

LA QUALITA' DEI TERRENI DI COLTURA

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DEL LAZIO E DELLA TOSCANA

Mariano Aleandri

6 settembre 2015

Dalla “Cucina” alla ISO 17025

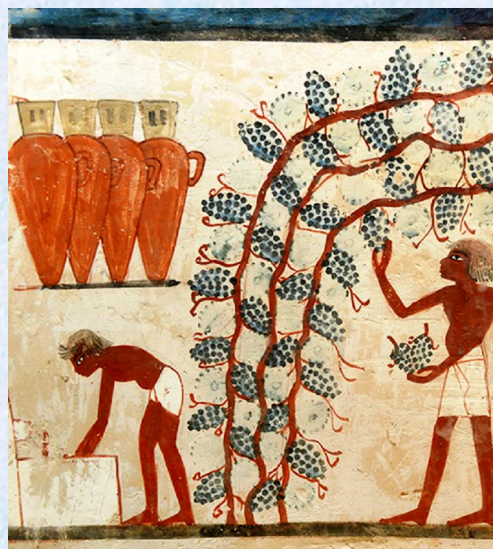
I batteri sono la forma di vita più diffusa sulla Terra

Sono la forma di vita più antica, esistendo da 4 miliardi di anni.

Nonostante questo, solo tre secoli fa ci siamo accorti della loro esistenza



L'uomo ha interagito con essi involontariamente a volte per difendersi, a volte per sfruttarne le capacità.



Tracce di questa simbiosi tra l'uomo e i lieviti sono state trovate in giare iraniane risalenti a 5000 anni prima di Cristo

Per evitare che i batteri patogeni si diffondessero nelle città, i romani nel 600 a.C. cominciarono a costruire le fogne.



Nel medioevo isolare gli ammalati nei *lazzaretti* era un modo per limitare il contagio.

Nei porti si attivò *la quarantena delle navi* per evitare il contagio dalla Peste.

Nel 1861 Louis Pasteur dimostrò la presenza di batteri osservando che un brodo bollito in un pallone dal collo ricurvo come un sifone rimaneva intatto anche per molto tempo:

Schema semplificato degli esperimenti di Louis Pasteur sulla generazione spontanea (1864)				
	condizioni		osservazioni	risultati
gruppo 1	 bollitura	collo integro 	 liquido limpido	non sono presenti microrganismi
gruppo 2	 bollitura	collo spezzato 	 liquido torbido	sono presenti microrganismi

l'aria era libera di passare, ma i batteri rimanevano bloccati nel sifone: bastava inclinare il pallone fino a portare il brodo a contatto con il sifone (dove si erano depositati i batteri) affinché questo si intorbidisse e andasse a male

Nel XVII era diffusa l'idea che le mosche si generassero spontaneamente dalla carne marcita e che il brodo si avariasse spontaneamente,

BIOGÊNESE

Os seres vivos se originam a partir de outros seres vivos (reprodução)

Francesco Redi (século XVII)

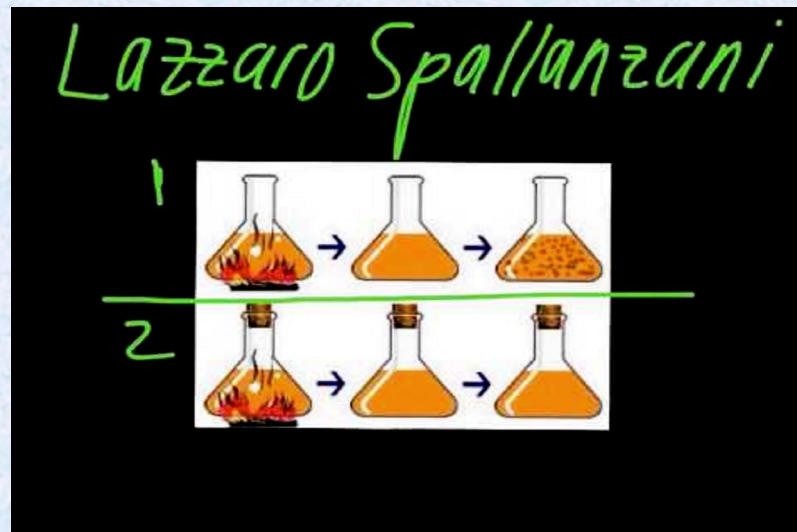
Aparecimento da larvas de moscas na carne em decomposição



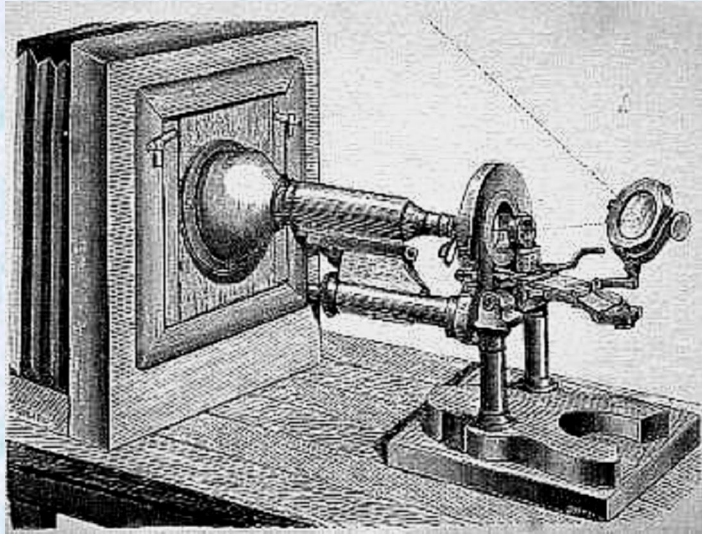
The diagram illustrates Francesco Redi's experiment on spontaneous generation. It features a portrait of Redi on the left. To the right, two sets of jars are shown, labeled ① and ②. Each set consists of two jars containing red meat. In set ①, the left jar is open and shows many small black dots (larvae) on the meat, while the right jar is covered with a cloth and shows no larvae. In set ②, the left jar is open and shows many small black dots, while the right jar is covered with a cloth and shows no larvae. This demonstrates that larvae only appear when the meat is exposed to the air.

finché Francesco Redi , non dimostrò che le larve delle mosche non nascevano se la carne rimaneva protetta.

Il secolo successivo un prete e biologo inglese (John Needham) e un biologo emiliano (Lazzaro Spallanzani) si disputarono nuovamente la conferma o la smentita della teoria della generazione spontanea.

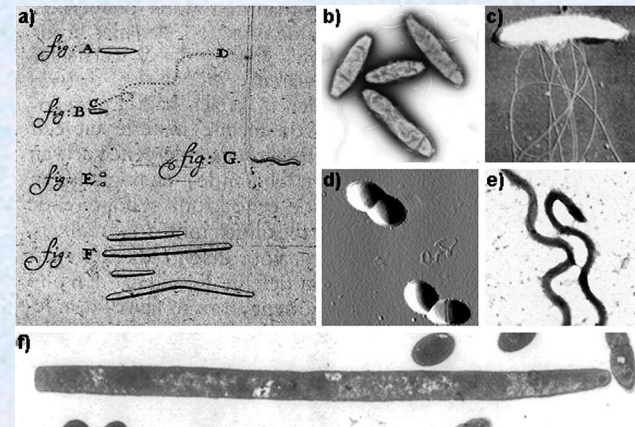


L'inglese con alcuni esperimenti su generi alimentari mostrò come la vita sembrasse generarsi da materia inanimata, ma subito dopo l'italiano fece notare che, se questi venivano coperti, non si generava un bel niente.



Il primo a osservare i batteri fu Antoni Van Leeuwenhoek, un mercante di tessuti olandese, che nel 1676, usando un suo rudimentale microscopio per osservare la trama dei tessuti,

vide diversi piccoli organismi che descrisse nelle sue lettere alla Royal Society



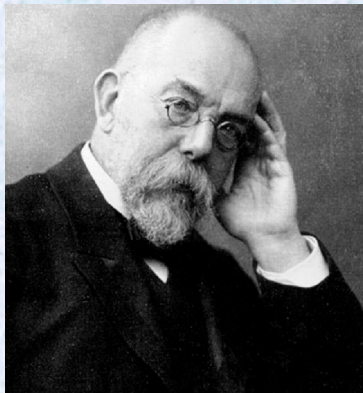
Bollire e togliere aria impedisce lo sviluppo di vita indesiderata, Nicolas Appert sfruttò queste conoscenze per la conservazione dei cibi in barattoli sigillati destinati alle truppe napoleoniche. Il metodo consisteva nell'inserire il cibo in un vasetto a chiusura ermetica, e bollire finché il contenuto non era ritenuto cotto.



In questo modo venivano uccisi tutti (o quasi) i batteri presenti, e la chiusura ermetica impediva che ne entrassero altri successivamente.

I primi studi sui microrganismi furono condotti utilizzando brodi ed estratti di carne e altre sostanze ricche di nutrienti da cui si ottenevano colture in cui non era possibile distinguere o separare i vari microrganismi presenti.

Intorno al 1880 *Robert Koch* cercò di isolare i batteri in coltura pura utilizzando come substrato delle fette di patate sterilizzate, ma con scarsi risultati.



Il successivo tentativo fu fatto su uno strato di nutriente liquido misto a gelatina. I batteri crescevano in modo soddisfacente ma la gelatina si scioglieva a temperature basse e veniva degradata da alcuni batteri. *Fanni Hesse*, moglie di uno degli assistenti di Koch propose come alternativa alla gelatina l'agar agar, sostanza che usava nella preparazione di budini e marmellate.

Nel 1883 Koch utilizzò per la prima volta un terreno contenente l'agar: questo resisteva a temperature più alte e non era digerito dai batteri; la coltura a base di agar è da allora quella più utilizzata e quella più idonea per ottenere colture pure.

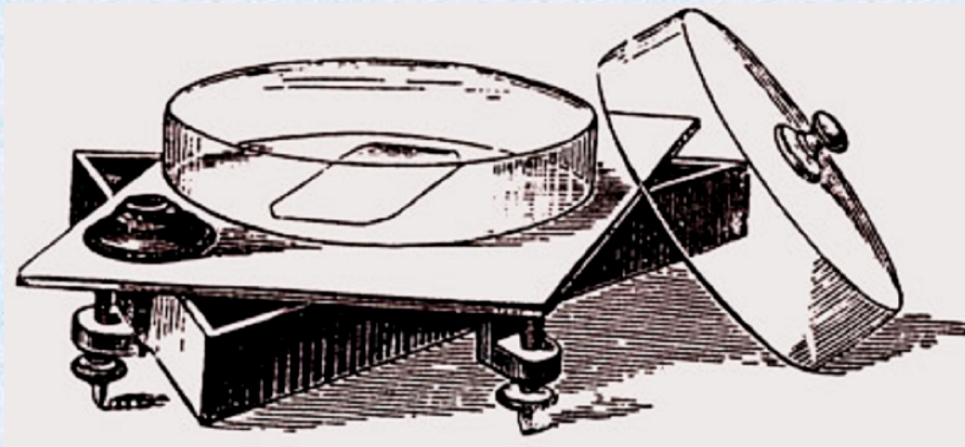
POSTULATI DI KOCH

- 1. il presunto agente responsabile della malattia deve essere presente in tutti i casi riscontrati di quella malattia.*
- 2. deve essere possibile isolare il microrganismo dall'ospite malato e farlo crescere in coltura pura.*
- 3. ogni volta che una coltura pura del microrganismo viene inoculata in un ospite sano (ma suscettibile alla malattia), si riproduce la malattia.*
- 4. il microrganismo deve poter essere isolato nuovamente dall'ospite infettato sperimentalmente.. Se positivi, abbiamo la prova della patogenicità del microrganismo e della sua influenza in un determinato quadro patologico.*

Nel 1884 **Fredrick Loeffler** aggiunse peptone e sale alla formulazione a base di estratto di carne di Koch.

Nel **1887 Julius Richard Petri** modificò la lastra di vetro piana introducendo un coperchio per tenere all'esterno gli agenti inquinanti.

A partire dal 1890 sono dunque stati sviluppati i terreni di coltura che conosciamo oggi , con piastre di **Petri** , **peptoni e agar**.



Nel 1888, **Martinus Beijerinck** sviluppò un substrato selettivo in grado di fissare l'azoto atmosferico limitando la crescita di sole colonie di batteri azotofissatori.

Nel 1905 MacConkey usa i sali biliari per selezionare batteri fecali: sali biliari coniugati sono meno inibitori e permettono la crescita di stafilococchi ed enterococchi , mentre sali più dissociati come desossicolato sono molto più selettivi consentendo solo la crescita di Enterobacteriaceae .

Nel 1912 **Churchman** mostra che i derivati di trifenilmetano come il violetto di genziana era inibitorio per i batteri **Gram positivi**.

Nel 1923 **Muller** sviluppa un substrato con iodio e tiosolfato di sodio che reagiscono insieme per formare tetrionato. Salmonella e Proteus possiedono l'enzima tetratonasi, così possono crescere in presenza di Tetrionato .

Fleming, Florey e Chain sono stati insigniti del premio Nobel nel 1945 per lo sviluppo della penicillina , ma è solo nel 1960 che gli antibiotici sono utilizzati in terreni di coltura come agenti selettivi.

Thayer e Martin realizzano una formulazione per l'isolamento di *Neisseria gonorrhoeae* e *N. meningitidis* , con una miscela di vancomicina , colistina e trimetoprim, uno dei primi esempi ben documentati di antibiotici utilizzati in un terreno selettivo.



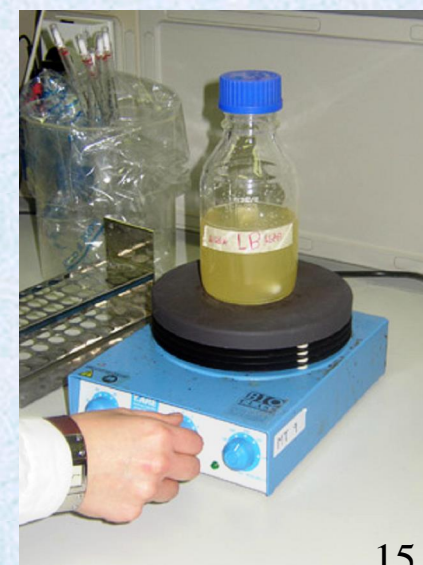


LA CUCINA OVVERO



IL SERVIZIO PREPARAZIONE TERRENI

NEGLI I.I.ZZ.SS.



Gli Istituti Zooprofilattici nascono nel periodo che va dai primi del 1900 fino agli anni 40 per volontà delle associazioni degli allevatori, delle amministrazioni provinciali e comunali, delle camere di commercio e dei veterinari al fine di istituire altre strutture laboratoristiche, oltre a quelle universitarie, per la diagnosi delle malattie infettive di interesse zootecnico.

1907 Lombardia
1908 Campania e Puglia
1913 Piemonte, Liguria
1914 Lazio, Toscana
1920/21 Sicilia
1921 Sardegna
1929 Venezie
1936 Umbria
1941 Abruzzo

Legge 23 giugno 1970, n. 503 , "Ordinamento degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali"

Gli Istituti svolgono attività di ricerca scientifica sperimentale veterinaria e di accertamento dello stato sanitario degli animali e di salubrità dei prodotti di origine animale e vegetali non trasformati.

L. 23 dicembre 1975, n. 745.

%Trasferimento di funzioni statali alle regioni e norme di principio per la ristrutturazione regionalizzata degli istituti zooprofilattici sperimentali.+



Le regioni affidano agli istituti zooprofilattici i seguenti compiti in via primaria:

a) la ricerca sperimentale sulla eziologia e patogenesi delle malattie infettive e diffuse degli animali;

b) il servizio diagnostico delle malattie trasmissibili degli animali e delle zoonosi;

c) il servizio di laboratorio per gli esami e le analisi di cui alla *legge 26 febbraio 1963, n. 441*, alla *legge 15 febbraio 1963, n. 281* e alla *legge 8 marzo 1968, n. 399*;

.

5. Produzione.

Gli istituti zooprofilattici sperimentali possono essere autorizzati dal Ministero della sanità ai sensi delle leggi vigenti alla produzione di sieri, dei vaccini, dei virus, delle anatossine, delle tossine diagnostiche, nonché di ogni altro prodotto occorrente nella lotta contro le malattie trasmissibili degli animali, con particolare riguardo a quelle localmente più diffuse.

6. Organizzazione.

Gli istituti zooprofilattici sperimentali sono organizzati in laboratori. In ogni caso devono essere istituiti un laboratorio per gli esami e le analisi dei campioni di carni e degli altri alimenti di origine animale, prelevati d'ufficio ai sensi della *legge 26 febbraio 1963, n. 441 ed al decreto del Presidente della Repubblica 11 agosto 1959, n. 750.*), e un laboratorio per l'analisi dei campioni di mangimi per l'alimentazione degli animali e degli integratori per mangimi, prelevati dagli organi del Ministero della sanità ai sensi della *legge 15 febbraio 1963, n. 281 (Disciplina della preparazione e del commercio dei mangimi)*

Si definiscono vaccini stabulogeni i medicinali veterinari ad azione immunizzante preparati con microrganismi patogeni e/o antigeni isolati da soggetti colpiti dalla forma infettiva dominante in un determinato allevamento e impiegati per trattare tale allevamento ed allevamenti dello stesso territorio.



Gli autovaccini sono invece medicinali veterinari ad azione immunizzante preparati con microrganismi patogeni e/o antigeni isolati dallo stesso animale da trattare. Entrambi, pertanto, sono dotati di elevatissima specificità. Possono essere prodotti esclusivamente dagli Istituti Zooprofilattici Sperimentali, previa rilascio di specifica autorizzazione da parte del Ministero della Sanità.

Il terreno di coltura è l'unico mezzo che abbiamo per evidenziare la presenza di contaminazione microbica.

Per avere risultati certi è fondamentale che questo sia efficace.



Decreto Legislativo 120 gennaio 1992

Attuazione delle direttive n. 88/320/CEE e n. 90/18/CEE in materia di ispezione e verifica della buona prassi di laboratorio.

Allegato II

3. PROGRAMMA PER ASSICURARE LA QUALITA'

A. Generalita'

1) Il centro di saggio deve avere un programma scritto per assicurare la qualita' dei dati e garantire che gli studi eseguiti siano conformi ai principi di buona pratica di laboratorio.



8. METODI OPERATIVI STANDARD

A. Generalita'

1) Un centro di saggio deve avere metodi operativi standard scritti approvati dalla direzione, i quali mirano a garantire la qualita' e l'integrita' dei dati ottenuti nel corso dello studio.

Decreto Legislativo 3 marzo 1993, n. 123

Attuazione della direttiva 89/397/CEE relativa al controllo ufficiale dei prodotti alimentari

Articolo 2. Ispezioni.

1. Le ispezioni riguardano í í ..
2. Le ispezioni possono essere integrate í í í :



3. Gli accertamenti analitici sono compiuti dai laboratori delle unità sanitarie locali, dai laboratori degli istituti zooprofilattici, dai laboratori dell'Ispettorato centrale repressioni frodi e da altri laboratori pubblici indicati dalle autorità competenti.

DECRETO LEGISLATIVO 26 maggio 1997, n.156

Attuazione della direttiva 93/99/CEE concernente misure supplementari in merito al controllo ufficiale dei prodotti alimentari.

Art. 3

(Requisiti dei laboratori)

1. I laboratori di cui all'articolo 2, comma 3, del decreto legislativo 3 marzo 1993, n. 123, che effettuano analisi ai fini del controllo ufficiale dei prodotti alimentari, devono essere conformi ai criteri generali per il funzionamento dei laboratori di prova stabiliti dalla norma europea EN 45001 e alle procedure standard previste nei punti 3 e 8 dell'allegato II al decreto legislativo 27 gennaio 1992, n. 120; la conformità è verificata con ispezioni casuali da parte del personale responsabile del controllo di qualità.

2. I laboratori di cui al comma 1 si adeguano a tali criteri entro il 1 novembre 1998.

EN 45001 Criteri generali per il funzionamento dei laboratori di prova.

Un laboratorio di prova per essere accreditato deve essere organizzato ed operare conformemente
alle prescrizioni della norma UNI CEI EN 45001

Accreditamento

(Di un laboratorio)

Riconoscimento formale della idoneità di un laboratorio ad effettuare specifiche prove o determinati tipi di prova.

Nota - Il termine "accredimento di un laboratorio" può includere sia il riconoscimento della idoneità tecnica e dell'imparzialità di un laboratorio di prova, sia il riconoscimento della sola idoneità tecnica.

L'accredimento viene solitamente conseguito a seguito di una valutazione soddisfacente del laboratorio ed è seguita da adeguate azioni di sorveglianza. (Di un organismo di certificazione)

Riconoscimento formale dell'idoneità di un ente di certificazione di prodotti, sistemi qualità e personale a svolgere la sua attività.



CONTROLLO QUALITÀ DEI TERRENI PRONTI

Ogni lotto di terreno preparato in laboratorio è sottoposto a test di controllo per assicurarne la qualità, cioè la capacità di garantire l'adeguata crescita del microrganismo target.

I test includono la verifica del pH, delle caratteristiche fisiche, test di sterilità, fertilità, selettività e stabilità.



Controllo qualità	Dettagli
Verifica del pH	Verifica che il valore di pH, determinato dopo il raffreddamento del terreno a 20-25°C, sia compreso nel range indicato in etichetta
Verifica delle caratteristiche fisiche	Quantità riempita e/o spessore dello strato di agar Colore/omogeneità Chiarezza/presenza di difetti ottici Stabilità/consistenza/umidità del gel
Sterilità	Un campione rappresentativo del lotto viene incubato alle condizioni e per il tempo appropriato. Potrebbe rendersi necessaria la sub cultura del terreno liquido per evidenziare una contaminazione non visibile. Non ci deve essere traccia di crescita batterica
Fertilità	Verifica dell'adattabilità del terreno a far crescere il microrganismo target. Il terreno viene inoculato con il ceppo puro di riferimento e, dopo opportuna incubazione, si valuta la crescita delle colonie
Selettività	Verifica dell'inibizione della crescita di un microrganismo opportunamente scelto. Il terreno viene inoculato con il ceppo puro di riferimento e, dopo opportuna incubazione, si valuta l'inibizione della crescita
Stabilità	Si tratta di eseguire periodicamente le procedure suddette sui terreni immagazzinati per verificare se le condizioni di stoccaggio sono ottimali

ISO/IEC 17025 "*Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura*

I laboratori di prova e di taratura che operano in conformità alla presente norma internazionale operano anche in conformità con la ISO 9001 o ISO 9002.



Le certificazioni ISO 9001 e ISO 9002 non dimostrano da sè la competenza del laboratorio a produrre dati e risultati tecnicamente validi.

UNI EN ISO 11133:2014

Microbiologia di alimenti, mangimi per animali e acqua
Preparazione, produzione, immagazzinamento
e prove di prestazione dei terreni colturali

3.3 Terminology of culture media

3.3.1 culture medium

formulazione di sostanze, in forma liquida, semi-solido o solido, che contengono costituenti naturali e / o sintetici destinati a sostenere la moltiplicazione, (con o senza l'inibizione di alcuni microrganismi), l'identificazione o la conservazione della vitalità dei microrganismi.



La ISO 11133:14 stabilisce le performance dei terreni da considerare prerequisito per le attività di microbiologia, pertanto, dovrebbero essere effettuate prove sufficienti per dimostrare:

- a) l'accettabilità di ogni lotto di terreno
- b) Che il terreno è adatto allo scopo, e
- c) Che il terreno produca risultati conformi.

La presente norma internazionale si applica ai produttori quali:

1. organismi commerciali che producono e / o distribuiscono pronti all'uso o semi-finiti o ricostituita terreni disidratati;
2. enti non commerciali che forniscono supporto a terzi;
3. ***laboratori di microbiologia che preparano terreni di coltura per il proprio uso.***

POS TER 003 PREPARAZIONE DI TERRENI CULTURALI E PROVE DI QUALITÀ

Il Servizio Produzione Terreni IZSLT, ha attivato una istruzione interna per effettuare le prove di qualità secondo le seguenti modalità

8.11 Controlli di qualità

Per valutare se un terreno prodotto, pronto all'uso, possiede le caratteristiche attese devono essere effettuati controlli fisici (pH, consistenza, aspetto ecc) e controlli microbiologici (sterilità e *performance*).



Quotidianamente viene stampato il foglio di carico della produzione relativa al giorno precedente, viene controllata la prova per contaminazione microbica e, se rispondente ai requisiti richiesti, si procede ai controlli per la performance dei terreni.

8.11.1 Controllo di qualità fisico

Al momento della produzione viene registrato il **pH atteso** e la sua misura finale, **la quantità** prevista di terreno **o lo strato dell'agar** nelle piastre, il **colore** atteso, la **trasparenza** attesa o la **presenza** di artefatti ottici, la **stabilità** del gel attesa.



L'esito del controllo di qualità fisico viene inserito nel programma web %Gestione Terreni+e, se positivo, si procede con i controlli di qualità microbiologica.

8.11.2 Contaminazione microbica (Prova di sterilità)

La **prova di sterilità** viene eseguita su tutti i lotti di terreni prodotti ponendo in termostato per 48h a $(37\pm 2)^{\circ}\text{C}$, almeno **l'1% di piastre o tubi prodotti** (con un minimo di 1 piastra o 1 provetta per produzioni inferiori a 100).

Per i terreni prodotti in bottiglia viene prelevata una quantità in ml che rispetti la suddetta percentuale. Qualora il terreno venga utilizzato prima dell'esito della prova di sterilità effettuare il controllo in parallelo.

Per il controllo di sterilità di reagenti sterili, ad esempio acqua distillata o soluzione fisiologica, prelevare sterilmente sotto cappa a flusso laminare 1 ml da ogni unità da analizzare e seminarlo in una piastra di TSA.

In caso di contaminazione microbica eliminare l'intero lotto coinvolto.



8.11.3 Prova di fertilità e/o funzionalità

La Prova di Fertilità si esegue su 1 piastra (eseguendo un triplo striscio), o 1 tubo per ogni lotto di terreno prodotto, utilizzando il **Ceppo di Riferimento** riportato nell'elenco %Terreni disponibili presso TER+ allegato alla POS TER VET 003 SUP visibile tra i Documenti della Qualità nell'Area Privata del sito dell'Istituto.

Il risultato è dato dall'osservazione della avvenuta crescita, di colonie su piastra o presenza di torbidità nei tubi.

Nel suddetto elenco viene specificato il laboratorio che esegue la prova per ciascun terreno. Per quei terreni in elenco ove appare la dicitura %Presso la Sede+, il controllo di fertilità e/o funzionalità verrà eseguito presso il primo laboratorio utilizzatore, che provvede a segnalare la %Prova in corso+ sul programma web %Gestione terreni+.

I risultati delle prove di fertilità e/o funzionalità vengono inseriti dal laboratorio che esegue la prova nel programma web %Gestione Terreni+, secondo quanto descritto nelle Istruzioni d'uso del programma web %Gestione terreni+ per i laboratori, disponibili nello stesso programma web e/o nell'intranet dell'I.Z.S.L.T.

Prove di performance

La ISO 11133:2014 prevede che ogni lotto di terreno prodotto venga sottoposto a controlli di qualità microbiologica.

In base alla tipologia di terreno (stato fisico e funzione) la ISO 11133:2014 prevede controlli di tipo quantitativo o qualitativo, come riportato nella tabelle sottostanti.

L'utilizzo dei controlli quantitativi è raccomandato in caso di nuovi terreni e/o polveri.

Table E.1 — Test microorganisms and performance criteria for culture media commonly used in food microbiology

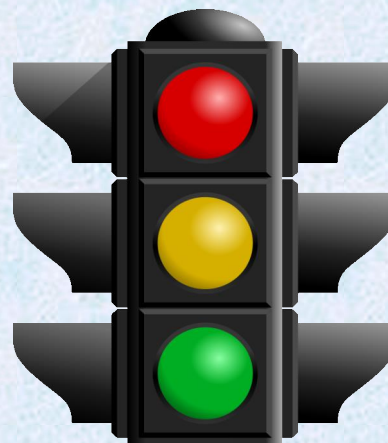
Selective media for enumeration of microorganisms											
Media ^a	Type ^a	Microorganism	International Standard	Function	Incubation	Control strain	WDCM number ^c	Reference media	Method of control	Criteria	Characteristic reaction
Agar Listeria according to Ottaviani and Agosti	S	<i>Listeria monocytogenes</i>	ISO 11290-2	Productivity	(44 ± 4) h/ (37 ± 1) °C	<i>Listeria monocytogenes</i> 4b	00021 ^b	TSA	Quantitative	$P_R \geq 0,5$	Blue green colonies with opaque halo
				<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2a		00109					
				Selectivity		<i>Escherichia coli</i> ^d	00012 or 00013	—	Qualitative	Total inhibition (0)	—
				<i>Enterococcus faecalis</i> ^d		00009 or 00087					
				Specificity		<i>Listeria innocua</i>	00017	—	Qualitative	—	Blue green colonies without opaque halo
Baird-Parker	S	Coagulase-positive staphylococci	ISO 6888-1	Productivity	(24 ± 2) h to (48 ± 2) h/ (37 ± 1) °C	<i>Staphylococcus aureus</i>	00034 ^b 00032	TSA	Quantitative	$P_R \geq 0,5$	Black or grey colonies with clear halo (egg yolk clearing reaction)
				Selectivity	(48 ± 2) h/ (37 ± 1) °C	<i>Escherichia coli</i> ^d	00012 00013				
				Specificity	(24 ± 2) h to (48 ± 2) h/ (37 ± 1) °C	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	00159 ^b 00036	—	Qualitative	—	Black or grey colonies without egg yolk clearing reaction
BGBLB	L	Coliforms	ISO 4831	Productivity	(24 ± 2) h to (48 ± 2) h/ (30 ± 1) °C	<i>Escherichia coli</i>	00012 ^b 00013	—	Qualitative	Turbidity (2) ^f and gas in Durham tube	Gas production and turbidity
				Selectivity		<i>Citrobacter freundii</i>	00006				
						<i>Enterococcus faecalis</i> ^d	00009 00087				
CFC	S	<i>Pseudomonas</i> spp.	ISO 13720	Productivity	(44 ± 4) h/ (25 ± 1) °C	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	00115 ^b	TSA	Quantitative	$P_R \geq 0,5$	—
				<i>Pseudomonas fragi</i>		00116					
									Selectivity		<i>Escherichia coli</i> ^d

Table E.1 (continued)

DG18	S	Yeasts and moulds	ISO 21527-2	Productivity	5 d/ (25 ± 1) °C	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	00058 ^b	SDA	Quantitative	$P_R \geq 0,5$	Characteristic colony/propagules according to each species
				Selectivity		<i>Walleria sebi</i> <i>Aspergillus restrictus</i> <i>Eurotium rubrum</i>	00182 ^b 00183 00184				
DRBC	S	Yeasts and moulds	ISO 21527-1	Productivity	5 days/ (25 ± 1) °C	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Aspergillus brasiliensis</i> <i>Candida albicans</i> <i>Mucor racemosus</i>	00058 ^b 00053 ^b 00054 00181	SDA	Quantitative	$P_R \geq 0,5$	Characteristic colony/propagules according to each species
				Selectivity		<i>Escherichia coli</i> <i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i>	00012 or 00013 ^a 00003				
EC	L	<i>Escherichia coli</i>	ISO 7251	Productivity	(24 ± 2) h to (48 ± 2) h/ (44 ± 1) °C	<i>Escherichia coli</i>	00012 ^b 00013	—	Qualitative	Turbidity (2) ^f and gas in Durham tube	Gas production and turbidity
				Selectivity		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	00025				
IS ("TS")	S	Sulfite-reducing bacteria	ISO 15213	Productivity	(24 ± 3) h to (48 ± 2) h/ (37 ± 1) °C anaerobic atmosphere	<i>Clostridium perfringens</i>	00007 ^b 00080	TSA or other non-selective medium for anaerobes	Quantitative	$P_R \geq 0,5$	Black colonies
				Specificity		<i>Escherichia coli</i> ^d	00012 00013				

Al fine di stabilire un programma di prove di performance da effettuare sui lotti di terreno prodotti, è stato fatta una categorizzazione del rischio produttivo di ogni singolo terreno, classificandolo in:

- 1: molto basso
- 2: medio basso
- 3: medio alto
- 4: alto



La classificazione del rischio è stata fatta in funzione della complessità della preparazione, dalla aggiunta di supplementi, dalle complessità delle diverse fasi di lavorazione. Nella tabella 1 allegata è evidenziata la classe di rischio ed il tipo di prova necessario.

Peri terreni preparati secondo metodica USD/FSIS i controlli sono eseguiti su tutti i lotti prodotti seguendo la metodica USDA/FSIS

Terreno	LOTTI 2014	RISCHIO	FREQUENZA
ALOA	36	4	Ogni 10 lotti e al cambio lotto componenti
BOLTON	19	4	Ogni 10 lotti e al cambio lotto componenti
ITC	33	4	Ogni 10 lotti e al cambio lotto componenti
Terreni USDA			Ogni lotto
LEGENDA RISCHIO: 1: molto basso; 2: medio basso; 3: medio alto; 4: alto		1 e 2 3 e 4	Ogni 20 lotti e al cambio lotto componenti Ogni 10 lotti e al cambio lotto componenti



grazie per l'attenzione