



UNIVERSITÀ DEL PIEMONTE ORIENTALE

***L'uso della PCR Real Time per la rilevazione di Escherichia coli STEC, Salmonella spp e Listeria monocytogenes negli alimenti secondo il Reg. (CE) 2073/2005 e sue successive modifiche***

*Relatore:* Prof. Diego COTELLA

*Candidato:* Alberto CAMEDDA  
*Matricola:* 20020113

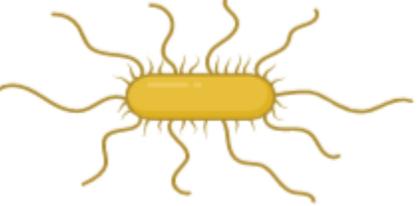
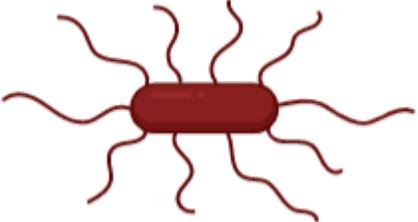
# 1. Introduzione

# 2. Scopo

# 3. Risultati

# 4. Conclusioni



	Escherichia coli STEC
	Salmonella spp
	Listeria monocytogenes



## **REGOLAMENTO (CE) 2073/2005**

- Indica i criteri microbiologici da seguire definendo l'accettabilità dei prodotti alimentari in base alla presenza di microrganismi
- Descrive le norme specifiche per l'analisi ed il campionamento delle varie matrici alimentari
- Ad ogni criterio analitico effettuato è associata una guida per l'interpretazione dei risultati delle prove



1. Introduzione

2. Scopo

3. Risultati

4. Conclusioni

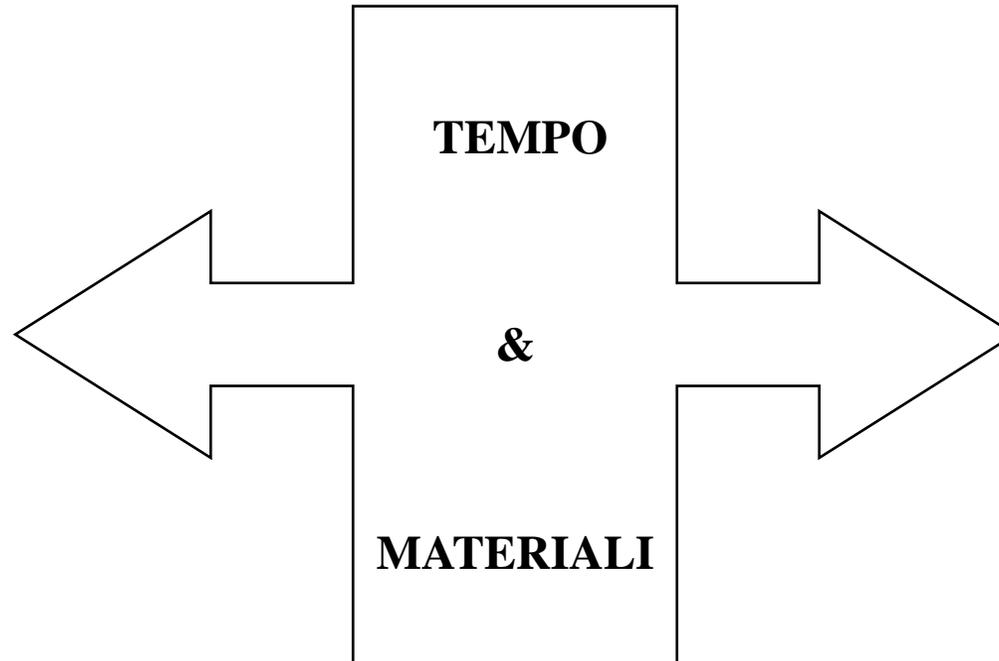
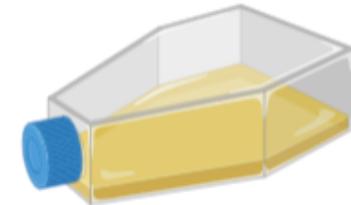


Confronto tra le metodiche in

**PCR REAL TIME**



**TECNICHE COLTURALI  
CLASSICHE**





1. Introduzione

2. Scopo

3. Risultati

4. Conclusioni



### METODO COLTURALE

1° arricchimento



2° arricchimento  
selettivo



Isolamento



Conferma e identificazione

**Non applicabile per E. Coli STEC!**

### PCR REAL TIME

Fase di arricchimento



Estrazione



Amplificazione

CICLI	STEP	TEMPO	TEMPERATURE
1	1	10 minuti	95° C
50	1	15 secondi	95° C
	2	30 secondi	58° C
	3	30 secondi	72° C



# 1. Introduzione

# 2. Scopo

# 3. Risultati

# 4. Conclusioni



CICLI	STEP	TEMPO	TEMPERATURE
1	1	10 minuti	95° C
50	1	15 secondi	95° C
	2	30 secondi	58° C
	3	30 secondi	72° C

- **Stesso** protocollo termico per i 3 batteri in esame
- **Salmonella** ed **E.coli** hanno le medesime fasi di estrazione ed amplificazione



Arricchimento ed estrazione del DNA possono essere eseguite su un'unica porzione del campione permettendo un **risparmio di tempo e di materiale.**



# 1. Introduzione

# 2. Scopo

# 3. Risultati

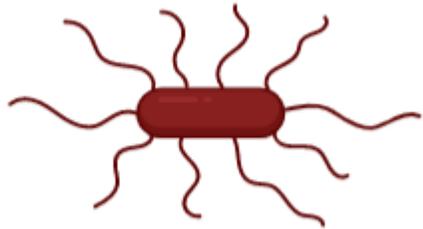
# 4. Conclusioni



E. coli STEC



Campioni positivi PCR	Campioni negativi PCR
0	15

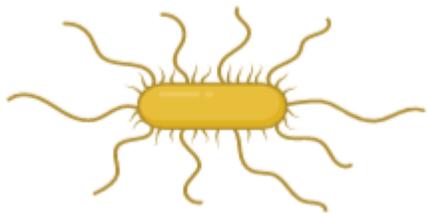


Listeria monocytogenes



Campioni positivi PCR	Campioni negativi PCR
22	116

Nessun campione confermato con metodo colturale

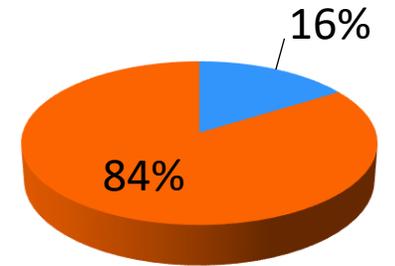


Salmonella

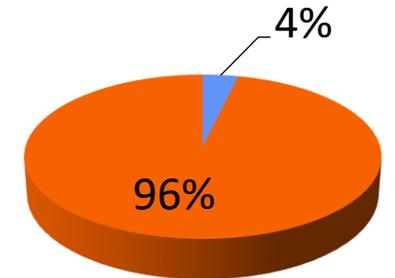


Campioni positivi PCR	Campioni negativi PCR
5	113

1 campione confermato con metodo colturale



■ CP PCR ■ CN PCR





# 1. Introduzione

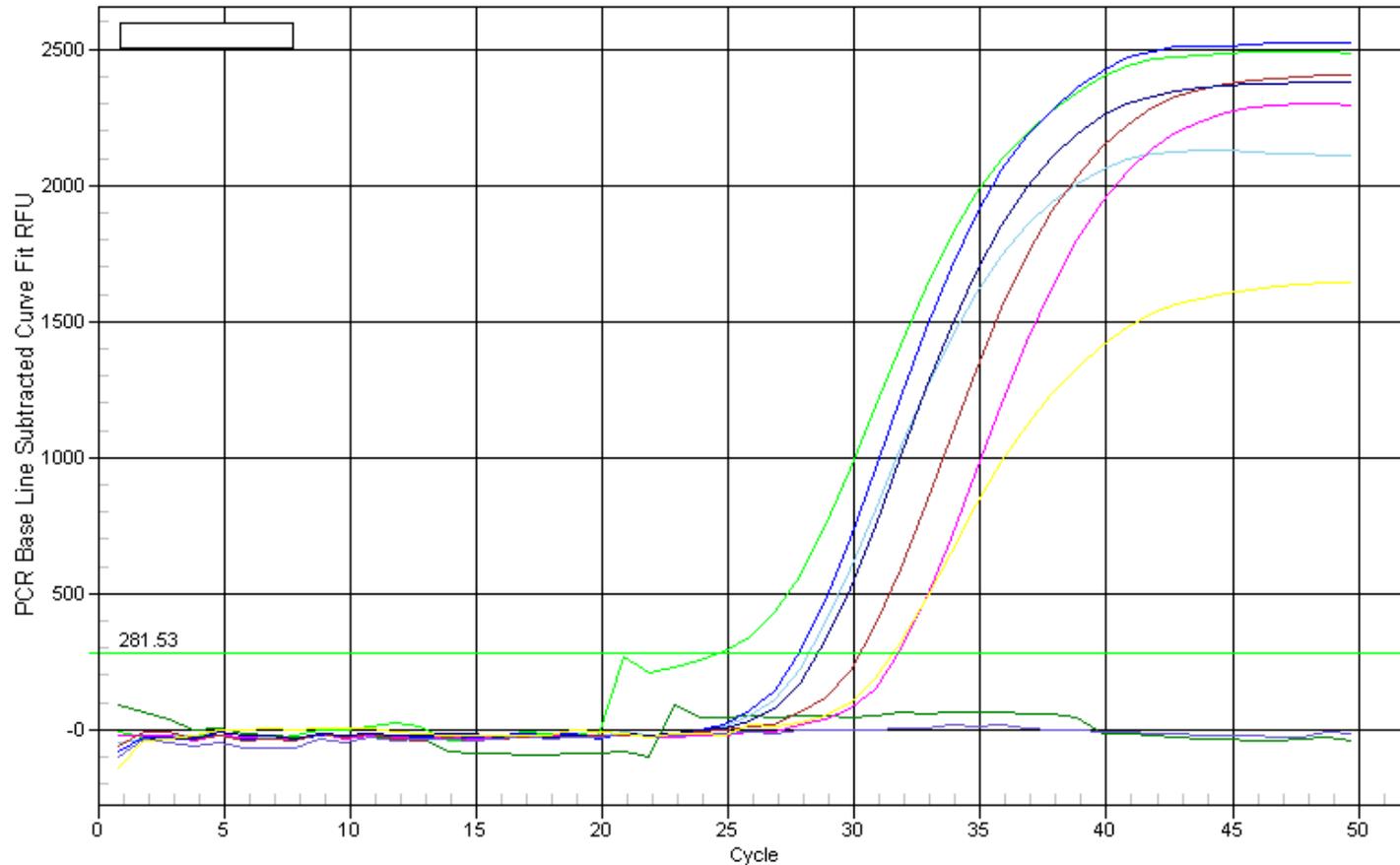
# 2. Scopo

# 3. Risultati

# 4. Conclusioni



Amplification Chart : 5052 Salmonella 27-09-2019.opd



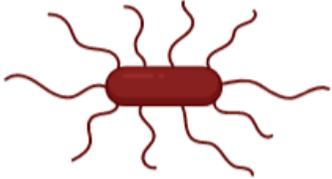
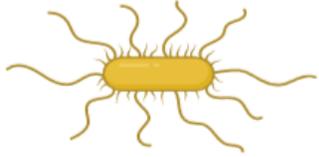
## Campione positivo di Salmonella

- Blue: Ct 27,78
  - Light Blue: Ct 28,18
  - Green: Ct 24,57
  - Magenta: Ct 31,76
  - Brown: Ct 30,23
  - Yellow: Ct 31,54
  - Dark Green: N/A
  - Dark Blue: Ct 28,56
  - Grey: N/A
- Groupings:
- Blue, Light Blue, Green, Magenta, Brown: Campione Salmonella
  - Yellow: Controllo di PCR
  - Dark Green, Dark Blue, Grey: Controllo di processo



# 1. Introduzione    2. Scopo    3. Risultati    4. Conclusioni



	METODO PCR REAL TIME	METODO COLTURALE
Escherichia coli STEC 	Circa 1 giorno	NON APPLICABILE
Listeria monocytogenes 	Circa 1 giorno	Da 5 a 8 giorni
Salmonella 	Circa 1 giorno	Da 4 a 6 giorni





1. Introduzione

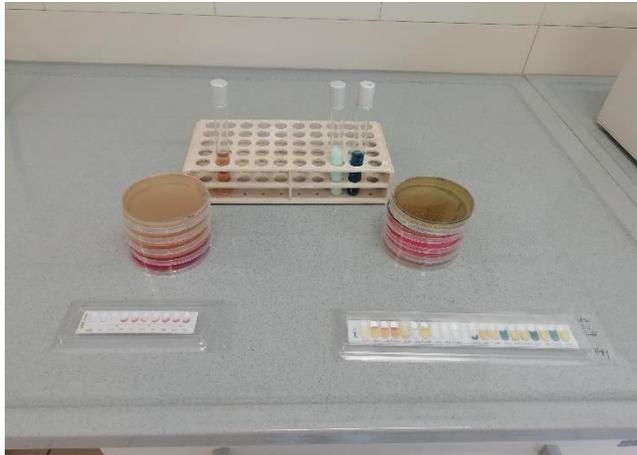
2. Scopo

3. Risultati

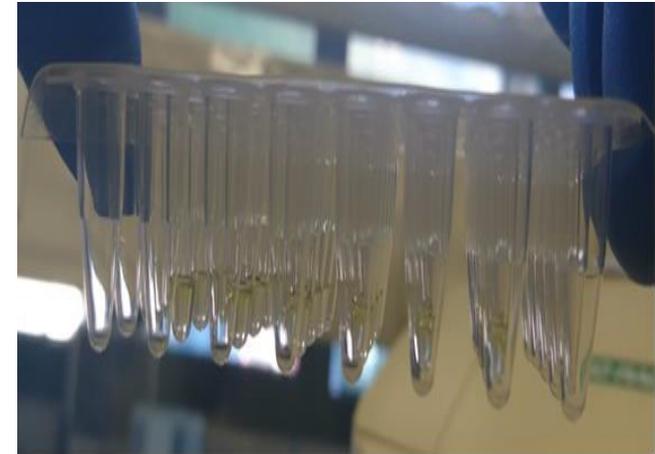
4. Conclusioni



Materiali usati per metodo  
colturale



Materiali usati per analisi di  
PCR Real Time





Grazie per l'attenzione