

## INDICE

	<b>PREMESSA CEN</b>	1
	<b>PREMESSA ISO</b>	2
	<b>INTRODUZIONE</b>	4
<b>1</b>	<b>SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE</b>	4
<b>2</b>	<b>RIFERIMENTI NORMATIVI</b>	5
<b>3</b>	<b>TERMINI E DEFINIZIONI</b>	5
<b>4</b>	<b>PRINCIPIO</b>	5
4.1	Generalità.....	5
4.2	Incubazione.....	5
4.3	Conta.....	6
<b>5</b>	<b>TERRENI DI COLTURA E REAGENTI</b>	6
<b>6</b>	<b>ATTREZZATURA E MATERIALI DI CONSUMO</b>	6
<b>7</b>	<b>CAMPIONAMENTO</b>	7
<b>8</b>	<b>PREPARAZIONE DEL CAMPIONE DI PROVA</b>	7
<b>9</b>	<b>PROCEDIMENTO</b>	7
9.1	Aliquota di prova, sospensione iniziale e diluizioni.....	7
9.2	Inoculazione e incubazione.....	7
9.3	Conta delle colonie.....	8
9.3.1	Descrizione generale delle colonie cresciute su terreno RPFA.....	8
9.3.2	Procedimento di conta delle colonie.....	8
<b>10</b>	<b>ESPRESSIONE DEI RISULTATI</b>	8
<b>11</b>	<b>CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE DEL METODO</b>	8
11.1	Studio interlaboratorio.....	8
11.2	Limite di ripetibilità.....	9
11.3	Limite di riproducibilità.....	9
<b>12</b>	<b>RAPPORTO DI PROVA</b>	10
<b>13</b>	<b>ASSICURAZIONE DELLA QUALITÀ</b>	10
<b>APPENDICE A</b> (normativa)	<b>DIAGRAMMA DI FLUSSO DEL PROCEDIMENTO</b>	11
figura A.1	Diagramma di flusso del procedimento per la conta di stafilococchi coagulasi-positivi ( <i>Staphylococcus aureus</i> e altre specie) utilizzando terreno RPFA.....	11
<b>APPENDICE B</b> (normativa)	<b>TERRENI DI COLTURA E REAGENTI</b>	12
prospetto B.1	Prove di prestazione per l'assicurazione di qualità dei terreni di coltura e dei reagenti.....	14

---

<b>APPENDICE</b> (informativa)	<b>C</b>	<b>RISULTATI DELLO STUDIO INTERLABORATORIO</b>	<b>15</b>
prospetto	C.1	Risultati dell'analisi dei dati ottenuti con formaggio .....	15
prospetto	C.2	Risultati dell'analisi dei dati ottenuti con carne .....	15
prospetto	C.3	Risultati dell'analisi dei dati ottenuti con uova in polvere .....	16
prospetto	C.4	Risultati dell'analisi dei dati ottenuti con materiali di riferimento .....	16
<b>BIBLIOGRAFIA</b>			<b>17</b>

---

---

## **PREMESSA CEN**

Il presente documento (EN ISO 6888-2:2021) è stato elaborato dal Comitato Tecnico ISO/TC 34 "Food products" in collaborazione con il Comitato Tecnico CEN/TC 463 "Microbiology of the food chain" la cui segreteria è affidata all'AFNOR.

Alla presente norma europea deve essere attribuito lo status di norma nazionale, o mediante pubblicazione di un testo identico o mediante notifica di adozione, al più tardi entro marzo 2022, e le norme nazionali in contrasto devono essere ritirate al più tardi entro marzo 2022.

Si richiama l'attenzione alla possibilità che alcuni degli elementi del presente documento possano essere oggetto di brevetti. Il CEN non deve essere ritenuto responsabile di avere citato tali brevetti.

Il presente documento sostituisce la EN ISO 6888-2:1999.

Qualsiasi commento e richiesta sul presente documento dovrebbe essere rivolta al proprio ente di normazione nazionale. Una lista completa di tali enti è fornita al sito del CEN.

In conformità alle Regole Comuni CEN-CENELEC, gli enti nazionali di normazione dei seguenti Paesi sono tenuti a recepire la presente norma europea: Austria, Belgio, Bulgaria, Cipro, Croazia, Danimarca, Estonia, Finlandia, Francia, Germania, Grecia, Irlanda, Islanda, Italia, Lettonia, Lituania, Lussemburgo, Malta, Norvegia, Paesi Bassi, Polonia, Portogallo, Regno Unito, Repubblica Ceca, Repubblica della Macedonia del Nord, Romania, Serbia, Slovacchia, Slovenia, Spagna, Svezia, Svizzera, Turchia e Ungheria.

## **NOTIFICA DI ADOZIONE**

Il testo della ISO 6888-2:2021 è stato approvato dal CEN come EN ISO 6888-2:2021 senza alcuna modifica.

## PREMESSA ISO

L'ISO (Organizzazione Internazionale di Normazione) è la federazione mondiale degli organismi di normazione nazionali (membri ISO). L'attività di stesura delle norme internazionali è svolta generalmente attraverso comitati tecnici ISO. Ogni organismo membro interessato ad un argomento per il quale è stato istituito un comitato tecnico ha il diritto di essere rappresentato in tale comitato. Anche le organizzazioni internazionali, governative e non-governative, in collaborazione con l'ISO, partecipano ai suddetti lavori. L'ISO collabora strettamente con l'IEC (Commissione Elettrotecnica Internazionale) su tutti gli argomenti della normazione elettrotecnica.

Le procedure seguite per sviluppare il presente documento, unitamente a quelle seguite per il suo successivo aggiornamento, sono descritte nelle Direttive ISO/IEC, Parte 1. Inoltre si dovrebbe prestare attenzione ai diversi criteri di approvazione necessari per i diversi tipi di documenti ISO. Il presente documento è stato redatto in conformità alle regole editoriali contenute nelle Direttive ISO/IEC, Parte 2. (vedere: [www.iso.org/directives](http://www.iso.org/directives)).

Si richiama l'attenzione sulla possibilità che alcuni degli elementi del presente documento possano essere oggetto di brevetti. L'ISO non deve essere ritenuto responsabile di aver citato alcuni o tutti questi brevetti. I dettagli sui brevetti identificati durante lo sviluppo del documento sono indicati nell'Introduzione e/o nell'elenco ISO delle dichiarazioni di brevetto ricevute (vedere [www.iso.org/patents](http://www.iso.org/patents)).

Qualsiasi denominazione commerciale utilizzata nel presente documento costituisce un'informazione fornita a supporto degli utenti e non costituisce un'approvazione.

Per una spiegazione sulla natura volontaria delle norme, sul significato di termini specifici ISO e delle espressioni relative alla valutazione di conformità, nonché informazioni sull'osservanza dell'ISO ai principi dell'Organizzazione Mondiale del Commercio (WTO) nell'ambito delle barriere tecniche per il commercio (TBT) vedere il seguente URL: [www.iso.org/iso/foreword.html](http://www.iso.org/iso/foreword.html).

Il presente documento è stato elaborato dal Comitato Tecnico ISO/TC 34, *Food products*, Sottocomitato SC 9, *Microbiology*, in collaborazione con il Comitato Tecnico CEN/TC 463 *Microbiology of the food chain*, del Comitato europeo di normazione (CEN) in conformità all'Accordo sulla cooperazione tecnica tra ISO e CEN (Accordo di Vienna).

Questa seconda edizione annulla e sostituisce la prima edizione (ISO 6888-2:1999), che è stata sottoposta a revisione tecnica. Essa incorpora anche l'aggiornamento ISO 6888-2:1999/Amd 1:2003. Le principali modifiche rispetto all'edizione precedente sono le seguenti:

- il titolo è stato modificato per fare riferimento alla "catena alimentare";
- è stato chiarito lo status della ISO 6888-1 e del presente documento;
- il documento è stato allineato alla ISO 7218:2007, cioè con versamento del terreno agar fuso da 44 °C a 47 °C;
- tutte le occorrenze, se del caso, sono state modificate da "35 °C o 37 °C" a "da 34 °C a 38 °C";
- tutte le occorrenze del tempo di incubazione, se del caso, sono state modificate da "da 18 h a 24 h" a "24 h ± 2 h";
- sono stati aggiunti requisiti per l'uso della ISO 11133;
- tutte le norme disponibili relative alle tecniche di campionamento sono state aggiornate;
- il procedimento del diagramma di flusso dell'appendice A è stato aggiornato;
- sono stati aggiunti e spostati nell'appendice B terreni di coltura e reagenti con prova di prestazione;
- è stata aggiunta la prova di prestazione per il terreno agar al plasma di coniglio e al fibrinogeno (RPFA - Rabbit plasma fibrinogen agar);
- sono stati aggiornati i risultati dello studio interlaboratorio (dalla ISO 6888-2:1999/Amendment 1:2003, Dati di precisione);
- è stata aggiornata la bibliografia.

---

Un elenco di tutte le parti della serie ISO 6888 è disponibile sul sito web dell'ISO.

Qualsiasi commento o richiesta sul presente documento dovrebbe essere rivolta al proprio ente di normazione nazionale. Una lista completa di tali enti è fornita al sito [www.iso.org/members.html](http://www.iso.org/members.html).

QUESTO DOCUMENTO È UNA PREVIEW. RIPRODUZIONE VIETATA

## INTRODUZIONE

La ISO 6888-1, il presente documento e la ISO 6888-3, descrivono tre metodi orizzontali per la ricerca e la conta di stafilococchi coagulasi-positivi tra i quali si trovano ceppi in grado di generare enterotossine. Essi riguardano principalmente lo *Staphylococcus aureus*, ma anche lo *Staphylococcus intermedius* e alcuni ceppi di *Staphylococcus hyicus*.

Ai fini del presente documento, la caratterizzazione degli stafilococchi si basa sulla positività ad una reazione con la coagulasi, pur tuttavia è noto che alcuni ceppi di *Staphylococcus aureus* sono caratterizzati da una modesta positività alle reazioni con la coagulasi. Questi ultimi ceppi possono essere confusi con altri batteri, dai quali possono essere comunque distinti mediante l'uso di prove aggiuntive che non sono comprese nel presente documento, quali la prova di sensibilità alla lisostafina, di produzione di emolisina, di termonucleasi e di acido a partire dal mannitolo (vedere la ISO 7218 e il riferimento [13]).

Le principali modifiche tecniche elencate nella premessa, introdotte nel presente documento rispetto all'edizione precedente, sono considerate minori (vedere la ISO 17468). Esse hanno un impatto minore sulle caratteristiche di prestazione del metodo.

I risultati dello studio interlaboratorio e i campioni sottoposti a prova sono descritti nell'appendice C.

**AVVERTENZA - Al fine di proteggere la salute del personale di laboratorio è essenziale che le prove per la conta di stafilococchi siano eseguite solo in laboratori appropriatamente attrezzati, sotto il controllo di un microbiologo esperto, e che sia prestata la massima attenzione allo smaltimento di tutti i materiali incubati. Le persone che utilizzano il presente documento dovrebbero avere familiarità con le normali pratiche di laboratorio. Il presente documento non pretende di affrontare tutti gli aspetti di sicurezza, se presenti, associati al suo utilizzo. È responsabilità dell'utilizzatore stabilire pratiche di sicurezza e salute appropriate.**

## 1

## SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Il presente documento specifica un metodo orizzontale per la conta di stafilococchi coagulasi-positivi mediante conta delle colonie ottenute su un terreno solido (terreno agar al plasma di coniglio e al fibrinogeno) in seguito ad incubazione in aerobiosi da 34 °C a 38 °C (vedere riferimento [10]).

Il presente documento si applica a:

- prodotti destinati al consumo umano;
- prodotti destinati all'alimentazione animale;
- campioni ambientali nel settore di produzione e manipolazione degli alimenti e dei mangimi;
- campioni provenienti dalla fase di produzione primaria.

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

A causa della grande varietà di prodotti della catena alimentare è possibile che il presente metodo orizzontale non sia appropriato in ogni dettaglio per tutti i prodotti. Tuttavia si prevede che le modifiche richieste siano minime, in modo da non dare luogo a uno scostamento significativo dal presente metodo orizzontale.

In base alle informazioni disponibili al momento della pubblicazione del presente documento, il presente metodo non è considerato (del tutto) idoneo all'esame di prodotti fermentati o di altri prodotti contenenti flora tecnologica a base di *Staphylococcus* spp (per esempio *Staphylococcus 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 ISO 6888-1 che al presente documento è conferito uno status equivalente.

## 2

### RIFERIMENTI NORMATIVI

Nel testo si fa riferimento ai seguenti documenti in modo tale che il loro contenuto, in tutto o in parte, costituisca i requisiti del presente documento. Per quanto riguarda i riferimenti datati, si applica esclusivamente l'edizione citata. Per i riferimenti non datati vale l'ultima edizione del documento a cui si fa riferimento (compresi gli aggiornamenti).

ISO 6887 (tutte le parti) Microbiology of the food chain - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination

ISO 7218 Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance for microbiological examinations

ISO 11133 Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media

## 3

### TERMINI E DEFINIZIONI

Ai fini del presente documento si applicano i termini e le definizioni seguenti.

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

- ISO Online browsing platform: disponibile all'indirizzo <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: disponibile all'indirizzo <http://www.electropedia.org/>

### 3.1

**stafilococchi coagulasi-positivi:** Batteri che formano colonie tipiche in un terreno di coltura selettivo (terreno agar al plasma di coniglio e al fibrinogeno).

Nota 1 Le colonie tipiche sono descritte al punto 9.3.

### 3.2

**conta di stafilococchi coagulasi-positivi:** Determinazione del numero di *stafilococchi coagulasi-positivi* (punto 3.1) per grammo, per millilitro, per centimetro quadrato o per dispositivo di campionamento/superficie campionata.

Nota 1 Una superficie campionata è una superficie non definita da una dimensione numerica, per esempio un rubinetto dell'acqua calda, una maniglia della porta.

## 4

### PRINCIPIO

#### 4.1

#### Generalità

Preparazione di una piastra di terreno agar al plasma di coniglio e al fibrinogeno inoculata con una quantità specificata del campione di prova se il prodotto è liquido, oppure con una quantità specificata della sospensione iniziale in caso di altri prodotti.

Inoculazione, alle stesse condizioni, utilizzando diluizioni decimali del campione di prova, seguire il/i procedimento/i in conformità alla ISO 7218.

Nota Il volume di terreno agar al plasma di coniglio e al fibrinogeno da aggiungere all'inoculo è un punto critico per il metodo e la reazione con la coagulasi.

#### 4.2

#### Incubazione

Incubazione in aerobiosi delle piastre da 34 °C a 38 °C ed esame dopo 24 h e, se necessario, dopo 48 h.