



ISTRUZIONE DI CAMPIONAMENTO E CRITERI DI ACCETTABILITA'

IO01-PT07
Rev. 03 del 14/10/2024
Pag. 1/8

Sommario

1. GENERALITA'	2
2. MATERIALE NECESSARIO	2
3. CAMPIONAMENTO	3
4. MODALITA' DI PRELIEVO	3
5. TRASPORTO	7
6. CONSEGNA AL LABORATORIO	7
7. RIFERIMENTI	8

Rev	Descrizione	Data	Verifica: Direttore Tecnico	Approvazione: Società
00	Emissione	01/09/2020	Riccardo Sulsenti	Cecilia Garulli
01	Modifiche al prelievo dell'aria in camere bianche e ambienti associati. Accorpamento con IO 01-PG04	29/09/2021	Riccardo Sulsenti	Cecilia Garulli
02	Introduzione utilizzo campionatore SAS	08/06/2022	Riccardo Sulsenti	Cecilia Garulli
03	Modifica criteri di accettabilità dei campioni per recepimento ISO 7218:2024	14/10/2024	Riccardo Sulsenti	Cecilia Garulli

1. GENERALITA'

La presente ha lo scopo di descrivere le modalità di esecuzione del campionamento di matrici alimentari, ambientali e prodotti cosmetici e di indicare i criteri di accettabilità del campione.

Il campione, in accettazione, verrà sottoposto alle seguenti verifiche:

- Quantità
- Temperatura di arrivo
- Integrità
- Corrispondenza delle informazioni riportate sulla richiesta con quanto consegnato
- Condizioni particolari (ad esempio: riparo dalla luce)

Il campionamento può essere effettuato da personale interno addestrato o direttamente dal cliente. Per quest'ultimo si prega di far riferimento, per le necessarie delucidazioni, al personale del laboratorio.

2. MATERIALE NECESSARIO

Il materiale necessario viene fornito, su richiesta, dal laboratorio.

MATRICE	INFORMAZIONI PER IL LABORATORIO	MATERIALE NECESSARIO	MICROBIOLOGIA	CHIMICA	BIOLOGIA MOLECOLARE	
					Ricerca Patogeni	Altre prove
ALIMENTO	Descrizione – lotto – prove richieste – temperatura di conservazione	Bunsen Guanti Utensili per il prelievo Sacchetti/contenitori	Sterilità necessaria: SI	Sterilità necessaria: NO	Sterilità necessaria: SI	Sterilità necessaria: NO
COSMETICO						
ACQUA POTABILE	Descrizione e tipologia – punto di prelievo – orario e data di campionamento – prove richieste – temperatura al prelievo (per Legionella)	Contenitore acqua dedicato per matrice	Sterilità necessaria: SI	Sterilità necessaria: NO	Sterilità necessaria: SI	Sterilità necessaria: NO
ACQUA DI BALNEAZIONE						
ACQUA PER LEGIONELLA						
ACQUA DI SCARICO						
TAMPONI (max 10x10 cm ²)	Descrizione – fase di prelievo – punto di prelievo – orario e data di campionamento – superficie campionata (cm ²) – prove richieste	Delimitatore di superficie Guanti	Sterilità necessaria: SI	Sterilità necessaria: NO	Sterilità necessaria: SI	Sterilità necessaria: NO
SPONGE (max 3000 cm ²)						
SPONGE PIANO USA	Vedere pag. 5	Vedere pag. 5	Vedere pag. 5	Vedere pag. 5	Vedere pag. 5	Vedere pag. 5
PIASTRE/FILTRI PER CONTROLLO DELL'ARIA	Fase di prelievo/attività in corso – punto di prelievo – orario e data di campionamento – tempo di esposizione - volume aspirato (SAS) - prove richieste	Guanti	Sterilità necessaria: SI	Sterilità necessaria: NO	/	/

3. CAMPIONAMENTO

L'abbigliamento dell'operatore incaricato al campionamento può variare in relazione al luogo di prelievo e alle disposizioni o richieste specifiche dell'azienda committente. Può comprendere: camice, mascherina, cuffia, copriscarpe e guanti sterili.

Il campione, per essere accettato dal laboratorio, deve:

- Essere identificato, come da tabella
- Essere accompagnato da richiesta analisi scritta (cartacea/invio mezzo mail); è possibile compilare la richiesta anche direttamente in laboratorio con il modulo R001-PG04
- Giungere in laboratorio ad adeguata temperatura di stoccaggio. Nel caso in cui, da controllo in accettazione questa non sia rispettata, verrà indicata nel rapporto di prova

In caso di campionamento da parte di personale del laboratorio verrà rilasciato un verbale (R01-PT07) con i dettagli dei campioni/del prelievo/dell'operatore che lo ha effettuato.

4. MODALITA' DI PRELIEVO

TIPOLOGIA DI ANALISI	MICROBIOLOGICA	CHIMICA	BIOMOLECOLARE	PIU' TIPOLOGIE
MATRICE				
ALIMENTO	100 g	100 g	50 g	250 g
ALIMENTO EXPORT USA	100 g (<i>Listeria monocytogenes</i>) 500 g (<i>Salmonella</i> spp)	50 g	/	/
COSMETICO	50 g	50 g	50 g	250 g
ACQUA POTABILE/DI BALNEAZIONE	500 ml	100 – 3000 ml	100 ml	A richiesta
ACQUA PER LEGIONELLA	1000 ml	/	1000 ml	/
ACQUA DI SCARICO	500 ml	1000 ml	/	2000 ml
TAMPONI (max 10x10 cm ²)	1 tampone per prove quantitative 1 tampone per patogeno Inibenti: n. 3 tamponi	/	1 tampone per prova	/
SPONGE (max 3000 cm ²)	1 sponge per prove quantitative 1 sponge per patogeno	/	1 sponge per patogeno	/
SPONGE SU CARCASSA (max 400 cm ²)	1 sponge per prove quantitative 1 sponge per patogeno	/	1 sponge per patogeno	/
ARIA TRAMITE PIASTRE A SEDIMENTAZIONE	Tempo di esposizione: 1-4 ore	/	/	/
ARIA TRAMITE CAMPIONATORE SAS	Volume di aspirazione: 1000L per sale operatorie; altri ambienti 200L	/	/	/

Alimenti: il prelievo dei campioni alimentari o cosmetici deve essere sempre svolto in condizioni tali da evitare contaminazioni. In particolar modo, per le prove microbiologiche, il materiale utilizzato sia per il prelievo che la raccolta deve garantire la sterilità. Nel caso in cui si debba prelevare una porzione di campione da un prodotto confezionato, è necessario disinfettare la confezione e incidere l'involucro con bisturi o forbici sterili.

Acqua potabile: utilizzare un contenitore contenente sodio tiosolfato pentaidrato al 10%; eseguire il prelievo togliendo se presente il filtro rompigitto e disinfettando il rubinetto tramite flambatura. Se l'oggetto di analisi è l'acqua presente nella rete di distribuzione è necessario eliminare filtri e/o accessori, flambare e lasciar scorrere per qualche minuto prima di prelevare. In caso di studio dell'acqua locale, prelevare direttamente.

Acqua per ricerca di Legionella: utilizzare un contenitore contenente sodio tiosolfato pentaidrato al 10% se si presuppone un trattamento a base di cloro come sistema di disinfezione per la linea acqua.

In caso di studio dell'acqua all'interno dell'impianto:

- Far scorrere l'acqua per almeno 1 minuto
- Se presente togliere il filtro rompigitto e disinfettare il rubinetto tramite flambatura.
- Far scorrere l'acqua ancora per 1 minuto per rimuovere il disinfettante
- Prelevare il campione, misurare e annotare la temperatura

Per l'analisi come campione istantaneo per simulare l'eventuale esposizione al patogeno prelevare l'acqua tal quale, cioè senza eliminare il rompigitto e senza flambare.

Campioni non acquosi per ricerca di Legionella: i campionamenti possono essere effettuati su superfici, tubature/serbatoi, biofilm, incrostazioni e filtri da impianti di climatizzazione. Per effettuare il prelievo inserire ad esempio, una parte di incrostazione in un sacchetto sterile, oppure avvalersi dell'uso di un tampone per superfici o raccolta biofilm.

Acqua di piscina:

- di approvvigionamento: prelevare dal rubinetto posto sul tubo di adduzione, senza eliminare i dispositivi eventualmente associati al rubinetto o disinfettarlo e senza far scorrere l'acqua.
- di immissione in vasca: prelevare dal rubinetto posto sulle tubazioni di mandata delle singole vasche, a valle degli impianti di trattamento
- di vasca: 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.

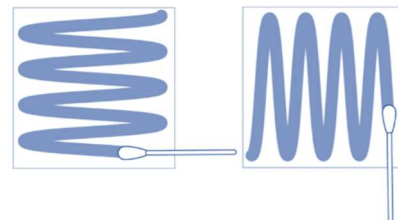
Acqua superficiali, di fiume, di lago: il punto di prelievo deve essere il più rappresentativo della qualità dell'acqua, possibilmente ad una profondità di almeno 1-1.5 m.

Acque di scarico:

- per prove microbiologiche, prelevare ad una profondità di 10-30 cm dalla superficie dell'acqua utilizzando un contenitore sterile
- per flussi continui, effettuare un campionamento istantaneo, cioè un unico prelievo. Solamente in caso di presenza di stratificazioni o elevata velocità di flusso, raccogliere più campioni in senso verticale e trasversale.
- per flussi variabili, effettuare un campionamento medio composito, cioè più aliquote ad intervalli di tempo costanti nell'arco di 3 ore.

Tamponi/Sponge:

- in caso di superfici inumidite utilizzare tamponi/sponge secchi
- in caso di superficie asciutte utilizzare tamponi/sponge contenenti diluente adeguato alle ricerche da effettuare (rivolgersi al laboratorio per le specifiche).
- Per prove microbiologiche, esclusa *Legionella* spp: In caso di sospetta presenza di disinfettante sulle superfici è necessario darne comunicazione al laboratorio, in quanto verranno consegnati/utilizzati tamponi/sponge contenenti apposito neutralizzante. Pulire la superficie dopo aver campionato.
- Modalità di campionamento: vedere disegno a lato. Per i tamponi, l'area, di 100cm², viene ottenuta strisciando nelle due direzioni, sulla medesima area di 10x10 cm. Per le sponge seguire la stessa modalità su, almeno, una superficie 30x30 cm.
- E' possibile richiedere al laboratorio di raggruppare le sponge in pool, considerando di non superare le 2/3 unità per superfici a contatto e le 4/5 per le superfici a contatto indiretto e non a contatto.



Sponge per campionamento USA:

Materiale per il campionamento:

- a. Spugnette sterili di cellulosa non trattate con sostanze battericide, contenute in sacchetti sterili di plastica sigillati di dimensioni non inferiori a 3,5 x 7,5 cm.
 - b. Sacchetti in plastica o altri contenitori sterili sigillabili, con capacità non inferiore a 250 ml.
 - c. Guanti monouso sterili.
 - d. Soluzione sterile di DEY-ENGLEY Neutralizing broth (soluzione neutralizzante) o prodotto equivalente per la reidratazione delle spugnette. La composizione e la preparazione della soluzione è disponibile sul sito del USDA/FSIS Microbiology Laboratory Guidebook4
- Nota: In alternativa alle spugnette da inumidire al momento, possono essere utilizzate spugnette sterili confezionate individualmente, presenti in commercio già inumidite con Soluzione di DeyEngley.
- e. Contenitore frigorifero per il trasporto dei campioni.
 - f. Stampi o apparecchi di misura idonei per la delimitazione delle superfici da campionare.

Procedura di prelievo dalle superfici:

- a. Lavare e disinfettare con cura le mani fino a metà dell'avambraccio, ed asciugarle utilizzando carta usa e getta.
- b. Se possibile, individuare e delimitare l'area nella quale effettuare il prelievo.
- c. Aprire il contenitore sigillato della spugna, nel caso si tratti di spugnette asciutte da inumidire al momento, e versare asetticamente 9-10 ml della soluzione neutralizzante. Senza estrarla dal contenitore, massaggiare la spugna per favorire la completa reidratazione; una volta reidratata far scorrere la spugna fino al lembo del contenitore aperto. Schiacciare la spugna in modo tale da eliminare l'eccesso di liquido (la spugna deve essere soltanto inumidita).
- d. Indossare un guanto sterile, evitando accuratamente di toccare superfici non sterili (vestiti, cute, superfici, ecc) e quindi procedere al prelievo in asepsi della spugna di cellulosa inumidita come sopra descritto o già commercializzata come inumidita.
- e. Strofinare con sufficiente energia la spugna 10 volte verticalmente e 10 volte orizzontalmente all'interno dell'area delimitata. Per le superfici irregolari (attrezzature, macchinari, ecc.), strofinare le spugnette includendo punti critici quali fessure, angoli, ecc. In sostituzione dei guanti sterili, per l'esecuzione del prelievo, possono essere utilizzate pinze sterili, in acciaio inox o monouso in plastica.
- f. Al termine del prelievo riporre la spugna all'interno del contenitore sterile nel quale era contenuta o in altro contenitore sterile, evitando di venire a contatto con superfici non sterili.
- g. Eliminare il guanto contaminato.

h. Comprimere il contenitore nel quale è stata riposta la spugnetta per favorire la fuoriuscita dell'aria in eccesso, arrotolare più volte il bordo superiore su se stesso, e sigillare il campione.

i. Identificare il campione prelevato in modo da poter disporre dei seguenti dati: superficie campionata (denominazione o altro identificativo univoco dell'attrezzatura, impianto superficie di lavorazione, utensile, ecc.), l'area di lavorazione in cui il campione è stato eseguito e il tipo di superficie (a contatto o non a contatto). Queste informazioni sono indispensabili qualora le superfici vengano esaminate in pool e risultino contaminate. La corretta identificazione delle superfici appartenenti al gruppo che ha composto il pool permetterà di procedere al campionamento in singolo per rintracciare la superficie contaminata.

j. Riporre prima possibile il campione nel contenitore coibentato, precedentemente raffreddato.

Le dimensioni delle superfici da sottoporre a campionamento devono essere, ove possibile, di 30 cm x 30 cm (900 cm²). Nel caso di superfici di piccole dimensioni (come la lama di un coltello) deve essere campionata l'intera superficie utile. Il laboratorio può procedere ad effettuare le analisi per "pool" di campioni.

In questo caso l'operatore addetto al campionamento confeziona singolarmente i campioni raccolti con il criterio di omogeneità (le superfici si intendono omogenee quando sono tutte a contatto o non a contatto e appartengono alla stessa area e/o reparto) e li raggruppa secondo i seguenti criteri:

- nella costituzione del pool va tenuto conto del momento del campionamento (operativo o pre-operativo) e della localizzazione in rapporto al flusso produttivo;
- non si possono raggruppare spugnette prelevate in fase operativa e pre-operativa;
- la sequenza delle superfici campionate deve seguire il layout della linea campionata

Infine, per il controllo ufficiale, per le superfici a contatto si raccomanda per pool di raggruppare al massimo 2/3 spugnette.

Sponge su carcasse: salvo diverse indicazioni il prelievo avviene dopo la macellazione prima del raffreddamento. I punti di prelievo sono diversi per specie

- BOVINO: collo, punta di petto, pancia sul fianco, scamone
- OVINO e CAPRINO: pancia sul fianco, costato, punta di petto, petto
- SUINO: lombo, guancia, faccia mediale della coscia (prosciutto), pancetta
- EQUINO: pancia, punta di petto, lombo, scamone

Piastre per il monitoraggio di aria:

le piastre, contenenti il terreno specifico in base al parametro ricercato, devono essere prenotate in laboratorio. Durante l'esposizione/aspirazione conservare il coperchio in un contenitore sterile.

Campionamento attivo aria con campionatore SAS: come procedere

Il campionamento dell'aria avviene utilizzando un campionatore SAS (Surface Air Sistem), sviluppato appositamente per campionare i biocontaminanti aerodispersi come spore, batteri, muffe, lieviti. L'aria è aspirata a velocità costante, per un tempo variabile noto, attraverso una testata dotata di piccoli fori di speciale conformazione.

Il campionamento viene sempre effettuato da un operatore del laboratorio.

1. Preparare il campionatore e le piastre di contatto.
2. Posizionare il campionatore in un'area rappresentativa dell'ambiente da analizzare.
3. Attivare il dispositivo e lasciare che campioni l'aria per il tempo necessario.
4. Rimuovere le piastre e conservarle secondo le indicazioni fornite.

Piastrine a contatto:

le piastrine, contenenti il terreno specifico in base al parametro ricercato, devono essere prenotate e in laboratorio. Aprire la piastrina, capovolgerla in modo da permettere il contatto della superficie del terreno su quella da esaminare, premere perpendicolarmente in modo uniforme, evitando movimenti laterali e di scivolamento, per un tempo di contatto di 10 secondi. Richiudere la piastra e sigillarla.

Materiali solidi associati all'acqua (ad esempio: incrostazioni e sedimenti) : trasferire il materiale in un contenitore sterile.

Fiale di Spore di *Bacillus stearothermophilus*: introdurre una fiala in ogni autoclave di cui si intende controllare e/o validare il ciclo di sterilizzazione (121°Cx15 min). Inserirla (identificata con, ad esempio, il numero/modello di autoclave da testare) in un contenitore o busta da autoclave e posizionarla all'interno dello strumento. Non aprire/non rompere la fiala. Una volta finito il ciclo recuperarla e contattare il laboratorio per il ritiro.

5. TRASPORTO

Temperature di trasporto:

TIPOLOGIA DI CAMPIONE	TEMPERATURA DI TRASPORTO/CONSEGNA AL LABORATORIO	ALTRE CONDIZIONI	TEMPO MASSIMO PER INIZIO ANALISI
Deperibili	+2°/+8 C°		
Surgelati	≤-15°C, meglio ≤-18°C		
Non deperibili	Ambiente (18°C-27°C)		
Acque	+2/+8°C	Buio	12 h per la Carica Microbica totale a 22°C e 36°C e <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Per ricerca Legionella (acqua/tamponi/sedimenti etc)	+2/+8°C per acqua fredda al prelievo	Buio	24 h dal prelievo a temperatura ambiente – 48 h a temperatura refrigerata
	Ambiente per acqua calda al prelievo	Buio	
Tamponi/sponge/piastre	+1/+8°C		24 h
Sponge per analisi USA	0/+4°C		24 h
Piastre	+1/+8°C		

6. CONSEGNA AL LABORATORIO

Eventuali scostamenti, comunicati dal cliente, rispetto a questa istruzione operativa saranno riportati sul rapporto di prova.

Eventuali non conformità, rilevate in fase di accettazione dal laboratorio, saranno comunicate al cliente il quale darà indicazione scritta sulla volontà di procedere o meno all'analisi. Le anomalie saranno riportate sul rapporto di prova (es: campione gonfio/non integro/informazioni su campione non in linea con richiesta consegnata).

7. RIFERIMENTI

- UNI EN ISO 6887-1 “Microbiologia della catena alimentare - Preparazione dei campioni di prova, della sospensione iniziale e delle diluizioni decimali per l'analisi microbiologica - Parte 1: Regole generali per la preparazione della sospensione iniziale e delle diluizioni decimali”
- *UNI EN ISO 7218 “Microbiologia della catena alimentare-requisiti generali e linee guida per esami microbiologici”*
- UNI EN ISO 18593 “Microbiology of food and animal feeding stuffs –Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs
- UNI EN ISO 5667-3 “Qualità dell'acqua - Campionamento - Parte 3: Conservazione e trattamento dei campioni d'acqua”
- UNI EN ISO 19458 “Qualità dell'acqua - Campionamento per analisi microbiologiche”
- ISO 5667-5 “Water quality — Sampling — Part 5: Guidance on sampling of drinking water from treatment works and piped distribution systems”
- ISO 11731:2017 Qualità dell'acqua - Conteggio di Legionella
- IRSA-CNR: “Metodi analitici per le acque” Tab. 2
- Regolamento 9 CFR 430
- Circolare del Ministero della salute del 21 ottobre 2020: “Listeria monocytogenes e Salmonella spp - Criteri e modalità di gestione dell’autocontrollo aziendale e modalità di verifica dell’Autorità Competente”
- UNI EN 17141 Camere bianche ed ambienti controllati associati - Controllo della biocotaminazione
- Accordo Stato – Regioni del 16/01/2003
- Intesa Stato regioni del 03/03/2016
- ISO 17604 Microbiologia della catena alimentare - Campionamento delle carcasse per analisi microbiologica
- Circolare del Ministero della Salute del 31.07.2018