

	ISTRUZIONE OPERATIVA	IO18
	ISTRUZIONE DI CAMPIONAMENTO	Rev. 03 28/02/2019 Pag. 1 di 6

INDICE

1. PROCEDURA DI PRELIEVO DI ALIMENTI	2
2. PROCEDURA DI PRELIEVO CON TAMPONI (ISO 18593)	2
3. PROCEDURA DI PRELIEVO DELLE ACQUE	3
4. COMPILAZIONE VERBALE PRELIEVO	4
5. TRASPORTO CAMPIONI	5
6. MATERIALI E STRUMENTI NECESSARI	6

Revisioni

REVISIONE	DATA	DESCRIZIONE
01	08/03/2016	Inserimento procedura campionamento acque e precisazioni sull'impiego di tamponi (spugne e dipslide)
02	28/04/2017	Integrazione specifiche campionamento acque per legionella
03	28/02/2019	Aggiornamento delle indicazioni sulle superfici da campionare e della procedura di trasporto

Redatto RL A. Grassi	Verificato RQ A. Bolazzi	Approvato DG A. Bolazzi
 firma	 firma	 firma

1. PROCEDURA DI PRELIEVO DI ALIMENTI

1. Si può ritenere sufficiente un singolo campione composto da almeno 100 g di alimento per le analisi microbiologiche di routine e da almeno 150 g se a dette analisi viene prevista la ricerca aggiuntiva di *Listeria monocytogenes*. Conservare il quantitativo di campione eccedente in condizioni tali da non modificare le sue condizioni microbiologiche.
2. Quando possibile, far giungere al laboratorio confezioni originali, integre, ancora sigillate di materie prime.
3. Se il prodotto di un contenitore è troppo grande per essere trasportato nella confezione originale al laboratorio, trasferire campioni rappresentativi in un contenitore sterile separato, in condizioni asettiche. Eliminare la contaminazione superficiale della confezione mediante lavaggio e disinfezione con alcool a 90%. Aprire la confezione con forbici o coltello sterili.
4. Se l'alimento si presenta in una grossa massa, prelevare in punti diversi e non solo sulla sommità e sul fondo.
5. Impegnarsi per ottenere sempre un campione rappresentativo. Agitare il liquido o rimettere in sospensione le particelle sino ad ottenere un prodotto omogeneo.
6. Prendere nota della temperatura del campione al prelievo o della temperatura di conservazione dello stesso.

2. PROCEDURA DI PRELIEVO CON TAMPONI (ISO 18593)

Metodo per il campionamento di superfici ambientali mediante l'impiego di tamponi

Predisporre l'attrezzatura necessaria sul piano di lavoro assicurandosi di non entrare in contatto con le superfici sterili.

Lavare e disinfettare le mani e asciugarle con carta a perdere prima di indossare i guanti. Assicurarsi che le maniche del camice o comunque gli indumenti non possano entrare in contatto al momento del prelievo e della sua preparazione con le superfici da campionare e/o con le attrezzature sterili.

Se l'area da campionare è definibile da una dimensione numerica (es. cm²), è necessario seguire le istruzioni qui riportate:

TIPOLOGIA DI ANALISI	ISTRUZIONI DI CAMPIONAMENTO
ANALISI QUALITATIVE <i>es. Listeria m.</i> <i>Salmonella spp</i>	Quando le aree sono accessibili, l'area campionata totale dovrebbe essere la più ampia possibile così da aumentare la probabilità di rilevare i microrganismi. A questo proposito, si consiglia di campionare tra 1.000 cm² e 3.000 cm² quando possibile.
ANALISI QUANTITATIVE	L'area non deve necessariamente essere così grande, ad es. ≤ 100 cm²

TAMPONI UMIDI:

Inumidire il tampone in 10 ml di diluente sterile. Assicurarsi che il tampone sia adeguatamente imbevuto senza che lo stesso presenti un eccesso di liquido. Eventualmente eliminare l'eccesso ruotando il tampone sulla superficie interna del tampone.

TAMPONI UMIDI E TAMPONI SECCHI

Aprire il tampone e procedere nel tamponamento della superficie prescelta secondo quanto descritto in seguito.

Dopo avere identificato i siti di campionamento, delimitare l'area da sottoporre a prelievo.

Per i tamponi umidi o a secco, possono essere impiegati delimitatori sterili monouso. L'area compresa nel perimetro interno del delimitatore non deve venire a contatto con le mani dell'operatore né con alcun altro materiale diverso dal tampone per campionamento.

Tamponare tutta l'area oggetto di prelievo esercitando una buona pressione, avendo cura di ruotare il tampone in modo che tutta la superficie del tampone stesso entri in contatto con la superficie da campionare. Il tampone deve essere strisciato sulla superficie da campionare orizzontalmente, verticalmente e in diagonale (circa 10 volte in ciascun senso). Il tampone non deve essere strofinato al di fuori dell'area delimitata. Riporre quindi il tampone nella provetta contenente il diluente sterile, spezzando l'asta contro la parete del contenitore.

Indicare sul verbale di prelievo l'area tamponata.

N.B. In caso di superfici irregolari ove sia impossibile l'utilizzo del delimitatore, campionare tutta la superficie di interesse e annotare sul verbale la dicitura "intera superficie" (IS).

DIPSLIDE:

Aprire la dipslide (generalmente svitando il tappo) e premere le superfici di agar saldamente e senza alcun movimento laterale contro la superficie di prova. È necessario che il tempo di contatto sia di almeno 10 s ed esercitando una pressione di almeno 500 g. Chiudere la dipslide subito dopo l'inoculazione e metterli di nuovo nel contenitore per il trasporto.

SPUGNE:

Aprire il sacchetto contenente la spugna e procedere nel tamponamento della superficie prescelta. Le spugne sono impiegate esclusivamente per lo svolgimento di prove qualitative (es. Listeria o Salmonella).

Per le spugne, possono essere impiegati delimitatori sterili monouso. L'area compresa nel perimetro interno del delimitatore non deve venire a contatto con le mani dell'operatore né con alcun altro materiale diverso dalla spugna per campionamento.

Tamponare tutta l'area oggetto di prelievo esercitando una buona pressione, avendo cura di strofinare la spugna in modo che tutta la superficie entri in contatto con la superficie da campionare. La spugna deve essere strisciata sulla superficie da campionare orizzontalmente, verticalmente e in diagonale (circa 10 volte in ciascun senso).

Riporre quindi la spugna nel suo sacchetto contenente il neutralizzante sterile, estraendo l'asta collegata ad essa. Indicare sul verbale di prelievo l'area tamponata.

Indicare sul verbale di prelievo l'area tamponata.

N.B. In caso di superfici irregolari ove sia impossibile l'utilizzo del delimitatore, campionare tutta la superficie di interesse e annotare sul verbale la dicitura "intera superficie" (IS).

3. PROCEDURA DI PRELIEVO DELLE ACQUE

Al momento del campionamento è necessario considerare con attenzione i volumi di acqua da prelevare. Vanno infatti definiti in funzione dei parametri da determinare, devono essere superiori al minimo necessario per procedere allo svolgimento degli esami richiesti.

Il prelievo dei campioni microbiologici deve essere effettuato con recipienti sterili contenenti sodio tiosolfato, a perfetta tenuta.

Contenitori da 500 mL sono sufficienti per i parametri indicatori (Conta batterica a 22 e 36 °C, Escherichia coli, Coliformi totali ed Enterococchi).

Contenitore da 1000 mL è necessario per la ricerca e conta della Legionella (L. pneumophila o L. spp.)

In entrambi i casi si usano bottiglie sterili in materiale plastico contenenti sodio tiosolfato per neutralizzare il cloro residuo libero.

Le bottiglie utilizzate per prelevare campioni di acqua non devono essere mai sciacquate all'atto del prelievo.

Prima di prelevare l'acqua da un rubinetto occorre procedere alla disinfezione del rubinetto, tranne nei casi in cui è necessario ottenere campioni per indagini epidemiologiche (es. legionella).

Dai rubinetti devono essere eliminati eventuali depositi, mucillagini, sostanze grasse. La pulizia può essere eseguita con una soluzione di sodio ipoclorito o analoghi disinfettanti, lasciare agire il disinfettante per 2-3 minuti e poi sciacquare bene.

5. TRASPORTO CAMPIONI

Il trasporto viene effettuato in maniera da impedire un'eventuale danneggiamento del campione e minimizzare la variazione del misurando presente all'atto del prelievo; per i prodotti refrigerati e congelati vengono utilizzati sistemi di trasporto in modo da prevenire modificazioni della temperatura (borse termiche, contenitori termici e frigoriferi portatili).

TRASPORTO A TEMPERATURA CONTROLLATA

I campioni che necessitano di trasporto a temperatura controllata sono:

- a) Alimenti/mangimi deperibili
- b) Tamponi
- c) Acqua

Il trasporto deve avvenire con frigoriferi portatili senza generatore di freddo (frigocontenitori) e/o con frigoriferi portatili con generatore di freddo; il trasporto avviene nel minor tempo possibile. I frigoriferi portatili contengono dei panetti di materiale eutettico precongelati (icepack) sufficienti a garantire una temperatura interna che **per:**

i campioni alimentari (ISO 7218) è di 1 °C a 8 °C;

i campioni stabili a temperatura ambiente (ISO 7218) è <40 °C;

i campioni alimentari surgelati (ISO 7218) è -15 °C (preferibilmente -18 °C)

le acque (ISO 19458) è di 2 °C a 8 °C;

i tamponi/spugne/dipslide da 1 °C a 8 °C (ISO 18593).

Campioni Refrigerati

I frigo contenitori vengono di norma utilizzati per il trasferimento dal punto di prelievo di campionamento al laboratorio e/o al mezzo di trasporto. Attualmente non vengono effettuati trasporti superiori alle 4 ore.

In ogni frigo contenitore vengono posti almeno 4 icepack da circa 1 L, disposti sul fondo e lungo le pareti; il frigo contenitore viene aperto il meno possibile.

Campioni Caldi

Per tempi di trasporto brevi (inferiori a 4 h) i campioni vengono trasferiti al laboratorio senza necessità di abbattimento della temperatura, in caso contrario viene abbattuta la temperatura in modo conveniente (possibilmente presso il cliente) e si procede come per i campioni refrigerati.

Campioni Congelati e Surgelati

I campioni congelati vengono trasportati mediante il frigorifero portatile elettrico, pre refrigerato e regolato alla minima temperatura; per il trasporto dal punto di campionamento al mezzo di trasporto e per il trasferimento a breve distanza (inferiori alle 4 ore) può essere utilizzato il frigo contenitore con gli icepack precongelati (min. 4). La temperatura dei campioni congelati all'arrivo in laboratorio deve essere almeno non superiore a **-15 °C**. Se la temperatura all'arrivo è superiore a **-15 °C** ma inferiore a **+4** (trasporto inferiore alle 12 ore), si procede alle analisi nel più breve tempo possibile.

TRASPORTO GENERICO

I campioni che non necessitano di temperatura controllata vengono comunque trattati in modo da preservare le caratteristiche proprie del campione, integrità e igiene. I campioni vengono inseriti in contenitori per evitare il danneggiamento durante il tragitto, per ripararli da sorgenti dirette di luce e per assicurare idonee condizioni igieniche.

6. MATERIALI E STRUMENTI NECESSARI

TIPOLOGIA	CONTENUTO
BORSA FRIGORIFERA	<ol style="list-style-type: none"> 1. Sacchetti sterili (se previsti prelievi alimenti); 2. Tamponi sterili (se previsti prelievi su superfici); 3. Dipslide (se previsti prelievi su superfici); 4. Bottiglie sterili con tiosolfato (se previsto prelievo acqua) 5. Modulistica di prelievo (Scheda Prelievo); 6. Panetti refrigeranti 7. Boccetta con soluzione di glicole
FRIGOCONTENITORE	<ol style="list-style-type: none"> 1. Recipienti sterili o sterilizzati idonei (plastica, sacchetti in plastica) 2. Bottiglie di plastica sterili (se previsto prelievo acqua) 3. Panetti refrigeranti prelevati da congelatore al momento della partenza almeno 4 ogni frigo contenitore (autonomia 5 ore) 4. Boccetta con soluzione di glicole
DOTAZIONE OPERATORE	<ol style="list-style-type: none"> 1. Termometro tarato; 2. Pennarello indelebili/penna; 3. Guanti in lattice; 4. Mascherina; 5. Camice; 6. Copricapo; 7. Calzari in materiale lavabile o usa e getta