo Delvotest dopo inattivazione del latte.

DELVOTEST

- **4.4.4 Conferma**
- • Devono essere testati tutti i campioni risultati positivi .
- • Trasferire 5 ml del campione in esame in una provetta da 15 ml, ripetere l'operazione con una seconda provetta.
- • Contrassegnare con un pennarello indelebile la prima provetta con il numero di identificazione del campione in esame e la seconda provetta con il numero di identificazione del campione e la scritta P.
- • Riscaldare le due provette per 10' in bagnomaria a $80^{\circ} \pm 3^{\circ} \text{C}$.
- • Aggiungere 0,1 ml di soluzione standard di penicillinasi (Penase) alla provetta contrassegnata con la P e agitare con il vortex per 30 secondi.
- • Eseguire il Delvotest come descritto sopra.

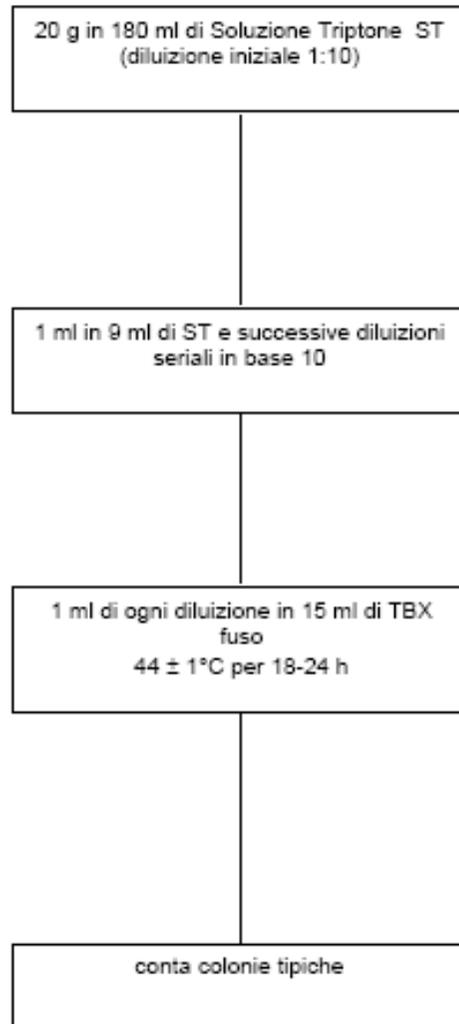
- **4.4.5 Interpretazione ed espressione dei risultati**

- a) Se il pozzetto contenente il latte bollito non trattato con Penase è risultato negativo (color giallo), vuol dire che la positività riscontrata nel latte tal quale era dovuta a presenza di sostanze inibenti aspecifiche denaturate con la bollitura.
- **Esito:** campione negativo.

- b) Se il pozzetto contenente il latte bollito non trattato con Penase è risultato positivo (color viola), vuol dire che la positività riscontrata nel latte tal quale non era dovuta a presenza di sostanze inibenti aspecifiche (che altrimenti sarebbero state denaturate con la bollitura) e quindi si conferma la positività del campione.
- **Esito:** campione positivo.

**ESCHERICHIA COLI β -GLUCURONIDASI POSITIVI A 44°C
(CONTA IN PIASTRA)**

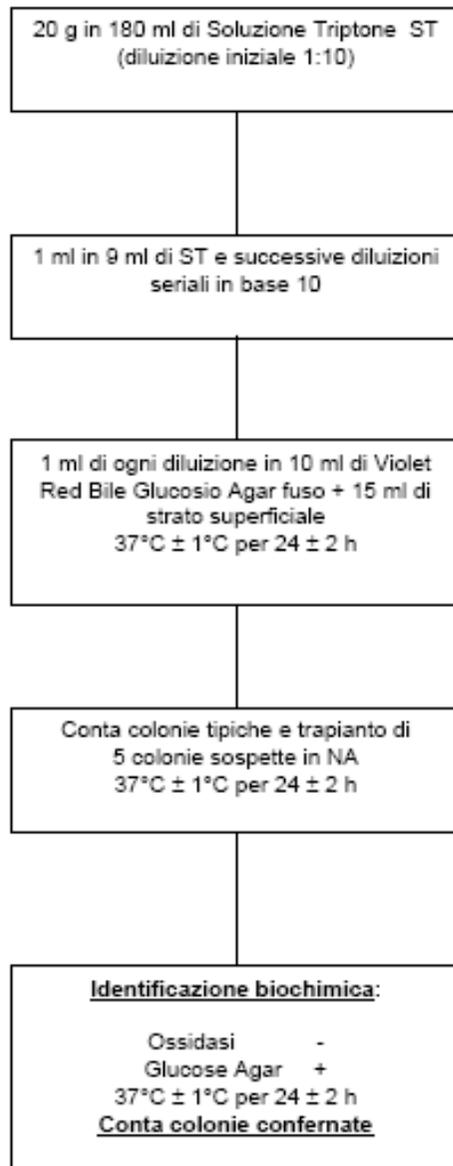
ISO 16649-2:2001



L'analisi è basata sulla conta delle colonie in piastra con terreno contenente un cromogeno per l'evidenziazione dell'attività β - glucuronidasi secondo la tecnica dell'agar germi dopo incubazione aerobia a 44°C per 18-24 h.

NUMERAZIONE DI ENTEROBATTERI A 37°C

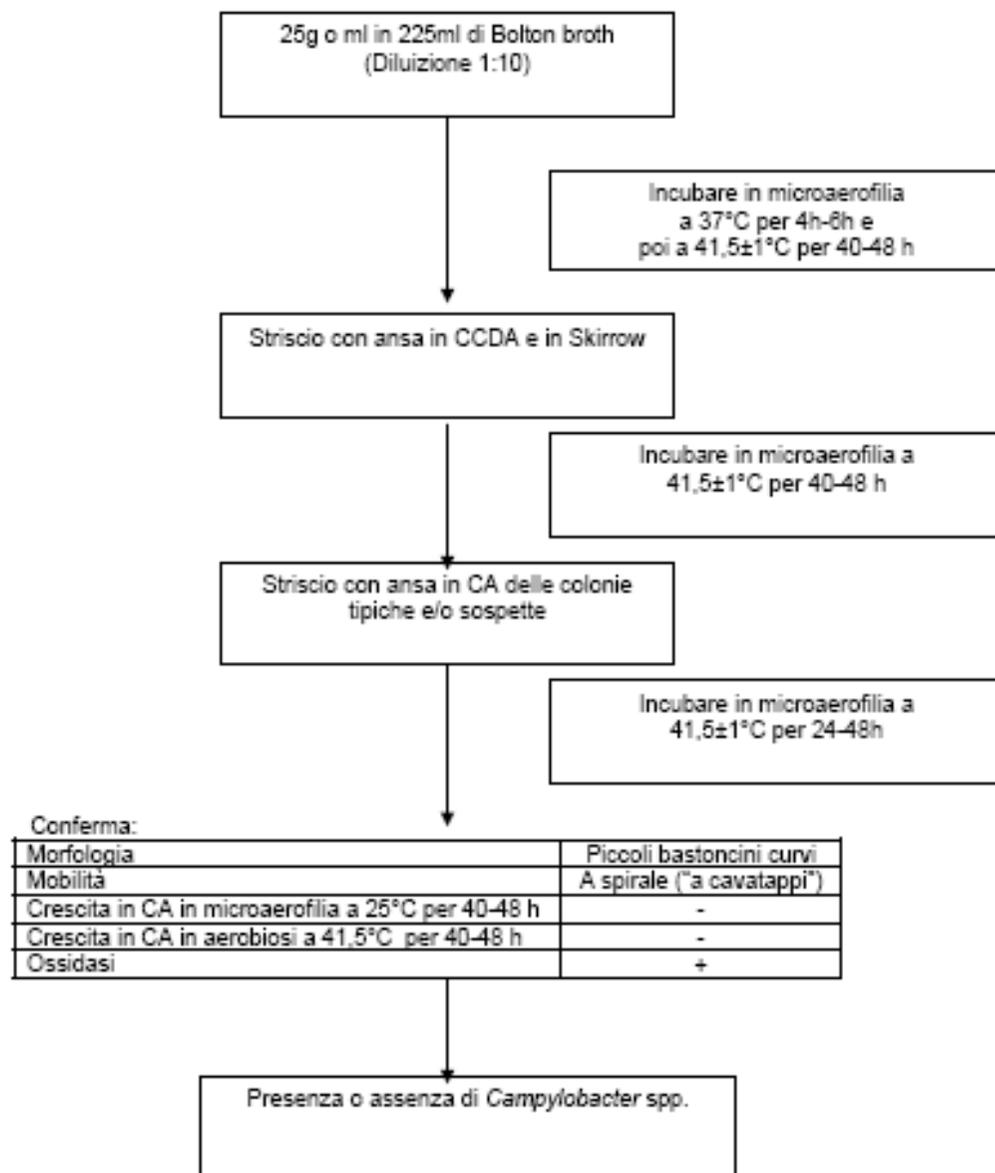
ISO 21528-2:2004



L'analisi è basata sulla conta delle colonie in piastra di Violet Red Bile Glucosio Agar secondo la tecnica dell'agar germi dopo incubazione aerobia a 37°C per 24 h e sulla successiva conferma biochimica.

RICERCA CAMPYLOBACTER spp

ISO 10272-1:2006



***Campylobacter* spp.:**

microorganismi formanti colonie caratteristiche su terreni selettivi solidi quando vengono incubati in microaerofilia a 41,5°C, ma non a 25°C, e che possiedono mobilità, caratteristiche biochimiche e di crescita come descritte quando i test sono condotti in accordo con la presente procedura di prova.

Note: le specie più frequentemente isolate sono *C. jejuni* e *C. coli*. Sono comunque state descritte altre specie (*C. lari*, *upsaliensis* e altre ancora).