



Direttive tecniche

sul

controllo microbiologico delle carni

del 1° maggio 2017

L'Ufficio federale della sicurezza alimentare e di veterinaria (USAV),

visto l'articolo 31 capoverso 4 dell'ordinanza del 16 dicembre 2016 concernente la macellazione e il controllo delle carni (OMCC; RS 817.190), e a complemento dell'articolo 31 capoverso 1 OMCC nonché degli articoli 10 e 11 lettera a, così come dell'allegato 10 dell'ordinanza del DFI del 23 novembre 2005 concernente l'igiene nella macellazione (OIGM; RS 817.190.1),

emana le seguenti direttive:

I Scopo e campo d'applicazione

1. Le presenti Direttive tecniche disciplinano il prelievo di campioni e gli esami di laboratorio nell'ambito del controllo microbiologico delle carni, incluso il «test amplificato quattro piastre CEE» (test degli inibitori).

II Campioni per l'analisi microbiologica delle carni

2. Per eseguire l'analisi microbiologica delle carni occorre prelevare i seguenti campioni:

2.1 per gli animali della specie bovina ed equina:

- 2.1.1 un pezzo compatto di muscolo, lungo almeno 10 cm, possibilmente spesso, con il tessuto connettivo fibroso:
 - 2.1.1.1 del quarto anteriore;
 - 2.1.1.2 del quarto posteriore, disposto diagonalmente rispetto al quarto anteriore;
- 2.1.2 un linfonodo non reciso con il circostante tessuto connettivo fibroso per ciascuno degli altri due quarti:
 - 2.1.2.1 un linfonodo cervicale superficiale (*Ln. cervicalis superficialis*) oppure un linfonodo ascellare (*Ln. axillaris*); e
 - 2.1.2.2 un linfonodo iliaco interno (*Ln. iliacus lateralis o medialis*), un linfonodo iliaco (*Ln. subiliacus*) o un linfonodo popliteo (*Ln. popliteus*);
- 2.1.3 la milza oppure un pezzo di essa grande come una mano umana;
- 2.1.4 un rene;
- 2.1.5 del fegato di animali del genere bovino il lobo caudato, detto anche lobo di Spigelio (*Lobus caudatus*), mentre per gli animali della specie equina un pezzo delle stesse dimensioni ricavato dal bordo inferiore del fegato (margo inferiore);
- 2.1.6 parti alterate, in maniera specifica, degli organi e della muscolatura con i relativi linfonodi;

2.2 per gli animali della specie ovina, caprina e suina, così come di bestiame da macello diverso da quello appena citato, nonché per la selvaggina d'allevamento biungolata:

Acqua distillata ad 1000 ml
pH finale: 7,8 ± 0,2

Riscaldare con cautela portandola a ebollizione (non sterilizzare). Dopo il raffreddamento fino a meno 45 °C, aggiungere 20 ml di soluzione iodata; quindi mescolare e riempire. Se necessario è possibile aggiungere 1 ml di soluzione all'1% di verde brillante. La brodocoltura pronta all'uso va usata il giorno stesso della sua preparazione; la brodocoltura di base può essere conservata invece per lungo tempo al fresco e al riparo dalla luce.

Soluzione iodata: Peptone di ioduro di potassio 5,0 g

Soluzione iodata: Ioduro di potassio 6,0 g

Acqua distillata 20 ml

12. Brodo Rappaport-Vassiliadis

12.1 Soluzione di peptoni:

Peptone	5,0 g
NaCl	8,0 g
KH ₂ PO ₄	1,6 g
Acqua distillata	ad 1000 ml

Sciogliere tramite riscaldamento fino a 70–80 °C. La soluzione di peptoni deve sempre essere preparata fresca.

12.2 Soluzione di cloruro di magnesio:

MgCl ₂ •6 H ₂ O	400,0 g
Acqua distillata	ad 1000 ml

La soluzione di MgCl₂ può essere conservata in una bottiglia di colore scuro per un anno a temperatura ambiente.

12.3 Ossalato di verde malachite

Ossalato di verde malachite	0,4 g
Acqua distillata	ad 100 ml

La soluzione può essere conservata in una bottiglia di colore scuro per sei mesi a temperatura ambiente. Tuttavia occorre sempre verificare l'idoneità delle singole partite di verde malachite.

12.4 Terreno di coltura già pronto:

Soluzione di peptoni	1000 ml
Soluzione MgCl ₂	100 ml
Soluzione di verde di malachite J	10 ml

Mischiare e sterilizzare per 15 minuti a 115 °C. Il terreno di coltura già pronto può essere conservato in frigorifero per un mese.

13. Agar sangue

Infuso di cuore di manzo	10,0 g
Peptone	10,0 g
NaCl	5,0 g
Agar	q. s.
Acqua distillata	ad 1000 ml

pH finale 7,3 ± 0,2

Sciogliere e sterilizzare per 15 minuti a 121 °C. Dopo il raffreddamento fino a 48 °C, aggiungere sangue ovino sterile e defibrinato (concentrazione finale 5 %); quindi mischiare e riversare sulle piastre.

Al posto di questo agar sangue, si può usare anche un terreno di coltura con agar simile e non selettivo, con aggiunta di sangue.

14. Agar al blu di bromotimolo e al lattosio

Peptone	7,0 g
Lattosio	15,5 g
NaCl	5,0 g

Blu di bromotimolo	0,04 g
Agar	q. s.
Acqua distillata	ad 1000 ml

pH finale: 7,0 ± 0,2

Sciogliere e sterilizzare per 15 minuti a 121 °C.

Al posto dell'agar al blu di bromotimolo e al lattosio, si può usare anche un terreno di coltura con agar simile, debolmente selettivo e adatto alla differenziazione tra colonie fermentanti e colonie non fermentanti il lattosio.

15. Agar al verde brillante e al rosso fenolo

Peptone	10,0 g
Estratto di lievito	3,0 g
Lattosio	10,0 g
Saccarosio	10,0 g
NaCl	5,0 g
Rosso fenolo	0,08 g
Verde brillante	0,0125 g
Agar	q. s.
Acqua distillata	ad 1000 ml

pH finale: 6,9 ± 0,2

Sciogliere e sterilizzare per 15 minuti a 121 °C.

Inoltre occorre utilizzare un secondo terreno di coltura ben rodato e selettivo per l'isolamento di Salmonella, ad es.

- agar xilosio-lisina-desossicolato (XLD)
- agar Salmonella-Shigella (SS)
- agar sale mannitolo-lisina-cristalvioletto-verde brillante

V **Trattamento dei campioni**

16. Occorre togliere il tessuto connettivo e il tessuto grasso aderenti.
17. La superficie della zona da asportare va denaturata tramite riscaldamento fino a una profondità di 1–2 mm, così da garantire che il prelievo del campione sia sterile.
18. Il prelievo del campione deve essere eseguito servendosi di strumenti sterilizzati come forbici, pinze o spatola.
19. Il materiale prelevato deve essere conservato in condizioni di refrigerazione fino alla conclusione dell'analisi batteriologica. Di regola, un'eventuale perizia sarà invece effettuata con nuovi campioni prelevati successivamente.

VI **Arricchimento e spatolamento dei campioni**

20. Arricchimento in terreni di coltura liquidi

- 20.1 Un pezzetto cadauno dei campioni di muscoli, fegato, milza e rene viene inserito in una provetta contenente 10 ml di terreno di coltura al tioglicolato e incubato per 18–24 ore a 37 °C.
- 20.2 La selezione delle colture liquide che hanno terminato il processo di incubazione prosegue trasportandole in terreni di coltura con agar sangue e con agar al blu di bromotimolo e al lattosio. Le piastre sono incubate per 18–24 ore a 37 °C.
- 20.3 Inoltre occorre preparare uno spatolamento su vetrino portaoggetti con colorazione di Gram.
- 20.4 In caso di sospetta presenza di anaerobi (conferma di bastoncini Gram-positivi nella colorazione di Gram, coltura da materiale di ascesso) si esegue anche un'ulteriore trasposizione in un terreno di coltura con agar sangue, con incubazione anaerobica per 18–24 ore a 37 °C.

21. Spatolamento diretto su terreni di coltura solidi

- 21.1 Un pezzetto cadauno dei campioni dei muscoli e degli organi va apposto con dovizia per spatolamento su una parte dei seguenti terreni di coltura:
 - 21.1.1 agar sangue
 - 21.1.2 agar al blu di bromotimolo e al lattosio oppure un terreno di coltura simile con agar
- 21.2 I terreni di coltura devono essere incubati per 18–24 ore a 37 °C. Se non si verifica la crescita auspicata, occorre incubarli ancora per altre 18–24 ore a 37 °C.

22. Arricchimento di Salmonella

- 22.1 50 ml di brodocoltura al tetrionato oppure di brodocoltura Rappaport-Vassiliadis vanno inoculati con dovizia con un pezzetto cadauno dei campioni di muscoli, fegato, milza e rene.
- 22.2 Dopo un'incubazione di 18–24 ore (nel caso della brodocoltura al tetrionato a 37 °C, e nel caso della brodocoltura Rappaport-Vassiliadis a 43 °C), il processo di incubazione delle colture prosegue trasponendole in un terreno di coltura con agar al verde brillante e al rosso fenolo nonché in un'ulteriore piastra con terreno di coltura ben rodato e selettivo per l'isolamento di Salmonella. Le piastre selettive vanno incubate per 18–24 ore a 37 °C.

VII Esame e valutazione delle piastre incubate

23. Al termine del periodo di incubazione, occorre verificare la crescita degli agenti patogeni.
24. L'analisi microbiologica ha esito favorevole quando nella fattispecie risulta possibile escludere la presenza di:
 - 24.1 agenti patogeni di malattie infettive, tossi-infezioni o intossicazioni;
 - 24.2 setticemia;
 - 24.3 germi aspecifici in profondità della muscolatura;
 - 24.4 germi aspecifici negli organi.
25. Tuttavia, da solo l'esito favorevole dell'esame microbiologico non basta per poter dichiarare a tutti gli effetti una carcassa come idonea al consumo. Il risultato del controllo microbiologico delle carni va infatti preso in considerazione e valutato come uno dei diversi elementi di cui, secondo l'allegato 7 OIGM, bisogna tenere conto ai fini della decisione sull'utilizzabilità della carcassa.

VIII Test degli inibitori e valutazione

26. La muscolatura e i reni devono essere sottoposti a esame per individuare l'eventuale presenza di inibitori. A tale scopo occorre eseguire il test degli inibitori («test amplificato quattro piastre CEE»).
27. Un'inibizione completa della crescita in almeno una delle piastre del test su entrambi i campioni collocati, con un alone di inibizione continuo su tutta la superficie del terreno di coltura che misura almeno 2 mm di larghezza (misurando sul lato più stretto) va considerata come positiva.
28. I risultati positivi vanno riconfermati una seconda volta utilizzando una membrana semipermeabile.
29. In caso di conferma positiva degli inibitori nel tessuto renale (alone di inibizione ≥ 2 mm), è necessario dichiarare tutti gli organi come non idonei al consumo, mentre la carcassa può essere dichiarata idonea al consumo.
30. In caso di conferma positiva degli inibitori nella muscolatura (alone di inibizione ≥ 2 mm), occorre dichiarare come non idonee al consumo sia l'intera carcassa sia tutte le sue componenti.
31. Tuttavia, da solo un risultato negativo del test degli inibitori nella muscolatura e nei reni non è sufficiente per poter dichiarare a tutti gli effetti una carcassa come idonea al consumo. Il risultato va infatti preso in considerazione e valutato come uno dei diversi elementi di cui, secondo l'allegato 7 OIGM, bisogna tenere conto ai fini della decisione sull'utilizzabilità della carcassa.

IX Entrata in vigore

Le presenti Direttive tecniche entrano in vigore il 1° giugno 2017.

Berna, 1.6.2017

UFFICIO FEDERALE DELLA SICUREZZA ALIMENTARE E DI VETERINARIA