

Indice

- 1.Scopo**
- 2.Campo di applicazione**
- 3.Responsabilità**
- 4.Principio del metodo**
- 5.Reagenti e prodotti**
- 6. Strumentazione**
- 7. Modalità operative /procedimento**
- 8. Espressione dei risultati**
- 9. Bibliografia/Riferimenti**
- 10. Validazione del metodo**
- 11. Registrazione e Archiviazione**
- 12. Norme di sicurezza e precauzioni**

1.Scopo

La presente istruzione operativa fornisce istruzioni per quanto riguarda il prelievo di prodotti sfusi o confezionati, di tamponi/sponge di superficie, di campioni di carcasse, di campioni di acque e di volumi di aria.

2.Campo di applicazione

Il prelievo è un atto propedeutico all'analisi e quindi è un'operazione molto delicata che può compromettere l'esito analitico e deve pertanto essere eseguito possibilmente dal personale di laboratorio che eseguirà l'analisi successiva.

I risultati analitici sono infatti legati al campionamento ed alla preparazione del campione.

I campioni mal prelevati, mal preparati o non rappresentativi producono grandi errori analitici.

In particolare il prelievo per le analisi microbiologiche deve evitare ogni forma di inquinamento microbiologico (superfici sporche, contenitori sporchi o inquinati, contatto con mani, esposizioni all'aria,.....); va effettuato da personale tecnico addestrato dal laboratorio che deve essere dotato dei mezzi necessari (contenitori sterili, buste sterili, sacchetti in plastica sterili, bottiglie sterili con o senza tiosolfato) e delle strumentazioni idonee (quali frigorifero portatile, freezer portatile, bunsen /o flambatore idoneo, prolunghe, utensili, disinfettante, guanti).

Nel caso di prelievi da effettuare all'interno di camere bianche/sale operatorie e zone di produzione è fondamentale che il personale indossi idonei capi di abbigliamento (camice, mascherina, cuffia e copriscarpe sterili).

Il campione va consegnato al più presto (massimo 24 ore se conservato refrigerato o surgelato) alla accettazione.

3.Responsabilità

L'applicazione della presente IO è responsabilità di RPE.

4.Principio del metodo

Non applicabile

5.Reagenti e prodotti

Etanolo 70 %

Alcool isopropilico

6. Strumentazione

Vetreteria sterile, provette plastica monouso sterili, vasetti plastica sterili, piastre per SAS

Sacchetti sterili, spugne sterili, tamponi in cotone sterili, delimitatori di superficie in plastica o in metallo sterili, testate monouso sterili per SAS

Pinze, Forbici, coltelli cucchiari sterili, bisturi sterili monouso

Guanti monouso sterili

Flambatore

Frigorifero portatile

Campionatore per aria SAS Super IAQ cod.110/L

7. Modalità operative /procedimento

7.1 Campionamento microbiologico

Prima di eseguire i prelievi lavare e disinfettare con cura le mani ed asciugarle utilizzando carta usa e getta.

Le dimensioni del campione (carne fresca, carne stagionata, polveri alimentari, superfici, aria etc...) devono essere tali da garantirne la rappresentatività e dipendono dal numero di determinazioni analitiche da effettuare sul medesimo o dalle indicazioni imposte dalla normativa vigente.

Il prelievo deve essere effettuato in condizioni il più asettiche possibili; a tal scopo, pulire ed igienizzare la superficie sulla quale viene effettuato il prelievo ed utilizzare strumenti sterili (pinze, forbici, cucchiari, coltelli, ecc.). Se il campione è contenuto in un involucro chiuso (plastica sottovuoto, stagnola ecc.) procedere alla disinfezione dell'involucro stesso, usando alcool, isopropanolo o etanolo al 70%. Se l'involucro è molto sporco detergere la parte esterna con sapone, sciacquare, asciugare con carta assorbente e disinfettare. Usare una forbice o un coltello sterile per incidere l'involucro e, aiutandosi con delle pinze sterili, allontanare l'involucro per esporre il campione da prelevare.

Nel caso di alimenti e mangimi deperibili è necessario misurare, utilizzando il termometro 109/L o 123/L o 121/L, la temperatura all'atto del prelievo; questa deve rientrare nei criteri di accettabilità definiti per la successiva conservazione in laboratorio (vd PR02CAM) e riportati qua sotto.

<i>Tipologia campioni</i>	<i>Temperatura prelievo</i>
Campioni deperibili	$T^{\circ} = +1^{\circ}/+4^{\circ}\text{C}$
Campioni Surgelati/Congelati	$T^{\circ} \leq -18^{\circ}\text{C}$
Campioni non deperibili	$T^{\circ} \text{ ambiente } (+18^{\circ} \leq T^{\circ} \leq +27^{\circ}\text{C})$

ANALYTICAL snc Sez. Analisi Alimentari e Autocontrollo via Roma, 66 43013 LANGHIRANO (PR)	ISTRUZIONE OPERATIVA CAMPIONAMENTO	IO03PRC Rev. 15 Del 17/11/2020 Pagina 4 di 15
--	---	--

In caso di Non Conformità di tale temperatura il prelievo non viene effettuato, salvo specifica richiesta del cliente e la temperatura sarà registrata sulla scheda di prelievo.

Il campione deve essere riposto in contenitori sterili (sacchetti, bottiglie, barattoli ecc.) e trasportato a temperatura refrigerata nel minor tempo possibile, al Laboratorio (utilizzare borse frigo 153/L o frigo-freezer portatili in auto 13/L). Per i campioni considerati stabili (ad esempio: semilavorati per l'industria alimentare in forma polverosa, prodotti liofilizzati o disidratati o quando il cliente dichiara che il prodotto da analizzare è stabile a temperatura ambiente), il trasporto può non essere effettuato a temperatura refrigerata.

Il trasporto delle acque per analisi microbiologica deve avvenire a 2-8°C (nel caso di prelievo di campioni di acqua calda e fredda mantenere i due tipi di campioni separati durante il trasporto), nel più breve tempo possibile; una volta in laboratorio conservare tra 2-8°C (in frigorifero cod.12/L) e analizzarlo nella stessa giornata lavorativa (comunque fare riferimento alla metodica del microorganismo in esame:

per la maggior parte delle ricerche infatti è sufficiente che l'analisi inizi entro 12-18 ore dal prelievo se i campioni sono trasportati in laboratorio (e qui conservati) a 2-8°C fino al momento delle analisi.

Nel caso della ricerca di enterococchi secondo metodica UNI EN ISO 7899-2:2003 entro 6 ore dal campionamento e per Legionella spp/ pneumophila preferibilmente entro 24 ore (conservare i campioni refrigerati (2-8°C) o, in caso non sia possibile, a temperatura ambiente), fino ad un massimo di 48 ore (conservare i campioni refrigerati a 2-8°C).

Ogni campione deve essere univocamente identificato, apponendo sul contenitore e sul modulo di campionamento la sigla identificativa (lotto, partita, data di produzione, ecc.).

7.2 Campionamento chimico

Il prelievo per analisi chimiche deve evitare ogni forma di inquinamento chimico (superfici sporche, contenitori sporchi o inquinati, contatto con mani, residui di analisi precedenti,..), va effettuato da personale ben addestrato dal laboratorio che deve essere dotato dei mezzi necessari (contenitori, vasetti, buste, sacchetti in plastica, bottiglie) e delle strumentazioni idonee (quali frigorifero portatile, freezer portatile, prolunghe, utensili,..., guanti).

Fare riferimento alla tabella del paragrafo 7.5 successivo per modalità generali di esecuzione del prelievo a seconda delle analisi chimiche richieste. Prima del prelievo è comunque necessario contattare il laboratorio per informazioni circa il contenitore più idoneo al prelievo, alla eventuale aggiunta di preservante al campione o condizioni di trasporto specifiche dell'analita in questione.

7.3 Addestramento del Personale addetto ai prelievi

Il prelievo microbiologico e chimico **segue tecniche e procedure ovviamente diversificate** ma le basi per il prelevatore sono le stesse:

- 1) deve possedere conoscenze di base in chimica e microbiologia scolastiche, perfezionate con corsi, anche interni, di igiene ed analisi degli alimenti e delle superfici.
- 2) deve conoscere quali sono i motivi e le finalità del campionamento ed i casi specifici in particolare;
- 3) deve credere nell'efficacia del buon campionamento ai fini dell'esito analitico finale;
- 4) deve essere in grado di eliminare le variabilità dell'operatore;
- 5) comprende i fattori fisici (**T°C, ad esempio**) importanti per il flusso prelievo-esito finale;
- 6) esegue ogni fase del prelievo con la strumentazione standard a corredo e fissata dalle modalità di prelievo;
- 7) compila perfettamente e con riguardo verso il laboratorista il verbale di prelievo;
- 8) possiede un buon addestramento per prelievi su campo;
- 9) ha avuto un'adeguata istruzione ed addestramento su campo da parte di personale più esperto;
- 10) è sottoposto a verifica da parte dei Responsabili di settore;
- 11) presta molta attenzione all'operato dei Tecnici delle USL o dell'ARPA o dei vari Istituti o dei Laboratori concorrenti in caso di controcampioni;
- 12) partecipa a corsi o seminari.

7.4 Condizioni di trasporto

Il trasferimento al laboratorio deve essere il più celere possibile, in modo che il campione non subisca alterazioni.

La temperatura di trasporto è tenuta sotto controllo col termometro 75/L.

Per il trasporto refrigerato si utilizzano:

frigoriferi portatili (153/L), frigo- freezer stabile in auto (13/L).

Il frigorifero ed il freezer dovranno già essere a temperatura di esercizio;

<i>Tipologia campioni</i>	<i>Temperatura trasporto/arrivo</i>
Campioni deperibili	T° = +1°/+4°C
Campioni Surgelati	T° ≤ -18°C
Campioni non deperibili	T° = +1°/+4°C
Acque	T° = +2°/+8°C
Campioni per analisi legionella trasportati/arrivati oltre le 24 ore dal momento del prelievo	T° = +2°/+8°C
Tamponi Ambientali/ Sponge Bag	T° = +1°/+4°C

ANALYTICAL snc Sez. Analisi Alimentari e Autocontrollo via Roma, 66 43013 LANGHIRANO (PR)	ISTRUZIONE OPERATIVA CAMPIONAMENTO	IO03PRC Rev. 15 Del 17/11/2020 Pagina 6 di 15
--	---	--

Consegna: il campione va consegnato al personale di ricezione che trascriverà il prelievo sulla scheda di accettazione SR05PRC, qualora il campione non sia accompagnato da un verbale di campionamento.

7.5 Modalità di campionamento

TIPO DI MATERIALE	MODALITA' DI RACCOLTA
Prodotti finiti sfusi e Semilavorati per analisi microbiologiche	<ul style="list-style-type: none"> • Effettuare il prelievo con una pinza o cucchiaino sterile (almeno 200 g) • Introdurre in sacchetto o contenitore sterile senza fuoriuscire dai bordi • Chiudere asetticamente senza toccare i bordi con le dita..
Prodotti finiti sfusi e Semilavorati per analisi chimiche	<ul style="list-style-type: none"> • Effettuare il prelievo con una pinza o cucchiaino pulito (almeno 200 g) • Introdurre in sacchetto o contenitore pulito senza fuoriuscire dai bordi • Chiudere la confezione.
Prodotti confezionati	Essendo il prodotto già confezionato si procede soltanto controllando l'integrità della confezione o il rispetto del vuoto per le confezioni sottovuoto. Se la confezione non supera i 200 g, prelevare più confezioni
Acqua per analisi microbiologiche potabilità ai sensi D.lgs 31/2001 (al punto in cui devono essere rispettati i parametri) (prelievo secondo ISO 19458:2006)	<p>Riempire contenitori sterili di vetro o polietilene (preparati dal laboratorio), chiusi ermeticamente senza fuoriuscita di prodotto per un volume totale di almeno 500 ml; aprire il contenitore appena prima del prelievo, posizionando il coperchio in una busta sterile fino alla chiusura del campione; non toccare l'orlo dei contenitori; indossare i guanti, posizionare la bottiglia aperta sotto il getto d'acqua e riempire il contenitore sterile.</p> <p>Prelievo effettuato per determinare le caratteristiche dell'acqua:</p> <p>- della rete di distribuzione (scopo A del campionamento): punto di prelievo nella rete o appena dopo il contatore;</p> <p>togliere i dispositivi o filtri associati al rubinetto; eliminare lo sporco eventualmente presente nel punto da cui fuoriesce l'acqua, aprire completamente e chiudere ripetutamente il getto d'acqua per eliminare ogni impurità. Disinfettare il punto in cui fuoriesce l'acqua (ad esempio mediante flambatura o immergendo il punto in contenitore con soluzione di etanolo); aprire il flusso al massimo per 5-10 secondi, poi ridurre l'apertura a metà e far scorrere per un tempo sufficiente ad eliminare l'acqua dalle tubature interne, fino a che la temperatura dell'acqua diventa costante.</p> <p>-al consumo: (scopo B del campionamento) prelevare il campione senza eliminare i dispositivi eventualmente associati al rubinetto, senza disinfettare il rubinetto e senza far scorrere l'acqua.</p> <p>Non appena il prelievo è terminato chiudere il contenitore, identificare il campione e posizionarlo in contenitore termico protetti dalla luce, a 2-8 °C, mantenendo separati gli eventuali campioni di acqua calda e quelli di acqua fredda</p> <p>Nota: per il campionamento delle acque clorate occorre che prima della sterilizzazione delle bottiglie si aggiunga 1 ml per 1 l di acqua di una di una soluzione di Tiosolfato penta idrato a l 1,8 % (la soluzione si ottiene pesando 1,8 g di Sodio Tiosolfato pentaidrato e portandoli a volume con acqua distillata in un matraccio da 100 ml)</p>
Acque minerali naturali, per analisi microbiologiche Per analisi ai sensi del D. M 10/02/2015 (prelievo secondo ISO 19458:2006)	Il prelievo avviene come indicato per le acque di cui al punto soprastante, avendo cura di prelevare almeno 1000 ml di campione. Trasportare nel più breve tempo possibile (in modo che l'analisi venga iniziata possibilmente nella stessa giornata lavorativa del prelievo, se possibile- si ricorda che il tempo massimo dal prelievo all'analisi per i microrganismi ricercati attualmente, se i campioni sono conservati a 2-8°C, è di 12-18 ore a seconda del microrganismo).
Acqua di piscina per analisi microbiologiche (prelievo secondo ISO 19458:2006)	<p>Riempire contenitori sterili di vetro o polietilene (contenenti almeno 1 ml per 1 l di acqua di Tiosolfato penta idrato a l 1,8 %), chiusi ermeticamente senza fuoriuscita di prodotto per un volume totale di almeno 1000 ml; aprire il contenitore appena prima del prelievo, posizionando il coperchio in una busta sterile fino alla chiusura del campione; non toccare l'orlo dei contenitori; indossare i guanti, posizionare la bottiglia aperta sotto il getto d'acqua e riempire il contenitore sterile</p> <p>Non appena il prelievo è terminati chiudere il contenitore, identificare il campione e posizionarlo in contenitore termico protetti dalla luce, a 2-8 °C.</p> <p>a. Prelievo di routine: utilizzando preferibilmente un'asta da campionamento associata al contenitore, prelevare il campione ad una profondità di 10-30 cm dal pelo dell'acqua (posizionandosi di fronte al punto di ingresso dell'acqua nella piscina): inserire il contenitore orizzontalmente (evitare la fuoriuscita di tiosolfato), poi ruotarlo verso l'alto fino a completa raccolta del volume di acqua.</p> <p>b. Prelievo dopo i filtri o in corrispondenza dei tubi di alimentazione della piscina: togliere i dispositivi o filtri associati al rubinetto; eliminare lo sporco eventualmente presente nel punto da cui fuoriesce l'acqua, aprire completamente e chiudere ripetutamente il getto d'acqua per eliminare ogni impurità.</p> <p>Disinfettare il punto in cui fuoriesce l'acqua (ad esempio mediante flambatura o immergendo il punto in contenitore con soluzione di etanolo); aprire il flusso al massimo per 5-10 secondi, poi ridurre l'apertura a metà e far scorrere per un tempo sufficiente ad eliminare l'acqua dalle tubature interne, fino a che la temperatura dell'acqua diventa costante.</p> <p>c. prelievo dell' afflusso di acqua della piscina (dopo trattamento): effettuato a distanza dal punto di afflusso (residuo di disinfettante sia stabile).</p>

<p>Acqua per analisi microbiologiche per ricerca Legionella (in accordo a ISO 19458:2006)</p>	<p>Utilizzando contenitori sterili, in plastica-esempio polietilene- monouso o in vetro (sterilizzati a 121°C+/-3°C per 15 minuti, con controllo dell'avvenuta sterilizzazione, ad esempio apposizione di indicatore apposito): prelevare almeno 1 litro di acqua attenendosi alle istruzioni sottostanti, a seconda del tipo di campione.</p> <p>Nel caso l'acqua da prelevare contenga cloro, occorre che prima della sterilizzazione delle bottiglie si aggiunga 1 ml per 1 l di acqua di una di una soluzione di Tiosolfato al 10% (la soluzione di Tiosolfato al 10% si ottiene pesando 15,697 g di Sodio Tiosolfato Pentaidrato e portandoli a volume con acqua distillata in un matraccio da 100 ml).</p> <p>Per determinare le caratteristiche dell'acqua:</p> <ul style="list-style-type: none">-nella vasca di accumulo: prelevare da appositi rubinetti di campionamento, di metallo, dopo sterilizzazione con flambatore.- della rete di distribuzione: punto di prelievo nella rete o appena dopo il contatore togliere i dispositivi o filtri associati al rubinetto; eliminare lo sporco eventualmente presente nel punto da cui fuoriesce l'acqua, aprire completamente e chiudere ripetutamente il getto d'acqua per eliminare ogni impurità. Disinfettare il punto in cui fuoriesce l'acqua (ad esempio mediante flambatura o immergendo il punto in contenitore con soluzione di etanolo); aprire il flusso al massimo per 5-10 secondi, poi ridurre l'apertura a metà e far scorrere per un tempo sufficiente ad eliminare l'acqua dalle tubature interne, fino a che la temperatura dell'acqua diventa costante.-all'interno dell'impianto idrico dell'utenza (qualità dell'acqua che raggiunge il rubinetto) eliminare lo sporco eventualmente presente sul rubinetto, togliere i dispositivi o filtri associati al rubinetto. Disinfettare il punto in cui fuoriesce l'acqua (ad esempio mediante flambatura o immergendo il punto in contenitore con soluzione di etanolo); aprire l'acqua per un tempo sufficiente ad eliminare l'acqua dalle tubature interne, fino a che la temperatura dell'acqua diventa costante.-al consumo: prelevare il campione senza eliminare i dispositivi eventualmente associati al rubinetto, senza disinfettare il rubinetto e senza far scorrere l'acqua. <p>Prelievo: posizionare la bottiglia aperta sotto il getto d'acque e riempire il contenitore sterile.</p> <p>Non appena il prelievo è terminati chiudere il contenitore, identificare il campione e posizionarlo in contenitore termico; trasportare in laboratorio a 2-8°C, al buio, nel più breve tempo possibile, in modo da consentire all'analisi di cominciare entro 24 ore (massimo 48 ore).</p> <p>Trasportare gli eventuali campioni di acqua fredda e di acqua calda separatamente</p>
<p>Acque superficiali, di fiume, di lago per analisi microbiologiche (prelievo secondo ISO 19458:2006)</p>	<p>Selezionare il punto di prelievo più rappresentativo della qualità dell'acqua, possibilmente in punti in cui la profondità della stessa è di almeno 1-1,5 m; aprire il contenitore (sterile, in vetro o plastica, senza tiosolfato), avendo cura di non toccare l'orlo con le mani e immergerlo, tramite una pinza, capovolto nell'acqua, prelevando ad una profondità di 20-30 cm dal pelo della stessa; riempire il contenitore (per almeno 500 ml) ruotandolo lateralmente e verso l'alto (in caso di corrente, il contenitore deve essere tenuto a monte della corrente. Chiudere il contenitore ermeticamente, identificare il campione e trasportarlo in contenitore termico (2-8°C) nel più breve tempo possibile in laboratorio.</p>
<p>Acque reflue per analisi microbiologiche (prelievo secondo ISO 19458:2006)</p>	<p>Utilizzando un'asta da prelievo o pinze sterilizzabili e guanti per minimizzare il rischio di infezione per chi effettua il prelievo, prelevare il campione (nell'ultimo pozzetto ispettivo prima del collettore fognario), inclinando il contenitore per prelevare ad una profondità di 10-30 cm dalla superficie dell'acqua. Riempire contenitori sterili di polietilene, chiudere ermeticamente per evitare la fuoriuscita del prodotto, per un volume totale di almeno 500 ml, senza toccare l'orlo dei contenitori. Ripulire esternamente il contenitore e trasportarlo in contenitore termico separato da eventuali altri campioni di acque potabili. Trasporto nel più breve tempo possibile in laboratorio.</p>
<p>Acqua per analisi chimiche</p>	<p>a. Analisi per conformità al DLvo 31/2001 e smi, al punto in cui devono essere rispettati i parametri:</p> <p>Il contenitore deve essere riempito completamente (a meno di campioni da congelare).</p> <p>Il prelievo, salvo diverse indicazioni, sarà effettuato almeno su questi punti:</p> <ul style="list-style-type: none">-per le acque fornite attraverso una rete di distribuzione, nel punto in cui queste fuoriescono dai rubinetti utilizzati per il consumo umano-per le acque fornite da una cisterna, nel punto in cui fuoriescono dalla cisterna-per le acque confezionate in bottiglie o contenitori rese disponibili al consumo umano, nel punto in cui sono imbottigliate o introdotte nei contenitori-per le acque utilizzate nelle imprese alimentari, nel punto in cui sono utilizzate dall'impresa. <p>Modalità operative:</p> <ul style="list-style-type: none">-lavarsi le mani o indossare guanti-non fumare, mangiare, bere o soffiare sui campioni durante il campionamento-utilizzare solo contenitori e reagenti di laboratorio

ANALYTICAL snc Sez. Analisi Alimentari e Autocontrollo via Roma, 66 43013 LANGHIRANO (PR)	ISTRUZIONE OPERATIVA CAMPIONAMENTO	IO03PRC Rev. 15 Del 17/11/2020 Pagina 9 di 15
--	---	--

	<p>-evitare contaminazione dei campioni dall'esterno -rimuovere il coperchio dal contenitore immediatamente prima del campionamento e metterlo in un contenitore pulito durante il campionamento.</p> <p>Nel caso di:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Prelievo eseguito presso rubinetti dei consumatori (Dms 14 giugno 2017 Allegato I parte D, 2.a): prelevare un campione casuale diurno pari ad un litro, senza far scorrere prima l'acqua. • Prelievo eseguito presso la rete di distribuzione (ad eccezione dei rubinetti dei consumatori), in accordo alla norma ISO 5667-5:2006: <p><u>Verifica della qualità dell'acqua fornita ai locali:</u> rimuovere dal rubinetto ogni accessorio, pulire il rubinetto (ad esempio con panno imbevuto di 2-propanolo o con una piccola spazzola), lasciarlo aperto per almeno 2-3 minuti (fino al raggiungimento di temperatura costante) mentre lo si ruota a destra e a sinistra; durante il campionamento i rubinetti devono essere aperti a flusso costante.</p> <p><u>Verifica della distribuzione locale all'interno dell'edificio,</u> i campioni vanno prelevati con e senza il rubinetto e prima e dopo il flussaggio.</p> <p>Assicurarsi che i campioni siano ben chiusi dopo il campionamento. Identificare i campioni e compilare SR05PRC/2</p> <p>Il trasporto deve avvenire a 2-8 °C, nel più breve tempo possibile (in modo che l'analisi possa cominciare entro 24 ore massimo dal prelievo- per pH:6ore-), avendo cura di trasportare i campioni in modo da evitare contaminazioni esterne ed interne.</p> <p>In caso di determinazioni particolari o di prelievo per un analita per il quale non si esegue il campionamento di routine, chiedere informazioni al laboratorio sulle modalità specifiche di prelievo.</p> <p>Per le analisi attualmente eseguite in laboratorio: - contenitore: vetro per determinazione dell'azoto ammoniacale; plastica o vetro per gli altri analiti, -stoccaggio in laboratorio prima dell'analisi: 1-5°C</p> <p>b. Per le altre analisi chimiche sulle acque: Per tipo di contenitore, temperatura di conservazione (e trasporto), tempo massimo di esecuzione delle prove dal campionamento il laboratorio fa attualmente riferimento alla Tab. 2 di APAT CNR IRSA Volume primo "Metodi analitici per le acque". Prima di effettuare il prelievo contattare il laboratorio per indicazioni specifiche.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Prelevare almeno 1 litro di campione • Contenitori chiusi ermeticamente senza fuoriuscita di prodotto <p>Il campionamento è istantaneo, cioè deve essere effettuato un singolo campionamento in un'unica soluzione fino a riempimento completo del contenitore.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Per le <u>acque dolci</u> il campionamento deve essere effettuato dal punto di prelievo dell'acqua. • Per le <u>acque di scarico</u> il campionamento deve essere effettuato nell'ultimo pozzetto ispettivo prima del collettore fognario, inclinando il contenitore per prelevare a pelo dell'acqua. <p>Assicurarsi che i campioni siano ben chiusi dopo il campionamento. Identificare i campioni e compilare SR05PRC/2 per acque dolci e SR05PRC/3 per acque di scarico. Il trasporto deve avvenire a 2-8 °C, nel più breve tempo possibile avendo cura di trasportare i campioni in modo da evitare contaminazioni esterne ed interne.</p>
Carcasse (bovini-suini-ovini o equini – considerati analoghi ai bovini)	<p>Si procede prelevando nei siti individuati dalla norma ISO 17604, con bisturi sterili monouso e pinza e delimitatore da 2.24 x 2.24 cm sterilizzati, una zona di circa 2 mm di spessore e di 5 cm² di area. I campioni prelevati da ciascuna carcassa vanno conservati in un contenitore sterile.</p>
Tamponi	<ul style="list-style-type: none"> • Da utilizzarsi di preferenza per il prelievo su superfici di piccole dimensioni (<=100 cm²) o difficili da raggiungere durante il campionamento. • I tamponi sono contenuti in tubi, confezionati singolarmente e sterili - secchi (da utilizzarsi per il prelievo su superfici umide o bagnate) o - contenenti 10 ml della soluzione più adeguata a seconda del microrganismo da ricercare e della presenza o meno di disinfettanti sulla superficie da campionare (NOTA 1), nel caso di prelievo su superfici asciutte. • Sul luogo del campionamento: indossare idonei capi di abbigliamento (camice, mascherina, cuffia e copriscarpe sterili nel caso di campionamenti all'interno di sale operatorie, camere bianche, zone di produzione etc...). • Estrarre il tampone dal tubo. Se si effettua il prelievo su superficie non umida/bagnata (si utilizza un tampone inumidito: contenuto in provetta a cui è già stato aggiunto il diluente/ neutralizzante): rimuovere l'eccesso di liquido premendo il tampone accanto alle pareti del contenitore. Appoggiare la punta del tampone sulla superficie da esaminare e strisciare per coprire, se possibile, un'area di 100 cm² (in caso di superfici piane l'area è delimitata da uno stampo di superficie definita, di acciaio e quindi sterilizzabile): ruotando il tampone tra pollice ed indice, passare la punta del tampone sull'intera superficie da campionare, strisciandolo su due direzioni perpendicolari (orizzontalmente e verticalmente, 10 volte per ogni direzione); per superfici difficili

	<p>da raggiungere: assicurarsi di aver campionato interamente la superficie/ oggetto (cercare di prelevare almeno 20 cm²).</p> <ul style="list-style-type: none"> • Inserire il tampone nel tubo sterile e chiudere il contenitore. • Apporre il numero progressivo assegnato su SR05PRC • Porre il tampone in frigorifero (portatile, es.: 13/L o 153/L): 1-4°C • La superficie del punto campionato deve essere pulita per rimuovere tutti i residui del terreno liquido sterile (ad esempio con salviettine sterili imbevute di alcol) • Trasportare in laboratorio nel più breve tempo possibile (entro le 24 ore), all'interno di un contenitore termico (1-4°C). <p>NOTA 1 : Il tubo in questione può contenere:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. il <u>diluyente</u> (soluzione peptone sale per il conteggio dei microrganismi diversi da Salmonella, Listeria, lieviti e muffe; peptone diluent per il conteggio di Lieviti e muffe; BPW per Salmonella spp; Mezzo Fraser nel caso di ricerca di Listeria spp/monocytogenes.) 2. una <u>soluzione neutralizzante</u> i disinfettanti utilizzati per la sanificazione della superficie se ci sono evidenze di un loro utilizzo massiccio. <p>La soluzione neutralizzante è costituita da:</p> <ul style="list-style-type: none"> - una base: diluente come sopra + - neutralizzante vero e proprio, che deve essere diverso seconda del disinfettante utilizzato (vedere Nota 1 di IO11SUP)
<p>Spugnette (Sponge bags)</p> <p>(campionamento per carcasse secondo ISO 17604:2015 e campionamento superfici secondo ISO 18593:2018)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Rimuovere la spugna (vedere Nota) con la mano indossando un guanto monouso sterile. • Strisciare la spugna 10 volte in verticale e 10 volte in orizzontale sulla superficie prescelta, cambiando il lato della spugna -nel caso della ricerca di Salmonella spp. sulle carcasse strofinare su un'area di 100 cm² su ogni punto campionato della carcasse come riportato dalla ISO 17604:2015 - nel caso della ricerca di Salmonella spp o Listeria spp/ monocytogenes con prelievo in conformità alla ISO 18593:2018 strofinare da 1000 a 3000 cm², se possibile (generalmente 1000 cm²), utilizzando delimitatori su superfici piane. In caso contrario, prelevare una superficie più ampia possibile, assicurandosi che l'intera superficie sia stata campionata. Nel caso di sponge inumidite e di utilizzo di neutralizzante, subito dopo il campionamento strizzare la spugna e lasciarla immersa nel diluente con neutralizzante. • Riposizionare la spugna nella busta • Apporre il numero progressivo assegnato su SR05PRC • Porre il tampone in frigorifero (portatile, es.: 13/L o 153/L): 1-4°C • Eccetto che nel caso di prelievo da carcasse, la superficie del punto campionato deve essere pulita per rimuovere tutti i residui del terreno liquido sterile (ad esempio con salviettine sterili imbevute di alcol) • Trasportare in laboratorio nel più breve tempo possibile (entro le 24 ore), all'interno di un contenitore termico (1-4°C). <p>Nota: per il prelievo su carcasse la sponge deve essere stata precedentemente inumidita con 10 ml di soluzione sterile di peptone sale ; per il prelievo in conformità a ISO 18593: 2018 la spugnetta può essere usata inumidita con 10 ml di soluzione sterile di peptone ed eventuale neutralizzante- in caso di utilizzo di disinfettanti sulla superficie- (prelievo su superfici asciutte) o secca, se la superficie di prelievo è umida/bagnata.</p>
<p>Spugnette (Sponge bags)</p> <p>campionamento superfici in stabilimenti di lavorazione di carne suina destinati all'export negli USA</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Indossando un guanto monouso sterile rimuovere la spugna, precedentemente inumidita in laboratorio con 9-10 ml di soluzione sterile di DE Neutralizing Broth e massaggiata senza estrarla dal sacchetto. • Strisciare la spugna 10 volte in verticale e 10 volte in orizzontale su una superficie di 30x30 cm² avendo cura di strofinare eventuali punti critici come fessure, angoli etc...; nel caso di superfici di piccole dimensioni come la lama di un coltello, va campionata l'intera superficie utile. • Al termine del prelievo riporre la spugna nel sacchetto sterile, comprimere il sacchetto per favorire la fuoriuscita dell'aria in eccesso, arrotolare più volte il bordo superiore su sé stesso e sigillare il campione. Identificare il campione e trasportare in laboratorio all'interno di un contenitore termico ad una temperatura non superiore ai 4°C e procedere all'analisi entro 24 ore dal prelievo. <p>Nel caso di campionamento su:</p> <ul style="list-style-type: none"> -“superfici a contatto”: effettuare il prelievo sulle superfici a contatto (es. attrezzature, ripiani di lavorazione, utensili) utilizzati nella linea di lavorazione del prodotto prelevato e, quando applicabile, nell'ambiente post letale principalmente durante la lavorazione, ma anche in fase preoperativa e, ovviamente, nelle aree che avessero avuto in passato problemi di sanificazione o risultate contaminate. -“Superfici non a contatto”: effettuare il prelievo in tutte le aree dello stabilimento dove il prodotto è lavorato, stoccato e trattenuto (ambiente post letale) e in particolare, nelle aree dove maggiore è la probabilità di riscontrare la presenza di Listeria monocytogenes. <p>E' possibile effettuare “pool” di campioni, cioè collezionare diversi prelievi da superfici omogenee ed analizzarli in un unico campione fino ad un massimo di 3 prelievi di superfici per pool su superfici a contatto e 4-5 per superfici a contatto indiretto/ non a contatto. Le superfici si intendono omogenee quando sono tutte a contatto/ contatto indiretto o non a contatto, appartengono alla stessa area e/o reparto e se sono state eseguite nella stessa fase (in lavorazione, in post igienizzazione etc). Le superfici devono essere campionate singolarmente ciascuna con l'uso di una sponge. Il pool verrà allestito dal laboratorio su indicazione del cliente).</p>

ANALYTICAL snc Sez. Analisi Alimentari e Autocontrollo via Roma, 66 43013 LANGHIRANO (PR)	ISTRUZIONE OPERATIVA CAMPIONAMENTO	IO03PRC Rev. 15 Del 17/11/2020 Pagina 11 di 15
--	---	---

Materiale associato all'acqua per ricerca/conteggio Legionella spp/ pneumophila (tamponi, depositi, sedimenti, fanghi...)	<ul style="list-style-type: none"> • Tamponi Con un tampone sterile campionare se possibile una superficie 10x10 cm² e posizionare il tampone immediatamente nella provetta contenente soluzione Ringer o acqua di rubinetto sterile (quantità nota, in grado per lo meno di bagnare completamente la parte del tampone utilizzata per il prelievo) • Materiali solidi associati all'acqua: trasferire una quantità di campione compresa tra 0.1 g e 10 g in un contenitore sterile contenente una quantità di soluzione di Ringer o acqua di rubinetto sterile pari a 9 volte il peso del materiale <p>Immediatamente dopo il prelievo identificare il campione Trasporto nel più breve tempo possibile in contenitore termico (2-8°C) al buio, in modo che l'analisi inizi nella stessa giornata lavorativa (24-48 ore massimo dal prelievo)</p>
--	--

Aria (analisi microbiologica)	<ul style="list-style-type: none"> • Prima di utilizzare lo strumento verificare lo stato di carica della batteria e, se necessario , provvedere a caricarla seguendo <u>attentamente</u> il libretto di istruzioni dello strumento. • La sanificazione dello strumento prima di ogni utilizzo è fondamentale: la testata in acciaio insieme alla sua protezione in resina plastica sono autoclavabili a 121°C per 15 minuti. Il SAS va sanificato sia esternamente che in tutte le superfici interessate dal passaggio dell'aria spruzzando alcool sterile a circa 30 cm dalla testata in acciaio sterile lasciando lo strumento in funzione (aspirazione attiva) per circa 30 secondi. Per preservare la sterilità dello strumento sino al momento del campionamento proteggere la testata in acciaio con la sua protezione in materiale plastico sterile . • Sul posto di campionamento indossando un guanto monouso sterile rimuovere la testata in acciaio utilizzata per proteggere lo strumento durante il trasporto; posizionare nell'apposito alloggiamento una piastra di terreno agarizzata e avvitare al SAS una testata monouso sterile (sostituire sempre la testata ogni volta che si renda necessario). • Accendere lo strumento e verificare se il volume di aria impostato che appare sul display corrisponde al volume che si desidera aspirare; in caso contrario modificare il volume di aspirazione seguendo le indicazioni riportate sul libretto di istruzione dello strumento e dare inizio al ciclo di aspirazione. Terminato il ciclo di aspirazione, facendo molta attenzione , svitare la testata tenendola per il bordo (senza toccare la parte forata interne ed esterna della testata) e rimuovere la piastra di terreno dopo averne riposizionato il coperchio: a conferma dell'avvenuta aspirazione sarà possibile osservare sulla superficie del terreno l'”impronta” lasciata dal flusso d'aria. Identificare la piastra con pennarello indelebile e ripetere l'intera operazione per le altre piastre agarizzate (ognuna con un terreno diverso e specifico in base al microrganismo da ricercare). • Compilare SR05PRC/7 con tutte le informazioni richieste. • Trasportare in laboratorio all'interno di un contenitore termico nel più breve tempo possibile (in modo che i campioni arrivino in laboratorio entro le 24 ore dal prelievo), ad una temperatura compresa tra 1°- 4°C.
--------------------------------------	---

7.8 Compilazione della Scheda di accettazione/Verbale di Prelievo (SR05PRC)

La Scheda di accettazione/Verbale del prelievo va compilata in ogni sua parte nel modo più esaustivo possibile. Indicare con precisione:

- cliente presso cui si esegue il prelievo o che ha eseguito il campionamento e l'indirizzo
- punto di prelievo, tipo di materiale prelevato e Lotto
- data e ora del prelievo;
- Temperature di prelievo (alimenti deperibili), di trasporto, di arrivo e di conservazione.
- Idoneità contenitore campione
- richieste di analisi da parte del committente ed eventuali sue raccomandazioni;
- idoneità quantità di campione prelevata
- area della superficie campionata se conosciuta o descrizione dell'oggetto/ superficie campionata (per i tamponi/spugnette)

ANALYTICAL snc Sez. Analisi Alimentari e Autocontrollo via Roma, 66 43013 LANGHIRANO (PR)	ISTRUZIONE OPERATIVA CAMPIONAMENTO	IO03PRC Rev. 15 Del 17/11/2020 Pagina 12 di 15
--	---	---

- per i tamponi/spugnette: se sono effettuati post-igienizzazione pre operativa, post-igienizzazione operativa o durante la lavorazione; per tamponi/ spugnette e carcasse: orario di consegna in laboratorio
- nome e firma (o sigla tipica) di chi effettua il prelievo
- firma per accettazione del cliente
- N° del verbale di campionamento e numero del registro analisi assegnato (in laboratorio)
- firma operatore delegato all'accettazione

8. Espressione dei risultati

Non applicabile

9. Bibliografia/Riferimenti

- ISO 7218:2007/Amd. 1:2013 Microbiology of food and animal feeding stuff – General requirements and guidance for microbiological examinations
- ISO 17604:2015 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Carcass sampling for microbiological analysis
- ISO 18593 :2018 Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal methods for surface sampling.
- UNI EN ISO 19458:2006: Campionamento per analisi microbiologiche
- Reg. (CE) 2073/2005 Criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari
- Reg. (CE) 1441/2007 che modifica il Reg.(CE) 2073/05
- Regione Emilia Romagna:” Recepimento delle Linee guida nazionali di intesa Stato-Regioni sui controlli ufficiali in sicurezza alimentare ai sensi dei regolamenti (CE) 882 e 854/2004” n. 301 del 07.11.2017
- UNI EN ISO 5667-1 :2007- Qualità dell’acqua Campionamento- Parte 1 : Linee guida per la definizione dei programmi e delle tecniche di campionamento
- ISO 5667-5 :2006 – Water quality – sampling- Part 5 : Guidance on sampling of drinking water from treatment works and piped distribution system
- D.lgs 31/2001 e s. m. i. – Attuazione delle direttive 98/83/CE relativa alla qualità delle acque destinate al consumo umano
- UNI EN ISO 5667-3 :2018
- ISO 11731 :2017
- ISO 2917/99 – Meat and meat products – Measurement of pH – reference method
- ISO 21807 : 2004 – Microbiology of food and animal feeding stuffs – Determination of water activity
- ISO 1841-1 :1996 – Meat and meat products – Determination of chloride content-Part 1 : Volhard method
- ISO 1442 :1997 – Meat and meat products – Determination of moisture content (Reference method)
- UNI EN ISO 19458 :2006 – Qualità dell’acqua campionamento per analisi microbiologiche
- UNI EN ISO 6887-1 :2017 – Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – Part : general rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.

ANALYTICAL snc Sez. Analisi Alimentari e Autocontrollo via Roma, 66 43013 LANGHIRANO (PR)	ISTRUZIONE OPERATIVA CAMPIONAMENTO	IO03PRC Rev. 15 Del 17/11/2020 Pagina 13 di 15
--	---	---

- USDA FSIS MLG 8.11 2019 (isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry, Egg and Environmental Samples).
- Circolare 25 giugno 2019: *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp nei prodotti a base di carne suina destinati all'export negli USA - Criteri e modalità di gestione dell'autocontrollo aziendale e modalità di verifica dell'Autorità Competente.
- Circolare 17 marzo 2017: Controllo ufficiale presso gli stabilimenti iscritti nella lista degli impianti italiani autorizzati all'esportazione di prodotti alimentari di competenza USDA-FSIS in USA – REV 1
- Oliviero Bassoli - Manlio Della Ciana “Linee guida per l’applicazione delle norme USA negli stabilimenti iscritti nella lista per l’esportazione in America” – 2009
- Manuale d’istruzioni SAS SUPER IAQ –PBI
- UNI EN ISO 14698-1 :2004 App.A
- UNI EN 13098 :2019
- ISS- Campionamento e conservazione dei campioni microbiologici
- UNI EN ISO 14698-1 :2004 App.C
- APAT CNR IRSA 6010 Man 29 2003
- Rapporti ISTISAN07/05
- Commissione Europea – Fiscalità e Unione Doganale – Gestione dei campioni
- Decreto del Ministero della Salute de 10/02/2015

10. Validazione del metodo

Non applicabile

11. Registrazione e Archiviazione

A cura di RPE e archiviazione in Postazione Qualità

12. Norme di sicurezza e precauzioni

Per il campionamento di *Legionella*, considerando che la modalità di trasmissione dell’infezione è attraverso inalazione di aerosol, i campioni in cui essa può essere presente devono essere maneggiati da personale esperto e formato.

In ogni caso il tecnico che preleva i campioni non deve appartenere ad una categoria a rischio (persone che sono sottoposte a trattamento con corticosteroidi, che abbiano affezioni croniche a carico dell’apparato respiratorio, diabetici etc...) ed è raccomandato che :

- Indossi quando necessario dispositivi di protezione individuale (guanti, mascherina, occhiali)
- Minimizzi la formazione di aerosol facendo scorrere l’acqua delicatamente dall’erogatore oggetto del campionamento, evitando l’esposizione ad aerosol per sè e per altri.

ANALYTICAL snc Sez. Analisi Alimentari e Autocontrollo via Roma, 66 43013 LANGHIRANO (PR)	ISTRUZIONE OPERATIVA CAMPIONAMENTO	IO03PRC Rev. 15 Del 17/11/2020 Pagina 14 di 15
--	---	---

- Eviti l'esposizione ad aerosol

Ove praticabile e necessario, richiedere la disattivazione delle torri di raffreddamento o dei condensatori evaporativi, almeno 20 minuti prima di effettuare il campionamento.

Per il prelievo delle acque reflue è importante osservare norme igieniche di sicurezza a tutela della salute dell'operatore, pertanto è indispensabile l'utilizzo di guanti.

STATO DELLE REVISIONI

REVISIONE	MOTIVO DELLA REVISIONE	DATA
2	Aggiornamento bibliografia	28.12.2009
3	Precisazioni e ampliamento nuovi metodi	31.03.2011
4	Modifiche al campionamento delle acque potabili	01.04.2012
5	Aggiornamento sulla base delle non conformità della visita di ACCREDIA	28.02.2013
6	Precisazione in merito identificazione tamponi e sponge durante il campionamento	15.07.2014
7	Introduzione norma UNI EN ISO 14698-1:2004 App. C	13.02.2015
8	Aggiornamento sulla base del rilievo n°6 di 7 Accredia del 12.06.2015 e adeguamento a quanto descritto in IO12FA rev.03	29.06.2015
9	Adeguamento a quanto descritto in PR11LEG rev.00	05.05.2016
10	Precisazione sulla temperatura di trasporto delle acque	01.07.2017
11	Temperature di Trasporto e conservazione dei campioni non deperibili	13.06.2018
12	Revisione norma ISO 18593 e campionamento Legionella secondo ISO 19458:2006	05.12.2018
13	Correzione refuso (sostituzione D.M 542/92, abrogato, con D.M.10/02/2015 e aggiornamento bibliografia)	24.09.2019
14	Adeguamento al Dms del 14 giugno 2017; precisazioni	31.12.2019
15	Specifiche prelievo acque per analisi microbiologiche secondo ISO 19458:2006	17.11.2020

APPROVAZIONI

Redazione	Verifica e Approvazione