

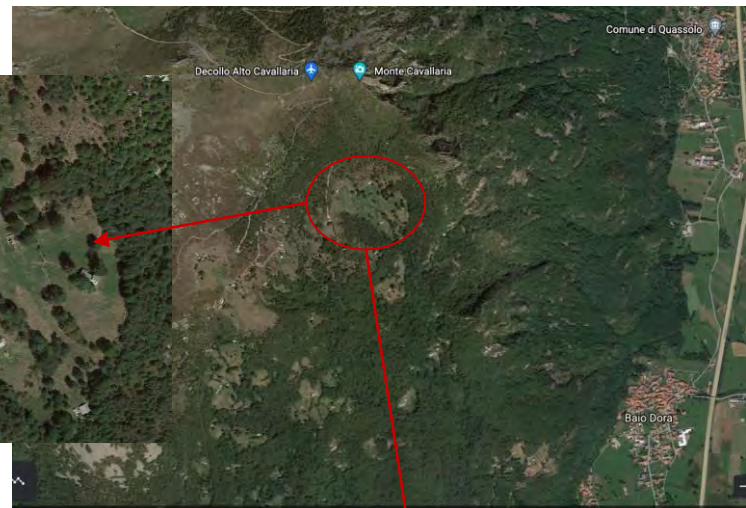
Analisi microbiologica del latte crudo



Scuola estate 2021
IIS P. Martinetti
prof.sse Linda Babini & Marzia Andreotti

Latte Crudo d'alpeggio

Valchiusella, Brosso, monte
Cavallaria a 1400m

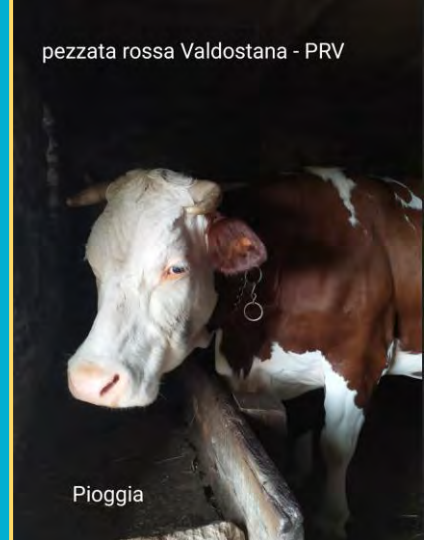




Fiurinà

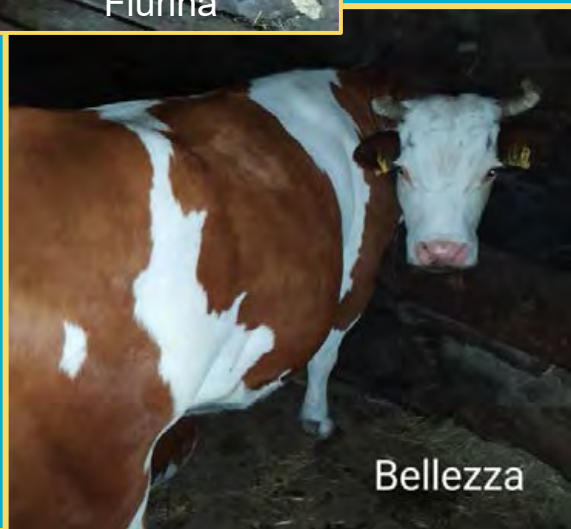


Milva



pezzata rossa Valdostana - PRV

Pioggia



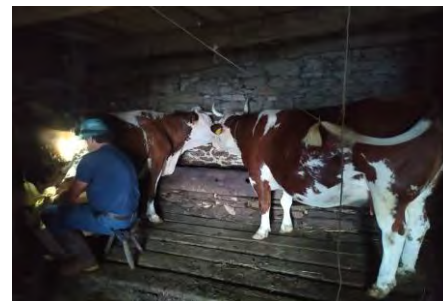
Bellezza

Le nostre 5 vacche da latte



Furba

Latte Crudo d'alpeggio per la produzione di Toma



Regolamento CE n° 853 del 2004

10.1 LATTE CRUDO DESTINATO AL CONSUMO UMANO DIRETTO (previa bollitura)

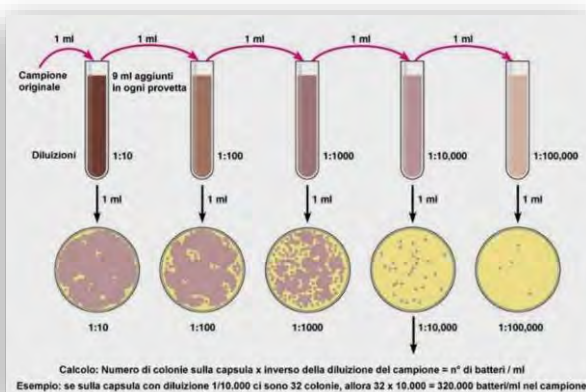
PARAMETRI	METODO	NORMA DI RIFERIMENTO*	VALORI GUIDA CONSIGLIATI (ufc/g)					NOTE
			Sodd.	Acc.	Non Sodd.	Potenz. dannoso	Riferimenti	
Stafilococchi coagulasi positivi	ISO 6888-1		$<10^2$ (n=5; c=2)	$10^2 \leq x < 5 \times 10^2$ (n=5; c=2)	$\geq 5 \times 10^2$ (n=5; c=2)	$\geq 10^5$ e SET(+)	Circolare regionale n. 5531 del 17/02/2009	Al momento dell'erogazione. Ricerca di enterotossine stafilococche sui ceppi isolati e dal latte qualora si superi il limite di 10^5 ufc/ml
			$<5 \times 10^2$ (n=5; c=2)	$5 \times 10^2 \leq x < 2 \times 10^3$ (n=5; c=2)	$\geq 2 \times 10^3$ (n=5; c=2)	$\geq 10^5$ e SET(+)	Intesa Stato-Regioni REP. N. 5/CSR del 25/01/2007	Al momento dell'erogazione.
Salmonella spp.	ISO 6579	Assente in 25 ml (n=5, c=0) L.283/1962, art.5 C.P. art. 444	Assente in 25 ml (n=5; c=0)		Presente in 25 ml (n=5; c=0)	Presente	Intesa Stato-Regioni REP. N. 5/CSR del 25/01/2007	Al momento dell'erogazione.
Listeria monocytogenes	ISO 11290-1		Assente in 25 ml (n=5; c=0)		Presente in 25 ml (n=5; c=0)	Presente	Intesa Stato-Regioni REP. N. 5/CSR del 25/01/2007	Al momento dell'erogazione.
	ISO 11290-2		≤ 10 ufc/g (n=5, c=0)		>10 ufc/g (n=5, c=0)		Piano Regione Piemonte latte crudo (2012)	Al momento dell'erogazione.
Campylobacter spp. termotolleranti	ISO 10272-1		Assente in 25 ml (n=5; c=0)		Presente in 25 ml (n=5; c=0)	Presente	Intesa Stato-Regioni REP. N. 5/CSR del 25/01/2007	Al momento dell'erogazione.
	ISO 10272-2		≤ 10 ufc/g (n=5, c=0)		>10 ufc/g (n=5, c=0)		Piano Regione Piemonte latte crudo (2012)	Al momento dell'erogazione.
Escherichia coli O157 (e altri STEC)	AFNOR BIO 12/8 - 07/00; EU-RL (POMIZA01.002)	Assente in 25 ml (n=5, c=0) L.283/1962, art.5 C.P. art. 444	Assente in 25 ml (n=5; c=0)		Presente in 25 ml (n=5; c=0)	Presente	Intesa Stato-Regioni REP. N. 5/CSR del 25/01/2007	Al momento dell'erogazione.

LINEE GUIDA PER L'ANALISI DEL RISCHIO NEL CAMPO DELLA MICROBIOLOGIA DEGLI ALIMENTI

Analisi condotte in laboratorio dell'IIS- P. Martinetti

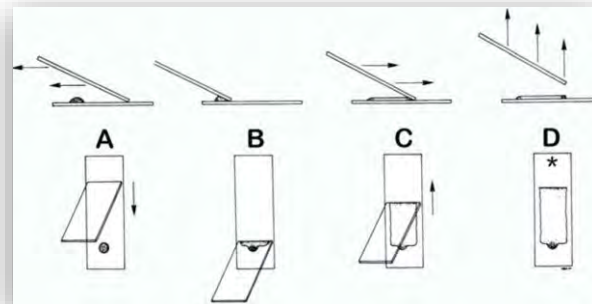
● Ricerca quantitativa indiretta

- Carica microbica mesofila
- Coliformi totali e Escherichia coli
- Staphylococcus aureus



● Ricerca quantitativa diretta

- Test Reduttasi
- Osservazione al microscopio di
 - Batteri -> Gram
 - Leucociti -> Giemsa



Carica Microbica

La carica microbica del latte, prevalentemente costituita da batteri, risulta un fattore di primaria importanza igienico-sanitaria, dato che l'alimento è facilmente deteriorabile ed è potenziale fonte di malattie infettive.

Per il latte che si presume contenga **pochi batteri**, il **metodo di inclusione in piastra** risulta più sensibile e dà i risultati più precisi, mentre per il **latte ad alta carica batterica** è preferibile usare il metodo della **conta microbica diretta**.

Entrambi i metodi sono indicativi di come il latte è stato raccolto, trattato e immagazzinato; si tratta di informazioni estremamente significative da un punto di vista igienico-sanitario.



Test Reduttasi

Questo metodo fornisce solo indicazioni approssimative, ma può dare velocemente un'idea delle condizioni igieniche di un campione di latte.

Esso è basato sulla facoltà dei microrganismi di abbassare il potenziale d'ossidazione del mezzo in cui si trovano in conseguenza delle loro attività metaboliche (consumo d'ossigeno e produzione di sostanze riducenti).

L'aggiunta di un indicatore redox (per esempio il blu di metilene o la resazurina) indica, con il suo cambiamento di colore, lo stato d'ossidazione o riduzione del mezzo.

RESAZURINA

VIOLA

ROSA

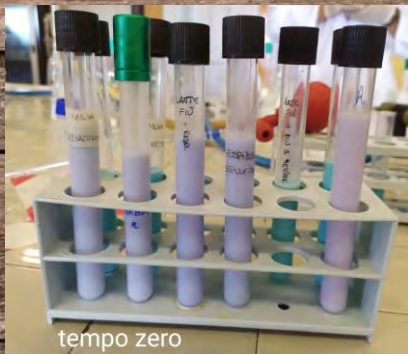
BLU DI METILENE

BLU

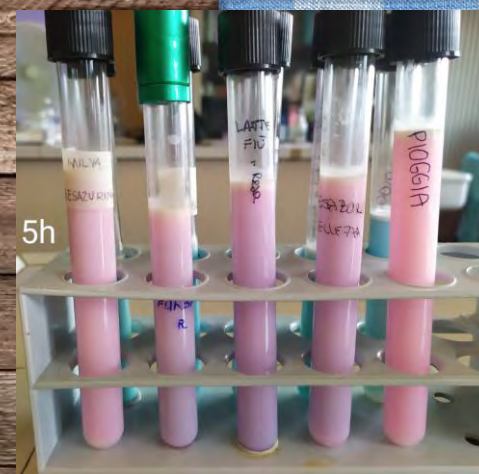
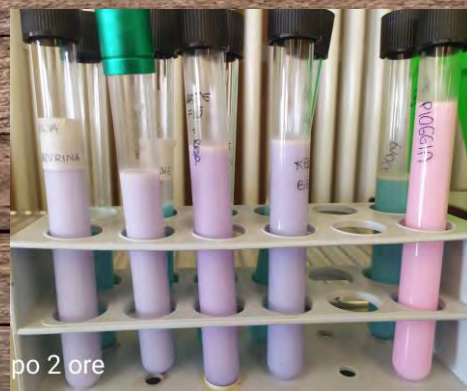
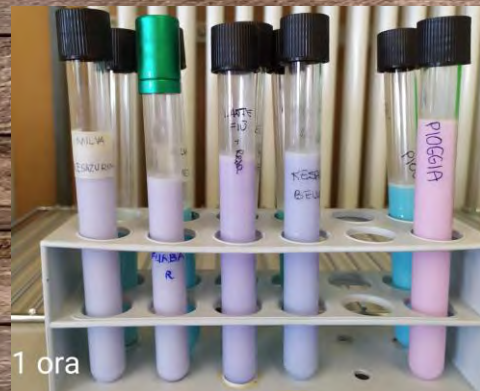
INCOLORE

Tabella 19: Qualità del latte in base al tempo di riduzione

Tempo di riduzione	Giudizio
> 6 ore	Ottimo
4 – 6 ore	Buono
2 – 4 ore	Mediocre
< 2 ore	Cattivo



RESAZURINA	PIOGGIA	MILVA	FIURINA'	BELLEZZA	FURBA
1h	+	-	±	-	-
2h	rosa	-	+	-	-
3h	+	+	+	+	+
4h	+	+	+	+	+
5h	+	rosa	lilla	rosa	lilla/rosa
over night					
QUALITA'	mediocre	buona	ottima	buona	ottima
n° germi /ml	50000 - 100000	1000 - 50000	< 1000	1000 - 50000	< 1000



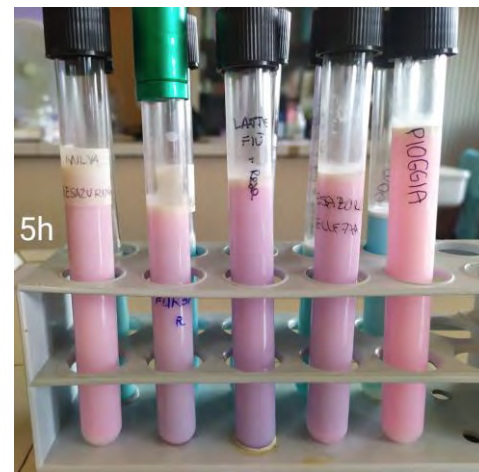


BLU METILENE	PIOGGIA	MILVA	FIURINA'	BELLEZZA	FURBA
1h	-	-	-	-	-
2h	-	-	-	-	-
3h	-	-	-	-	-
4h	±	-	-	-	-
5h	+	-	-	-	-
over night	bianco	bianco	bianco	bianco	bianco
QUALITA'	buono	ottimo	ottimo	ottimo	ottimo
n° germi /ml	50000 - 100000	< 1000	< 1000	< 1000	< 1000



Confronto carica microbica tra i due test rapidi

	Pioggia	Milva	Furba	Fiurinà	Bellezza
Resazurina	mediocre	buono	ottimo	ottimo	buono
Blu di metilene	buono	ottimo	ottimo	ottimo	ottimo



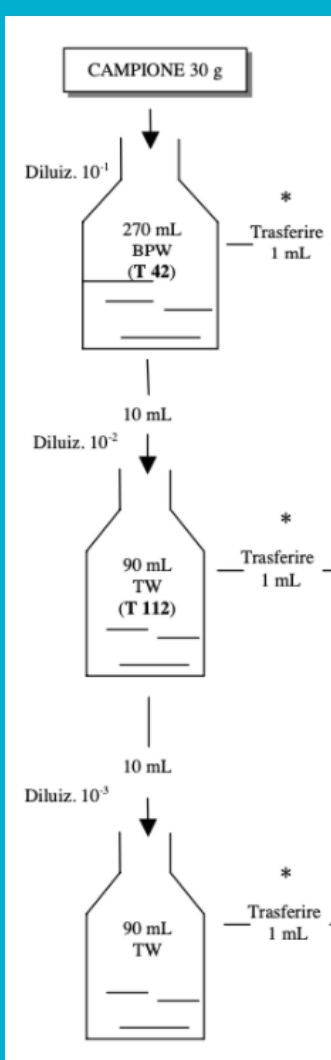


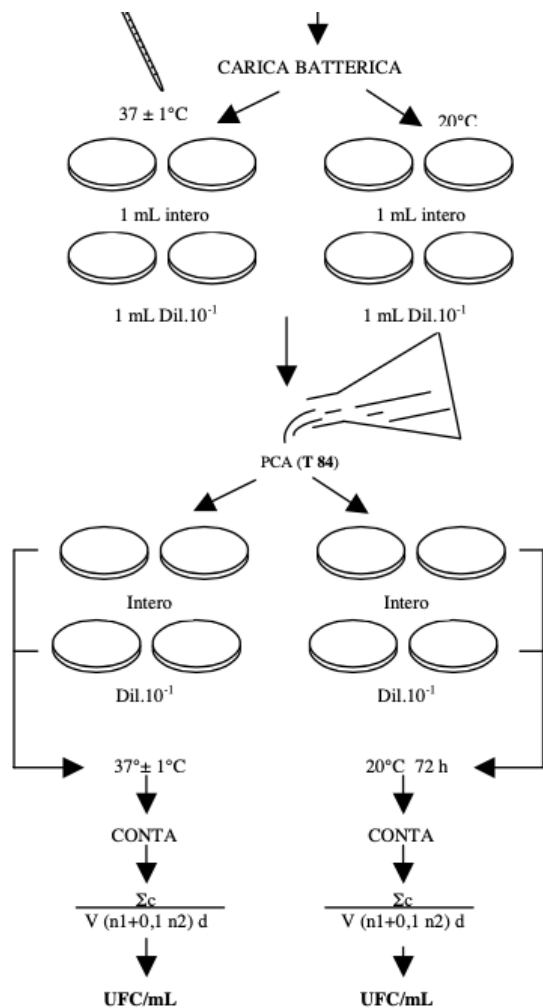
Allestimento delle diluizioni del Latte Crudo

Sospendere i microrganismi

Omogenizzare la soluzione per rendere
l'aliquota rappresentativa

Usare diluente isotonico che non
stressi le cellule





Carica Microbica Mesofila a 37 gradi C

Semina per inclusione del campione diluito

10, 100, 1000, 10000, 100000 e 1000000 volte.

Attenzione a omogeneizzare campione e terreno fuso!!!

Attenzione alla temperatura del terreno fuso!!!

troppo bassa = si solidifica e non si omogenizza bene

troppo alta = uccide i microbi più debilitati e sensibili

I batteri. mesofili si moltiplicano a temperature di 20-45°C (37°C). Elevato tasso di crescita e proliferazione relativamente breve (fase stazionaria 24-48 ore). Trattasi per la maggior parte di saprofiti anche se non mancano specie comuni e patogene sia per l'uomo che per gli animali.



Conteggio delle Colonie

Determinare il numero di UFC/mL

Vacca	CBM	RANGE DI VALORI	Giudizio Qualità	
Bellezza	1350 UFC/mL	$\leq 10^3$ UFC/mL	Ottimo/ Buono	Latte conforme
Pioggia	150 UFC/mL		Ottimo errori durante l'analisi	Latte conforme
Fiurinà	23350 UFC/mL	$10^3 > x \leq 5 \times 10^5$ UFC/mL	Buono	Latte conforme
Furba	21150 UFC/mL		Buono	Latte conforme
Milva	94000 UFC/mL	$5 \times 10^5 > x \leq 10^6$ UFC/mL	Mediocre	Latte conforme



Secondo il regolamento CE n° 853 del 2004 i criteri di **valutazione igienico-sanitaria del latte di vacca crudo** all'uscita della stalla devono essere:

- **Tenore di germi a 30°C:**
100.000 ufc per ml, calcolato su un periodo di due mesi, con almeno due prelievi al mese.

- **Tenore di cellule somatiche:**
400.000 per ml, calcolato su un periodo di tre mesi, con almeno un prelievo al mese.

L'azienda zootecnica viene classificata come azienda che produce **“latte conforme”**, se i parametri sono rispettati, o **“latte non conforme”** se si superano i parametri di legge.