



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


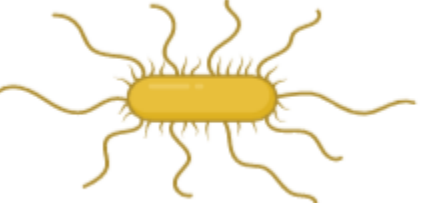
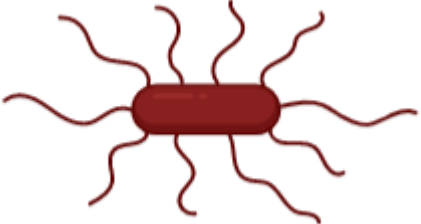
1. Introduzione

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

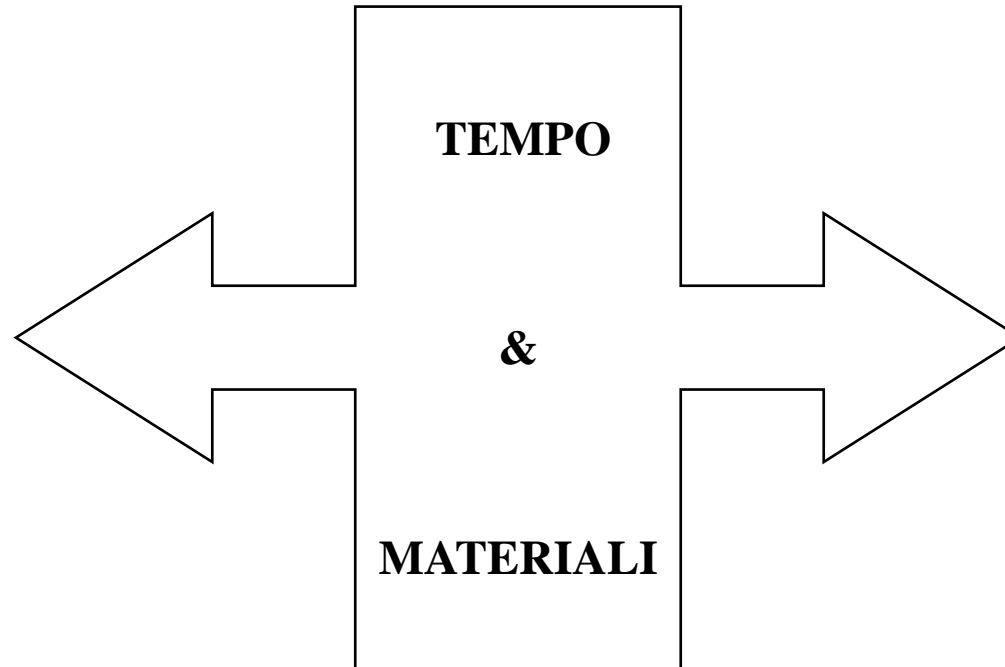
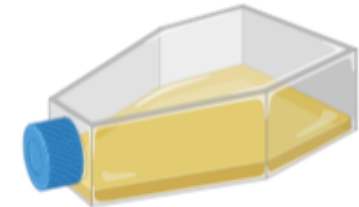


Confronto tra le metodiche in

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

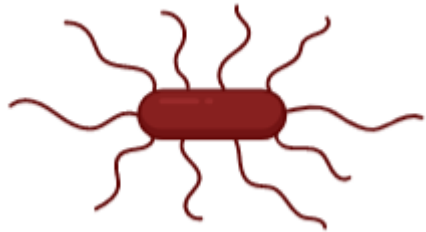
4. Conclusioni



E. coli STEC



Campioni positivi PCR	Campioni negativi PCR
0	15

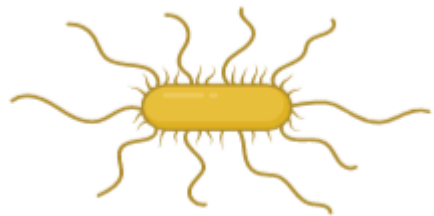


Listeria monocytogenes



Campioni positivi PCR	Campioni negativi PCR
22	116

Nessun campione confermato con metodo colturale

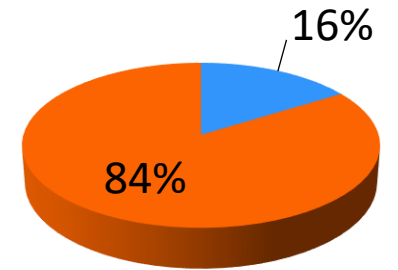


Salmonella

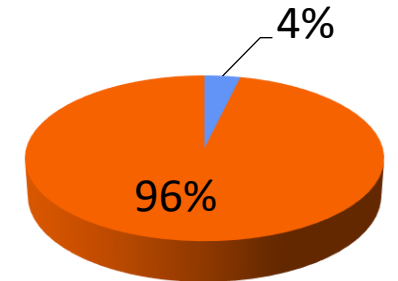


Campioni positivi PCR	Campioni negativi PCR
5	113

1 campione confermato con metodo colturale



■ CP PCR ■ CN PCR





1. Introduzione

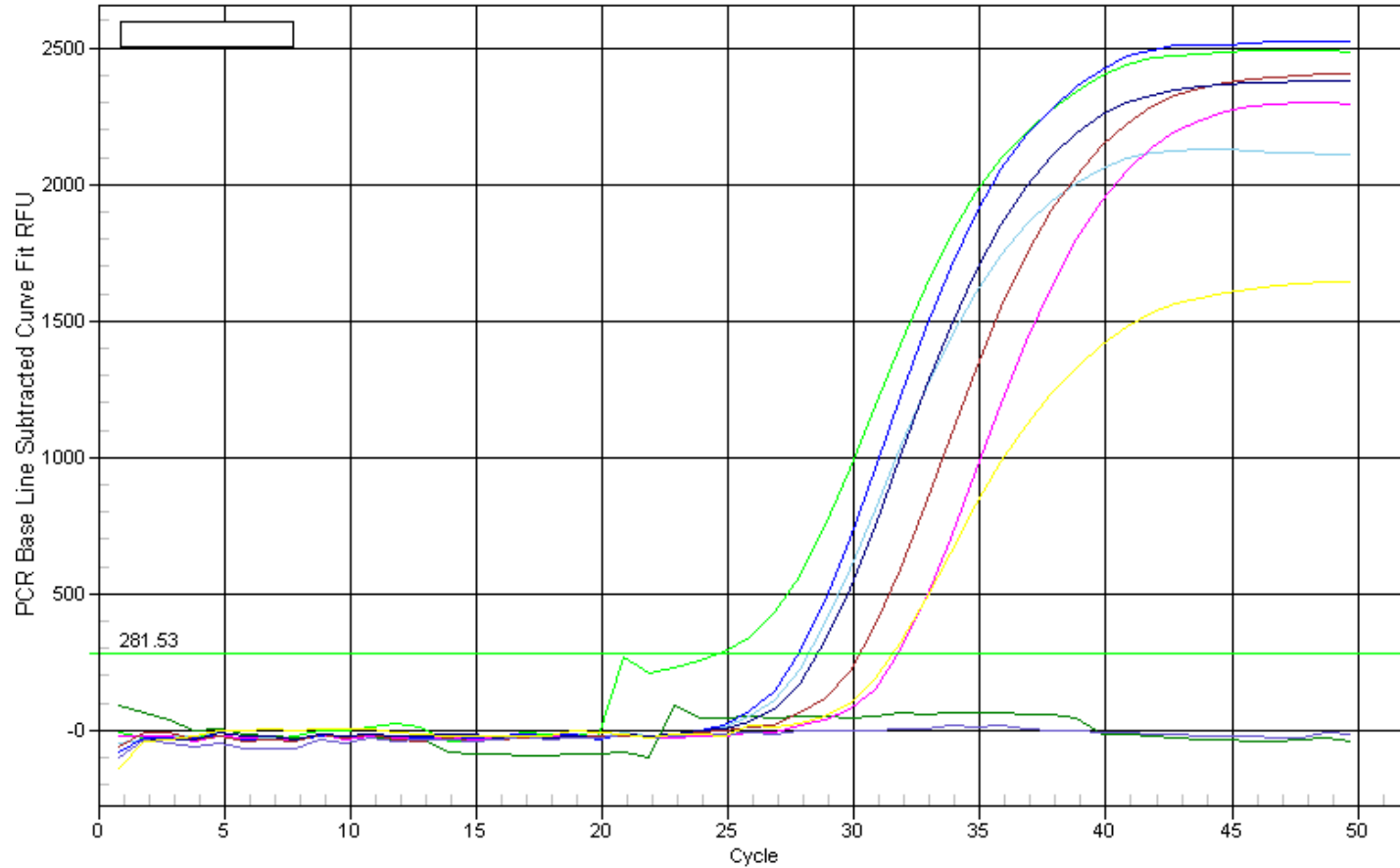
2. Scopo

3. Risultati

4. Conclusioni



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




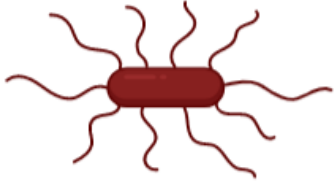
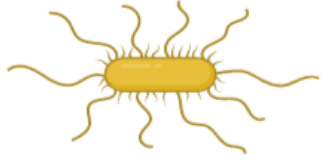
Campione positivo di Salmonella

- 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, Dark Green: Controllo di PCR
 - 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

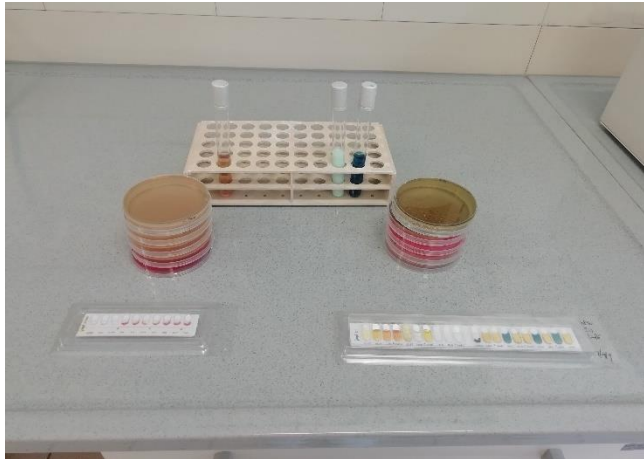
2. Scopo

3. Risultati

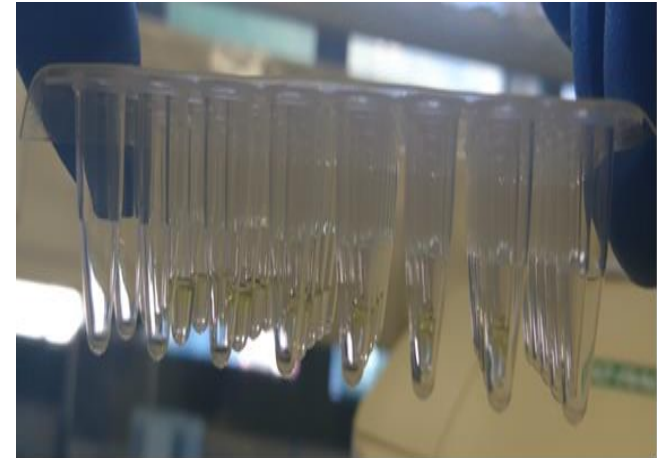
4. Conclusioni



Materiali usati per metodo
colturale



Materiali usati per analisi di
PCR Real Time





Grazie per l'attenzione