# RISOLUZIONE OIV-OENO 662N-2023

# METODO ORIZZONTALE PER IL CONTEGGIO DI Escherichia coli POSITIVI ALLA BETA-GLUCURONIDASI

L'ASSEMBLEA GENERALE,

VISTO l'articolo 2, paragrafo iv dell'Accordo del 3 aprile 2001 che istituisce l'Organizzazione internazionale della vigna e del vino,

CONSIDERATI i lavori della Sottocommissione "Metodi di analisi" sullo sviluppo di metodi di analisi per il succo d'uva, il succo d'uva concentrato, il succo d'uva ricostituito e il nettare d'uva,

CONSIDERATA la norma ISO 16649-2:2001 relativa al metodo per il conteggio di Escherichia coli positivi alla beta-glucuronidasi, accessibile dal sito web dell'Organizzazione internazionale per la normazione (ISO)[1] ,

CONSIDERATO il lavoro del Gruppo di esperti "Microbiologia" dell'OIV, nonché il parere favorevole del Comitato scientifico e tecnico dell'OIV di fare riferimento a questa norma ISO, sapendo che alcuni elementi di tale norma potrebbero essere soggetti a copyright,

SU PROPOSTA della Commissione "Enologia",

DECIDE di adottare il seguente metodo di analisi microbiologica per il succo d'uva, il succo d'uva concentrato, il succo d'uva ricostituito e il nettare d'uva:

METODO ORIZZONTALE PER IL CONTEGGIO DI Escherichia coli POSITIVI ALLA BETA-GLUCURONIDASI

Premessa

L'ISO (Organizzazione internazionale per la normazione) è una federazione mondiale costituita da organismi nazionali di normazione (i membri dell'ISO). Il lavoro di preparazione delle norme internazionali viene normalmente svolto dai comitati tecnici ISO. Ogni organismo membro interessato a uno studio ha il diritto di far parte del comitato tecnico istituito a tale scopo. Al lavoro partecipano anche organizzazioni internazionali, siano esse governative o non governative, in collaborazione con l'ISO. L'ISO collabora strettamente con la Commissione elettrotecnica internazionale (IEC) su tutte le questioni che riguardano la normazione elettrotecnica.

Le norme internazionali sono redatte in conformità alle disposizioni previste dalle direttive ISO/IEC, parte 3.

I progetti di norme internazionali adottati dai comitati tecnici vengono quindi



Esemplare certificato conforme Jerez, 9 giugno 2023
Il Direttore Generale dell'OIV
Segretario dell'Assemblea Generale
Pau ROCA

© OIV 2023

distribuiti agli organismi membri per la votazione. Per la pubblicazione di una norma internazionale è necessaria l'approvazione di almeno il 75% degli organismi membri votanti.

Si evidenzia la possibilità che alcuni elementi contenuti all'interno di questa parte della norma ISO 16649 possano essere soggetto a diritti di proprietà intellettuale. L'ISO non può essere ritenuta responsabile per non aver identificato tali diritti di proprietà intellettuale.

La norma internazionale ISO 16649-2 è stata preparata dal Comitato tecnico ISO/TC 34, Prodotti alimentari, Sub-comitato SC 9, Microbiologia.

La norma ISO 16649 Microbiologia degli alimenti a uso umano e zootecnico - Metodo orizzontale per il conteggio di Escherichia coli positivi alla □-glucuronidasi si compone delle seguenti parti:

- Parte 1: Tecnica del conteggio delle colonie a 44 °C utilizzando membrane e 5-bromo-4-cloro-3-indolil β-D-glucuronide
- Parte 2: Tecnica del conteggio delle colonie a 44 °C utilizzando 5-bromo-4-cloro-3-indolil β-D-glucuronide
- Parte 3: Tecnica del numero più probabile

# Parte 2: Tecnica del conteggio delle colonie a 44 °C utilizzando 5-bromo-4-cloro-3-indolil □-D-glucuronide

## Introduzione

Data la grande varietà di prodotti alimentari e di mangimi, il presente metodo orizzontale potrebbe non essere appropriato in toto per alcuni prodotti. In tal caso, se assolutamente necessario per giustificati motivi tecnici, è possibile utilizzare metodi diversi specifici per questi prodotti. Ciononostante, bisogna fare il possibile per applicare questo metodo orizzontale.

In occasione della prossima revisione di questa parte della norma ISO 16649, si terrà conto di tutte le informazioni disponibili in merito a quanto è stato possibile seguire questo metodo orizzontale, nonché sulle ragioni per cui è stato necessario discostarsene nel caso di prodotti particolari.

L'armonizzazione dei metodi di prova non può essere immediata e, per alcuni gruppi di prodotti, potrebbero già esistere norme internazionali e/o nazionali non conformi



Esemplare certificato conforme Jerez, 9 giugno 2023
Il Direttore Generale dell'OIV
Segretario dell'Assemblea Generale
Pau ROCA

© OIV 2023

al presente metodo orizzontale. È auspicabile che, in sede di revisione, tali norme vengano modificate affinché possano essere conformi a questa parte della norma ISO 16649 di modo che, alla fine, le uniche divergenze rimanenti siano quelle necessarie per ragioni tecniche consolidate.

La presente norma internazionale descrive due metodi orizzontali (ISO 16649-1 e ISO 16649-2) per il conteggio di Escherichia coli positivi alla □-glucuronidasi.

L'utente può scegliere ISO 16649-1 oppure ISO 16649-2. Entrambe le parti hanno un'applicazione generale. Tuttavia, nel caso di alimenti che possono contenere cellule gravemente stressate, si raccomanda di utilizzare la ISO 16649-1.

# 1. Campo di applicazione

Questa parte della norma ISO 16649 stabilisce un metodo orizzontale per il conteggio di Escherichia coli positivi alla □-glucuronidasi in prodotti destinati al consumo umano o all'alimentazione degli animali. Ci si avvale della tecnica del conteggio delle colonie a 44 °C su un terreno solido contenente un ingrediente cromogenico per la rilevazione dell'enzima □-glucuronidasi.

AVVERTENZA: **Questa tecnica non consente di rilevare i ceppi di Escherichia coli che non crescono a 44 °C e, in particolare, quelli che sono negativi alla □-glucuronidasi, come Escherichia coli O157.**

# 2. Riferimenti normativi

I seguenti documenti normativi contengono disposizioni che, attraverso il riferimento in questo testo, costituiscono disposizioni di questa parte della norma ISO 16649. Per i riferimenti datati, non sono applicabili eventuali successivi emendamenti o revisioni di tali pubblicazioni. Tuttavia, si incoraggiano i soggetti interessati ad accordi basati su questa parte della norma ISO 16649 a verificare la possibilità di applicare le edizioni più recenti dei documenti normativi indicati di seguito. Per i riferimenti non datati, si considera l'ultima edizione del documento normativo a cui si fa riferimento. I membri dell'ISO e dell'IEC dispongono dei registri delle norme internazionali attualmente in vigore.

- ISO 6887-1, Microbiologia degli alimenti a uso umano e zootecnico — Preparazione dei campioni di prova, sospensioni iniziali e diluizioni decimali per l'esame microbiologico — Parte 1: Regole generali per la preparazione della sospensione iniziale e delle diluizioni decimali.



Esemplare certificato conforme Jerez, 9 giugno 2023
Il Direttore Generale dell'OIV
Segretario dell'Assemblea Generale
Pau ROCA

© OIV 2023

- ISO 7218, Microbiologia degli alimenti a uso umano e zootecnico — Regole generali per gli esami microbiologici.

# 3. Termini e definizioni

Ai fini di questa parte della norma ISO 16649 si impiegano i seguenti termini e relative definizioni:

## 3.1. Escherichia coli positivi alla □-glucuronidasi

Batteri che, a 44 °C, formano una tipica colonia dal colore blu su terreno di coltura di tryptone-bile-glucuronide (TBX) nelle condizioni specificate in questa parte della norma ISO 16649.

## 3.2. Conteggio di Escherichia coli positivi alla □-glucuronidasi

Determinazione del numero di unità formanti colonie (CFU) di Escherichia coli positivi alla □-glucuronidasi, per millilitro o per grammo di campione, quando saggio e calcoli vengono eseguiti in conformità a questa parte della norma ISO 16649.

**Sono disponibili al pubblico solo le sezioni informative delle norme. Per accedere al contenuto completo, è necessario acquistare la norma cliccando su "Buy" (Acquista).**

**Bibliografia**


- [1] BLAZKO, N., "Evaluation of the β-glucuronidase substrate 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronide in a 24 hour direct plating method for Escherichia coli", J. Food Protection, 51, pag. 402.
- [2] DAMARE, J.M., CAMPBELL, D.F. e JOHNSON, R.W., "Simplified direct plating method for enhanced recovery of Escherichia coli in food", Journal of Food Science, 50, 1985, pagg. 1736-1737, 1746.
- [3] DELISLE, G.L. e LEY, A., "Rapid detection of Escherichia coli in urine samples by a new chromogenic β-glucuronidase assay", J. Clin. Microbiol., 27, 1989, pagg. 778-779.
- [4] KILIAN, M. e BULOW, P., "Rapid diagnosis of Enterobacteriaceae. Detection of bacterial glycosidases", Acta Pathol. Microbiol. Scand., Sect. B, 84, 1976, pagg. 245-251.
- [5] KILIAN, M. e BULOW, P., "Rapid identification of Enterobacteriaceae. Use of a β-glucuronidase detecting agar medium (PGUA agar) for the identification of




Esemplare certificato conforme Jerez, 9 giugno 2023
Il Direttore Generale dell'OIV
Segretario dell'Assemblea Generale
Pau ROCA

© OIV 2023

Escherichia coli in primary cultures of urine samples", Acta Pathol. Microbiol. Scand., Sect. B, 87, 1979, pagg. 271-276.

- [6] LEY, A.N., BOWERS, R.J. e WOLFE, S., "Indoxyl-β-D-glucuronide, a novel chromogenic reagent for the specific detection and enumeration of Escherichia coli in environmental sample", Canadian Journal of Microbiology, 34, 1988, pagg. 690-693.
- [7] MANAFI, M. e KNEIFEL, W., "A combined chromogenic-fluorogenic medium for the simultaneous detection of total coliforms and E. coli in water", Zentralbl. Hyg., 189, 1989, pagg. 225-234.
- [8] OGDEN, I.D. e WATT, A.J., "An evaluation of fluorogenic and chromogenic assays for the direct enumeration of Escherichia coli", Letters in Applied Microbiology, 13, 1991, pagg. 212-215.
- [9] RESTAINO, L., FRAMPTON, E.W. e LYON, R.H., "Use of chromogenic substrate 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronide (X-GLUC) for enumeration of Escherichia coli on 24 hours from ground beef", J. Food Protection, 53 (6), 1990, pagg. 508-510.
- [10] WATKINS, W.D., RIPPEY, S.C., CLAVET, C.R., KELLY-REITZ, D.J. e BURKHARDT, W., "Novel compound for identifying Escherichia coli", Applied Enviromental Microbiology, 54, 1988, pagg. 1874-1875.

[1] https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:16649:-2:ed-1:v1:en



Esemplare certificato conforme Jerez, 9 giugno 2023
Il Direttore Generale dell'OIV
Segretario dell'Assemblea Generale
Pau ROCA

© OIV 2023