

<b>ISTRUZIONE OPERATIVA</b>		<i>MARE. A srl.</i>
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 00 del 15/01/09	
Pagina 1 □ di 14 □		H:\MARE A\LABORATORIO\Laboratorio micro\Accreditamento\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA_DOC\DOCUMENTAZIONE DOC\ISTRUZIONI OPERATIVE\CAMPIONAMENTO\IO 7-01 Campionamento_superfici.doc

# ISTRUZIONE OPERATIVA

## CAMPIONAMENTO SUPERFICI E ATTREZZATURE

REVISIONE NUMERO	DATA	REDATTA DA DIR (firma)	VERIFICATA DA RAQ (firma)	APPROVATA DA AMM (firma)	PARAGRAFO REVISIONATO NUMERO	MOTIVO

<b>ISTRUZIONE OPERATIVA</b>		<i>MARE. A srl.</i>
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 00 del 15/01/09	
Pagina 2 □ di 14 □	H:\MARE A\LABORATORIO\Laboratorio micro\Accreditamento\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA_DOC\DOCUMENTAZIONE DOC\ISTRUZIONI OPERATIVE\CAMPIONAMENTO\IO 7-01 Campionamento_superfici.doc	

## INDICE

A. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE .....	3
B. RESPONSABILITA' .....	3
C. MODALITA' .....	3
Microbiologia degli alimenti e dei mangimi animali - Metodi orizzontali per tecniche di campionamento da superfici usando dischi da contatto e tamponi. ....	3
D. ARCHIVIAZIONE .....	13
E. RIFERIMENTI.....	13

<b>ISTRUZIONE OPERATIVA</b>		<i>MARE. A srl.</i>
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 00 del 15/01/09	
Pagina 3 □ di 14 □	H:\MARE A\LABORATORIO\Laboratorio micro\Accreditamento\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA_DOC\DOCUMENTAZIONE DOC\ISTRUZIONI OPERATIVE\CAMPIONAMENTO\IO 7-01 Campionamento_superfici.doc	

## A. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Scopo della presente istruzione operativa è quello di consentire all'operatore di effettuare il prelievo da superfici e attrezzature in modo da ottenere un campione attendibile per la successiva analisi in laboratorio.

## B. RESPONSABILITA'

E' responsabilità dell'operatore (idoneamente informato) effettuare il campionamento come riportato nella seguente istruzione operativa.

## C. MODALITA'

ISO 18593:2004

**Microbiologia degli alimenti e dei mangimi animali - Metodi orizzontali per tecniche di campionamento da superfici usando dischi da contatto e tamponi.**

## INTRODUZIONE

Può essere importante determinare la presenza, o il numero di microrganismi possibili, sulle superfici di utensili, superfici di lavoro e altra attrezzatura in contatto con il cibo, per stimare il livello di contaminazione durante la produzione o l'efficacia dei protocolli di pulizia e di disinfezione.

I metodi orizzontali descritti in questo Standard Internazionale riguardano un metodo di contatto su una superficie usando dischi da contatto (o Dip-Slide) e/o un metodo con tampone. Il metodo con disco da contatto è applicabile solo alle superfici piane, mentre il metodo con tampone può essere usato per tutti i tipi di superficie. Per il campionamento su superfici larghe (>100 cm<sup>2</sup>) si possono usare CLOTHS sterili o spugne. Questo metodo alternativo è utile per la stima della carica microbica delle superfici.

I risultati sono spesso presentati come indicatori di igiene basati sul numero di unità formanti colonia (UFC) per centimetro quadrato presente sulla superficie di analisi.

**Microbiologia degli alimenti e dei mangimi animali - Metodi orizzontali per tecniche di campionamento da superfici usando dischi da contatto e tamponi.**

## 1. OGGETTO

<b>ISTRUZIONE OPERATIVA</b>		<b>MARE. A srl.</b>
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 00 del 15/01/09	
Pagina 4 di 14	H:\MARE A\LABORATORIO\Laboratorio micro\Accreditamento\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA_DOC\DOCUMENTAZIONE DOC\ISTRUZIONI OPERATIVE\CAMPIONAMENTO\IO 7-01 Campionamento_superfici.doc	

Questo Standard Internazionale specifica i metodi orizzontali per tecniche di campionamento usando dischi da contatto o tamponi su superfici nell'ambiente di industrie alimentari ( e piante di trasformazione dei prodotti alimentari), con uno sguardo alla rilevazione o all'enumerazione dei microrganismi possibili.

Nota – Con il termine “ambiente” si intende ogni oggetto in contatto con l'alimento o rappresentante una fonte di contaminazione o ricontaminazione, per esempio materiali, locali, operatori.

## 2. RIFERIMENTI NORMATIVI

I seguenti documenti di riferimento sono indispensabili per l'applicazione di questo documento. Per i riferimenti stabiliti, si applica solo l'edizione citata. Per riferimenti non datati, si applica l'ultima edizione del documento di riferimento (incluso ogni emendamento).

ISO 6887-1, *Microbiologia degli alimenti e dei mangimi animali- Preparazione dei campioni di analisi, sospensione iniziale e diluizioni decimali per analisi microbiologiche – Parte 1: regole generali per la preparazione della sospensione iniziale e delle diluizioni decimali.*

ISO 7218, *Microbiologia degli alimenti e dei mangimi animali – Regole generali per analisi microbiologiche*

## 3. PRINCIPIO

**3.1** A causa del fatto che questi metodi non sono quantitativamente certi o riproducibili, i risultati dovrebbero essere usati solo in una “analisi di tendenza”.

**3.2** Un disco da contatto o una slide riempito con un terreno ad Agar adatto è premuto contro la superficie che deve essere testata. Dopo incubazione, una stima della contaminazione superficiale è ottenuta dalla conta del numero delle colonie sviluppate.

**3.3** Usando il metodo con tampone , una specifica area della superficie da esaminare viene contrassegnato (es. con una TEMPLATE”) e poi pulito. I tamponi in stick sono rotti in una provetta o in una bottiglia contenente una diluizione sterile o un liquido neutralizzante e mescolato a mano.

Se la superficie è inumidita con un panno sterile (pulito) o una spugna, il dispositivo di campionamento viene conservato in un volume noto di un liquido di diluizione (es. 100ml per 100 cm<sup>2</sup>).

In laboratorio la sospensione iniziale e, se necessario, le ulteriori diluizioni decimali sono usate per determinare il numero di microrganismi usando le procedure descritte nei metodi per la conta dei (gruppi di ) microrganismi che devono essere cercati.

Nota – Il tempo e la temperatura di incubazione dipendono dal tipo di microrganismo che deve essere rilevato.

<b>ISTRUZIONE OPERATIVA</b>		<i>MARE. A srl.</i>
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 00 del 15/01/09	
Pagina 5 □ di 14 □	H:\MARE A\LABORATORIO\Laboratorio micro\Accreditamento\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA_DOC\DOCUMENTAZIONE DOC\ISTRUZIONI OPERATIVE\CAMPIONAMENTO\IO 7-01 Campionamento_superfici.doc	

**3.4** Per i terreni selettivi, possono essere eseguiti dei test di conferma appropriati. Il numero delle unità formanti colonia di microrganismi specifici per centimetro quadrato o per tampone è calcolato a partire dal numero di colonie (confermate).

**3.5** Dopo il campionamento, la superficie viene pulita e disinfettata, se necessario, per evitare che tracce di nutrienti risultino rimaste dalla procedura di campionamento sulla superficie campionata.

#### **4. TERRENI DI COLTURA E LIQUIDO DI DILUIZIONE**

Nota – Per ulteriori informazioni, vedere gli Standard Internazionali attinenti per i microrganismi bersaglio che devono essere rilevati o contati.

##### **4.1 *Liquido neutralizzante***

In generale, la base per il liquido neutralizzante è l'acqua peptonata, o il sale peptonato, o qualsiasi altro diluente appropriato (come quarter-strength della soluzione di Ringer, tampone fosfato a pH 7,5, soluzione peptonata a 1g/l).

Nei casi in cui sono previsti residui di disinfettanti, dovranno essere aggiunti appropriati neutralizzatori al liquido di diluizione e al terreno usato sui dischi di contatto per prevenire qualsiasi effetto inibitorio dei disinfettanti sulla crescita dei microrganismi.

#### **5. APPARECCHIATURA E VETRERIA**

Per requisiti generali, vedere ISO 7218.

Strumentazione usa e getta è un' alternativa accettabile alla vetreria riutilizzabile se ha simili caratteristiche.

Dispositivi usuali di laboratorio microbiologico e in particolare i seguenti.

**5.1 piastre da contatto**, piastre di plastica con diametro di 65 mm, riempite con un volume stabilito di terreno ad agar (scelto a seconda del meccanismo bersaglio), fatte apposta per campionare superfici.

Le piastre variano in diametro o superficie, in accordo con il tipo di superficie che deve essere campionata. L'agar deve formare un menisco convesso con la piastra.

Nota – E' possibile anche usare qualsiasi altro meccanismo (terreno nutritivo in un contenitore flessibile o rigido) che è in grado di stare in contatto con la superficie che deve essere testata, come un dipslide (5.2).

**5.2 *Dipslide***, sintetico DIPSLIDE (tra 7 e 10 cm<sup>2</sup>), in cui uno o entrambi i lati sono coperti con uno strato di terreno di crescita solido (scelto in accordo con il microrganismo bersaglio).

<b>ISTRUZIONE OPERATIVA</b>		<i>MARE. A srl.</i>
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 00 del 15/01/09	
Pagina 6 □ di 14 □	H:\MARE A\LABORATORIO\Laboratorio micro\Accreditamento\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA_DOC\DOCUMENTAZIONE DOC\ISTRUZIONI OPERATIVE\CAMPIONAMENTO\IO 7-01 Campionamento_superfici.doc	

Nota – Diversi terreni di crescita sono disponibili in accordo con il microrganismo(i) cercato.

**5.3 Tamponi**, bastoncini che si possono rompere, con tampone di cotone o materiale sintetico (come alginato o rayon) contenuto in una provetta o in una busta.

Il tampone deve essere spostato individualmente e sterilizzato. Deve essere documentato che il materiale usato sia libero da sostanze inibitorie.

Nota – Per alcuni tipi di superficie, i residui di cotone possono contaminare le parti interne di queste superfici dopo campionamento.

**5.4 Panni**, materiale in tessuto sterile, pulito, libero da sostanze antimicrobiche, confezionato singolarmente in buste di plastica sterili, usato per il campionamento di ampie superfici ( $\geq 100 \text{ cm}^2$ ).

**5.5 Spugne**, quadrati sterili, puliti di spugna piana, liberi da sostanze antimicrobiche, confezionati singolarmente in buste di plastica sterili usato per il campionamento di ampie superfici ( $\geq 100 \text{ cm}^2$ ).

**5.6 Contenitori**, come bottiglie, provette o beute, adatte per la sterilizzazione e la conservazione dei terreni di coltura.

**5.7 Borse frigo**, isolate, capaci di mantenere i campioni a bassa temperatura durante il trasporto al laboratorio.

**5.8 Pipette graduate**, che hanno ampie aperture e una capacità nominale di 1 ml, graduate in divisioni da 0,1 ml, o **pipette automatiche** da 100  $\mu\text{l}$  e 1000  $\mu\text{l}$ .

**5.9 Mixer**, per miscelare liquidi nelle provette delle colture.

**5.10 Omogeneizzatore peristaltico o omogeneizzatore con agitazione orizzontale**, con borse di plastica sterili per preparare la sospensione iniziale attraverso un movimento peristaltico (omogeneizzatore peristaltico) o un movimento di vibrazione (omogeneizzatore con agitazione orizzontale).

**5.11 Piastre Petri**, fatte di plastica di diametro 65 mm.

**5.12 pH-metro**, con divisione pari a 0,01 unità di pH a  $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ , con accuratezza di 0,1 unità di pH.

**5.13 Mascherina**, fatta di un materiale resistente alla corrosione (es. una struttura di acciaio inossidabile che acclude su un'area da 20 a  $100 \text{ cm}^2$ ) facile da pulire e sterilizzabile, oppure mascherine in carta monouso.

## 6. TECNICHE DI CAMPIONAMENTO

<b>ISTRUZIONE OPERATIVA</b>		<i>MARE. A srl.</i>
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 00 del 15/01/09	
Pagina 7 □ di 14 □	H:\MARE A\LABORATORIO\Laboratorio micro\Accreditamento\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA_DOC\DOCUMENTAZIONE DOC\ISTRUZIONI OPERATIVE\CAMPIONAMENTO\IO 7-01 Campionamento_superfici.doc	

## 6.1 Generale

E' importante che il laboratorio riceva un campione che sia rappresentativo della superficie testata e che non sia stato cambiato durante il trasporto e lo stoccaggio oppure da residui di disinfettanti.

I disinfettanti sono generalmente formulati per una disinfezione il cui tempo di contatto va da 5 a 15 minuti. Attendere per un periodo di tempo in accordo con le indicazioni sul disinfettante prima di analizzare la superficie con tamponi o dischi da contatto, per valutare l'efficacia del programma di pulizia e disinfezione ( o altrimenti secondo le indicazioni sul disinfettante).

Non può essere prescritto un neutralizzatore appropriato per tutte le situazioni. Generalmente, **sorbitano monooleato** (30 g/l) e la lecitina (3 g/l) sono utili per neutralizzare i residui di disinfettanti assorbiti (es. composti quaternari dell'ammonio, anfoteri). Il sodio tiosolfato (5 g/l) è un buon neutralizzatore per i prodotti alogenati. Nel caso di disinfettanti perossidati, può essere usata come neutralizzatore la catalasi e la perossidasi. Una unità di questi enzimi catalizza la decomposizione di una  $\mu\text{mol}$  di perossido di idrogeno al minuto a 25°C e a pH 7,0  $\pm$  0,2. Un numero di neutralizzatori disinfettanti sono raccomandati in EN 1276<sup>[1]</sup>, EN 1650<sup>[2]</sup>, EN 13697<sup>[3]</sup> e EN 13704<sup>[4]</sup>.

I componenti di un neutralizzatore che può essere usato nella maggior parte delle situazioni sono espressi in Tabella 1. Preparare una soluzione di peptone (1g/l) e di cloruro di sodio (8,5 g/l), distribuire in provette o bottiglie e sterilizzare per 15 minuti a 121° C.

**Tabella 1 – Neutralizzatore che può essere usato nella maggior parte delle situazioni**

Componente	Conc.
Sorbitano monooleato (Polysorbato 80)	30 g/l
Lecitina	3 g/l
Tiosolfato di sodio	5 g/l
L- Istidina	1 g/l
Saponina	30 g/l

## 6.2 Metodo con piastra da contatto

Dopo averlo rimosso dai contenitori di trasporto, premere la superficie di agar della piastra da contatto o il DIPSLIDE con la mano ferma e senza movimenti laterali contro la superficie di analisi. Dalla letteratura è noto che i risultati ottimali per le piastre da contatto si ottengono con un tempo di contatto di 10 secondi e una pressione ottenuta con una massa di 500 g. Chiudere le piastre o i DIPSLIDE immediatamente dopo l'inoculazione e rimetterli in un contenitore da trasporto.

## 6.3 Metodo del tampone o del PANNO/spugna

<b>ISTRUZIONE OPERATIVA</b>		<i>MARE. A srl.</i>
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 00 del 15/01/09	
Pagina 8 □ di 14 □	H:\MARE A\LABORATORIO\Laboratorio micro\Accreditamento\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA_DOC\DOCUMENTAZIONE DOC\ISTRUZIONI OPERATIVE\CAMPIONAMENTO\IO 7-01 Campionamento_superfici.doc	

### 6.3.1 Metodo del tampone

Rimuovere un tampone dal terreno di trasporto sterile e inumidire la punta immergendolo in una provetta contenente il liquido di diluizione. Premere la punta del tampone contro le pareti della provetta per rimuovere l'acqua in eccesso. Porre la punta del tampone sulla superficie da analizzare e strisciare un'area stimata da circa 20 a 100 cm<sup>2</sup> ruotando il tampone tra il pollice e l'indice in due direzioni perpendicolarmente l'una all'altra.

Mettere il tampone in una provetta con il liquido di diluizione e asetticamente rompere o tagliare lo stick.

### 6.3.2 Metodo del panno /spugna

Aprire la borsa di plastica o il contenitore con il panno o la spugna.

Rimuovere asetticamente il panno o la spugna con pinze sterili o con la mano con un guanto sterile. Inumidire il panno o la spugna con una quantità sufficiente di diluente (senza eccedere). Nel caso di superfici umide, questo non è necessario.

Rimettere il panno o la spugna nel sacco di plastica e chiuderlo in modo che non avvenga alcuna perdita..

Campionare la superficie scelta in due direzioni perpendicolari, cambiando la faccia del panno o della spugna. Posizionarli in contenitori sterili, aggiungere il diluente e chiudere. Aggiungere un volume sufficiente e noto di diluente,cosicché sia il panno che la spugna siano ancora umidi al momento delle analisi.

In alternativa, aprire la borsa di plastica contenente il panno o la spugna. Prendendo la spugna dal sacchetto, tirare il sacchetto invertito dalla mano. Usare la spugna per raccogliere il campione come descritto sopra e trasferire il panno o la spugna in un sacchetto di plastica sterile. Chiudere il sacchetto in modo che non avvenga alcuna perdita.

## 7. TRASPORTO

Trasportare i campioni prelevati con il tampone, preferibilmente nell'arco di 4 ore, e conservarli ad un temperatura tra 1° C a 4° C. I tamponi devono essere analizzati il prima possibile e comunque non più tardi delle 24 ore successive, come descritto al punto 8.

<b>ISTRUZIONE OPERATIVA</b>		<i>MARE. A srl.</i>
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 00 del 15/01/09	
Pagina 9 di 14	H:\MARE A\LABORATORIO\Laboratorio micro\Accreditamento\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA_DOC\DOCUMENTAZIONE DOC\ISTRUZIONI OPERATIVE\CAMPIONAMENTO\IO 7-01 Campionamento_superfici.doc	

## 8. PROCEDURA

### 8.1 Metodo della piastra da contatto

Incubare le piastre da contatto o i DIPSLIDES a seconda del tipo di microrganismo che deve essere contato (vedere nota al punto 4).

Il metodo della piastra da contatto non deve essere usato per la rilevazione specifica di microrganismi patogeni.

### 8.2 Metodo del tampone (inclusi il panno e la spugna)

Miscelare completamente i contenuti delle provette contenenti i tamponi usando un mixer (5.9) per 30 secondi, regolando la velocità in modo che la parete della provetta sia bagnata fino ad un'altezza di 2-3 cm sotto la parte superiore.

Aggiungere ai sacchetti di plastica contenenti i panni o le spugne una quantità di liquido di diluizione o di liquido neutralizzante (4.1) in base alla grandezza dell'area analizzata (es. 100ml per 100 cm<sup>2</sup>). Poi trattare il contenuto dei sacchetti in un omogeneizzatore peristaltico (5.10) per 1 minuto, oppure un omogeneizzatore con movimenti orizzontali (5.10) per 30 secondi. Tutto questo rappresenta la sospensione iniziale.

Se ci si aspetta un numero elevato di microrganismi, preparare ulteriori diluizioni decimali in acqua peptonata in modo da ottenere un numero contabile di colonie (vedere ISO 6887-1).

In accordo con i metodi di numerazione usati (vedere gli Standard Internazionali appropriati) inoculare in doppio piastre di terreno con la sospensione iniziale, usando 1 ml di inoculo per le tecniche di inclusione in piastra e 0,1 ml di inoculo per le tecniche di diffusione.

Trattare ogni ulteriore diluizione nello stesso modo. Capovolgere le piastre ed incubarle alla temperatura e per il tempo adeguato ad ogni terreno.

Come alternativa al metodo descritto sopra, è possibile usare la tecnica della GOCCIA. Iniziando dalla diluizione più alta, usare pipette sterili per trasferire aliquote di 0,05 ml delle sospensioni iniziali (tamponi, panni o spugne) e delle ulteriori diluizioni in settori appropriati del terreno di coltura segnato sulla parte inferiore della piastra( in doppio usando le stesse diluizioni per piastre differenti). Ogni piastra precedentemente asciutta può essere usata per gocce di non più di sei differenti diluizioni. Tenere le piastre orizzontalmente (coperchio in su) fino a che la superficie non è asciugata.

Se il metodo del tampone è usato per rilevare la presenza di microrganismi specifici (*Listeria monocytogenes* o *Salmonella* spp.) l'area analizzata deve essere almeno 100 cm<sup>2</sup> e preferibilmente circa 1000 cm<sup>2</sup>.

Trasferire il tampone, panno o spugna nel terreno di arricchimento appropriato e miscelare bene.

<b>ISTRUZIONE OPERATIVA</b>		<i>MARE. A srl.</i>
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 00 del 15/01/09	
Pagina 10 □ di 14 □	H:\MARE A\LABORATORIO\Laboratorio micro\Accreditamento\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA_DOC\DOCUMENTAZIONE DOC\ISTRUZIONI OPERATIVE\CAMPIONAMENTO\IO 7-01 Campionamento_superfici.doc	

### 8.3 Conta e rilevazione delle colonie

#### 8.3.1 Metodo della piastra da contatto

Contare il numero di colonie tipiche sulla piastra o DIPSLIDE direttamente dopo il tempo di incubazione specifico e confermare quelle, se necessario, in accordo con il microrganismo(i) cercato.

#### 8.3.2 Metodo del tampone (incluso panno e spugna)

Contare le colonie in ogni piastra e confermare quelle, se necessario, in accordo con il microrganismo cercato.

#### 8.3.3 Metodo della piastra GOCCIA

Contare il numero delle colonie target alle diluizioni rese da 5 e 50 colonie.

#### 8.3.4 Procedure di arricchimento

Dopo il pre-arricchimento, seguire le istruzioni in accordo con il microrganismo cercato.

### 9. ESPRESSIONE DEI RISULTATI E CALCOLO

**Attenzione-** Poiché il metodo della piastra da contatto e quello del tampone/spugna non danno in genere lo stesso risultato, è necessario stabilire nel rapporto quale metodo è stato usato.

#### 9.1 Metodo della piastra da contatto

Dividere il numero delle colonie caratteristiche per l'area della piastra. Riportare il conto come numero di unità formanti colonia (UFC) per centimetro quadrato di superficie.

#### 9.2 Metodo del tampone (incluso panno e spugna)

**9.2.1** Calcolare il numero di unità formanti colonia (UFC) per millilitro di sospensione iniziale, come descritto nello Standard Internazionale attinente.

**9.2.2** Calcolare il numero di UFC per centimetro quadrato di superficie analizzata,  $N_s$ , usando la formula :

<b>ISTRUZIONE OPERATIVA</b>		<i>MARE. A srl.</i>
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 00 del 15/01/09	
Pagina 11 □ di 14 □	H:\MARE A\LABORATORIO\Laboratorio micro\Accreditamento\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA_DOC\DOCUMENTAZIONE DOC\ISTRUZIONI OPERATIVE\CAMPIONAMENTO\IO 7-01 Campionamento_superfici.doc	

$$N_S = \frac{N \times F \times D}{A}$$

dove

*N* è il numero di UFC in 1 ml di liquido di diluizione (o neutralizzante);

*F* è la quantità, in millilitri, di liquido di diluizione (o neutralizzante) nella provetta o nel sacchetto;

*A* è la superficie analizzata, in centimetri quadrati;

*D* è il reciproco della diluizione usata;

**9.2.3** Per il metodo delle gocce, calcolare il numero, *N*, di UFC per millilitro di liquido di sospensione, usando la formula:

$$N = \frac{\Sigma C}{V(n_1 + 0,1 n_2)d}$$

Dove

$\Sigma C$  è la somma delle colonie contate in tutte le gocce considerate da due diluizioni successive, almeno una delle quali contiene 5 colonie;

*V* è il volume dell'inoculo applicato in ogni goccia (in questo caso 50 µl);

*n*<sub>1</sub> è il numero di gocce considerate alla prima diluizione;

*n*<sub>2</sub> è il numero di gocce considerate alla seconda diluizione;

*d* è il fattore di diluizione corrispondente alla prima diluizione considerata;

Per ottenere la conta per centimetro quadrato di superficie usare la formula:

$$N_S = \frac{N \times F}{A}$$

dove

*F* è il volume in millilitri, del liquido di diluizione (o liquido neutralizzante) nella provetta o nel sacchetto;

*A* è l'area di cui si è fatto il tampone in centimetri quadrati.

**9.2.4** Se l'area di cui è stato fatto il tampone non è definita, per calcolare il numero di UFC per ogni tampone, *N<sub>SW</sub>*, usare la formula:

$$N_{SW} = N \times F \times D$$

<b>ISTRUZIONE OPERATIVA</b>		<b>MARE. A srl.</b>
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
<b>IO 07-01</b>	<b>REVISIONE: N° 00 del 15/01/09</b>	
Pagina 12 □ di 14 □	<b>H:\MARE A\LABORATORIO\Laboratorio  micro\Accreditamento\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA_DOC\DOCUMENTAZIONE  DOCISTRUZIONI OPERATIVE\CAMPIONAMENTO\IO 7-01  Campionamento_superfici.doc</b>	

Quando vengono usati metodi semi-quantitativi, i risultati ottenuti in UFC per centimetro quadrato di superficie possono essere dati come cosiddetti *segni d'igiene*. Dal momento che questi segni possono variare ampiamente in base alle superfici esaminate, è raccomandabile che siano stabiliti e accordati tra le parti interessate.

1. Nel caso di procedure di arricchimento, riportare il microrganismo target come rilevato o non rilevato nell'area tamponata, o per tampone se l'area non è nota.

## **BIBLIOGRAFIA**

[1] **EN 1276:1997**, *Disinfettanti chimici e antisettici – Analisi di sospensioni quantitative per la valutazione dell'attività battericida di disinfettanti chimici e antisettici usati nelle aree alimentari, industriali domestiche e istituzionali- Metodi di analisi e requisiti (fase 2, passaggio 1).*

[2] **EN 1650:1997**, *Disinfettanti chimici e antisettici – Analisi di sospensioni quantitative per la valutazione dell'attività fungicida di disinfettanti chimici e antisettici usati nelle aree alimentari, industriali domestiche e istituzionali- Metodi di analisi e requisiti (fase 2, passaggio 1).*

[3] **EN 13697:2001**, *Disinfettanti chimici e antisettici – Analisi di superfici non porose per la valutazione dell'attività battericida e/o fungicida di disinfettanti chimici e antisettici usati nelle aree alimentari, industriali domestiche e istituzionali- Metodi di analisi e requisiti senza azione meccanica (fase 2, passaggio 2).*

[4] **EN 13704:2002**, *Disinfettanti chimici e antisettici – Analisi di sospensioni quantitative per la valutazione dell'attività sporicida di disinfettanti chimici usati nelle aree alimentari, industriali domestiche e istituzionali- Metodi di analisi e requisiti (fase 2, passaggio 1).*

[5] **ISO 8261**, *Latte e latticini- guida generale alla preparazione di campioni per le analisi, delle sospensioni iniziali e delle diluizioni decimali per analisi microbiologiche.*

[6] **ISO/TS 11133-1**, *Microbiologia degli alimenti e dei mangimi animali- Linee guida alla preparazione e alla produzione di terreni di coltura- Parte 1: Linee guida generali sulla certezza della qualità della preparazione dei terreni di coltura in laboratorio.*

<b>ISTRUZIONE OPERATIVA</b>		<i>MARE. A srl.</i>
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 00 del 15/01/09	
Pagina 13 di 14	H:\MARE A\LABORATORIO\Laboratorio micro\Accreditamento\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA_DOC\DOCUMENTAZIONE DOC\ISTRUZIONI OPERATIVE\CAMPIONAMENTO\IO 7-01 Campionamento_superfici.doc	

## D. ARCHIVIAZIONE

La copia magnetica di questa IO è archiviata su supporto informatico; l'originale cartaceo della presente IO è archiviato nell'Archivio Qualità Il responsabile dell'archiviazione della procedura in uso è il RAQ che gestisce l'Archivio Qualità.

## E. RIFERIMENTI

PRO 07 "Gestione Campioni da Sottoporre ad Analisi"

## DISTRIBUZIONE E PRESA VISIONE

N.	DISTRIBUZIONE		NOME	FUNZIONE	FIRMA(*)	DATA
	Cartacea	Informatica				
1			GIULIANA GIULINI	AMM		
2			MIRKO MAFFEI	DIRLAB		
3			MAURA PASINI	RAQ		
4			CLAUDIO MICCI	SupLAb		
5			CHIARA PRIOLI	TL		
6			SILVIA MIGANI	Rseg.		

<b>ISTRUZIONE OPERATIVA</b>		<i>MARE. A srl.</i>
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
<b>IO 07-01</b>	<b>REVISIONE: N° 00 del 15/01/09</b>	
Pagina 14 □ di 14 □	<b>H:\MARE A\LABORATORIO\Laboratorio  micro\Accreditamento\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA_DOC\DOCUMENTAZIONE  DOC\ISTRUZIONI OPERATIVE\CAMPIONAMENTO\IO 7-01  Campionamento_superfici.doc</b>	

(\*) non necessaria se allegati le mail di “conferma lettura” all’invio elettronico o alla informativa di pubblicazione del presente documento.