RISOLUZIONE OIV-OENO 6620-2023

METODO ORIZZONTALE PER IL CONTEGGIO DEGLI STAFILOCOCCHI POSITIVI ALLA COAGULASI

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 6888-2:2021 relativa al metodo per il conteggio degli stafilococchi positivi alla coagulasi, 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 DEGLI STAFILOCOCCHI POSITIVI ALLA COAGULASI

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.

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

© OIV 2023

Le procedure utilizzate per elaborare il presente documento nonché quelle per la sua revisione sono descritte nelle Direttive ISO/IEC, Parte 1. In particolare, occorre tener conto dei diversi criteri di approvazione necessari per i vari tipi di documenti ISO. Questo documento è stato redatto in conformità alle regole editoriali delle Direttive ISO/IEC, Parte 2 (consultare www.iso.org/directives).

Si evidenzia la possibilità che alcuni elementi contenuti all'interno del presente documento possano essere soggetti a diritti di proprietà intellettuale. L'ISO non può essere ritenuta responsabile per non aver identificato tali diritti di proprietà intellettuale. I dettagli relativi a eventuali diritti di proprietà intellettuale identificati durante l'elaborazione del documento saranno riportati nell'introduzione e/o nell'elenco ISO delle dichiarazioni di brevetto ricevute (consultare www.iso.org/patents).

I nomi commerciali eventualmente citati nel presente documento sono da intendersi come informazioni fornite per comodità degli utenti e non costituiscono una raccomandazione.

Per ulteriori informazioni circa la natura volontaria delle norme, il significato delle espressioni e dei termini specifici dell'ISO relativi alla valutazione della conformità, nonché per informazioni circa l'adesione dell'ISO ai principi dell'Organizzazione mondiale del commercio (OMC) nel quadro delle Barriere tecniche al commercio (TBT), consultare www.iso.org/iso/foreword.html.

Il presente documento è stato preparato dal Comitato tecnico ISO/TC 34, Prodotti alimentari, Sub-comitato SC 9, Microbiologia, in collaborazione con il Comitato tecnico CEN/TC 463, Microbiologia della catena alimentare, del Comitato europeo di normazione (CEN), in conformità con l'Accordo sulla cooperazione tecnica tra l'ISO e il CEN (Accordo di Vienna).

Questa seconda edizione annulla e sostituisce la prima edizione (ISO 6888-2:1999), in seguito a revisione tecnica. Inoltre, essa comprende l'Emendamento ISO 6888-2:1999/Amd 1:2003. Le modifiche principali apportate rispetto all'edizione precedente sono le seguenti:

- il titolo è stato modificato per fare riferimento alla "catena alimentare";
- è stato chiarito lo status della norma ISO 6888-1 e del presente documento;
- il documento è stato adeguato alla norma ISO 7218:2007, ovvero indica di versare il terreno di coltura agar fuso a una temperatura compresa tra 44 °C e 47 °C;
- tutte le occorrenze di "35 °C o 37 °C", quando appropriato, sono state sostituite con "da 34 °C a 38 °C";

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

© OIV 2023

- tutte le occorrenze del tempo di incubazione “da 18 h a 24 h”, quando appropriato, sono state sostituite con “24 h ± 2 h”;
- è stato aggiunto il requisito di utilizzare la norma ISO 11133;
- sono state aggiornate tutte le norme disponibili relative alle tecniche di campionamento;
- è stata aggiornata la procedura illustrata con diagramma di flusso presente nell’Allegato A;
- sono stati aggiunti i terreni di coltura e i reagenti con saggio di rendimento e sono stati spostati nell’Allegato B;
- è stato aggiunto il saggio di rendimento per il terreno di agar con fibrinogeno e plasma di coniglio (RPFA);
- sono stati aggiornati i risultati dello studio interlaboratorio (da ISO 6888-2:1999/Emendamento 1:2003 Dati di precisione);
- è stata aggiornata la bibliografia.

Sul sito web dell’ISO è disponibile un elenco di tutte le parti della serie ISO 6888.

Eventuali commenti o domande in merito a questo documento si devono rivolgere all’organismo nazionale di normazione dell’utente. L’elenco completo di questi organismi è disponibile all'indirizzo www.iso.org/members.html.

Introduzione

La norma ISO 6888-1, il presente documento e la norma ISO 6888-3 descrivono tre metodi orizzontali per la rilevazione e il conteggio degli stafilococchi positivi alla coagulasi tra i quali si trovano ceppi enterotossigeni. Si tratta principalmente di Staphylococcus aureus, ma anche di S. intermedius e di alcuni ceppi di S. hyicus.

Ai fini del presente documento, la caratterizzazione degli stafilococchi si basa su una reazione positiva alla coagulasi, seppur si debba prendere in considerazione il fatto che alcuni ceppi di Staphylococcus aureus producono una debole reazione positiva alla coagulasi. Questi ultimi ceppi possono essere confusi con altri batteri, tuttavia è possibile distinguerli utilizzando saggi aggiuntivi non previsti nell’ambito di questo documento, come i test per la sensibilità alla lisostafina e per la produzione di emolisina, nucleasi termostabile e acido da mannitolo (consultare la norma ISO 7218 e il Riferimento [13]).

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

© OIV 2023

Le principali modifiche tecniche elencate nella premessa, introdotte in questo documento rispetto all'edizione precedente, sono considerate minori (consultare la norma ISO 17468) e hanno un impatto minimo sulle caratteristiche di prestazione del metodo.

I risultati dello studio interlaboratorio e i campioni analizzati sono descritti nell'Allegato C

ATTENZIONE: Per salvaguardare la salute del personale di laboratorio, è essenziale che i saggi per il conteggio degli stafilococchi vengano eseguiti solo in laboratori adeguatamente attrezzati, sotto il controllo di un microbiologo esperto, e che si presti molta attenzione nello smaltimento di tutti i materiali incubati. Coloro che si avvalgono del presente documento devono possedere una certa familiarità con la normale pratica di laboratorio. Il presente documento non si sofferma su tutti gli eventuali aspetti legati alla sicurezza derivanti dal suo utilizzo. È responsabilità dell'utente stabilire pratiche di sicurezza e sanitarie adeguate.

1. Campo di applicazione

Questo documento illustra un metodo orizzontale per il conteggio degli stafilococchi positivi alla coagulasi mediante enumerazione delle colonie ottenute su un terreno solido (terreno di agar con fibrinogeno e plasma di coniglio) dopo incubazione in aerobiosi da 34 °C a 38 °C (consultare il Riferimento [10]).

È possibile applicare questo documento:

- ai prodotti destinati all'alimentazione umana,
- ai prodotti destinati all'alimentazione animale,
- a campioni ambientali prelevati nel settore della produzione e della manipolazione di alimenti e mangimi,
- ai campioni prelevati nella fase di produzione primaria.

Questo metodo orizzontale è stato originariamente sviluppato per l'esame di tutti i campioni appartenenti alla catena alimentare.

Data la grande varietà di prodotti presenti nella catena alimentare, il presente metodo orizzontale potrebbe non essere appropriato in toto per tutti prodotti. Tuttavia, ci si aspetta che le modifiche da apportare siano ridotte al minimo in modo da non comportare una deviazione significativa dal presente metodo orizzontale.

In base delle informazioni disponibili al momento della pubblicazione del presente

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

© OIV 2023

documento, questo metodo non è considerato (del tutto) idoneo all'esame di prodotti fermentati o di altri prodotti contenenti flora tecnologica a base di Staphylococcus spp. (ad esempio, S. xylosus) (come i formaggi prodotti a partire da latte crudo e certi prodotti derivati dalla lavorazione di carni crude) che possono essere più facilmente contaminati da:

- stafilococchi che formano colonie atipiche su un terreno agar Baird-Parker;
- flora batterica competitiva, in grado di mascherare le colonie di cui si ricerca la presenza.

Tuttavia, sia alla norma ISO 6888-1 che al presente documento è conferito uno status equivalente.

2. Riferimenti normativi

All'interno del testo sono citati i documenti seguenti in una maniera tale da costituire, in tutto o in parte, un requisito del presente documento. Per i riferimenti datati, è valida solo l'edizione citata. Per i riferimenti non datati, si considera l'ultima edizione del documento di riferimento (compresi eventuali emendamenti).

- ISO 6887 (tutte le parti), Microbiologia della catena alimentare — Preparazione dei campioni di prova, sospensione iniziale e diluizioni decimali per l'esame microbiologico
- ISO 7218, Microbiologia degli alimenti a uso umano e zootecnico — Requisiti generali e linee guida per gli esami microbiologici
- ISO 11133, Microbiologia degli alimenti, dei mangimi e dell'acqua — Preparazione, produzione, conservazione e saggio di rendimento dei terreni di coltura

3. Termini e definizioni

Ai fini del presente documento si impiegano i seguenti termini e relative definizioni:

Per utilizzo in ambito normativo, l'ISO e l'IEC dispongono di banche dati terminologiche ai seguenti indirizzi:

- Piattaforma di navigazione online dell'ISO: disponibile all'indirizzo

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

© OIV 2023

https://www.iso.org/obp

- Electropedia dell'IEC: disponibile all'indirizzo http://www.electropedia.org/

3.1. Stafilococchi positivi alla coagulasi

Batteri che formano colonie tipiche in un terreno di coltura selettivo (terreno di agar con fibrinogeno e plasma di coniglio).

Nota 1 al paragrafo: Le colonie tipiche sono descritte al punto 9.3.

3.2. Conteggio degli stafilococchi positivi alla coagulasi

Determinazione del numero di stafilococchi positivi alla coagulasi (3.1) per grammo, per millilitro, per centimetro quadrato o per dispositivo di campionamento/area campionata.

Nota 1 al paragrafo: Per "area campionata" s'intende un'area non definita da una dimensione numerica, ad esempio un rubinetto d'acqua calda o la maniglia di una porta.

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] ISO 707, Latte e prodotti lattiero-caseari — Guida al campionamento
- [2] ISO 6888-1, Microbiologia della catena alimentare — Metodo orizzontale per il conteggio di stafilococchi positivi alla coagulasi (Staphylococcus aureus e altre specie) — Parte 1: Tecnica che utilizza il terreno agar Baird-Parker
- [3] ISO 6888-3, Microbiologia degli alimenti a uso umano e zootecnico — Metodo orizzontale per il conteggio di stafilococchi positivi alla coagulasi (Staphylococcus aureus e altre specie) — Parte 3: Rilevamento e tecnica del numero più probabile (MPN) per numeri bassi
- [4] ISO 13307, Microbiologia degli alimenti e dei mangimi — Fase di produzione primaria — Tecniche di campionamento
- [5] ISO 16140:2003, Microbiologia degli alimenti a uso umano e zootecnico — Protocollo per la validazione di un metodo alternativo
- [6] ISO 17604, Microbiologia della catena alimentare — Campionamento da

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

© OIV 2023

carcasse per l'analisi microbiologica

- [7] ISO 17468, Microbiologia della catena alimentare — Requisiti tecnici e linee guida per la creazione o la revisione di un metodo di riferimento standardizzato
- [8] ISO/TS 17728, Microbiologia della catena alimentare — Tecniche di campionamento per l'analisi microbiologica di campioni di alimenti e mangimi
- [9] ISO 18593, Microbiologia della catena alimentare — Metodi orizzontali per il campionamento di superfici
- [10] IDF 145A:1997, Latte e prodotti lattiero-caseari — Conteggio degli stafilococchi positivi alla coagulasi — Tecnica del conteggio delle colonie
- [11] BOOTHBY, J., GENIGEORGIS, C. e FANELLI, M.J., "Tandem Coagulase / Thermonuclease Agar Method for the Detection of Staphylococcus aureus", Appl. and Environmental microbiology, 1979, Vol. 37, pagg. 298-302.
- [12] De Buyser, M.L., Lombard, B., Schulten, S.M., In't Veld, P.H., Scotter, S.L., Rollier, P. e Lahellec, C., "Validation of EN ISO standard methods 6888 part 1 and part 2:1999, Enumeration of coagulase-positive staphylococci in foods", Int. J. Food Microbiol., 2003, 83(2), pagg. 185-194.
- [13] Kloos, W.E., "Systematics and the natural history of staphylococci", in: Staphylococci, J. Appl. Bacteriol. Symp. Suppl., 1990, 69, pagg. 25 s-37 s; e Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2a edizione, Vol. 3, 2009, pagg. 372-421.

[1] https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:6888:-2:ed-2:v1:en

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

© OIV 2023