



- La ricerca 9 AGE: determinazione quantitativa di agenti patogeni negli alimenti: applicazione di metodiche, loro confronto e valutazione dei dati

La ricerca 9 AGE: motivazioni ed obiettivi



- Approccio risk-based → valutazione della presenza e severità di un eventuale rischio da germi patogeni per il consumatore
 - Identificazione del livello critico di contaminazione di un alimento
 - Fornire dati quantitativi per l'elaborazione di modelli di rischio per le filiere produttive
- ↓
- Sviluppo di metodi efficaci ed economici per la numerazione dei patogeni



La ricerca 9 AGE: motivazioni ed obiettivi

- **Analisi del rischio** → ricerca **QUANTITATIVA** del patogeno a seguito della positività (ricerca **QUALITATIVA**) del campione
- Metodo della **conta in piastra (ufc)** → già previsto dalla normativa vigente (es. Reg. 2073/2005 che prevede L. monocytogenes ISO 11290-2)
- Metodo **Most Probable Number (MPN)** → es. OM 7/12/1993
L. monocytogenes MPN



Procedura per conteggio di germi patogeni con metodo MPN in alimenti

- Solo alcuni patogeni sono ricercati con metodi quantitativi → S. aureus, B. cereus, Cl. Perfringens... → presenti generalmente a livelli elevati.
- I patogeni presenti in piccole quantità → metodi qualitativi (L. monocytogenes, Salmonella spp...).
- Numerazione dei patogeni **METODI QUANTITATIVI** → dato **PRECISO** del grado di contaminazione, fondamentale ai fini dell' **ANALISI DEL RISCHIO** basata sulla **MICROBIOLOGIA PREDITTIVA**.
- Numerazione dei patogeni **METODI QUALITATIVI** → dati più incerti

Descrizione del metodo MPN – introduzione

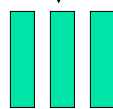
- Metodo di conteggio molto sensibile
- **PROBLEMA** → raggiungere il grado di sensibilità almeno = al metodo qualitativo più sensibile 0,04 ufc/g (1 germe/ 25g)
- **SOLUZIONE** → metodo MPN ricerca 9AGE = permette di alzare la sensibilità fino a 0,03MPN/g
- **Basi teoriche** → ogni contenitore (provetta) è una singola prova qualitativa sviluppata singolarmente fino all'esito finale. Dalla combinazione dei singoli risultati, attraverso la consultazione della tabella MPN, si ottiene il valore ricercato espresso come Most Probable Number (MPN)

Metodo MPN - descrizione

- Campione da analizzare → 40 g minimo, campione ben omogeneizzato, prelievo in più punti

PRIMA SERIE →  10 g di campione + 90 ml di terreno

SECONDA SERIE →  10 g di campione + 90 ml di terreno



ogni provetta contiene 10 ml della busta originale

TERZA SERIE →  1 ml della 2° serie + 9 ml di terreno

Le serie successive si preparano come al punto precedente, previa diluizione decimale.

Metodo MPN – interpretazione

- Limite massimo di conteggio con **tre diluizioni** → 11 MPN/g (3-3-2)
- Limite massimo di conteggio con **quattro diluizioni** → 110 MPN/g (3-3-2)
- Limite massimo di conteggio con **cinque diluizioni** → 1100 MPN/g (3-3-2)
-
- Alimenti campionati di routine → sufficienti le prime tre serie
- Tossinfezioni → arrivare almeno fino alla 7° serie (possibilità di alte conte)