

MBS-HACCP&ACQUE EASY TEST
SISTEMA BASE

MANUALE D'USO

INDICE

| | | |
|--------|---|----|
| 1.1 | Introduzione | 3 |
| 1.2 | Modalità di utilizzo | 5 |
| 1.2.1 | <i>Campione solido</i> | 6 |
| 1.2.2 | <i>Campione liquido</i> | 9 |
| 1.2.3 | <i>Analisi di una superficie</i> | 12 |
| 1.2.4 | <i>Note sulle analisi microbiologiche</i> | 15 |
| 1.3 | Scale cromatiche e tabelle di correlazione | 17 |
| 1.3.1 | <i>Conta Batterica Totale – CBT-A01</i> | 17 |
| 1.3.2 | <i>Rilevazione Coliformi – CO-A02</i> | 17 |
| 1.3.3 | <i>Rilevazione E. coli – CO-A02</i> | 18 |
| 1.3.4 | <i>Rilevazione Enterobacteriaceae – EB-A04</i> | 18 |
| 1.3.5 | <i>Rilevazione Staphylococcus aureus – SP-A04</i> | 18 |
| 1.3.6 | <i>Rilevazione Pseudomonas aeruginosa – PAO-A05</i> | 19 |
| 1.3.7 | <i>Rilevazione Salmonella spp. – SL-A06</i> | 19 |
| 1.3.8 | <i>Rilevazione Listeria spp. – LY-A07</i> | 19 |
| 1.3.9 | <i>Rilevazione Enterococcus faecalis – EF-A09</i> | 20 |
| 1.3.10 | <i>Rilevazione Saccharomyces spp. – SC-A11</i> | 20 |

1.1 Introduzione

Gentile Utente, grazie per avere acquistato **MBS-HACCP&ACQUE EASY TEST**, un innovativo sistema colorimetrico rapido per eseguire analisi microbiologiche sugli alimenti e sulle acque, sviluppato in collaborazione con l'Università degli Studi Roma Tre.

Il metodo di analisi si basa sull'osservazione del cambiamento di colore della sospensione formatasi nel flacone di analisi in cui viene inserito il campione da analizzare: la sospensione cambia colore (vira) se sono presenti microrganismi; maggiore è la quantità di microrganismi, più rapido è il cambiamento di colore.

Le caratteristiche principali di **MBS-HACCP&Acque Easy Test** sono:

- **Rapidità:** tempi di analisi, dall'allestimento al raggiungimento dei risultati, da 2 a 5 volte inferiori rispetto ai metodi tradizionali;
- **Semplicità d'uso:** chiunque e ovunque può effettuare l'analisi senza bisogno di altri reagenti o strumentazioni particolari;
- **Sensibilità:** si può rilevare anche un solo microrganismo presente nel campione;
- **Selettività:** si possono rilevare differenti microrganismi di altre specie microbiche fino al limite sperimentale del 99,999%;
- **Economicità:** il costo di ogni singola analisi risulta essere da 2 a 4 volte più economico rispetto ai metodi tradizionali.

Il metodo MBS è stato validato secondo la norma ISO 16140:2003 "Microbiology of food and animal feeding stuffs – Protocol for the validation of alternative methods".

Sono disponibili i reagenti per la ricerca selettiva dei seguenti microrganismi:

1. Conta batterica totale – CBT-A01;
2. Coliformi (Totali ed *E. coli*) – CO-A02;
3. Enterobatteri (*Enterobacteriaceae*) – EB-A03;
4. Stafilococco (*Staphylococcus aureus*) – SP-A04;
5. Pseudomonas (*Pseudomonas aeruginosa*) – PAO-A05;
6. Salmonella (*Salmonella* spp.) – SL-A06;
7. Listeria (*Listeria* spp.) – LY-A07;
8. Enterococco (*Enterococcus faecalis*) – EF-A09;
9. Lieviti (*Saccharomyces* spp.) – SC-A11.

1.2 Modalità di utilizzo

Il kit viene fornito in una confezione contenente tutto il materiale per effettuare l'analisi: il flacone di analisi (flacone) ed una fiala di acqua demineralizzata (fiala di acqua).

Per effettuare l'analisi è necessario disporre anche di un incubatore termostatico da batteriologia programmabile a 30°, 37° o 44 °C.

Prima di manipolare le fiale e di procedere con l'analisi si raccomanda un'accurata pulizia delle mani.

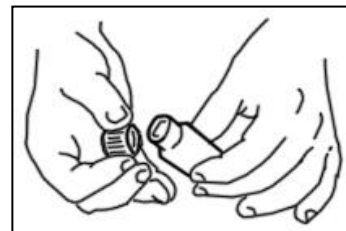
Inoltre, **si consiglia di attenersi alla normativa vigente per le procedure di campionamento e di seguire le indicazioni riportate nei paragrafi seguenti.**

Lo svolgimento dell'analisi può essere schematizzato in 5 fasi: apertura, inserimento del campione, inizio analisi, fine analisi, sterilizzazione; inoltre, si differenzia per tipologia di campione da analizzare: **campione solido, campione liquido o analisi di superficie.**

1.2.1 Campione solido

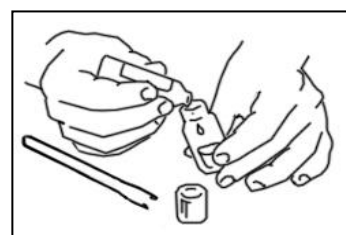
Fase 1. Apertura

- Aprire il flacone avendo cura di capovolgere il tappo in modo che la superficie interna non venga a contatto con la superficie di appoggio per evitare contaminazioni.



Fase 2. Inizio dell'analisi

- Aprire la fiala di acqua fornita con il flacone, ed inserirne l'intero contenuto nel flacone stesso.
- Agitare capovolgendo il flacone più volte fino al completo dissolvimento del reagente (circa venti secondi).

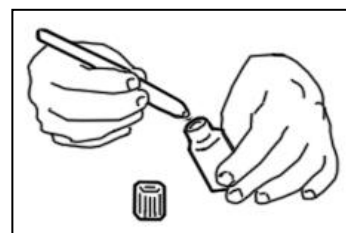


Nota Bene: nel flacone si sviluppano 2 fasi liquide: quella superiore costituita da olio di colore bianco trasparente (non varia durante l'analisi), quella inferiore costituita dall'acqua della fiala con cui viene disciolto il reagente. Il colore della seconda fase si svilupperà pienamente entro 15-20 minuti dal dissolvimento del reagente ed è quello che deve essere osservato per la valutazione del risultato dell'analisi.

Nota Bene: nel caso di utilizzo del dispositivo MBS-MR per la determinazione della Carica Batterica Totale (CBT), attendere almeno 10 minuti dallo scioglimento del reagente, prima di inserire il campione da analizzare nel flacone.

Fase 3. Inserimento del campione

- Prelevare una piccola aliquota dell'alimento (circa il volume di un chicco di mais, corrispondente approssimativamente ad 1 g) con un utensile in uso durante la lavorazione dell'alimento stesso ed inserirla nel flacone (in alternativa si possono utilizzare pinzette)



sterili).

- Eventualmente compilare la Scheda Controllo Qualità.
- Inserire il flacone nell'incubatore termostatico.

Nota Bene: la dimensione o il peso esatto del campione da esaminare non hanno importanza. Tuttavia il campione deve essere ridotto in frammenti molto piccoli (della dimensione massima di 2-3 mm). La variabilità statistica dell'esame microbiologico di campioni alimentari è tale che nessun metodo di analisi (compreso il metodo di riferimento) ha una variabilità inferiore a $\pm 60-70$ %. Quindi, l'analisi ha lo stesso valore intrinseco se invece di 1 g si inseriscono nel flacone 2 g o 0.5 g. Questa variabilità è dovuta sia al metodo di analisi, sia al campione, sia agli stessi microrganismi poiché questi spesso crescono raggruppati in colonie e quindi non sono dispersi uniformemente nel mezzo.

Nota Bene: per l'inserimento del campione nel flacone, si consiglia di utilizzare un utensile in uso durante la lavorazione dell'alimento stesso in quanto, così facendo, si potranno evidenziare eventuali contaminazioni dell'alimento dovute a cause estrinseche.

Fase 4. Controllo dell'esito dell'analisi

- È sufficiente controllare il colore del flacone una sola volta, trascorso un determinato numero di ore a seconda del tipo di analisi. Tale numero di ore dipende, oltre che dal tipo di analisi, anche dal limite operativo di carica batterica accettabile nel campione (nelle Schede Controllo Qualità, sono riportati, **a titolo puramente indicativo**, i limiti generalmente accettati per la tipologia di campione in esame, desunti dalla normativa vigente).
- Confrontare il colore del flacone con le tabelle di correlazione riportate nel paragrafo 1.3 o nella Scheda Controllo Qualità. L'esito dell'analisi è da considerarsi positivo se, e solo se, si verifica il **viraggio completo** del contenuto del flacone.
- Nel caso in cui si sia iniziata la compilazione della Scheda Controllo Qualità,

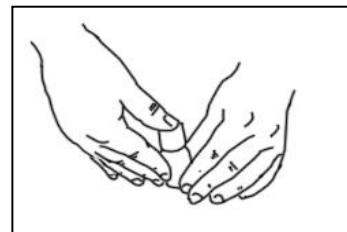
completarla con il risultato dell'analisi.

- Nel caso di analisi per rilevazione di *E. coli* e **solo in caso di risultato positivo** (flacone di colore giallo intenso), è possibile effettuare una prova di conferma della presenza di *E. coli*, aggiungendo 3-5 gocce di reattivo di Kovacs al flacone al termine dell'analisi, **prima della sterilizzazione**. Se è presente *E. coli*, entro pochi secondi si avrà lo sviluppo di un piccolo strato superficiale liquido di colore rosso porpora.

Nota Bene: per effettuare il test di conferma di *E. coli*, aprire con molta cura il flacone, evitando di contaminarsi con il liquido in esso contenuto; infatti se il colore è virato, nel flacone è presente un elevato numero di batteri. È preferibile quindi utilizzare guanti monouso, anche non sterili, per l'operazione di apertura del flacone. Nel caso si venga in contatto con il liquido, lavare immediatamente ed accuratamente la zona interessata con sapone antibatterico o con un sapone normale e poi con un disinfettante.

Fase 5. Sterilizzazione post-analisi

- Senza aprire il flacone, premere con forza la parte superiore del tappo ed agitarlo per circa 10 secondi. L'aggiunta dello sterilizzante può causare un cambiamento di colore. Dopo 5-10 minuti il contenuto del flacone risulta completamente sterilizzato.

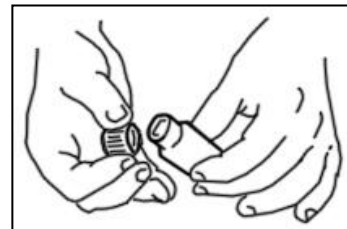


Nota Bene: con la sterilizzazione i microrganismi vengono distrutti, i reagenti vengono resi inerti ed il flacone può essere smaltito in sicurezza come "Rifiuto Sanitario non pericoloso" ai sensi del D.M. del 25/5/89. Detti rifiuti, dopo sterilizzazione, possono essere smaltiti con le stesse modalità previste per i farmaci scaduti.

1.2.2 Campione liquido

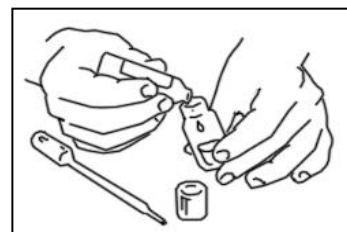
Fase 1. Apertura

- Aprire il flacone avendo cura di capovolgere il tappo in modo che la superficie interna non venga a contatto con la superficie di appoggio per evitare contaminazioni.



Fase 2. Inizio dell'analisi

- Aprire la fiala di acqua fornita con il flacone, ed inserirne l'intero contenuto nel flacone stesso.
- Agitare capovolgendo il flacone più volte fino al completo dissolvimento del reagente (circa venti secondi).

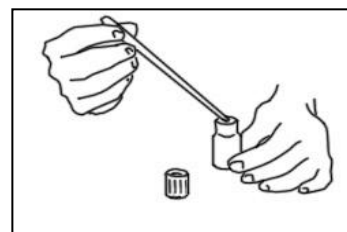


Nota Bene: nel flacone si sviluppano 2 fasi liquide: quella superiore costituita da olio di colore bianco trasparente (non varia durante l'analisi), quella inferiore costituita dall'acqua della fiala con cui viene disciolto il reagente. Il colore della seconda fase si svilupperà pienamente entro 15-20 minuti dal dissolvimento del reagente ed è quello che deve essere osservato per la valutazione del risultato dell'analisi.

Nota Bene: nel caso di utilizzo del dispositivo MBS-MR per la determinazione della Carica Batterica Totale (CBT), attendere almeno 10 minuti dallo scioglimento del reagente, prima di inserire il campione da analizzare nel flacone.

Fase 3. Inserimento del campione

- Prelevare con una pipetta pasteur sterile monouso (fornita su richiesta) un'aliquota del liquido da esaminare ed introdurre circa 1 ml del liquido nel flacone.
- Eventualmente compilare la Scheda Controllo Qualità.



- Inserire il flacone nell'incubatore termostatico.

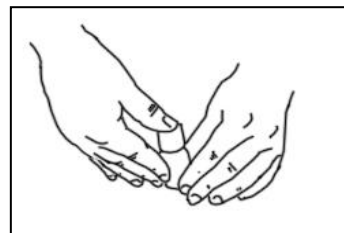
Fase 4. Controllo dell'esito dell'analisi

- È sufficiente controllare il colore del flacone una sola volta, trascorso un determinato numero di ore a seconda del tipo di analisi. Tale numero di ore dipende, oltre che dal tipo di analisi, anche dal limite operativo di carica batterica accettabile nel campione (nelle Schede Controllo Qualità sono riportati, **a titolo puramente indicativo**, i limiti generalmente accettati per la tipologia di campione in esame, desunti dalla normativa vigente).
- Confrontare il colore del flacone con le tabelle di correlazione riportate nel paragrafo 1.3 o nella Scheda Controllo Qualità. L'esito dell'analisi è da considerarsi positivo se, e solo se, si verifica il **viraggio completo** del contenuto del flacone.
- Nel caso in cui si sia iniziata la compilazione della Scheda Controllo Qualità, completarla con il risultato dell'analisi.
- Nel caso di analisi per rilevazione di *E. coli* e **solo in caso di risultato positivo** (flacone di colore giallo intenso), è possibile effettuare una prova di conferma della presenza di *E. coli*, addizionando 3-5 gocce di reattivo di Kovacs al flacone al termine dell'analisi, **prima della sterilizzazione**. Se è presente *E. coli*, entro pochi secondi si avrà lo sviluppo di un piccolo strato superficiale liquido di colore rosso porpora.

Nota Bene: per effettuare il test di conferma di E. coli, aprire con molta cura il flacone, evitando di contaminarsi con il liquido in essa contenuto; infatti se il colore è virato, nel flacone è presente un elevato numero di batteri. È preferibile quindi utilizzare quanti monouso, anche non sterili, per l'operazione di apertura del flacone. Nel caso si venga in contatto con il liquido, lavare immediatamente ed accuratamente la zona interessata con sapone antibatterico o con un sapone normale e poi con un disinfettante.

Fase 5. Sterilizzazione post-analisi

- Senza aprire il flacone, premere con forza la parte superiore del tappo ed agitarla per circa 10 secondi. L'aggiunta dello sterilizzante può causare un cambiamento di colore. Dopo 5-10 minuti il contenuto del flacone risulta completamente sterilizzato.

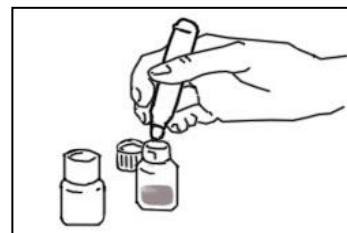
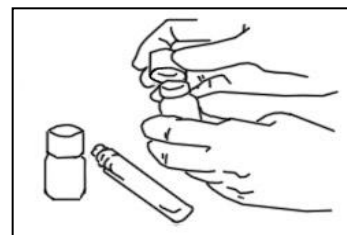


Nota Bene: con la sterilizzazione i microrganismi vengono distrutti, i reagenti vengono resi inerti ed il flacone può essere smaltito in sicurezza come “Rifiuto Sanitario non pericoloso” ai sensi del D.M. del 25/5/89. Detti rifiuti, dopo sterilizzazione, possono essere smaltiti con le stesse modalità previste per i farmaci scaduti.

1.2.3 Analisi di una superficie

Fase 1. Preparazione del flacone di analisi

- Aprire la fiala di acqua fornita con il flacone di analisi, ed inserirne l'intero contenuto nel flacone stesso.
- Agitare capovolgendo il flacone più volte fino al completo dissolvimento del reagente (circa venti secondi).



Nota Bene: nel flacone si sviluppano 2 fasi liquide: quella superiore costituita da olio di colore bianco trasparente (non varia durante l'analisi), quella inferiore costituita dall'acqua della fiala con cui viene disciolto il reagente. Il colore della seconda fase si svilupperà pienamente entro 15-20 minuti dal dissolvimento del reagente ed è quello che deve essere osservato per la valutazione del risultato dell'analisi.

Nota Bene: nel caso di utilizzo del dispositivo MBS-MR per la determinazione della Carica Batterica Totale (CBT) attendere almeno 10 minuti dallo scioglimento del reagente, prima di inserire il campione da analizzare nel flacone.

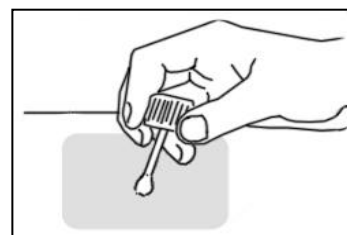
Nota Bene: dopo il dissolvimento del reagente, si consiglia di svitare il tappo del flacone di analisi per facilitare le operazioni successive.

Fase 2. Campionamento

- Aprire il flacone contenente il tampone (TM-A14) e la soluzione neutralizzante.
- Strofinare il tampone sulla superficie cercando di coprire un'area quadrata di circa 10 cm di lato.



Nota Bene: non reinserire il tampone nel flacone contenente la soluzione neutralizzante.



Fase 3. Inizio dell'analisi

- Aprire il flacone di analisi precedentemente preparato.
- Inserire il tampone.
- Eventualmente compilare la Scheda Controllo Qualità.
- Inserire il flacone nell'incubatore termostatico.



Nota Bene: con il tappo del flacone di analisi è possibile richiudere il flacone contenente la soluzione neutralizzante prima di smaltirlo.

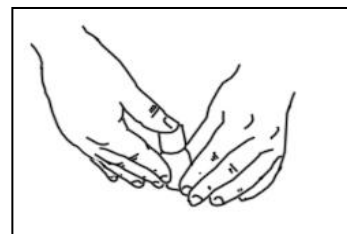
Fase 4. Controllo dell'esito dell'analisi

- È sufficiente controllare il colore del flacone una sola volta, trascorso un determinato numero di ore a seconda del tipo di analisi. Tale numero di ore dipende, oltre che dal tipo di analisi, anche dal limite operativo di carica batterica accettabile nel campione (nelle Schede Controllo Qualità sono riportati, **a titolo puramente indicativo**, i limiti generalmente accettati per la tipologia di campione in esame, desunti dalla normativa vigente).
- Confrontare il colore del flacone con le tabelle di correlazione riportate nel paragrafo 1.3 o nella Scheda Controllo Qualità. L'esito dell'analisi è da considerarsi positivo se, e solo se, si verifica il **viraggio completo** del contenuto del flacone.
- Nel caso in cui si sia iniziata la compilazione della Scheda Controllo Qualità, completarla con il risultato dell'analisi.
- Nel caso di analisi per rilevazione di *E. coli* e **solo in caso di risultato positivo** (flacone di colore giallo intenso), è possibile effettuare una prova di conferma della presenza di *E. coli*, aggiungendo 3-5 gocce di reattivo di Kovacs al flacone al termine dell'analisi, **prima della sterilizzazione**. Se è presente *E. coli*, entro pochi secondi si avrà lo sviluppo di un piccolo strato superficiale liquido di colore rosso porpora.

Nota Bene: per effettuare il test di conferma di *E. coli*, aprire con molta cura il **flacone**, evitando di contaminarsi con il liquido in esso contenuto; infatti se il colore è virato, nel flacone è presente un elevato numero di batteri. È preferibile quindi utilizzare guanti monouso, anche non sterili, per l'operazione di apertura del flacone. Nel caso si venga in contatto con il liquido, lavare immediatamente ed accuratamente la zona interessata con sapone antibatterico o con un sapone normale e poi con un disinfettante.

Fase 5. Sterilizzazione post-analisi

- Senza aprire il flacone, premere con forza la parte superiore del tappo ed agitarlo per circa 10 secondi. L'aggiunta dello sterilizzante può causare un cambiamento di colore. Dopo 5-10 minuti il contenuto del flacone risulta completamente sterilizzato.



Nota Bene: con la sterilizzazione i microrganismi vengono distrutti, i reagenti vengono resi inerti e il flacone può essere smaltito in sicurezza come “Rifiuto Sanitario non pericoloso” ai sensi del D.M. del 25/5/89. Detti rifiuti, dopo sterilizzazione, possono essere smaltiti con le stesse modalità previste per i farmaci scaduti.

1.2.4 Note sulle analisi microbiologiche

Alimenti con caratteristiche chimico-fisiche particolari (es: basso peso specifico, forte acidità/alcalinità, elevata viscosità, marcata colorazione...) potrebbero interferire con l'analisi in modalità caso-specifiche.

In queste circostanze, si consiglia di diluire 1g o 1ml di campione in 10ml di solvente sterile idoneo (acqua peptonata, acqua distillata, soluzione fisiologica...) e di analizzarne 1ml; si noti che non è necessario rispettare esattamente le quantità indicate, poiché la variabilità statistica dell'analisi microbiologica è circa del 60–70%.

Nel caso in cui, dopo aver effettuato la diluizione, il campione non si scioglia completamente o si formino dei "fiocchi", è necessario prelevarne 1g e procedere secondo le modalità descritte precedentemente.

Al termine dell'analisi, è possibile risalire all'eventuale contaminazione iniziale tenendo conto della diluizione effettuata, così come previsto anche dai metodi di riferimento (ISO/DIS 7954).

- Esempio 1

Alimento: Insalata

Tipologia di analisi: *Escherichia coli* (CO-A02)

Fattore diluizione: 10; diluire circa 1g di alimento in 10ml di solvente

Risultato analisi: 1.436E02 CFU/g

Contaminazione effettiva: **1.436E03 CFU/g**, ovvero 1.436E02 x **10** (fattore di diluizione).

Prodotti contenenti additivi alimentari, come conservanti, regolatori di acidità, antiossidanti, emulsionanti, etc., potrebbero influenzare lo svolgimento dell'analisi. Si dovrà, pertanto, cercare la soluzione più opportuna per ogni singolo caso, oppure si dovrà effettuare la diluizione del campione, come sopra riportato.

- Esempio 2

Alimento: Maionese

Tipologia di analisi: Carica Batterica Totale a 30°C (CBT-A01)

Fattore diluizione: 10; diluire circa 1g di alimento in 10ml di solvente







Risultato analisi: 2.583E04 CFU/g

Contaminazione effettiva: **2.583E05 CFU/g**, ovvero $2.584E04 \times 10$ (fattore di diluizione).

1.3 Scale cromatiche e tabelle di correlazione







Come previsto dalle normative vigenti, **la concentrazione dei batteri viene espressa in CFU/g o CFU/ml o CFU/cm² (Colony Forming Units - Unità Formanti Colonie)**, se si tratta rispettivamente di analisi di campioni solidi, liquidi o di superfici. Per analogia con i risultati espressi con le analisi tradizionali, anche se il metodo MBS si basa sulla rilevazione del metabolismo batterico e non sulla replicazione dei microrganismi. Le CFU sono (approssimativamente) corrispondenti alle singole cellule batteriche.

1.3.1 Conta Batterica Totale – CBT-A01

| Rilevazione di microrganismi mesofili aerobi o microaerofili in grado di crescere su terreni nutritivi completi. | | | | | | | | | | | |
|--|--|--------------------------|-------------------------------|-----------------|---------------------|-----------------|-------|---|--|--|--|
| CODICE ANALISI - NOME ANALISI | | | METODO ANALITICO | | | | | TEMPERATURA DI INCUBAZIONE | | | |
| CBT-A01 - Conta Batterica Totale | | | MBS - MICRO BIOLOGICAL SURVEY | | | | | 30 °C | | | |
| COLORE INIZIO ANALISI | | TEMPO MASSIMO DI ANALISI | | | COLORE FINE ANALISI | | | POSITIVO | | NEGATIVO | |
|  |  | 24 ORE | | | | | |  |  |  |  |
| TEMPO DI VIRAGGIO [ore.minuti] | < 3.30 | 3.30 | 6.30 | 9.30 | 12.30 | 16.00 | 19.00 | 22.00 | > 24.00 | EQUAZIONE (x = tempo in ore) | |
| CONTAMINAZIONE [CFU/g o ml] | > 10 ⁸ | 10 ⁶ | 10 ⁵ | 10 ⁴ | 10 ³ | 10 ² | 10 | 1 | 0 | [CFU/g o CFU/ml] = 10 ^(7.1 - 0.32 x) | |
| CONTAMINAZIONE [CFU/cm ²] | > 10 ⁴ | 10 ⁴ | 10 ³ | 10 ² | 10 | 1 | 0 | | | [CFU/cm ²] = { 10 ^(7.1 - 0.32 x) } / 100 | |

Tab. 1. Tabella di correlazione per Conta Batterica Totale

1.3.2 Rilevazione Coliformi – CO-A02

| Batteri a forma di bastoncini, aerobi facoltativi, gram-negativi, non sporigeni, citocromossidasi-negativi, che fermentano lattosio con produzione di acidi e sono resistenti ai sali biliari e ad altri agenti tensioattivi. | | | | | | | | | | | |
|---|---|--------------------------|-------------------------------|-----------------|---------------------|-----------------|-------|--|---|---|---|
| CODICE ANALISI - NOME ANALISI | | | METODO ANALITICO | | | | | TEMPERATURA DI INCUBAZIONE | | | |
| CO-A02 - Coliformi | | | MBS - MICRO BIOLOGICAL SURVEY | | | | | 37 °C | | | |
| COLORE INIZIO ANALISI | | TEMPO MASSIMO DI ANALISI | | | COLORE FINE ANALISI | | | POSITIVO | | NEGATIVO | |
|  |  | 24 ORE | | | | | |  |  |  |  |
| TEMPO DI VIRAGGIO [ore.minuti] | < 3.30 | 3.30 | 6.30 | 9.30 | 12.30 | 16.00 | 19.00 | 22.00 | > 24.00 | EQUAZIONE (x = tempo in ore) | |
| CONTAMINAZIONE [CFU/g o ml] | > 10 ⁸ | 10 ⁵ | 10 ⁵ | 10 ⁴ | 10 ³ | 10 ² | 10 | 1 | 0 | [CFU/g o CFU/ml] = 10 ^(7.1 - 0.32 x) | |
| CONTAMINAZIONE [CFU/cm ²] | > 10 ⁴ | 10 ⁴ | 10 ³ | 10 ² | 10 | 1 | 0 | | | [CFU/cm ²] = { 10 ^(7.1 - 0.32 x) } / 100 | |

Tab. 2. Tabella di correlazione per Coliformi

1.3.3 Rilevazione *E. coli* – CO-A02

| Batteri a forma di bastoncelli, aerobi facoltativi, Gram-negativi, non sporigeni, citocromossidasi-negativi; fermentano lattosio con produzione di acidi e sono resistenti ai sali biliari e ad altri agenti tensioattivi; a 44°C producono indolo dal triptofano. | | | | | | | | | | | | |
|--|-------------------|--------------------------|-------------------------------|---------------------|-----------------|-----------------|-------|----------------------------|----------|---|----------|--|
| CODICE ANALISI - NOME ANALISI | | | METODO ANALITICO | | | | | TEMPERATURA DI INCUBAZIONE | | | | |
| CO-A02 - <i>E. coli</i> | | | MBS - MICRO BIOLOGICAL SURVEY | | | | | 44 °C | | | | |
| COLORE INIZIO ANALISI | | TEMPO MASSIMO DI ANALISI | | COLORE FINE ANALISI | | | | | POSITIVO | | NEGATIVO | |
| | | 30 ORE | | | | | | | | | | |
| TEMPO DI VIRAGGIO [ore.minuti] | < 2.00 | 2.00 | 5.30 | 9.30 | 13.00 | 18.00 | 22.00 | 26.00 | > 30.00 | EQUAZIONE (x = tempo in ore) | | |
| CONTAMINAZIONE [CFU/g o ml] | > 10 ⁵ | 10 ⁵ | 10 ⁵ | 10 ⁴ | 10 ³ | 10 ² | 10 | 1 | 0 | [CFU/g o CFU/ml] = 10 ^(6.3 - 0.24 x) | | |
| CONTAMINAZIONE [CFU/cm ²] | > 10 ⁴ | 10 ⁴ | 10 ³ | 10 ² | 10 | 1 | 0 | | | [CFU/cm ²] = { 10 ^(6.3 - 0.24 x) } / 100 | | |

Tab. 3. Tabella di correlazione per *E. coli*

1.3.4 Rilevazione Enterobacteriaceae – EB-A04

| Batteri Gram-negativi, aerobi-anaerobi facoltativi, asporigeni, ossidasi negativi; fermentano glucosio e lattosio con produzione di gas; riducono i nitrati e negativi ai test dell'ossidasi. | | | | | | | | | | | | |
|---|-------------------|--------------------------|-------------------------------|---------------------|-----------------|-----------------|-------|----------------------------|----------|---|----------|--|
| CODICE ANALISI - NOME ANALISI | | | METODO ANALITICO | | | | | TEMPERATURA DI INCUBAZIONE | | | | |
| EB-A03 - Enterobacteriaceae | | | MBS - MICRO BIOLOGICAL SURVEY | | | | | 37 °C | | | | |
| COLORE INIZIO ANALISI | | TEMPO MASSIMO DI ANALISI | | COLORE FINE ANALISI | | | | | POSITIVO | | NEGATIVO | |
| | | 24 ORE | | | | | | | | | | |
| TEMPO DI VIRAGGIO [ore.minuti] | < 4.30 | 4.30 | 7.30 | 10.00 | 13.00 | 16.00 | 19.00 | 22.00 | > 24.00 | EQUAZIONE (x = tempo in ore) | | |
| CONTAMINAZIONE [CFU/g o ml o 100cm ²] | > 10 ⁵ | 10 ⁵ | 10 ⁵ | 10 ⁴ | 10 ³ | 10 ² | 10 | 1 | 0 | [CFU/g o CFU/ml] = 10 ^(7.5 - 0.34 x) | | |
| CONTAMINAZIONE [CFU/cm ²] | > 10 ⁴ | 10 ⁴ | 10 ³ | 10 ² | 10 | 1 | 0 | | | [CFU/cm ²] = { 10 ^(7.5 - 0.34 x) } / 100 | | |







Tab. 4. Tabella di correlazione per Enterobacteriaceae

1.3.5 Rilevazione *Staphylococcus aureus* – SP-A04

| Cocchi Gram-positivi, coagulasi positivi, catalasi positivi, immobili, non sporigeni, anaerobi facoltativi, fermentanti il mannitolo ed osmotolleranti. | | | | | | | | | | | | |
|---|-------------------|--------------------------|-------------------------------|---------------------|-----------------|-----------------|-------|----------------------------|----------|--|----------|--|
| CODICE ANALISI - NOME ANALISI | | | METODO ANALITICO | | | | | TEMPERATURA DI INCUBAZIONE | | | | |
| SP-A04 - <i>Staphylococcus aureus</i> | | | MBS - MICRO BIOLOGICAL SURVEY | | | | | 37 °C | | | | |
| COLORE INIZIO ANALISI | | TEMPO MASSIMO DI ANALISI | | COLORE FINE ANALISI | | | | | POSITIVO | | NEGATIVO | |
| | | 48 ORE | | | | | | | | | | |
| TEMPO DI VIRAGGIO [ore.minuti] | < 7.30 | 7.30 | 11.00 | 20.00 | 29.30 | 36.00 | 43.30 | 46.00 | > 48.00 | EQUAZIONE (x = tempo in ore) | | |
| CONTAMINAZIONE [CFU/g o ml] | > 10 ⁵ | 10 ⁵ | 10 ⁵ | 10 ⁴ | 10 ³ | 10 ² | 10 | 1 | 0 | [CFU/g o CFU/ml] = 10 ^(6.51 - 0.13 x) | | |
| CONTAMINAZIONE [CFU/cm ²] | > 10 ⁴ | 10 ⁴ | 10 ³ | 10 ² | 10 | 1 | 0 | | | [CFU/cm ²] = { 10 ^(6.51 - 0.13 x) } / 100 | | |







Tab. 5. Tabella di correlazione per *Staphylococcus aureus*

1.3.6 Rilevazione *Pseudomonas aeruginosa* – PAO-A05

| Batteri mobili, asporigeni, a forma di bastoncini, Gram-negativi; aerobi/anaerobi facoltativi, citocromossidasi e catalasi positivi; producono piocianina | | | | | | | | | | | |
|---|---|--------------------------|-------------------------------|---------------------|-----------------|-----------------|----------------------------|--|---|---|---|
| CODICE ANALISI - NOME ANALISI | | | METODO ANALITICO | | | | TEMPERATURA DI INCUBAZIONE | | | | |
| PAO-A05 - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | | | MBS - MICRO BIOLOGICAL SURVEY | | | | 37 °C | | | | |
| COLORE INIZIO ANALISI | | TEMPO MASSIMO DI ANALISI | | COLORE FINE ANALISI | | | | POSITIVO | | NEGATIVO | |
|  |  | 24 ORE | | | | | |  |  |  |  |
| TEMPO DI VIRAGGIO [ore.minuti] | < 4.30 | 4.30 | 7.30 | 10.00 | 13.00 | 16.00 | 19.00 | 22.00 | > 24.00 | EQUAZIONE (x = tempo in ore) | |
| CONTAMINAZIONE [CFU/g o ml] | > 10 ⁶ | 10 ⁶ | 10 ⁵ | 10 ⁴ | 10 ³ | 10 ² | 10 | 1 | 0 | [CFU/g o CFU/ml] = 10 ^(7.5 - 0.34 x) | |
| CONTAMINAZIONE [CFU/cm ²] | > 10 ⁴ | 10 ⁴ | 10 ³ | 10 ² | 10 | 1 | 0 | | | [CFU/cm ²] = { 10 ^(7.5 - 0.34 x) } / 100 | |







Tab. 6. Tabella di correlazione per *Pseudomonas aeruginosa*

1.3.7 Rilevazione *Salmonella* spp. – SL-A06

| Enterobatteri Gram-negativi, aerobi-anaerobi facoltativi, in grado di fermentare il mannitolo. Catalasi positivi, producono acido solfidrico, riducono i nitrati in nitriti. | | | | | | | | | | | |
|--|---|--------------------------|-------------------------------|---------------------|-----------------|-----------------|----------------------------|--|---|---|---|
| CODICE ANALISI - NOME ANALISI | | | METODO ANALITICO | | | | TEMPERATURA DI INCUBAZIONE | | | | |
| SL-A06 - <i>Salmonella</i> spp. | | | MBS - MICRO BIOLOGICAL SURVEY | | | | 37 °C | | | | |
| COLORE INIZIO ANALISI | | TEMPO MASSIMO DI ANALISI | | COLORE FINE ANALISI | | | | POSITIVO | | NEGATIVO | |
|  |  | 32 ORE | | | | | |  |  |  |  |
| TEMPO DI VIRAGGIO [ore.minuti] | < 4.00 | < 4.00 | 4.00 | 8.30 | 13.30 | 18.00 | 23.00 | 28.00 | > 32.00 | EQUAZIONE (x = tempo in ore) | |
| CONTAMINAZIONE [CFU/g o ml] | > 10 ⁶ | 10 ⁶ | 10 ⁵ | 10 ⁴ | 10 ³ | 10 ² | 10 | 1 | 0 | [CFU/g o CFU/ml] = 10 ^(5.8 - 0.21 x) | |
| CONTAMINAZIONE [CFU/cm ²] | > 10 ⁴ | 10 ⁴ | 10 ³ | 10 ² | 10 | 1 | 0 | | | [CFU/cm ²] = { 10 ^(5.8 - 0.21 x) } / 100 | |








Tab. 7. Tabella di correlazione per *Salmonella* spp.

1.3.8 Rilevazione *Listeria* spp. – LY-A07

| Batteri Gram-positivi, non sporigeni, anaerobi facoltativi, resistenti a molti antibiotici. Crescono a pH compresi tra 5 e 9 ed in presenza di NaCl al 10%. Catalasi positivi, ossidasi negativi; non idrolizzano urea, gelatina e caseina. Non riducono nitrati, non producono indolo ed idrogeno solforato. | | | | | | | | | | | |
|---|---|--------------------------|-------------------------------|---------------------|-----------------|-----------------|----------------------------|--|---|---|---|
| CODICE ANALISI - NOME ANALISI | | | METODO ANALITICO | | | | TEMPERATURA DI INCUBAZIONE | | | | |
| LY-A07 - <i>Listeria</i> spp. | | | MBS - MICRO BIOLOGICAL SURVEY | | | | 37 °C | | | | |
| COLORE INIZIO ANALISI | | TEMPO MASSIMO DI ANALISI | | COLORE FINE ANALISI | | | | POSITIVO | | NEGATIVO | |
|  |  | 36 ORE | | | | | |  |  |  |  |
| TEMPO DI VIRAGGIO [ore.minuti] | < 7.30 | 7.30 | 12.00 | 16.30 | 20.30 | 25.00 | 29.00 | 33.00 | > 36.00 | EQUAZIONE (x = tempo in ore) | |
| CONTAMINAZIONE [CFU/g o ml] | > 10 ⁶ | 10 ⁶ | 10 ⁵ | 10 ⁴ | 10 ³ | 10 ² | 10 | 1 | 0 | [CFU/g o CFU/ml] = 10 ^(7.7 - 0.23 x) | |
| CONTAMINAZIONE [CFU/cm ²] | > 10 ⁴ | 10 ⁴ | 10 ³ | 10 ² | 10 | 1 | 0 | | | [CFU/cm ²] = { 10 ^(7.7 - 0.23 x) } / 100 | |








Tab. 8. Tabella di correlazione per *Listeria* spp.

1.3.9 Rilevazione *Enterococcus faecalis* – EF-A09

| | | | | | | | | | | | |
|--|---|---|-------------------------------|-----------------|---------------------|-----------------|-------|--|---|---|---|
| Cocchi Gram-positivi, immobili, anaerobi facoltativi, non emolitici, catalasi negativi; fermentano glucosio senza produzione di gas ed idrolizzano l'esculina. | | | | | | | | | | | |
| CODICE ANALISI - NOME ANALISI | | | METODO ANALITICO | | | | | TEMPERATURA DI INCUBAZIONE | | | |
| EF-A09 - <i>Enterococcus faecalis</i> | | | MBS - MICRO BIOLOGICAL SURVEY | | | | | 37 °C | | | |
| COLORE INIZIO ANALISI | | | TEMPO MASSIMO DI ANALISI | | COLORE FINE ANALISI | | | POSITIVO | | NEGATIVO | |
|  |  |  | 24 ORE | | | | |  |  |  |  |
| TEMPO DI VIRAGGIO [ore.minuti] | < 4.30 | 4.30 | 7.30 | 10.00 | 13.00 | 16.00 | 19.00 | 22.00 | > 24.00 | EQUAZIONE (x = tempo in ore) | |
| CONTAMINAZIONE [CFU/g o ml] | > 10 ⁵ | 10 ⁵ | 10 ⁵ | 10 ⁴ | 10 ³ | 10 ² | 10 | 1 | 0 | [CFU/g o CFU/ml] = 10 ^(7.5 - 0.34 x) | |
| CONTAMINAZIONE [CFU/cm ²] | > 10 ⁴ | 10 ⁴ | 10 ³ | 10 ² | 10 | 1 | 0 | | | [CFU/cm ²] = { 10 ^(7.5 - 0.34 x) } / 100 | |

Tab. 9. Tabella di correlazione per *Enterococcus faecalis*

1.3.10 Rilevazione *Saccharomyces* spp. – SC-A11

| | | | | | | | | | | | |
|--|---|---|-------------------------------|-----------------|---------------------|-----------------|-------|--|---|---|---|
| Organismi eucarioti unicellulari, eterotrofi, aerobi/anaerobi facoltativi; crescono in substrati ricchi di carbonio; resistenti ad alte concentrazioni di antibiotici e sulfamidici. | | | | | | | | | | | |
| CODICE ANALISI - NOME ANALISI | | | METODO ANALITICO | | | | | TEMPERATURA DI INCUBAZIONE | | | |
| SC-A11 - <i>Saccharomyces</i> spp. | | | MBS - MICRO BIOLOGICAL SURVEY | | | | | 30 °C | | | |
| COLORE INIZIO ANALISI | | | TEMPO MASSIMO DI ANALISI | | COLORE FINE ANALISI | | | POSITIVO | | NEGATIVO | |
|  |  |  | 60 ORE | | | | |  |  |  |  |
| TEMPO DI VIRAGGIO [ore.minuti] | < 6.00 | 6.00 | 13.00 | 20.30 | 27.30 | 35.00 | 42.00 | 50.00 | > 60.00 | EQUAZIONE (x = tempo in ore) | |
| CONTAMINAZIONE [CFU/g o ml] | > 10 ⁵ | 10 ⁵ | 10 ⁵ | 10 ⁴ | 10 ³ | 10 ² | 10 | 1 | 0 | [CFU/g o CFU/ml] = 10 ^(6.8 - 0.14 x) | |
| CONTAMINAZIONE [CFU/cm ²] | > 10 ⁴ | 10 ⁴ | 10 ³ | 10 ² | 10 | 1 | 0 | | | [CFU/cm ²] = { 10 ^(6.8 - 0.14 x) } / 100 | |

Tab. 10. Tabella di correlazione per *Saccharomyces* spp.