

Giugno 2013

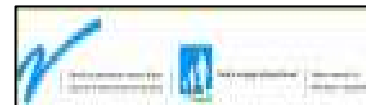
Progetto standard

»Sistema informativo territoriale (GIS) congiunto per la protezione delle risorse d'acqua potabile in casi di emergenza«

con l'acronimo
»GEP«

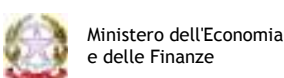
finanziato nell'ambito del Programma per la Cooperazione Transfrontaliera Italia-Slovenia 2007-2013, dal Fondo europeo di sviluppo regionale e dai fondi nazionali.

INTRODUZIONE DEL METODO COLILERT ENTEROLERT PER UN ANALISI MICROBIOLOGICA RAPIDA DELLE ACQUE



Progetto GEP finanziato nell'ambito del Programma per la Cooperazione Transfrontaliera Italia-Slovenia 2007-2013, dal Fondo europeo di sviluppo regionale e dai fondi nazionali.

Projekt GEP Sofinanciran v okviru Programa čezmejnega sodelovanja Slovenija-Italija 2007-2013 iz sredstev Evropskega sklada za regionalni razvoj in nacionalnih sredstev



INTRODUZIONE

Un'acqua potabile sicura ci permette di vivere e rappresenta uno degli elementi fondamentali per la salute. Nonostante l'acqua potabile sia una risorsa preziosa, viene troppo spesso percepita come qualcosa di scontato. Anche l'importanza di una costante e urgente azione preventiva per garantirne la quantità e la qualità viene troppo spesso trascurata.

In termini forali, l'acqua è definita come acqua potabile per i seguenti utilizzi: acqua da bere, cucinare, preparare alimenti, per altri usi domestici e tutta l'acqua utilizzata nella produzione e commercio di prodotti alimentari. L'acqua deve soddisfare i requisiti minimi regolamentari.

Oltre a questo l'acqua è usata anche come divertimento, decorazione, nonché per creare uno stato d'animo.

Durante ogni incontro con l'acqua dobbiamo essere consapevoli del fatto, che la sua funzione attuale è solo una parte del ciclo dell'acqua in natura. Parte di questo ciclo avviene nel nostro corpo, nelle nostre case, nelle fabbriche, ecc. Circolando l'acqua trasporta ed espande sul mondo biotico e abiotico anche sostanze pericolose; veniamo così a contatto con microrganismi, sostanze chimiche, ecc.

I requisiti sanitari pubblici riguardo all'acqua potabile sono: sempre, ovunque, per chiunque, sufficientemente di qualità e a buon prezzo. Per il raggiungimento questi obiettivi è necessario stabilire un approccio sistematico in tutte le seguenti fasi, ossia la progettazione, l'assicurazione e il controllo della fornitura dell'acqua potabile. E necessario integrare gli elementi di tali principi anche nelle norme di legge.

Per il monitoraggio della qualità dell'acqua potabile dividiamo i parametri di controllo in tre gruppi, cioè parametri microbiologici, chimici e fisici. A causa degli effetti acuti più comuni, la più grande attenzione viene data ai suoi parametri microbiologici. Per il rifornimento con acqua potabile abbiamo in Slovenia oltre 1.000 sistemi d'approvvigionamento idrico, che riforniscono più del 90% della popolazione. Come caratteristica possiamo anche citare un gran numero di piccoli sistemi di approvvigionamento idrico, che riforniscono completamente una piccola parte della popolazione. I piccoli sistemi di approvvigionamento idrico hanno spesso delle carenze che si traducono in una scarsa qualità dell'acqua.

METODI MICROBIOLOGICI

Dal 2008 l'Istituto per la protezione della salute Nova Gorica è incluso nell'algoritmo decisionale in caso di pericolo per le fonti d'acqua potabile in situazioni d'emergenza della Protezione civile dei comuni della regione statistica Goriška. I metodi COLILERT ed ENTEROLERT sono adatti per una rapida diagnosi di laboratorio riguardo alla contaminazione microbiologica delle acque potabili e di superficie, il che è particolarmente importante per ottenere risultati rapidi sulla qualità dell'acqua in situazioni d'emergenza. L'introduzione del metodo COLILERT ed ENTEROLERT è essenziale per le attività di risposta rapida dell'Istituto per la protezione della salute Nova Gorica in situazioni di emergenza.

Nella valutazione della qualità microbiologica dell'acqua potabile, il maggior rischio per l'essere umano rappresenta la contaminazione fecale (possibilità di malattie intestinali infettive trasmesse dall'acqua). Nelle feci di animali/ persone ammalate o portatori di tali malattie (persone o animali che non presentano segni di infezione, ma escretano nelle feci le cause della malattia) sono presenti i causatori delle malattie infettive intestinali (Virus - ad esempio virus della poliomielite, virus dell'epatite A, ecc. ; Batteri - ad esempio: salmonella, *Shigella*, ecc. ; Parassiti - ad esempio *Cryptosporidium parvum*, *Lambliia Giardia*, ecc.).

Nelle analisi microbiologiche dell'acqua potabile di routine non verifichiamo la presenza di microrganismi patogeni (causatori di malattie intestinali), perché tali analisi sono generalmente costose, richiedono molto tempo e non hanno sempre successo. Dalla contaminazione fecale al momento del prelievo e l'analisi microbiologica del campione, i batteri patogeni possono scomparire a causa dell'influenza di fattori ambientali. L'inquinamento fecale può essere dimostrato dalla presenza batteri indicatori di contaminazione fecale. Questo gruppo di batteri ha, infatti, caratteristiche simili a quelle dei microrganismi patogeni. Se nell'acqua riscontriamo la presenza di batteri indicatori di contaminazione fecale, possiamo prevedere la presenza o il rischio

di presenza di microrganismi patogeni. I più importanti indicatori di contaminazione fecale sono i batteri *E. coli* ed enterococchi.

La presenza di batteri *E. coli* ed enterococchi nell'acqua indicano con sicurezza la contaminazione fecale e pertanto, costituiscono un rischio per la salute delle persone. Tale acqua quindi non è potabile.

In casi di emergenza per le fonti di acqua potabile (disastri naturali o tecnologici, ecc.), è quindi cruciale determinare al più presto possibile se nell'acqua è presente una contaminazione fecale. I soliti metodi microbiologici referenziali ci danno i risultati in circa 3-5 giorni. Con i metodi rapidi i risultati sono noti in 18 a 24 ore, il che contribuisce in maniera significativa a una più rapida azione e risposta in caso di pericolo per le fonti d'acqua potabile e per la salute degli utenti.

La presenza di un inquinamento fecale si dimostra con la presenza di entrambi gli indicatori di contaminazione fecale: *E. coli* ed enterococchi. Il metodo Colilert è usato per determinare la presenza di batteri *E. coli* e coliformi, il metodo Enterolert per determinare la presenza di batteri enterococchi.

METODI RAPIDI

I due metodi, facenti parte della categoria dei metodi nominati MPN, utilizzano la tecnologia a substrato definito (DST) brevettata. Il media a substrato definito è una formulazione chimica contenente substrati per la specifica individuazione degli enzimi presenti nel gruppo di microrganismi ricercati.

I metodi Colilert e Enterolert non richiedono prove di conferma. Nel confrontare i metodi rapidi con quelli di riferimento si è provveduto ad eseguire il procedimento atto a confermare i microrganismi ricercati.

METODO COLILERT-18

Il **metodo Colilert-18** è basato sulla tecnologia enzimatica batterica che, mediante l'idrolisi del substrato diagnostico batterico fluorogene e cromogene, segnala la presenza di *E.coli* e di batteri coliformi.

Il test Colilert-18 utilizza due indicatori, ONPG (o-Nitrofenile β -D galattopiranozid) e MUG (4-metil-umbelliferil- β -D-glucuronide)

L'indicatore ONPG scioglie mediante l'enzima β -D-galattosidasi i batteri coliformi, la cui presenza è evidenziata dalla colorazione gialla del campione che appare nei pozzetti di prova. La presenza dei batteri coliformi viene confermata dopo un periodo di incubazione di 18 ore ad una temperatura di $36 \pm 2^\circ\text{C}$.

Il substrato MUG viene sciolto dal *Escherichia coli* in combinazione con l'enzima β -D-glucuronide.

Osservato sotto una lampada UV il 4-MU (4-metil-umbelliferil) assume un colore blu fluorescente.

La presenza di *E.coli* viene evidenziata dopo un periodo di incubazione di 18 ore a $36 \pm 2^\circ\text{C}$.

Sensibilità del test: 1 microorganismo in un campione da 100 ml dopo 18 ore.

Il **metodo Colilert-18/Quanti-Tray** viene utilizzato per la conta di batteri coliformi ed *E.coli* presenti in un campione di acqua potabile. Con l'utilizzo della vaschetta **Quanti-Tray** i risultati ottenuti sono compresi tra 1 e 201.

Il **metodo Colilert-18/Quanti-Tray 2000** viene utilizzato per l'isolamento e la conta di batteri coliformi ed *E.coli* presenti in campioni di acqua dall'alta concentrazione di microflora accompagnatrice. Con la vaschetta **Quanti-Tray/2000** i risultati ottenuti sono compresi tra 1 e 2419.

METODO ENTEROLERT

Il **metodo Enterolert** è basato sulla tecnologia enzimatica batterica che mediante l'idrolisi del substrato diagnostico batterico fluorogene e cromogene rileva la presenza di enterococchi.

Il test Enterolert utilizza il substrato-indicatore 4-metil-umbelliferil- β -D-glucoside.

Sfruttando l'enzima β -glucoside gli enterococchi procedono all'idrolisi di questo substrato dal quale viene rilasciato il 4-metilumbelliferone che, osservato sotto una lampada UV, risulta fluorescente. La presenza di enterococchi viene evidenziata dopo un periodo di incubazione di 24 ore a $41\pm 0,5^\circ\text{C}$ se i pozzetti esposti a lampada UV diventano fluorescenti.

Sensibilità del test: 1 microrganismo in un campione da 100 ml dopo 24 ore.

Il **metodo Enterolert/Quanti-Tray** viene utilizzato per l'isolamento e la conta di enterococchi presenti in campioni di acqua potabile. Con la **vaschetta Quanti-Tray** i risultati ottenuti sono compresi tra 1 e 201.

Il **metodo Enterolert/Quanti-Tray/2000** viene utilizzato per l'isolamento e la conta di enterococchi presenti in campioni dall'alta concentrazione di microflora accompagnatrice. Con la **vaschetta Quanti-Tray/2000** i risultati ottenuti sono compresi tra 1 e 2419.

METODI DI RIFERIMENTO

I metodi utilizzano la filtrazione su membrana per un determinato volume di campione, l'incubazione del filtro in terreno di coltura selettivo e l'identificazione biochimica di colonie tipiche. Il campione sottoposto a test viene filtrato su un filtro a membrana con pori di dimensioni tali ($0,45\ \mu\text{m}$) da trattenere i batteri presenti nell'acqua. Successivamente il filtro viene posizionato su adeguato terreno di coltura ed incubato in condizioni scelte. Una volta sviluppate sulla membrana le colonie vengono contate. Scegliere il grado di diluizione del campione tale in modo che con un filtro del diametro compreso tra i 47 mm e 50 mm si sviluppino da 10 a 100 colonie.

È di primaria importanza che i risultati ottenuti vengano poi verificati, interpretati o rigettati da un microbiologo. Il calcolo dei risultati viene effettuato quando, in caso di filtrazione con membrana, sulla piastra si sono sviluppati microrganismi in un numero compreso tra 10 e 100 unità. Il risultato viene espresso in CFU/ml.

SIST EN ISO 9308-1:2001

SIST EN ISO 9308-1:2001/ AC:2009 (test standard)

Il metodo viene utilizzato per l'isolamento e la conta di batteri coliformi ed *E.coli* presenti in campioni di acqua.

Esso prevede la filtrazione su membrana di un determinato volume di campione, l'incubazione del filtro su terreno di coltura Tergitol-7 agar e l'identificazione biochimica delle tipiche colonie lattosio-positivo al fine di verificare la presenza ed il numero di batteri coliformi e *E.coli* nell'arco di 2-3 giorni.

I **batteri coliformi** sono batteri in grado di formare colonie aerobicamente entro 21 ± 3 ore alla temperatura di $36\pm 2^\circ\text{C}$ su un terreno colturale selettivo e differenziale contenente lattosio con produzione di acido. Sono ossidasi negativi.

Gli ***E. coli*** sono batteri coliformi in grado di produrre indolo dal triptofano a $44,0\pm 0,5^\circ\text{C}$ entro 21 ± 3 ore e producono l'enzima β -glucuronidasi.

Applicare le colonie, sviluppate su Tergitol-7, su KA non selettivo, acqua triptonata, VRBA e TBX. Sulle colonie ottenute su KA ed incubate a $36\pm 2^\circ\text{C}$ per 21 ± 2 ore effettuare la prova di ossidasi. Per la prova indolo aggiungere il reattivo Kovacs dopo l'incubazione a $44,0\pm 0,5^\circ\text{C}$ per 21 ± 3 ore. Lo sviluppo di una colorazione rosso-ciliegia sulla superficie del terreno colturale conferma la produzione di indolo.

Il terreno colturale VRBA viene utilizzato per confermare la presenza di colonie lattosio positive, le quali compaiono sotto forma di colonie rotonde di colore rosa eventualmente contornate da un alone rosa.

Su terreno agar TBX incubato a $44\pm 0,5^\circ\text{C}$ per 21 ± 3 ore effettuare la prova di β -glucuronidasi.

Paragonando il metodo COLILERT con il metodo di riferimento è stata ulteriormente confermata la presenza di batteri coliformi con terreno contenente ONPG che consente di corroborare la presenza di β -galattosidasi. Incubare il terreno contenente ONPG a $36\pm 2^\circ\text{C}$ per 18-22 ore. Considerare la comparsa di una colorazione gialla del terreno colturale come reazione positiva.

METODO SIST EN ISO 7899-2:2000

Il metodo viene utilizzato per l'isolamento e la conta di enterococchi presenti in campioni di acqua. Il metodo si fonda sulla filtrazione su membrana di una determinata quantità di campione, sull'incubazione del filtro in terreno colturale selettivo contenente azide sodica e 2,3,5 – trifenil tetrazolio cloruro, sulla conferma di colonie tipiche trasferendo il filtro su una piastra di Bile Esculin Azide agar -ABBA e sull'identificazione delle colonie tipiche al fine individuare la presenza ed il numero di enterococchi.

Gli enterococchi sono batteri che riducono il 2,3,5-trifenil tetrazolio cloruro-colorante incolore a formazione di colore rosso su terreno selettivo membrana-filtro Enterococcus selettiva agar rispetto al terreno di Slanetz and Bartley (m-enterococcus) ed idrolizzano l'esculina a 44°C su terreno Bile Esculin Azide agar (ABAA).

Dimostrazione del procedimento di verifica dei campioni di acqua potabile ed acque di superficie mediante i metodi rapidi nonché paragone con i metodi di riferimento

GIORNO 1

Metodi rapidi COLILERT e ENTEROLERT

Per l'analisi dei campioni si necessita di:

un campione di acqua potabile o di superficie
una provetta graduata IDEXX

reattivo Colilert IDEXX o reattivo Enterolert IDEXX
vaschetta Quanti-Tray/2000 per campioni di acque di superficie o

vaschetta Quanti-Tray per campioni di acqua potabile.

base in gomma per la vaschetta Quanti-tray

IDEXX Quanty Tray Sealer

Incubatore – utilizzo a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ (Coliort)

Incubatore - utilizzo a $41 \pm 0,5^\circ\text{C}$ (Enterolert)

Fornello



Immagine 1: ampolla graduata, Quanti-Tray e campione d'acqua



Immagine 2: Reattivi Colilert e Enterolert, ampolle, Quanti-Tray e campioni di acqua

Mescolare bene il campione di acqua. Versare 100 ml di campione in un'ampolla graduata sterile e rimestare bene. Per rilevare un numero maggiore di batteri presenti nel campione versare nell'ampolla 10 ml oppure aggiungere ad 1 ml di campione 100 ml di acqua deionizzata.



Immagine 3: versare il campione nell'ampolla graduata

Aggiungere il reattivo IDEXX Colilert o IDEXX Enterolert e mescolare fino a completo dissolvimento dello stesso.



Immagine 4: aggiungere il reattivo



Immagine 5: reattivo Enterolert



Immagine 6: reattivo Colilert

Versare la sospensione dell'ampolla nella **vaschetta Quanti-Tray/2000** per campioni di acqua di superficie o nella vaschetta **Quanti-Tray** per campioni di acqua potabile.



Immagine 7: mescolare bene



Immagine 8: Versare la sospensione in

Premere lievemente sui pozzetti per 2-3 volte in modo da far fuoriuscire le bolle d'aria intrappolate, dopo di che posizionare **Quanti-tray sulla base di gomma** e fissarla alla sigillatrice **Quanti-tray Sealer**.



Immagine 9: posizionare Quanti-tray sulla base di gomma



Immagine 10: Quanti Tray Sealer e base di gomma per Quanti Tray



Immagine 11: base di gomma per Quanti Tray/2000 e Quanti Tray/2000



Immagine 12, 13, 14: saldare la vaschetta Quanti-tray

Incubare la vaschetta saldata **Quanti-Tray Colilert** ad una temperatura di $36 \pm 2^\circ\text{C}$ per 18-22 ore, Enterolert per 24 ore a $41 \pm 0,5^\circ\text{C}$, se necessario è possibile prolungare il periodo di incubazione per 4 ore.



Immagine 15, 16: Incubazione della vaschetta Quanti-Tray nell'incubatore

**Metodi di riferimento SIST EN ISO 9308-1:2001
SIST EN ISO 9308-1:2001/ AC:2009 (test standard)
e SIST EN ISO 7899-2:2000**

Per l'analisi dei campioni si necessita di:
un campione di acqua potabile o di superficie

Terreni colturali:

Tergitol 7 agar -T7
o membrana-filtro enterococco
selettivo agarizzato
in conformità con terreno di Slanetz and Bartley
m-enterococcus

Apparecchiature

Incubatore - utilizzo a $36 \pm 2^\circ\text{C}$
Apparecchio per la filtrazione su membrana,
Pinzetta con punta arrotondata per il
trasferimento dei filtri
Filtri per la filtrazione su membrana



Immagine 17: Apparecchiatura per il filtraggio su membrana

100 ml di campione prefiltrato. Per le acque superficiali filtrare ulteriori 10 ml ed 1 ml di campione, in seguito aggiungere acqua deionizzata fino a raggiungere 100 ml.



Immagine 18: distributore di membrane



Immagine 19: posizionare il filtro sul supporto dell'apparecchiatura



Immagine 20: collocare l'imbuto sul supporto

Collocare il filtro su terreno selettivo T-7, procedere ad incubazione a temperatura $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 21 \pm 3 ore e prolungare il periodo di incubazione a 44 ± 4 ore oppure in caso di terreno m-enterococcus incubare per $44\text{ore} \pm 4$ ore a temperatura $36^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$.



Immagine 21: versare il campione nell'imbuto



Immagine 22: Collocare il filtro su terreno T-7



Immagine 23: Collocare il filtro su m-enterococcus

GIORNO 2

Metodo COLILERT:

Apparecchiature>

cabina UV

Terreni colturali:

Violet Red Bile Lactose agar-VRBA

TBX agar

agar sangue -KA

aghi

Metodo ENTEROLERT:

Apparecchiature:

cabina UV

Terreni colturali:

agar sangue -KA

Bile Esculin Azide agar - ABAA

Aghi

COLILERT: La presenza dei batteri coliformi viene confermata dalla colorazione gialla nei pozzetti di verifica, dei batteri *E. coli* dalla colorazione blu fluorescente se osservati sotto una lampada UV.

ENTEROLERT: La presenza di enterococchi viene evidenziata mediante la fluorescenza dei pozzetti osservati sotto una lampada UV.

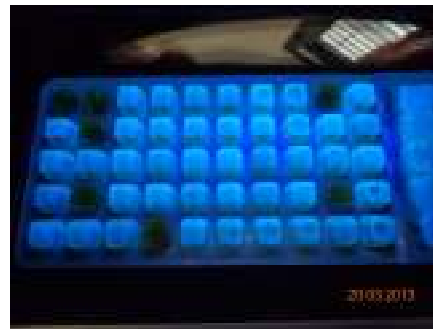


Immagine 24, 25: Colilert: Quanti-Tray dopo l'incubazione



Immagine 26, 27: Colilert: Quanti-Tray/2000 dopo l'incubazione

Immagine 28: Colilert Quanti-Tray/2000 nella cabina UV



Figura 29, 30: Enterolert: Quanti-Tray (a sinistra) e Quanti-Tray /2000 (a destra) dopo l'incubazione sotto la luce UV

Consultando la tabella per l'indice MPN si procede alla lettura del numero più probabile di batteri coliformi, *E. coli* ed enterococchi. Riportare i risultati nel modulo.

Il retro della vaschetta Quanti-tray va in seguito disinfettato con dell'alcol al 70 %.

COLILERT: contrassegnare i 5 campi che hanno assunto la colorazione gialla ed i 5 campi che producono fluorescenza se osservati sotto la lampada UV. Pungere il pozzetto di prova con l'ago e trasferire una goccia ovvero 30-50 μ l di sospensione su terreno KA ($36 \pm 2^\circ\text{C}$ per 21 ± 2), VRBA e su terreno TBX ($44,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ per 21 ± 3 ore).

ENTEROLERT: Contrassegnare i 5 campi che producono fluorescenza se osservati sotto la lampada UV, pungere il pozzetto di prova e trasferire una goccia ovvero 30 do 50 μ l di sospensione su terreno KA e ABAA
Incubare ABAA a $44^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$ per 21 ± 2 ore, mentre KA a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ per 21 ± 2 ore.

**Metodo: Metodo SIST EN ISO 9308-1:2001
SIST EN ISO 9308-1:2001/ AC:2009 (test standard)**

Terreni colturali:

Acqua triptonata
Violet Red Bile Lactose agar-VRBA
TBX agar
agar sangue -KA
ONPG

Esaminare i filtri e contare tutte le colonie con colorazione gialla come colonie lattosio-positive. Dopo aver prolungato l'incubazione di tutte le capsule di Petri a 44 ± 4 ore, esaminare nuovamente il filtro e procedere alla conta delle colonie tipiche.



Immagine 31: terreno colturale T-7 dopo l'incubazione

Applicare almeno 5 colonie tipiche su terreno non selettivo KA ($36 \pm 2^\circ\text{C}$ per 21 ± 2), acqua triptonata ($44,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ per 21 ± 3 ore), ONPG ($36 \pm 2^\circ\text{C}$ per 18-22 ore), VRBA ($36 \pm 2^\circ\text{C}$ per 21 ± 2 ore) e TBX incubato ($44 \pm 0,5^\circ\text{C}$ per 21 ± 3).

Metodo: SIST EN ISO 7899-2:2000

Esaminare le piastre e trascrivere il numero di colonie tipiche di massima. Incubare le piastre a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ per 44 ± 4 ore.

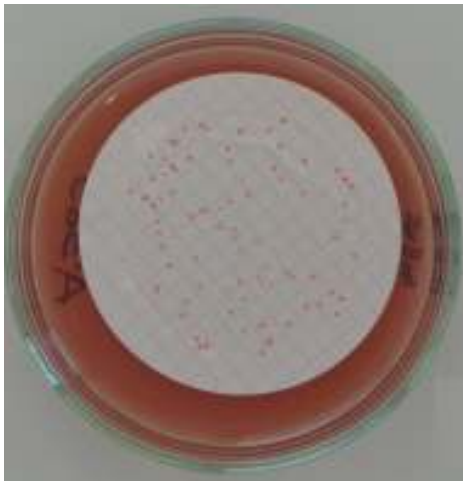


Immagine 32: terreno m-enterococcus dopo l'incubazione

GIORNO 3

Metodo COLILERT:

Reattivi e terreni colturali:

Reattivo ossidasi

Acqua triptonata

ONPG

Conteggiare i subterreni, sulle colonie su KA effettuare la prova ossidasi, suddividere in seguito l'acqua triptonata e il terreno colturale ONPG.

Metodo SIST EN ISO 9308-1:2001

SIST EN ISO 9308-1:2001/ AC:2009 (test standard):

Reattivi:

Reattivo ossidasi

Reattivo Kovacs

Leggere i subterreni.

Per la prova indol aggiungere, dopo un'incubazione a 21 ± 3 , 10-15 gocce di reattivo Kovacs'.

Sulle colonie su KA eseguire la prova ossidasi. I batteri coliformi sono ossidasi-negativi.

Esaminare nuovamente le piastre T-7 e conteggiare le colonie confermandone il numero, se necessario.



Immagine 33: sinistra-prova ossidasi positiva; destra-prova ossidasi negativa



Immagine 34: sangue agar dopo incubazione con sviluppo di colonie *E. coli*



Immagine 35: coltura VRBA dopo incubazione con sviluppo di colonie *E. coli*



Immagine 36: terreno TBX dopo incubazione con sviluppo di colonie *E. coli*

Metodo ENTEROLERT: Leggere i subterreni.



Immagine 37: Metodo ENTEROLERT; terreni ABBA e KA dopo incubazione con sviluppo di enterococchi

Metodo SIST EN ISO 7899-2:2000:

Terreni colturali:

Bile Esculin Azide agar - ABAA

Apparecchiature

Incubatore – utilizzo a $44,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$

Trasferire il filtro su terreno ABAA preriscaldato a 44°C ed incubare per 2 ore a $44^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$, poi procedere alla lettura del risultato. Si considerano tipiche le colonie presenti su terreno circostante dal colore giallo-nero. Conteggiare le colonie tipiche.

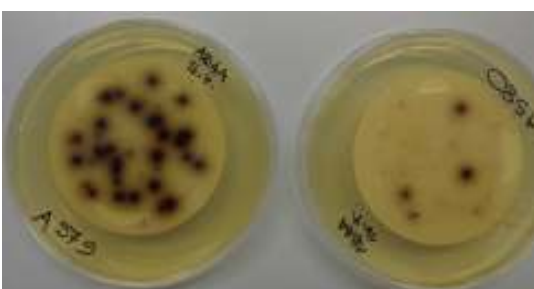


Immagine 38: Metodo SIST EN ISO 7899-2:2000; terreno ABAA dopo incubazione con colonie tipiche di enterococchi

GIORNO 4

Metodo COLILERT:

Reattivi:

Reattivo Kovacs

Leggere l'acqua triptonata e le colture ONPG.



Immagine 39: **Acqua triptonata** dopo incubazione con reazione Kovacs' (anello colore ciliegia) e reazione negativa



Immagine 40: test ONPG positivo (terreno con colorazione gialla)

Fonte delle fotografie: Archivio ZZV Nova Gorica, Laboratorio per la microbiologia sanitaria; 2013.