

ISTRUZIONE OPERATIVA		MARE. A srl.
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 09 del 04/04/22	
Pagina 1 di 14	M:\MARE A\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA\DOCUMENTAZIONE\ISTRUZIONI OPERATIVE\07_GESTIONE CAMPIONI\IO 7-01 Campionamento superfici rev 09 .doc	

[Digitare il testo]

ISTRUZIONE OPERATIVA

CAMPIONAMENTO SUPERFICI E ATTREZZATURE

REVISIONE NUMERO	DATA	REDATTA DA SUPLAB (firma)	VERIFICATA DA DIR (firma)	APPROVATA DA RAQ (firma)	PARAGRAFO REVISIONATO NUMERO	MOTIVO
00	15-01-09					Prima emissione
01	20-07-10				F	Distribuzione e presa visione
02	28-01-11					Inserimento campionamento su carcasse
03	08-04-11				C	Inserimento diluizioni e numero di piastre per tipologia di campionamento, specifiche di campionamento e gestione della prova in bianco
04	27/03/12				C	Inserimento caratterizzazione superfici in fase di campionamento, e puntualizzazione preparazione tampone spugna o panno
05	12/04/12				C	Inserimento specifico diluente neutralizzante utilizzato di routine e puntualizzazione preparazione tampone spugna o panno, caratterizzazione superfici, gestione trasporto, analisi e semine

ISTRUZIONE OPERATIVA		MARE. A srl.
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 09 del 04/04/22	
Pagina 2 di 14	M:\MARE A\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA\DOCUMENTAZIONE\ISTRUZIONI OPERATIVE\07_GESTIONE CAMPIONI\IO 7-01 Campionamento superfici rev 09 .doc	

[Digitare il testo]

REVISIONE NUMERO	DATA	REDATTA DA SUPLAB (firma)	VERIFICATA DA DIR (firma)	APPROVATA DA RAQ (firma)	PARAGRAFO REVISIONATO NUMERO	MOTIVO
06	12-11-12				4	Integrazione caratterizzazione superficie campionata e indicazioni tecniche di prelievo
07	10-04-13				4	Specificato campionamento con tampone
08	22/10/18				tutto	Nuova ISO 18593:2018
09	04/04/22				4.6	Modificata la caratterizzazione eliminando la qualitativa

ISTRUZIONE OPERATIVA		<i>MARE. A srl.</i>
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 09 del 04/04/22	
Pagina 3 di 14	M:\MARE A\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA\DOCUMENTAZIONE\ISTRUZIONI OPERATIVE\07_GESTIONE CAMPIONI\IO 7-01 Campionamento superfici rev 09 .doc	

[Digitare il testo]

INDICE

1. SCOPO.....	4
2. CAMPO DI APPLICAZIONE	4
3 DEFINIZIONI.....	4
4. MODALITA'	4
5. RESPONSABILITA'	14
6. ARCHIVIAZIONE	14
7. ALLEGATI.....	14
8. RIFERIMENTI	14
9. DISTRIBUZIONE E PRESA VISIONE	14

ISTRUZIONE OPERATIVA		<i>MARE. A srl.</i>
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 09 del 04/04/22	
Pagina 4 di 14	M:\MARE A\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA\DOCUMENTAZIONE\ISTRUZIONI OPERATIVE\07_GESTIONE CAMPIONI\IO 7-01 Campionamento superfici rev 09 .doc	

[Digitare il testo]

1. SCOPO

Scopo della presente istruzione operativa è quello di consentire all'operatore di effettuare il campionamento su superfici. L'istruzione specifica metodi orizzontali per il campionamento con tecnica con piastra da contatto, Dipslide (supporti con agar), tampone con bastoncino, spugnette e panno su superfici nell'ambiente del settore alimentare al fine di rilevare ed enumerare microrganismi patogeni e non patogeni.

La seguente istruzione non si applica alla convalida della procedura di pulizia e disinfezione.

Questo documento non fornisce consigli sulla frequenza di campionamento, il numero di punti di campionamento o la necessità di ruotare i punti di campionamento, in quanto vengono scelti caso per caso.

Il laboratorio non convalida le procedure e le istruzioni di disinfezione impiegate negli ambienti della catena alimentare.

2. CAMPO DI APPLICAZIONE

Prelievo su superfici effettuato sia dal cliente sia dall'operatore del laboratorio MARE.A effettuati negli ambienti della catena alimentare.

Le superfici non devono avere residui di sanificanti.

3 DEFINIZIONI

Con il termine ambiente si indica qualsiasi elemento a contatto con il prodotto alimentare o possa rappresentare una fonte di contaminazione o di ricontaminazione; per esempio materiale, locali o operatore. ISO 18593:2018

4. MODALITA'

Le modalità operative seguono le indicazioni riportate dalla ISO 18593:20118 Microbiologia della catena alimentare - metodo orizzontale per il campionamento su superficie.

4.1 Diluenti

Acqua peptonata salina come terreno di trasporto

Non vengono impiegati neutralizzanti.

Vengono impiegati i diluenti in base al metodo di prova utilizzato.

4.2 Piastre da contatto e Dip slide

Le piastre e i supporti possono variare in diametro o area, in base al tipo di superficie da campionare. Il terreno viene scelto in base al metodo ISO per i microrganismi interessati. Il terreno formerà un menisco convesso con la piastra di contatto. Le Dipslide utilizzate dal laboratorio hanno una superficie di campionamento di 10 cm².

ISTRUZIONE OPERATIVA		MARE. A srl.
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 09 del 04/04/22	
Pagina 5 di 14	M:\MARE A\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA\DOCUMENTAZIONE\ISTRUZIONI OPERATIVE\07_GESTIONE CAMPIONI\IO 7-01 Campionamento superfici rev 09 .doc	

[Digitare il testo]

4.3 Attrezzature e materiali di consumo

-Piastra di contatto, piastra di plastica di diametro variabile.

È anche possibile utilizzare qualsiasi altro contenitore flessibile o rigido che consenta il contatto con il campione superficie esempio;

Dipslide supporto in cui uno o entrambi i lati sono coperti con uno strato di terreno di crescita solido (scelto in accordo con il microrganismo da ricercare)

-Tampone sterile, bastone con cotone o materiale sintetico (come alginato o rayon) contenuto in un tubo o busta. Il materiale utilizzato deve essere documentato come privo di sostanze inibitorie.

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

-Tessuto sterile (o panno), privo di sostanze inibitorie.

-Spugna sterile, con o senza bastoncino / manico, priva di sostanze inibenti.

-Contenitori, come bottiglie, tubi o fiasche, adatti per la sterilizzazione e la conservazione dei terreni di coltura.

-Refrigeratore, borse frigo isolate contenente impacchi di ghiaccio, in grado di mantenere i campioni a bassa temperatura durante il trasporto in laboratorio.

-Vortex, per miscelare liquidi in tubi di coltura.

-Miscelatore peristaltico, con sacchetti di plastica sterili per preparare le sospensioni iniziali mediante movimento peristaltico.

-Piastre di Petri, in plastica

-Maschera di delimitazione sterile monouso, che racchiude un'area specifica. Superficie racchiusa 100 cm².

4.4 Punti di campionamento

La scelta del luogo di campionamento deve essere definita in base ai dati storici collegati a ciascun sito e dopo l'esame passo a passo del processo.

Di seguito è riportato un elenco non esaustivo di potenziali punti di campionamento.

Superfici di contatto non alimentari: scarichi, pavimenti, pozze d'acqua sul pavimento, strumenti di pulizia, aree di lavaggio, attrezzature per la pesatura a pavimento, tubi flessibili, rulli cavi per convogliatori, trasportatori, strutture di attrezzature, pannelli interni di attrezzature, vaschette di raccolta condensa, carrelli elevatori, carrelli a mano, carrelli, ruote per carrelli, bidoni della spazzatura, congelatori, fabbricatori di ghiaccio, ventole di raffreddamento in condensatori, grembiuli, pareti, soffitti, punti freddi

ISTRUZIONE OPERATIVA		<i>MARE. A srl.</i>
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 09 del 04/04/22	
Pagina 6 di 14	M:\MARE A\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA\DOCUMENTAZIONE\ISTRUZIONI OPERATIVE\07_GESTIONE CAMPIONNO 7-01 Campionamento superfici rev 09 .doc	

[Digitare il testo]

in cui l'acqua si condensa, isolanti bagnati nelle pareti o attorno ai tubi, unità di raffreddamento, guarnizioni in gomma intorno alle porte (specialmente nei dispositivi di raffreddamento), aspirapolvere, maniglie delle porte e rubinetti.

Superfici a contatto con gli alimenti: nastri trasportatori, affettatrici, taglieri, cubettatrici, tramogge, tritadori, frullatori, pelatrici, macchine per il montaggio, attrezzature per il riempimento e l'imballaggio, contenitori, altri utensili, guanti e mani.

4.5 Area di campionamento

Deve essere identificata un'area specifica della superficie da esaminare. È importante che il laboratorio riceva un campione rappresentativo della superficie campionata. Se l'area non è definita da una dimensione numerica, l'area campionata deve essere chiaramente descritta. Se l'area è definita da una dimensione numerica, seguire le istruzioni di seguito.

Per la rilevazione di microrganismi, quando le aree sono accessibili, l'area campionata totale deve essere il più ampia possibile per aumentare la probabilità di rilevare microrganismi. A questo proposito, si consiglia di campionare tra 1000 cm² e 3000 cm² (cioè 0,1 m² a 0,3 m²) quando possibile.

Per l'enumerazione di microrganismi, l'area non deve necessariamente essere così grande, ad es. ≤100 cm².

4.6 Caratterizzazione delle superfici campionate

Compilare la scheda prelievo, trasporto e ricevimento Mod. 7/06 indicando nel campo “descrizione campione” le caratteristiche della superficie campionata, specificando “sanificata/sanificate” o “sanificata/sanificate no” e scrivere, solo se presente, “presenza di liquido sulle o sulla superficie campionata”.

Nella caratterizzazione della superficie campionata possiamo avere 4 diverse situazioni:

A) Nella fase di campionamento vengono campionate come da routine del laboratorio 10 cm² con le DIPSLIDE (piastra da contatto) e 100 cm² utilizzando i metodi swab e spugne abrasive. Il tecnico indica sempre nella scheda prelievo, trasporto e ricevimento MOD 7/06, nel campo imballaggio sia il tampone utilizzato sia la superficie campionata.

B) Nei casi in cui non sia esattamente specificabile l'area di campionamento, indicare nel campo descrizione campione “superficie campionata seguita dall'area prelevata e dall'avverbio circa” come riportato nel seguente esempio (superficie campionata 1m² circa), nel campo imballaggio indicare solo il tipo di tampone utilizzato.

C) Quando nella fase di campionamento non sia possibile definire neanche approssimativamente l'area di campionamento identificare il punto di prelievo nel campo descrizione campione come “tampone su seguito dall'indicazione del punto di campionamento”, esempio (tampone su maniglia frigorifero)

ISTRUZIONE OPERATIVA		<i>MARE. A srl.</i>
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 09 del 04/04/22	
Pagina 7 di 14	M:\MARE A\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA\DOCUMENTAZIONE\ISTRUZIONI OPERATIVE\07_GESTIONE CAMPIONI\IO 7-01 Campionamento superfici rev 09 .doc	

[Digitare il testo]

omettendo l'indicazione nel punto di prelievo e indicando nel campo imballaggio solo il tipo di tampone utilizzato.

D) Nei casi cui sia esattamente specificabile l'area di campionamento, ma diversa dalla routine di laboratorio, indicare nel campo descrizione campione "superficie campionata seguita dall'area prelevata" come riportato nel seguente esempio (superficie campionata 1m²) e nel campo imballaggio indicare solo il tipo di tampone utilizzato.

Le istruzioni indicate in questo paragrafo vengono utilizzate sia alla ricezione campione in laboratorio durante la compilazione della Scheda ricezione e gestione campione sia al ritiro campione presso la sede indicata dal Cliente, specificando la figura che ha eseguito il campionamento se cliente o terza parte.

4.7 Tempi di campionamento e frequenza

Il campionamento può essere eseguito durante / dopo la produzione o dopo la pulizia e la disinfezione. Il tempo di campionamento deve essere specificato nella procedura di campionamento di ciascun produttore, a seconda dell'obiettivo del prelievo.

La rilevazione di alcuni microrganismi può essere difficile se i campioni vengono prelevati immediatamente o subito dopo la pulizia e la disinfezione. Le cellule possono essere ancora vive ma non attivi per lo sviluppo colturale, a seguito di lesioni causate dagli agenti chimici usati per la pulizia e la disinfezione, e potrebbero non essere facilmente rilevabili. Per aumentare la probabilità di rilevare questi microrganismi, il campionamento deve essere eseguito durante la produzione: dopo almeno due ore di produzione o alla fine delle fasi di produzione (ossia prima della pulizia e della disinfezione).

Quando il campionamento non viene eseguito quotidianamente, non dovrebbe sempre essere eseguito nello stesso giorno / i della settimana. Potrebbe essere opportuno prelevare campioni di superficie dopo le riparazioni di attrezzature o costruzioni e aumenti della capacità produttiva, poiché questi possono aumentare il rischio di contaminazione microbica.

Il campionamento dovrebbe essere fatto frequentemente in aree in cui il prodotto alimentare è esposto a contaminazione, ma potrebbe essere interessante anche campionare, meno frequentemente, in aree in cui non è esposto a contaminazione come ad esempio le aree di stoccaggio.

4.8 Tecniche di campionamento

4.8.1 Generale

Il metodo della piastra di contatto e Dipslide sono applicabili solo a superfici piane, mentre gli altri metodi possono essere utilizzati per tutti i tipi di superfici.

ISTRUZIONE OPERATIVA		<i>MARE. A srl.</i>
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 09 del 04/04/22	
Pagina 8 di 14	M:\MARE A\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA\DOCUMENTAZIONE\ISTRUZIONI OPERATIVE\07_GESTIONE CAMPIONI\IO 7-01 Campionamento superfici rev 09 .doc	

[Digitare il testo]

Per il campionamento di piccole aree difficili da raggiungere ($\leq 100 \text{ cm}^2$), è necessario utilizzare tamponi sterili. Per il campionamento di grandi superfici ($> 100 \text{ cm}^2$), utilizzare panni sterili o spugne.

Per campionamenti su superfici $\leq 100 \text{ cm}^2$ si possono utilizzare sia i tamponi a bastoncino sia panni sterili o spugne.

Dopo il campionamento, la superficie viene pulita e / o disinfettata, se necessario, per evitare tracce di nutrienti, umidità, elementi chimici o fisici derivanti dalla procedura di campionamento, che possono eventualmente rimanere sulla superficie campionata. Questo può essere fatto con salviette sterili, inumidite con alcool.

4.8.2 Metodo con piastra da contatto e Dipslide

Premere con forza la superficie agar della piastra di contatto e senza movimenti laterali contro la superficie di prova. Il tempo del contatto deve essere 10 secondi e la pressione ottenuta ad esempio con una massa di 500 g, consentono una migliore riproducibilità dei risultati. Chiudere la piastra di contatto immediatamente dopo il campionamento e rimetterla nel contenitore di trasporto.

Per il dipslide rimuovere il supporto dal tubo e premere sulla superficie piegando l'impugnatura. (Vedere foto sottostante) Ruotare il supporto e procedere allo stesso modo per il secondo lato se richiesto, e riporre il sistema di campionamento all'interno del tubo. Per ogni punto di prelievo utilizzare, una unica superficie di agar della piastra da contatto o Dipslide specifica per la prova in esame.

Per la prova in bianco viene utilizzato una piastra da contatto o Dipslide dello stesso tipo di quelli utilizzati per il campionamento, il quale seguirà tutto il percorso che va dal trasporto, campionamento, incubazione e lettura in base agli Standard Internazionali attinenti per i microrganismi bersaglio che devono essere rilevati o contati, senza prevederne l'utilizzo per il prelievo.



ISTRUZIONE OPERATIVA		MARE. A srl.
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 09 del 04/04/22	
Pagina 9 di 14	M:\MARE A\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA\DOCUMENTAZIONE\ISTRUZIONI OPERATIVE\07_GESTIONE CAMPIONI\IO 7-01 Campionamento superfici rev 09 .doc	

[Digitare il testo]

Non utilizzare il metodo della piastra di contatto e Dipslide per metodi qualitativi.

4.8.3 Metodo del tampone con bastoncino

4.8.3.1 Generale

I tamponi devono essere usati per campionare posizioni piccole e difficili da raggiungere (per esempio all'interno di rulli cavi o involucri del motore). Si utilizzano modelli monouso sterili. La dimensione dell'area campionata deve essere approssimativamente nota e/o la posizione ben descritta.

Nel caso in cui l'area da campionare sia bagnata, è possibile utilizzare un tampone asciutto, ma non devono essere presenti residui disinfettanti. Nel caso in cui l'area da campionare sia asciutta, deve essere usato un tampone inumidito, tranne nel caso in cui non sia possibile rimuovere l'umidità dall'area di lavorazione. Al fine di aumentare il recupero di microrganismi, è meglio usare tamponi inumiditi.

4.8.3.2 Tampone a bastoncino umido

Per utilizzare un tampone inumidito, rimuovere il tampone dall'involucro sterile e inumidire la punta immergendola in una provetta contenente il liquido di diluizione 10 ml (Acqua peptonata salina terreno di trasporto). Premere la punta del tampone contro la parete del tubo per rimuovere il diluente. Posizionare la punta del tampone sulla superficie da esaminare e strisciare un'area stimata, solitamente 100 cm², ruotando il bastoncino con il tra pollice e indice.

Per superfici piane, il campionamento deve essere eseguito orizzontalmente e verticalmente, 10 volte in ogni direzione.

Per superfici piccole difficili da raggiungere, assicurarsi di campionare l'intera posizione descritta, comprese fessure, spazi vuoti, connessioni superficiali, ecc.

Mettere il tampone di nuovo nella sua provetta di trasporto e versare dentro tutto il liquido diluizione della provetta utilizzata per inumidire il tampone stesso e richiudere.

Assicurarsi che il tubo sia chiuso fino all'analisi.

Per ogni punto di prelievo utilizzare, un singolo tampone inumidito e strisciato come descritto precedentemente.

Per la prova in bianco utilizzare una provetta con un tampone dello stesso tipo di quelli utilizzati per il campionamento immerso in 10 ml di APS (Acqua peptonata salina terreno di trasporto) all'interno di una provetta, il quale seguirà tutto il percorso che va dal trasporto, campionamento, semina sul terreno, incubazione e lettura in base agli Standard Internazionali attinenti per i microrganismi bersaglio che devono essere rilevati o contati, senza prevederne l'utilizzo per il prelievo.

4.8.3.3 Tampone con bastoncino asciutto

Per utilizzare un tampone asciutto, rimuovere un bastoncino di cotone dall'involucro sterile e posizionare la punta del tampone sulla superficie da esaminare e strisciare un'area stimata, solitamente 100 cm², ruotando

ISTRUZIONE OPERATIVA		MARE. A srl.
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 09 del 04/04/22	
Pagina 10 di 14	M:\MARE A\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA\DOCUMENTAZIONE\ISTRUZIONI OPERATIVE\07_GESTIONE CAMPIONI\IO 7-01 Campionamento superfici rev 09 .doc	

[Digitare il testo]

contemporaneamente il bastoncino di stoffa tra il pollice e l'indice. Per superfici piane, il campionamento deve essere eseguito orizzontalmente e verticalmente, 10 volte in ogni direzione. Per superfici piccole difficili da raggiungere, assicurarsi di campionare l'intera posizione descritta, comprese fessure, spazi vuoti, connessioni superficiali, ecc..

Mettere il tampone di nuovo nella sua provetta di trasporto e versare dentro tutti i 10 ml di liquido diluizione (Acqua peptonata salina terreno di trasporto).

Per gli allergeni inserire il tampone all'interno della sua provetta di trasporto asciutto senza il liquido di trasporto. Può essere aggiunta in alternativa dell'acqua distillata.

Assicurarsi che il tubo sia chiuso fino all'analisi.

Per ogni punto di prelievo utilizzare, un singolo tampone strisciato come descritto precedentemente.

Per la prova in bianco utilizzare una provetta con un tampone dello stesso tipo di quelli utilizzati per il campionamento immerso in 10 ml di APS (Acqua peptonata salina terreno di trasporto) all'interno di una provetta, il quale seguirà tutto il percorso che va dal trasporto, campionamento, semina sul terreno, incubazione e lettura in base agli Standard Internazionali attinenti per i microrganismi bersaglio che devono essere rilevati o contati, senza prevederne l'utilizzo per il prelievo.

4.8.4 Metodo spugna / panno

4.8.4.1 Generale

Per campionare aree ampie >100 cm² è necessario utilizzare come supporto solo una spugna o un panno, in quanto a differenza dei tamponi a bastoncino possono essere strofinati più vigorosamente sulle superfici e sono altamente assorbenti. La spugna/panno deve essere inumidita con una quantità sufficiente di diluente APS (Acqua peptonata salina terreno di trasporto). Nel caso in cui l'area da campionare sia bagnata, si può usare una spugna /panno asciutto, a meno che non siano necessari neutralizzatori. Nel caso in cui l'area da campionare sia asciutta, utilizzare una spugna/panno inumidito, tranne nel caso in cui non sia possibile rimuovere l'umidità dall'area di lavorazione. Per aumentare il recupero di microrganismi, è meglio usare spugna / panno inumidito.

4.8.4.2 Spugna / panno inumidito

Aprire il sacchetto di plastica o il contenitore contenente la spugna/panno.

Inumidire il panno o la spugna con l'aggiunta di tutto il diluente 10 ml APS (Acqua peptonata salina terreno di trasporto). Nel caso di superfici umide, questo non è necessario.

Rimuovere asetticamente la spugna/panno, ad es. con una pinza sterile e/o con la mano con guanto sterile. Campionare la superficie scelta orizzontalmente e verticalmente con una pressione uniforme e stabile, cambiando la faccia della spugna/panno e assicurandosi che l'intera area sia campionata. Riporre la spugna/panno nel sacchetto o contenitore di plastica e assicurarsi che rimanga inumidito fino al momento dell'analisi.

ISTRUZIONE OPERATIVA		MARE. A srl.
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 09 del 04/04/22	
Pagina 11 di 14	M:\MARE A\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA\DOCUMENTAZIONE\ISTRUZIONI OPERATIVE\07_GESTIONE CAMPIONI\IO 7-01 Campionamento superfici rev 09 .doc	

[Digitare il testo]

Chiudere la busta o il contenitore di plastica in modo da evitare perdite o contaminazioni incrociate.

Per ogni punto di prelievo utilizzare, un singolo panno/spugna inumidito e strisciato come descritto precedentemente.

Per la prova in bianco utilizzare un panno o una spugna dello stesso tipo di quelli utilizzati per il campionamento immerso in 10 ml di APS (Acqua peptonata salina terreno di trasporto) all'interno di un sacchetto, il quale seguirà tutto il percorso che va dal trasporto, campionamento, semina sul terreno, incubazione e lettura in base agli Standard Internazionali attinenti per i microrganismi bersaglio che devono essere rilevati o contati, senza prevederne l'utilizzo per il prelievo.

4.8.4.3 Spugna asciutta

Aprire il sacchetto di plastica o il contenitore contenente la spugna. Rimuovere asetticamente la spugna /panno per esempio con una pinza sterile e/o con la mano con guanto sterile, o afferrare la spugna / panno all'interno della busta e tirare la busta con l'altra mano. Appoggiare la spugna sulla superficie scelta attendendo che si idrati e campionare la superficie da analizzare orizzontalmente e verticalmente con una pressione uniforme e stabile, cambiando la faccia della spugna / panno e assicurandosi che l'intera area sia campionata. Riporre la spugna nella busta o nel contenitore di plastica e aggiungere il diluente 10 ml APS (Acqua peptonata salina terreno di trasporto) Chiudere la busta o il contenitore di plastica in modo da evitare perdite o contaminazioni incrociate.

4.8.5 Metodi e microrganismi

Salvo differenti accordi concordati da TL, SUPLAB e Dir, per i metodi quantitativi per le Enterobacteriaceae e la Conta di microrganismi a 30°C utilizzare per il prelievo il metodo della piastra Dipslide, mentre per la ricerca di Salmonella spp. e Listeria monocytogenes utilizzare il metodo con le spugne abrasive o tampone a bastoncino. Per gli altri parametri quantitativi utilizzare il metodo dei tamponi swab.

Per quanto concerne le superfici campionate, i tecnici di laboratorio prelevano di routine 10 cm² con il metodo Dipslide e 100 cm² utilizzando i metodi tampone a bastoncino e spugne. Salvo diverse esigenze specifiche concordate con TL, SUPLAB e Dir.

4.9 TRASPORTO

4.9.1 Piastra di contatto e Dipslide

Il tempo tra campionamento e test dovrebbe essere il più breve possibile. Subito dopo il campionamento, i campioni vengono posti in contenitori di trasporto isolati ad una temperatura compresa tra 1°C e 8°C, in modo che non possano verificarsi contaminazioni e quindi trasportati a temperature comprese tra 1°C e 8°C. I campioni devono essere incubati entro 48 h dal campionamento.

ISTRUZIONE OPERATIVA		MARE. A srl.
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 09 del 04/04/22	
Pagina 12 di 14	M:\MARE A\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA\DOCUMENTAZIONE\ISTRUZIONI OPERATIVE\07_GESTIONE CAMPIONI\IO 7-01 Campionamento superfici rev 09 .doc	

[Digitare il testo]

In alternativa, i campioni possono essere trasportati in contenitori di trasporto isolati al fine di mantenere una temperatura costante, in modo che non possa verificarsi alcuna contaminazione. I campioni devono essere incubati entro 48 h dal campionamento, tenendo conto del tempo trascorso dal campionamento all'incubazione come parte del tempo di incubazione, se appropriato.

4.9.2 Tampone, spugna / panno

Il ritardo tra campionamento e test dovrebbe essere il più breve possibile. I campioni devono essere preferibilmente raffreddati prima di essere trasportati in contenitori di trasporto isolati e trasportati a temperature comprese tra 1 ° C e 8 ° C. I campioni devono essere esaminati preferibilmente entro 24 h dal campionamento.

Se il test è ritardato dopo il ricevimento in laboratorio, i campioni devono essere conservati a 3°C ± 2 °C per un massimo di 48 ore dal campionamento.

4.10. ANALISI MICROBIOLOGICA DEI CAMPIONI

4.10.1 Metodo della piastra da contatto e Dipslide

Incubare le piastre di contatto in base al tipo di microrganismi che deve essere conteggiato utilizzando lo standard internazionale appropriato. Dopo l'incubazione, una stima della contaminazione superficiale si ottiene contando il numero di colonie sviluppate.

4.10.2 Metodo del tampone a bastoncino, panno e spugna

In generale aggiungere abbastanza brodo di diluente/arricchimento per coprire il dispositivo. Il volume esatto deve essere noto.

Tamponi a bastoncino; miscelare completamente i contenuti delle provette con il tampone a bastoncino contenenti i tamponi usando un vortex per 30 secondi, regolando in modo che la parete della provetta sia bagnata fino ad un'altezza di 2-3 cm sotto la parte superiore poi procedere come da metodo utilizzato.

Aggiungere ai sacchetti di plastica contenenti i panni o le spugne una quantità di liquido di diluizione appropriato in base al metodo e in base alla grandezza dell'area analizzata (es. 100ml totali per 100 cm², 1 ml per cm² campionato). Poi trattare il contenuto dei sacchetti in un omogeneizzatore peristaltico (Stomacher) per 1 minuto. Tutto questo rappresenta la sospensione iniziale. Vedere procedure di prova in base al microrganismo e metodo utilizzato.

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

ISTRUZIONE OPERATIVA		<i>MARE. A srl.</i>
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 09 del 04/04/22	
Pagina 13 di 14	M:\MARE A\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA\DOCUMENTAZIONE\ISTRUZIONI OPERATIVE\07_GESTIONE CAMPIONI\IO 7-01 Campionamento superfici rev 09 .doc	

[Digitare il testo]

Data la tipologia di superficie campionata (superfici sanificate) e i limiti di contaminazione, per i metodi in cui è previsto il conteggio, seminare in una piastra, 1 ml della sospensione iniziale e in un'altra piastra 1 ml della diluizione -1 per le semine per inclusione o petrifilm.

Per le semine mediante spatolamento utilizzare 3 piastre per la sospensione iniziale e seminare in una piastra 0.3 ml, nell'altra 0,3 ml e nella rimanente 0.4 ml, stesso procedimento applicarlo alla diluizione -1. In casi diversi dalle superfici sanificate le diluizioni possono variare e vengono concordate da TL, SUPLAB e Dir.

In accordo con i metodi di numerazione usati (vedere gli Standard Internazionali appropriati) inoculare in singolo la piastra di terreno previsto dalla norma.

Capovolgere le piastre ed incubarle alla temperatura e per il tempo adeguato ad ogni terreno.

Dopo il pre-arricchimento, seguire le istruzioni in base ai microrganismi ricercati.

4.11 ESPRESSIONE DEI RISULTATI E CALCOLO

4.11.1 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.

4.11.2 Metodo del tampono, panno e spugna

4.11.2.1 Calcolare il numero di unità formanti colonia (UFC) per superficie campionata quando la superficie non è misurabile o per centimetro quadrato N_s , usando la formula:

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

dove

N è il numero di UFC in 1 ml di liquido di diluizione;

F è la quantità, in millilitri, di liquido di diluizione nel sacchetto o nella sacca di omogeneizzazione;

A è la superficie campionata, ad es. in centimetri quadrati (A è uguale a 1 quando la superficie non è misurabile);

D è il reciproco della diluizione utilizzata.

ISTRUZIONE OPERATIVA		<i>MARE. A srl.</i>
CAMPIONAMENTO SUPERFICI ED ATTREZZATURE		
IO 07-01	REVISIONE: N° 09 del 04/04/22	
Pagina 14 di 14	M:\MARE A\SISTEMA_GESTIONE_QUALITA\DOCUMENTAZIONE\ISTRUZIONI OPERATIVE\07_GESTIONE CAMPIONI\IO 7-01 Campionamento superfici rev 09 .doc	

[Digitare il testo]

4.11.2.2 Nel caso di metodi qualitativi, segnalare il microrganismo bersaglio rilevato o non rilevato sulla superficie campionata o per dispositivo se l'area non è nota.

5. RESPONSABILITA'

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

6. 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.

7. ALLEGATI

/

8. RIFERIMENTI

PRO 07 "Gestione Campioni da Sottoporre ad Analisi"

ISO 6887-1, Microbiologia della catena alimentare - Preparazione del campione di prova, sospensione iniziale e diluizioni decimali per l'analisi microbiologica - 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

ISO 18593, Microbiologia della catena alimentare, metodi orizzontali per il campionamento di superficie

9. DISTRIBUZIONE E PRESA VISIONE

La distribuzione e presa visione del presente documento viene fatta mediante il Mod. DOC-01 "Modulo distribuzione e Presa visione dei documenti"