

Corso ecm: Valutazione critica dei risultati delle analisi microbiologiche sugli alimenti : interazione tra laboratori di analisi, produttori e autorità sanitaria

I conteggi microbici



Dr Roberto Fischetti - Istituto Zooprofilattico
Lazio e Toscana – Sezione di Pisa



Gli studi di cui all'articolo 3, paragrafo 2, comprendono:

— consultazione della letteratura scientifica disponibile e dei dati di ricerca sulle caratteristiche di sviluppo e di sopravvivenza dei microrganismi in questione.

E' fondamentale raccogliere i dati storici delle analisi per disporre di valori reali di partenza

Il programma di gestione campioni-analisi dovrebbe permettere una semplice ed accurata raccolta dei dati.

Per uno **studio completo, dei positivi** in particolare, è inevitabile un'ulteriore raccolta dati su supporto elettronico in modo da poter effettuare vari tipi di statistiche: prevalenza, **quantità patogeni**, aw, pH ecc.

[pH-Aw.xls](#)

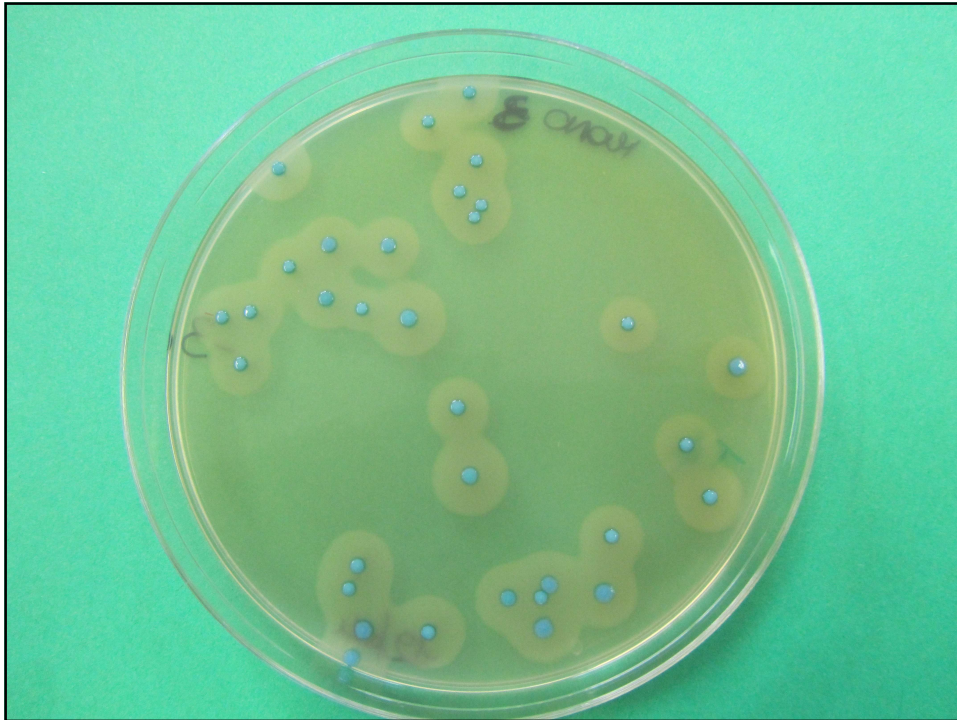
[totali9AGE.xls](#)

METODI CONTEGGIO BATTERICO

Conteggio in piastra : *conteggio diretto: ad ogni colonia corrisponde la conta di 1 germe*

Conteggio Most Probable Number (MPN) : *è un esame colturale , ma è valutato indirettamente esaminando statisticamente un certo numero di brodocolture*

VANTAGGI MPN : maggiore sensibilità, quindi maggiore capacità di rilevare numeri molto bassi di batteri



Conteggio in piastra

Nel challenge test si usa il conteggio in piastra per contare il germe in oggetto.

CONSEGUENZA:

Siamo costretti a contaminare con quantità iniziali generalmente superiori o molto superiori a quelle normalmente presenti (germi patogeni)

Metodo MPN

Consiste nel valutare i risultati di prove microbiologiche eseguite in un numero variabile di provette o altri contenitori.

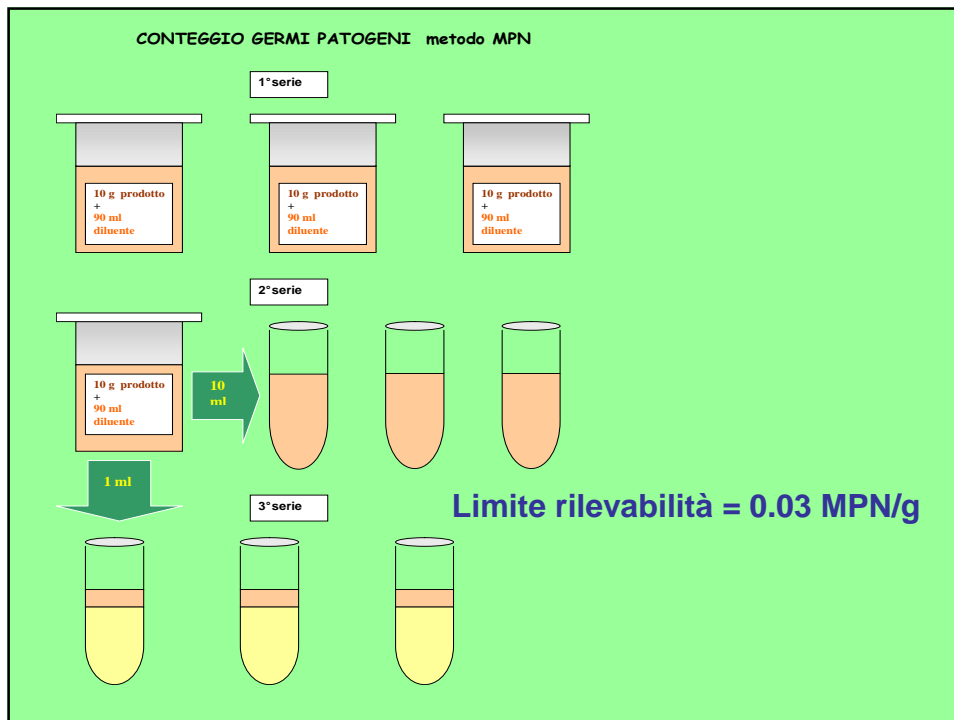
Norme ISO prevedono un numero uguale di provette per ogni diluizione e forniscono una tabella di lettura con limiti di confidenza

E' possibile eseguire il metodo con un numero di provette differente per diluizione o anche ad una sola diluizione. Si deve però preparare un foglio di calcolo per ottenere i valori dei conteggi

Principio del metodo MPN

In ogni contenitore (o provetta)
viene eseguita una ricerca qualitativa
(presenza-assenza)

La combinazione degli esiti positivi e negativi
fornisce, attraverso un calcolo statistico, il
conteggio espresso in mpn



Conteggio MPN con Unità Campionarie

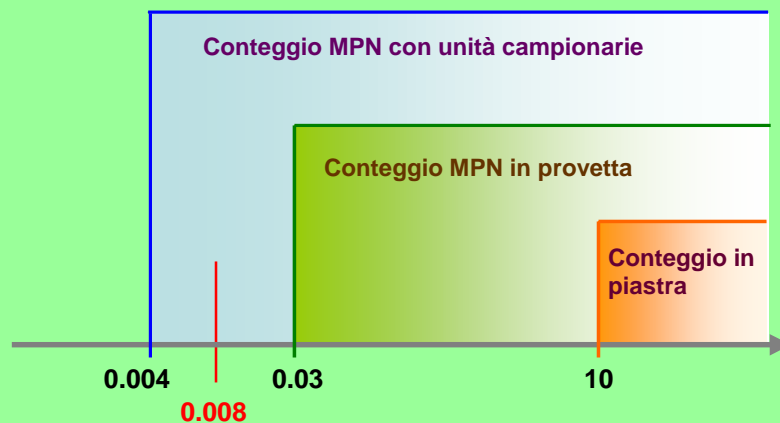
Stiamo valutando la possibilità di conteggiare i germi utilizzando le unità campionarie positive e considerando l'insieme delle prove qualitative effettuate sul campione come un conteggio

	N n° totale prove(tte)	P n° prove(tte) positive	V g o ml prelevati	MPN	inf	sup	LN MP
10 UC	10	1	10	0.011	0.001	0.075	-6.2
	10	2	10	0.022	0.006	0.089	-5.7
	10	3	10	0.036	0.011	0.111	-4.4
	10	4	10	0.051	0.019	0.137	-3.9
	10	5	10	0.069	0.028	0.169	-3.4
	10	6	10	0.092	0.040	0.210	-3.2
	10	7	10	0.120	0.055	0.264	-2.9
	10	8	10	0.161	0.074	0.347	-2.7
	10	9	10	0.230	0.103	0.516	-2.2
	10	10	10	Non valid	#VALORE!	#####	#####
5 UC	5	1	10	0.022	0.003	0.169	-5.7
	5	2	10	0.051	0.013	0.207	-4.4
	5	3	10	0.092	0.028	0.295	-3.9
	5	4	10	0.161	0.054	0.478	-2.9
	5	5	10	Non valid	#VALORE!	#####	#####
2 UC	2	1	10	0.069	0.009	0.512	-4.4
	2	2	10	Non valid	#VALORE!	#####	#####
10 UC	10	1	25	0.004	0.001	0.030	-7.4
	10	2	25	0.009	0.002	0.036	-6.2
	10	3	25	0.014	0.005	0.044	-5.7

MPN

Nelle predizioni si usa il limite di confidenza superiore

Limite di rilevabilità dei diversi metodi presentati di conteggio microbico – ALIMENTI PRONTI



R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	AA	AE
grammi per UC	n° UC positive	tot UC campio nate	n° UC positive = S	TOT grammi campio nati	Valori quantitati ve MPN ed UFC	SIGNIFICATIVIT A' patogeno per g rilevato	CONTEGGIO TEORICO			
							valore MPN	limite inf 95%	limite sup 95%	LN MF
			0	0		#VALORE!		#VALORE!	#VALORE!	#VALORE!
			0	0	<0.03	#VALORE!		#VALORE!	#VALORE!	#VALORE!
25	1	5	1	125	<0.03	<0.03	0.009	0.001	0.064	
25	1	5	1	125	0.036	0.036	0.009	0.001	0.064	
25	1	5	1	125	<0.03	<0.03	0.009	0.001	0.064	
25	1	5	1	125	<0.03	<0.03	0.009	0.001	0.064	
25	1	5	1	125	<0.03	<0.03	0.009	0.001	0.064	
			0	0	<0.03	#VALORE!		#VALORE!	#VALORE!	#VALORE!
			0	0	0.036	#VALORE!		#VALORE!	#VALORE!	#VALORE!
			0	0	<0.03	#VALORE!		#VALORE!	#VALORE!	#VALORE!
25	1	5	1	125	<0.03	<0.03	0.009	0.001	0.064	
25	5	5	5	125	2.4	#VALORE!	Non Valido	#VALORE!	#VALORE!	#VALORE!
25	5	5	5	125	0.074	#VALORE!	Non Valido	#VALORE!	#VALORE!	#VALORE!
10	4	5	4	50	0.92	0.92	0.161	0.054	0.478	
10	1	5	1	50	0.92	#VALORE!		#VALORE!	#VALORE!	#VALORE!
			0	0		0	0.022	0.003	0.159	