

## **RISOLUZIONE OIV-OENO 662P-2023**

### **METODO ORIZZONTALE PER IL CONTEGGIO DI MICRORGANISMI**

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,

CONSIDERATE le norme ISO 4833-1:2013 e ISO 4833-2:2013 relative al conteggio di microrganismi, accessibili dal sito web dell'Organizzazione internazionale per la normazione (ISO)<sup>[1]</sup>

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 MICRORGANISMI**

#### **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 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, [www.iso.org/directives](http://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, [www.iso.org/patents](http://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.

Il Comitato responsabile del presente documento è ISO/TC 34, Prodotti alimentari, Sub-comitato SC 9, Microbiologia.

Questa prima edizione, congiuntamente alla norma ISO 4833-1 annulla e sostituisce la norma ISO 4833:2003.

La norma ISO 4833 Microbiologia della catena alimentare – Metodo orizzontale per il conteggio di microrganismi si compone delle seguenti parti:

- Parte 1: Conta delle colonie a 30 °C con la tecnica della semina in profondità
- Parte 2: Conta delle colonie a 30 °C con la tecnica della semina in superficie

## **Parte 1: Conta delle colonie a 30 °C con la tecnica della semina in profondità**

### **1. Campo di applicazione**

Questa parte della norma ISO 4833 specifica un metodo orizzontale per il conteggio dei microrganismi in grado di crescere e formare colonie in un terreno solido dopo un'incubazione in aerobiosi a 30 °C. Il metodo può essere applicato:

- a. ai prodotti destinati all'alimentazione umana e degli animali;
- b. a campioni ambientali prelevati nel settore della produzione e della manipolazione di alimenti e mangimi.

Questa parte della norma ISO 4833 può essere applicata:

1. ai prodotti per i quali si rende necessario eseguire un conteggio affidabile quando è specificato un basso limite di rivelabilità (inferiore a 102/g o 102/mL per i campioni liquidi o inferiore a 103/g per i campioni solidi);
2. ai prodotti che si presume contengano colonie che si diffondono che mascherano le colonie di altri organismi, ad esempio latte e prodotti lattiero-caseari che possono contenere specie diffuse di *Bacillus*.

L'applicabilità di questa parte della norma ISO 4833 all'analisi di alcuni alimenti fermentati e mangimi è limitata, e altri terreni o condizioni di incubazione potrebbero essere più appropriati. Tuttavia, è possibile applicare il presente metodo a tali prodotti, anche se è probabile che la presenza dei microrganismi predominanti in questi prodotti non venga rilevata in modo efficace.

Per alcune matrici, il metodo specificato in questa parte della norma ISO 4833 può produrre risultati diversi da quelli ottenuti con il metodo specificato nella norma ISO 4833-2.

## 2. Riferimenti normativi

I seguenti documenti, in tutto o in parte, sono citati come riferimento normativo nel presente documento e sono indispensabili per la sua applicazione. 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 degli alimenti a uso umano e zootecnico — Preparazione dei campioni di prova, sospensioni iniziali 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:

#### 3.1. Microrganismo

Entità di dimensioni microscopiche, che comprende batteri, funghi, protozoi e virus.

[FONTE: ISO/TS 11139:2006,3 2.26]

Nota 1 al paragrafo: Ai fini della presente parte della norma ISO 4833, i microrganismi sono batteri, lieviti e muffe in grado di produrre colonie nelle condizioni specificate nella presente parte della norma ISO 4833.

Nota 1 al paragrafo: Ai fini della presente parte della norma ISO 4833, i microrganismi sono batteri, lieviti e muffe in grado di produrre colonie nelle condizioni specificate nella presente parte della norma ISO 4833.

**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 835, Vetreria da laboratorio — Pipette graduate
- [2] ISO 8655-2, Apparecchiatura volumetrica a pistone — Parte 2: Pipette a pistone
- [3] ISO/TS 11139:2006, Sterilizzazione dei prodotti sanitari — Vocabolario
- [4] Piton, C. e Grappin, R., “A model for statistical evaluation of precision parameters of microbiological methods: Application to dry rehydratable film methods and IDG reference methods for enumeration of total aerobic mesophilic flora and coliforms in raw milk”, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 74, 1991, pagg. 92-103.
- [5] Scotter, S., Aldridge, M., Back, J. e Wood, R., “Validation of European Community methods for microbiological and chemical analysis of raw and heat-treated milk”, J. Assoc. Public Anal. 29, 1993, pagg. 1-32.
- [6] Dahms, S. e Weiss, H., “Estimation of precision values for microbiological reference methods: Standardized pour plate technique”, Milchwissenschaft, 53, 1988, pagg. 555-559.
- [7] WORLD DATA CENTRE FOR MICROORGANISMS, Reference strain catalogue

pertaining to organisms for performance testing culture media. Disponibile al link (visitato in data 06-03-2013):

[http://www.wfcc.info/pdf/WDCM\\_Reference\\_Strain\\_Catalogue.pdf](http://www.wfcc.info/pdf/WDCM_Reference_Strain_Catalogue.pdf)

## **Parte 2: Conta delle colonie a 30 °C con la tecnica della semina in superficie**

### **1. Campo di applicazione**

Questa parte della norma ISO 4833 specifica un metodo orizzontale per il conteggio dei microrganismi in grado di crescere e formare colonie sulla superficie di un terreno solido dopo un'incubazione in aerobiosi a 30 °C. Il metodo può essere applicato:

- a. ai prodotti destinati all'alimentazione umana o degli animali;
- b. a campioni ambientali prelevati nel settore della produzione e della manipolazione di alimenti e mangimi.

Questa parte della norma ISO 4833 può essere applicata:

1. ai prodotti contenenti organismi termosensibili che possono costituire una parte significativa della flora totale (ad esempio, organismi psicrotrofi in alimenti refrigerati e congelati, alimenti disidratati, altri alimenti che possono contenere organismi termosensibili);
2. ai prodotti contenenti batteri aerobi obbligati che possono costituire una parte significativa della flora totale (ad esempio, *Pseudomonas* spp.);
3. ai prodotti che contengono piccole particelle che possono risultare difficili da distinguere dalle colonie su una piastra seminata in profondità;
4. ai prodotti il cui colore intenso impedisce il riconoscimento delle colonie su una piastra seminata in profondità;
5. ai prodotti per i quali è necessaria una distinzione tra diversi tipi di colonia ai fini di una valutazione della qualità degli alimenti.

Oltre alla tecnica di semina manuale in superficie, questa parte della norma ISO 4833

specifica l'uso di una piastra a spirale, un metodo rapido per eseguire la conta delle colonie in superficie (Allegato A).

L'applicabilità di questa parte della norma ISO 4833 all'analisi di alcuni alimenti fermentati e mangimi è limitata, e altri terreni o condizioni di incubazione potrebbero essere più appropriati. Tuttavia, questo metodo può essere applicato a tali prodotti seppur sia possibile che la presenza dei microrganismi predominanti in tali prodotti non venga rilevata in modo efficace.

Per alcune matrici, il metodo descritto in questa parte della norma ISO 4833 può produrre risultati diversi da quelli ottenuti con il metodo descritto nella norma ISO 4833-1.

## 2. Riferimenti normativi

I seguenti documenti, in tutto o in parte, sono citati come riferimento normativo nel presente documento e sono indispensabili per la sua applicazione. 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 degli alimenti a uso umano e zootecnico — Preparazione dei campioni di prova, sospensioni iniziali 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:

### 3.1. Microrganismo

Entità di dimensioni microscopiche, che comprende batteri, funghi, protozoi e virus.

[FONTE: ISO/TS 11139:2006,3 2.26]

Nota 1 al paragrafo: Ai fini della presente parte della norma ISO 4833, i microrganismi sono batteri, lieviti e muffe in grado di produrre colonie nelle condizioni specificate

nella presente parte della norma ISO 4833.

**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 835, Vetreria da laboratorio — Pipette graduate
- [2] ISO 8655-2, Apparecchiatura volumetrica a pistone — Parte 2: Pipette a pistone
- [3] ISO/TS 11139:2006, Sterilizzazione dei prodotti sanitari — Vocabolario
- [4] ISO 17410, Microbiologia degli alimenti a uso umano e zootecnico — Metodo orizzontale per il conteggio dei microrganismi psicotrofi
- [5] BS 4285-2.3:1984,1 Microbiological examination for dairy purposes. Methods of general application for enumeration of microorganisms. Enumeration of microorganisms by surface plate technique for colony count.
- [6] AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, Standard methods for the examination of dairy products, Washington, DC, APHA, 17<sup>a</sup> edizione, 2004.
- [7] AOAC INTERNATIONAL, 977.27 Spiral Plate method, in: Official methods of analysis, Gaithersburg, MD, AOAC, 19<sup>a</sup> edizione, 2012.
- [8] Roberts, D. e Greenwood, M., “Enumeration of microorganisms”, in: Practical food microbiology, Oxford, Blackwell, 3<sup>a</sup> edizione, 2003, pagg. 105-29.
- [9] Maturin, L. e Peeler J.T, capitolo 3, “Aerobic plate count” in: Bacteriological analytical manual, Silver Spring, MD, US Food and Drug Administration, 2001. Disponibile al link (visitato in data 13-07-2013): <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm063346.htm>
- [10] Greenwood, M.H., Coetzee, E.F.C., Ford, B.M., Gill, P., Hooper, W.L., Matthews, S.C. et al., “The microbiology of selected retail food products with an evaluation of viable counting methods”, J. Hyg. (Lond.) 92, 1984, pagg. 67-77.
- [11] International Commission on Microbiological Specifications for Foods, “Microorganisms in foods”, 1 “Their significance and methods of enumeration”, Londra, University of Toronto Press, 2<sup>a</sup> edizione, 1978.
- [12] Gilchrist, J.E., Donnelly, C.B., Peeler, J.T. e Campbell, J.E., “Collaborative

study comparing the spiral plate and aerobic plate count methods”, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 60, 1977, pagg. 807-812.

- [13] Jarvis, B., Lach, V.H. e Wood, J.M., “Evaluation of the spiral plate maker for the enumeration of microorganisms in foods”, J. Appl. Bacteriol. 43, 1977, pagg. 149-157.
- [14] Kramer, J.M. e Gilbert, R.J., “Enumeration of micro-organisms in food: A comparative study of five methods”, J. Hyg. (Lond.), 81, 1978, pagg. 151-159.
- [15] WORLD DATA CENTRE FOR MICROORGANISMS, “Reference strain catalogue pertaining to organisms for performance testing culture media”. Disponibile al link (07-03-2013):  
[http://www.wfcc.info/pdf/WDCM\\_Reference\\_Strain\\_Catalogue.pdf](http://www.wfcc.info/pdf/WDCM_Reference_Strain_Catalogue.pdf)

---

<sup>[1]</sup> <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:4833:-1:ed-1:v1:en>  
<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:4833:-2:ed-1:v1:en>