



## ISTRUZIONE OPERATIVA IO023 CAMPIONAMENTO PER ANALISI MICROBIOLOGICHE

RESPONSABILE ELABORAZIONE	RESPONSABILE LABORATORIO MICROBIOLOGICO	FIRMA 
RESPONSABILE APPROVAZIONE /EMISSIONE	DIREZIONE	FIRMA 

REVISIONE N°	DATA	NATURA DELLA MODIFICA
0	01/04/2008	<i>Prima emissione</i>
1	04/10/2008	<i>Modifiche in seguito a rilievi dell'audit interno del 30/09/2008</i>
2	30/12/2008	<i>Modifiche in seguito ai rilievi della visita ispettiva sinal del 09/10 ottobre 2008</i>
3	30/04/2012	<i>Modifiche paragrafi campionamento acque</i>
4	27/02/2015	<i>Modifiche paragrafi campionamento superfici inerenti neutralizzante e temperatura di trasporto</i>
5	25/11/2015	<i>Modifiche a campionamento carcasse a seguito di aggiornamento normativo</i>
6	08/01/2016	<i>Modifiche paragrafi campionamento acque</i>
7	01/01/2017	<i>Modifiche paragrafi tempi/temperature di trasporto e campionamenti superfici</i>
8	11/09/2017	<i>Modifica alla modulistica applicabile</i>
9	24/09/2018	<i>Revisione in seguito all'emissione della nuova norma ISO 18593:2018 (E) Microbiology of the food chain-Horizontal methods for surface sampling</i>
10	15/01/2020	<i>Modifica paragrafo modulo richiesta analisi e campionamento</i>
11	05/01/2021	<i>Modifica metodo Legionella</i>
12	27/03/2023	<i>Variazioni a seguito di sostituzione del dlgs 31/2001 con dlgs 18/2023</i>
13	31/08/2024	<i>Aggiornamento a seguito di recepimento di ISO 7218:2024</i>



- 1. SCOPO**
- 2. APPLICABILITA'**
- 3. RESPONSABILITA'**
- 4. RIFERIMENTI NORMATIVI**
- 5. MODALITA' OPERATIVE**



## **1. SCOPO**

La presente istruzione descrive e precisa le modalità e responsabilità nella gestione dei campioni da sottoporre a prova.

## **2. APPLICABILITA'**

La presente Istruzione Operativa rappresenta un estratto delle diverse norme che disciplinano le attività di campionamento, a partire dal prelievo fino al corretto trasporto del campione in laboratorio.

L'estrema variabilità della natura dei prodotti da sottoporre a prova rende necessario individuare diverse modalità di campionamento che saranno prese in esame. L'istruzione operativa relativa al campionamento non si applica alle tecniche di campionamento su superfici all'interno della fase di produzione primaria.

## **3. RESPONSABILITA'**

Il laboratorio CSA è responsabile del campionamento solo quando è effettuato da proprio personale.

La responsabilità del campionamento effettuato dal Committente è a suo carico; nel modulo di richiesta analisi e campionamento viene indicato il soggetto che effettua il campionamento.

Il personale del laboratorio che effettua il campionamento deve attenersi alla presente Istruzione Operativa ed è responsabile dell'operazione.

## **4. RIFERIMENTI NORMATIVI**

Si fa riferimento alla normativa riportata nel Manuale della Qualità e alla seguente:

ISO 18593 (E) Microbiology of the food chain -Horizontal methods for surface sampling

ISO 7218 Microbiology of the food chain: General requirements and guidance for microbiological examination.

ISO 17604 Carcass sampling for microbiological analysis

ISO 19458 Water quality — Sampling for microbiological analysis

Rapporti ISTISAN 07/5 Metodi analitici di riferimento per le acque destinate al consumo umano ai sensi del D.lgs 18/2023

Linee guida per la prevenzione e controllo della Legionellosi ed. 2015

ISO 11731:2017 Water quality — Enumeration of Legionella

I riferimenti, se non diversamente specificato, sono da intendersi all'ultima edizione valida dei documenti citati, in vigore al momento dell'ultima revisione di questo documento.

In caso di documenti ritirati, il riferimento è per memoria e per informazione.

Il riferimento non implica l'applicabilità completa nel laboratorio del documento citato bensì l'avvenuta consultazione e la presa in carico dei punti applicabili.

## **5. MODALITA' OPERATIVE**

Il campionamento costituisce la prima operazione di ogni procedimento analitico. Si tratta di un'operazione complessa e delicata che può condizionare i risultati di tutte le fasi successive; pertanto il campione deve essere rappresentativo del materiale in esame e deve essere prelevato con una frequenza adeguata ad assicurare la rappresentatività dei parametri da rilevare, in funzione dell'obiettivo da perseguire.

Il campione è prelevato, confezionato, trasportato e manipolato prima delle prove in modo tale che venga preservato da modificazioni dei suoi componenti e delle caratteristiche da valutare.

Per il campionamento sono necessari:

- cucchiaio sterile, utensili vari sterili;
- Sacchetti stomacher sterili, provette, bottiglie sterili etc, a seconda della matrice da campionare;
- Bunsen portatile e accendino, fiamma in caso di necessità;
- Modulistica di prelievo (verbale richiesta analisi e campionamento)
- Pennarelli indelebili e penne;
- Spruzzetta con alcol etilico denaturato in caso di necessità;
- Guanti in lattice;
- Mascherine;
- Camice,
- Copricapo;
- Copri scarpe



In caso di trasporto refrigerato inoltre sono necessari:

- Panetti refrigeranti prelevati da congelatore al momento della partenza almeno quattro ogni frigocontenitore (autonomia cinque ore)
- Bottiglietta con soluzione di glicerolo

Prima di effettuare ogni campionamento secondo le modalità indicate nella presente istruzione è necessario indossare camice monouso, cappellino o cuffietta, guanti in lattice. Effettuare il campionamento come previsto più avanti nel documento in maniera specifica per ogni matrice da campionare. Annotare su ciascun campione un numero consecutivo con un pennarello indelebile, in modo da identificare in maniera univoca ciascun campione e riportare il numero sul Modulo Richiesta Analisi e Campionamento accanto alla descrizione del campione stesso sull'apposita colonna.

## 5.1. Trasporto

Il trasporto dei campioni può essere eseguito sia a temperatura ambiente, sia a temperatura controllata mediante frigoriferi portatili elettrici o frigo contenitori, a seconda della natura del campione e del tempo di trasporto.

Alla partenza dal laboratorio deve essere riposta all'interno del frigorifero o frigo contenitore da trasporto una boccetta contenente glicerolo che sia stata mantenuta, fino a quel momento, nella cella frigorifera. In caso di campionamento da parte del committente, possono essere richiesti al laboratorio tutti i contenitori per una corretta esecuzione.

### *-Modalità di trasporto Campioni refrigerati*

I campioni di alimenti che necessitano di un trasporto refrigerato (alimenti deperibili) ed i tamponi devono essere trasferiti dal punto di campionamento al laboratorio utilizzando frigocontenitori, in caso di lunghi trasporti (superiori alle 4 ore) i campioni devono essere trasferiti nel frigo elettrico, preriferato e collegato all'impianto elettrico di utilizzo. In ogni frigocontenitore devono essere disposti almeno 4 icepack da circa 1 lt disposti due sul fondo e due sulle pareti, il frigocontenitore deve essere aperto il meno possibile all'atto del campionamento presso il cliente. Una volta arrivato in laboratorio il campione deve essere immediatamente trasferito nel contenitore "campioni in attesa di analisi", situato nella cella frigorifera e deve essere eseguito il controllo della temperatura del glicerolo mediante un termometro tarato, se la temperatura è compresa tra 2 e 8 gradi i campioni possono essere accettati. Nel caso la condizione non sia rispettata, si valuti la tipologia di campioni trasportati secondo quanto riportato nella tabella sottostante e trattare il campione come viene indicato.

### *-Campioni caldi*

Per tempi di trasporto brevi (inferiori alle 4 ore) i campioni possono essere trasferiti al laboratorio senza necessità di abbattimento della temperatura, altrimenti è necessario abbattere la temperatura presso il cliente e si procede come previsto sopra per i campioni refrigerati

### *-Campioni Congelati e Surgelati*

I campioni congelati devono essere trasportati mediante il frigorifero portatile elettrico, preriferato per il trasporto dal punto di campionamento al mezzo di trasporto e per il trasferimento a breve distanza (inferiore alle 4 ore) può essere utilizzato il frigocontenitore con gli icepack precongeliati.

La temperatura dei campioni congelati all'arrivo al laboratorio deve essere non superiore a +4°C. I campioni congelati e surgelati devono essere analizzati nel più breve tempo possibile una volta arrivati in laboratorio.

### *-Altre modalità di trasporto (campioni non deperibili)*

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.

Di seguito tabella che semplifica le condizioni di trasporto per le varie tipologie di campione e le modalità di trattamento del laboratorio secondo la normativa corrente.



<b>Matrice</b>	<b>Temperatura min-max di trasporto (°C)</b>	<b>Tempo massimo di inizio analisi dal ricevimento del campione in laboratorio</b>	<b>Riferimento normativo</b>
Tamponi su superfici	1-8	I campioni devono essere incubati entro 24 ore dal campionamento	ISO 18593:2018
Piastre a contatto	1-8	I campioni devono essere incubati entro 48 ore dal campionamento	ISO 18593:2018
Tamponi e spugne su carcasse	0-4	24 h (dal campionamento per cominciare l'analisi)	ISO 17604:2015
Alimenti deperibili	5±3	max 24 h (dal ricevimento per cominciare l'analisi)	ISO 7218:2024
Alimenti (stabili a temperatura ambiente)	Temperatura ambiente (18-27)	max 24 h (dal ricevimento per cominciare l'analisi)	ISO 7218:2024
Acque (batteri indicatori fecali)	2-8	12-18 h	ISO 19458:2006
Acque (Microrganismi vitali a 22°C e 36°C)	2-8	8-12 h	ISO 19458:2006
Acque (per conta legionella)	Temperatura ambiente	24 h (dal campionamento per cominciare l'analisi) Oppure 4 gg (dal campionamento per cominciare l'analisi se conservato a 4°C al buio)	Linee Guida prevenzione e controllo Legionellosi 2015

Qualora la conservazione del campione fosse stata effettuata, in circostanze eccezionali, a temperature o per tempi diversi da quelli previsti, è opportuno che ciò venga riportato con tutti i dettagli sul documento di accompagnamento del campione.

## **5.2. Modulo Richiesta Analisi e Campionamento**

Il Modulo "Richiesta di Analisi e Campionamento" viene compilato in ogni sua parte a cura dell'operatore adibito al prelievo. Sarà altresì compito dell'operatore annotare tutte le notizie che potrebbero permettere una migliore interpretazione dei risultati e tutti gli scostamenti e le deviazioni dalle procedure. Tali informazioni potranno essere direttamente fornite dal committente dell'analisi o potranno essere desunte dall'operatore addetto al prelievo durante il prelievo stesso e riportate nel campo "Note" del medesimo modulo.

Per campioni prelevati a cura del committente i fogli di prelievo vanno compilati al momento del Ricevimento oppure sono compilati dal Committente durante il campionamento.

Annotare sul modulo "Richiesta di Analisi e Campionamento" le seguenti informazioni:

- Spuntare la casellina "Prelievo effettuato da CSA srl" se il campionamento è effettuato dai tecnici della CSA srl, i tecnici agiscono in conformità a quanto riportato dall'istruzione di campionamento in revisione corrente, il Committente avrà cura di spuntare la casellina "Prelievo effettuato dal Committente" se il prelievo è stato effettuato



dal Committente stesso, in questo caso è obbligatorio barrare in fondo al modulo la dichiarazione sulle modalità di trasporto dei campioni che ha effettuato. Il Committente si assume la responsabilità del campionamento.

- Committente: l'ente, azienda o persona che ha richiesto l'esecuzione dell'analisi, comprensivo di telefono, fax o e-mail, dati per la fatturazione annotare l'eventuale pagamento e le modalità di quest'ultimo sull'apposita casellina situata sotto il titolo del modulo

-Luogo di campionamento: compilare in caso il campione venga prelevato in un luogo diverso rispetto a quello della sede legale del committente

- Data richiesta, data prelievo e data consegna: la data in cui rispettivamente è stata effettuata la richiesta di campionamento da parte del Committente, la data in cui è stato effettivamente eseguito il campionamento, e la data in cui i campioni sono stati consegnati al laboratorio; barrare inoltre sotto la casella "Richiesta" le modalità di arrivo della richiesta stessa (se è stata richiesta in via telefonica, tramite posta elettronica oppure se è stata consegnata in laboratorio direttamente dal Committente nel caso il prelievo sia stato eseguito da quest'ultimo)

- Descrizione campione: la categoria merceologica del campione ed una sua breve descrizione

- Punto di prelievo: il luogo dove il prelievo viene eseguito

- ora del prelievo. L'ora può essere indicata come intervallo (es. dalle 10,30 alle 10,35) se il prelievo si protrae nel tempo

-Operatore: il nome o i nomi della persona e/o degli enti che effettuano o hanno effettuato il prelievo

-Temperatura di trasporto: la temperatura di trasporto del campione dal luogo del prelievo al laboratorio

-Compilare il campo "Analisi richieste" qualora il cliente non abbia delegato la scelta dei parametri al laboratorio di analisi

-Compilare il campo note per ogni altra richiesta da parte del Committente (per es. in caso di richieste di analisi che il laboratorio non può gestire e che richiedono un eventuale sub appalto della prova stessa, seguirà un preventivo ed il cliente riceverà tutte le informazioni dovute come definito nel Manuale)

-Non compilare le caselle "N° accettazione" perché riservato al laboratorio di analisi, infatti nelle caselle verrà inserito il numero di accettazione di ogni campione per la tracciabilità interna.

-Firmare sempre il documento sia durante il campionamento da parte dei tecnici CSA che in caso di consegna del campione da parte del Committente e consegnare copia cliente.

- Nel riempire il modulo "Richiesta Analisi e campionamento", sia il Committente che gli operatori della CSA srl, dovranno identificare i campioni con numero progressivo per i campioni prelevati nella stessa giornata di campionamento. Nella successiva sessione di campionamento (differente giornata di campionamento/differente operatore), la numerazione progressiva ricomincerà dal n°1.

Qualora il committente richieda degli scostamenti, delle aggiunte o delle esclusioni dalla presente Istruzione Operativa di campionamento, questi vengono registrati sul Modulo "Richiesta Analisi e campionamento".

Tali dati vengono inclusi in tutta la documentazione che contiene i risultati di prova e vengono comunicati al personale coinvolto.

### **5.3. Modalità di prelievo acque per parametri microbiologici**

**Avvertenze generali:** durante il prelievo si dovranno osservare le massime cautele di asepsi al fine di evitare che microorganismi estranei all'acqua da esaminare vengano accidentalmente introdotti nella bottiglia; a tale scopo, durante il prelievo, si avrà cura di evitare che la parte interna del tappo e del collo della bottiglia possano venire a contatto con qualunque fonte di contaminazione e particolarmente con le mani dell'operatore.

**Acque potabili:** verificare con il committente, prima del prelievo, se l'acqua è clorata. In caso di dubbio usare una bottiglia contenente una soluzione al 1,8% di sodio tiosolfato nella quantità di 0,1 mL per ogni 100 mL di capacità della bottiglia in grado di neutralizzare fino a 5 mg/L di cloro residuo libero e combinato. Poiché l'aggiunta, in bottiglie già sterilizzate, di una soluzione, se pure sterile, di neutralizzante può comportare il rischio di una contaminazione, è opportuno che la soluzione venga aggiunta prima della sterilizzazione dei contenitori.

Le bottiglie utilizzate per prelevare campioni per analisi microbiologiche, non devono mai essere sciacquate al momento del prelievo.

Bottiglie contenenti Sodio tiosolfato possono essere utilizzate anche per il prelievo di campioni di acqua non clorata. Le bottiglie utilizzate hanno capacità di 250 ml, 500 ml o 1000 ml a seconda del numero dei parametri da determinare.

Le bottiglie possono essere in plastica monouso sterile o in vetro sterilizzate all'interno del laboratorio mediante autoclave (121°C- 15 min-1 atm), etichettate con nastro per autoclave (che indichi l'avvenuta sterilizzazione) sul quale viene scritta la data di sterilizzazione.



Le bottiglie non dovranno mai essere riempite completamente onde consentire un efficiente mescolamento, mediante agitazione, al momento dell'esame.

Si raccomanda di evitare la tracimazione dell'acqua da campionare durante il prelievo.

Il campionamento nel **caso generale** viene eseguito secondo le seguenti operazioni:

- 1) rimuovere dal rubinetto eventuali tubi di gomma, plastica, ecc;
- 2) pulire meccanicamente la bocca del rubinetto se necessario;
- 3) procedere allo spurgo dell'acqua ristagnante nel rubinetto e nelle tubazioni aprendo completamente la valvola. L'operazione di spurgo dovrebbe essere protratta per almeno 1-3 minuti e, comunque, per un tempo sufficiente a rendere rappresentativo il campione prelevato;
- 4) chiudere il rubinetto e sterilizzare la parte esterna mediante una fiamma;
- 5) far scorrere l'acqua per almeno un minuto;
- 6) effettuare il prelievo evitando di modificare l'apertura del rubinetto durante la raccolta del campione;
- 7) dopo il prelievo la bottiglia deve essere accuratamente chiusa ed etichettata o marcata in modo idoneo.

Alcune operazioni vanno eseguite o meno a seconda dello scopo finale del campionamento.  
(vedi tabelle riassuntive seguenti)

Acqua di rete

<i>Scopo dell'analisi</i>	<i>Rimuovere dispositivi attaccati al rubinetto</i>	<i>Disinfettare il rubinetto</i>	<i>Far scorrere l'acqua</i>
Valutare qualità dell'acqua di rete	SI	SI	SI
Valutare l'acqua che arriva al rubinetto	SI	SI	BREVEMENTE
Valutare l'acqua come viene consumata	NO	NO	NO

Acqua di pozzo o sorgente con dispositivi di pompaggio installati permanentemente e rubinetto in metallo

<i>Scopo dell'analisi</i>	<i>Rimuovere dispositivi attaccati al rubinetto</i>	<i>Disinfettare il rubinetto</i>	<i>Far scorrere l'acqua</i>
Valutare qualità dell'acqua di falda	SI	SI	SI
Valutare l'acqua del pozzo	SI	SI	BREVEMENTE
Valutare l'acqua come viene consumata	NO	NO	NO

Acqua di pozzo o sorgente senza dispositivi di pompaggio installati permanentemente

<i>Scopo dell'analisi</i>	<i>Campionamento con una pompa ad immersione (pulita)</i>	<i>Campionamento con una bottiglia sterilizzata (dentro e fuori)</i>	<i>Campionamento con un secchio</i>
Valutare qualità dell'acqua di falda	SI (dopo pompaggio prolungato)	NO	NO
Valutare l'acqua del pozzo	SI (pompaggio minimo)	SI	NO
Valutare l'acqua come viene consumata	NO	NO	SI

**Acque di piscina:** per campionamenti dopo i filtri o nelle tubature che portano alle piscine (acqua di immissione) dovrebbero essere previsti rubinetti in metallo dedicati. Eseguire il campionamento così come descritto in precedenza.

Per campionamento in vasca eseguire il campione lontano dal punto di immissione dell'acqua, in modo da campionare in un punto dove la concentrazione delle disinfettate sia omogenea e stabile. Utilizzare



bottiglie sterili e pulite, introducendole orizzontalmente per evitare la dispersione del tiosolfato, girandola verticalmente una volta che è entrato il quantitativo di acqua sufficiente.

**Ricerca di *Legionella spp*:** utilizzare bottiglie di capacità 1000 ml ed utilizzare mascherina, guanti ed occhiali protettivi;

- **Acqua di utilizzo comune**, campionare da circuito acqua calda, non flambare e non fare scorrere acqua;
- **Acqua all'interno di un impianto** (ricerca quantitativa *Legionella*): far scorrere l'acqua per almeno 1', chiudere il flusso e flambare all'interno dello sbocco quando la flambatura è tecnicamente possibile, oppure disinfettare con ipoclorito di sodio al 1% o etanolo al 70% lasciando agire il disinfettante per almeno 1 minuto. Far scorrere l'acqua per almeno un altro minuto per rimuovere eventuali residui di disinfettante; misurare la temperatura dell'acqua attendendo che questa raggiunga un valore costante e prelevare il campione. flambando allo sbocco.
- **Depositi:** prelevare dallo scarico, oppure dal fondo della raccolta di acqua dopo aver eliminato l'acqua dall'alto. Raccogliere in recipienti sterili.
- **Incrostazioni:** prelevare da tubature e serbatoi, staccando meccanicamente il materiale depositatosi all'interno. Raccogliere in recipienti sterili.
- **Tamponi:** con un tampone sterile raccogliere il materiale depositato sulle superfici interne. Conservare il tampone in recipiente (provetta) con tappo a vite, contenente una piccola (2 ml) quantità dell'acqua dell'impianto.
- **Filtri:** Il controllo deve essere eseguito su filtri utilizzati da diverso tempo, e non su quelli lavati o sostituiti di recente. Prelevare il filtro e conservarlo in un sacchetto di materiale plastico

In caso di campionamento da parte del cliente/committente, possono essere richiesti al laboratorio tutti i contenitori e i materiali necessari per una corretta esecuzione.

Il campione prelevato deve essere SEMPRE accompagnato dalle seguenti indicazioni:

- § data e ora del campionamento;
- § tipo di acqua;
- § punto del prelievo.

#### *5.1.1. Conservazione e trasporto dei campioni di acqua per parametri microbiologici*

I campioni devono essere mantenuti refrigerati ed al riparo dalla luce dal momento del prelievo al momento dell'analisi. I campioni per la ricerca di *Legionella* devono essere conservati a temperatura ambiente se l'analisi può essere iniziata entro 24 ore dal campionamento, altrimenti vanno conservati refrigerati.

### **Protezioni per gli operatori**

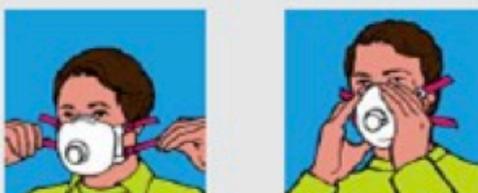
Tutte le operazioni di prelievo campioni dovranno essere eseguite osservando le precauzioni necessarie alla tutela della salute dell'operatore. In particolare si dovranno utilizzare i seguenti DPI:

- Facciale Filtrante P3 (monouso) con certificazione EN 149. La presenza della lettera "D" rappresenta un maggior livello di sicurezza del dispositivo. È necessario eseguire il "fit test" dopo aver indossato il facciale (vedi schema riportato di seguito);
- Guanti di gomma (che possono essere sia in Nitrile sia in Lattice) rispondenti alla norma EN 374;
- Occhiali per la protezione da spruzzi di liquidi (chiusi su tutti i lati) in base ai requisiti previsti dalla norma EN 166.

Al termine delle operazioni di campionamento i guanti e i facciali filtranti devono essere smaltiti come rifiuti speciali a rischio infettivo. Dovranno pertanto essere eliminati introducendoli nei contenitori per rifiuti a rischio infettivo presenti in Azienda. Fermo restando le prescrizioni del produttore, gli occhiali dovranno essere detersi con acqua e sapone e successivamente disinfettati con Amuchina.



- 1) Impugnare il respiratore in modo che la parte esterna bombata sia appoggiata al palmo e che l'elastico rimanga sotto la mano posizionare il respiratore sotto il mento con il ferretto stringinaso in alto
- 2) Posizionare l'elastico inferiore sotto le orecchie e l'elastico superiore sulla sommità del capo



- 3) Tendere gli elastici regolabili tirandone le estremità libere
- 4) Modellare il ferretto stringinaso alla conformazione del naso stesso



- 5) Per allentare un'eccessiva tensione degli elastici, tenere la fibbia con una mano e spingere la parte mobile dall'interno verso l'esterno, con l'altra mano tirare l'elastico attraverso la fibbia
- 6) Verificare la tenuta del respiratore prima di entrare nell'area di lavoro con la prova di tenuta, inspirando ed espirando profondamente (nei modelli con valvola di espirazione tappare con il palmo di mano la valvola stessa). Se si percepiscono fughe d'aria, riposizionare la maschera o regolare nuovamente la tensione degli elastici.



## 5.4. Alimenti

Durante il prelievo il campione non deve subire danni, modifiche o contaminazioni.

Introdurre il campione in sacchetti, o in altri contenitori sterili, operando velocemente ed impedendo al campione di entrare in contatto con l'aria.

### 5.4.1. Campionamento di alimenti tranne latte e derivati del latte

<b>Istruzioni per campionamento carne, pesce, vegetali, prodotti da forno e ovoprodotti</b>			
<b>Parametri</b>	<b>Quantità minima di campione</b>	<b>Contenitore</b>	<b>Note</b>
Parametri microbiologici - Salmonella e/o Listeria e/o batteriologico	100g	Sacchetti sterili o altri contenitori sterili	Utilizzare utensili di prelievo sterili monouso o sterilizzabili con una fiamma
Parametri microbiologici esame 5 aliquote (qualora richieste dal committente) - Salmonella o Listeria	50 g X 5	Sacchetti sterili o altri contenitori sterili	Utilizzare utensili di prelievo sterili monouso o sterilizzabili con una fiamma
Parametri microbiologici esame 5 aliquote (qualora richieste dal committente) - batteriologico	20 g X 5	Sacchetti sterili o altri contenitori sterili	Utilizzare utensili di prelievo sterili monouso o sterilizzabili con una fiamma
Parametri microbiologici esame 5 aliquote (qualora richieste dal /committente) - Salmonella e Listeria e batteriologico)	100 g X 5	Sacchetti sterili o altri contenitori sterili	Utilizzare utensili di prelievo sterili monouso o sterilizzabili con una fiamma

## 5.5. Superfici e carcasse

### 5.5.1. Campionamento batteriologico superfici ambientali

I metodi di campionamento, trasporto e conservazione per le superfici ambientali sono riportati nella ISO 18593:2018. Effettuare il campionamento evitando il contatto diretto con il materiale ed il campione.

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. Effettuare il campionamento su superfici sanificate, salvo diversa richiesta da parte del Cliente/Committente o Ente di Controllo.

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 campionare la superficie con tamponi, per valutare l'efficacia del programma di pulizia e disinfezione (o altrimenti secondo le indicazioni sul disinfettante).



<b>Istruzioni per campionamento SUPERFICI AMBIENTALI – Determinazioni BIOLOGICHE</b>		
<b>Parametri</b>	<b>Dispositivo di raccolta</b>	<b>Modalità di raccolta</b>
Conta microorganismi a 30 C e Enterobatteriacee	Slide CBT e Enterob	Premere le faccie dello slide sulla superficie da indagare fermamente per circa 10 secondi evitando movimenti laterali.
Conta microorganismi a 30 C e Enterobatteriacee	Piastre a contatto	Premere la faccia con l'agar della piastra a contatto sulla superficie da indagare fermamente per circa 10 secondi evitando movimenti laterali. Il metodo è valido solo per le superfici piane.
Parametri microbiologici (es. Listeria, Salmonella, Enterobacteriaceae, Stafilococchi coagulasi positivi, Conta microorganismi a 30 C, E.coli etc)	Tampone	Delimitare un'area di 100 cm <sup>2</sup> con una mascherina di cm 10x10 sterile per la conta dei microorganismi. La punta del tampone deve essere preventivamente inumidita con liquido diluente sterile (Soluzione Peptone Sale o Neutralizzatore come da Tabella 1 in caso di campionamenti su superfici sanificate) ed occorre eliminare l'eccesso premendo il tampone sulla parete della provetta. Durante la strisciata la punta del tampone viene fatta ruotare entro la mascherina in modo successivo lungo due direzioni tra loro perpendicolari. L'area di campionamento può essere anche non definita da una grandezza numerica.  Per la ricerca di Listeria, Salmonella ed altri patogeni, l'area campionata deve essere più rappresentativa e compresa tra 1000 cm <sup>2</sup> e 3000 cm <sup>2</sup> quando possibile.

Non può essere prescritto un neutralizzatore appropriato per tutte le situazioni.

Saranno utilizzati tamponi commerciali contenenti la soluzione di neutralizzante appropriata.

Il personale di CSA srl effettua per il campionamento di superfici preferibilmente piastre a contatto; qualora non sia possibile effettuare il campionamento tramite queste ultime vengono utilizzati tamponi di superficie e la superficie campionata è sempre di 100 cm<sup>2</sup> e le modalità di campionamento sono sopra descritte (se non fosse così il tecnico di CSA srl è tenuto a compilare il modulo ModAQ002/PG06 "Verbale di Richiesta analisi e campionamento" nel campo note con il valore della superficie campionata). Nel caso di superficie in cui non è possibile o non necessario determinare la superficie campionata (per es. cucchiaio, bocchello, beccuccio) il risultato viene espresso si UFC/tampone. Il risultato UFC/tampone viene espresso anche qualora il cliente non fornisca al momento dell'accettazione del campione la superficie campionata.



### 5.5.2. Campionamento batteriologico delle carcasse

I metodi di campionamento, trasporto e conservazione per le superfici delle carcasse animali sono riportati nella ISO 17604:2015 .

Effettuare il campionamento evitando il contatto diretto con il materiale ed il campione.

<b>Istruzioni per campionamento CARCASSE – Determinazioni BIOLOGICHE</b>		
<b>Parametri</b>	<b>Dispositivo di raccolta</b>	<b>Modalità di raccolta</b>
CBT e Enterobatteriacee	Tamponi Umidi/Asciutti	<p><i>METODO NON DISTRUTTIVO: Si dovrà procedere al prelievo di un campione costituito da 4 punti di ogni carcassa.</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Ogni carcassa deve essere identificata.</li><li><input type="checkbox"/> Individuare i 4 punti di campionamento sulla carcassa. Ciascun punto della carcassa dovrà essere campionato con tampone inumidito e tampone asciutto. Tamponi tot. per carcassa 8 (4 umidi + 4 asciutti).</li><li><input type="checkbox"/> Aprire la confezione sterile ed estrarre il tampone per il prelievo</li><li><input type="checkbox"/> Inumidire il tampone con Soluzione Peptone Sale (per almeno 5 secondi).</li><li><input type="checkbox"/> Strofinare il tampone sull'area di campionamento pari a 100 cm<sup>2</sup> utilizzando la mascherina di cm 10x10 sterile; inizialmente in senso verticale, poi orizzontale e quindi in diagonale, per non meno di 20 secondi. Si raccomanda di esercitare la maggior pressione possibile.</li><li><input type="checkbox"/> L'estremità del tampone viene spezzata, con le consuete cautele di asepsi, nella provetta contenente il diluente sterile.</li><li><input type="checkbox"/> Successivamente si ripete l'operazione con tampone asciutto per recuperare il liquido rimasto sulla carcassa.</li><li><input type="checkbox"/> L'estremità del tampone viene spezzata, con le consuete cautele di asepsi, nella stessa provetta contenente il diluente sterile dove è stato spezzato il tampone umido.</li><li><input type="checkbox"/> In Laboratorio raggruppare gli 8 tamponi in un unico contenitore.</li></ul>
CBT Enterobatteriacee Salmonella	Spugnette	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Inumidire la spugna con Acqua Peptonata Tamponata sterile.</li><li><input type="checkbox"/> Estrarre la spugna dal sacchetto evitando la contaminazione (manipolandola con guanti sterili o utilizzando il sacchetto stesso) e strofinarla su una superficie di almeno 100 cm<sup>2</sup>, facendola ruotare lungo due direzioni tra loro perpendicolari.</li><li><input type="checkbox"/> Rimettere la spugna nel sacchetto, aggiungere altra acqua peptonata in ragione di 25 ml totali, riavvolgere il sacchetto, chiudere e siglare.</li><li><input type="checkbox"/> Ripetere il procedimento per tutti e 4 i punti di campionamento</li><li><input type="checkbox"/> In Laboratorio raggruppare le 4 spugnette in un unico sacchetto.</li></ul>



### 5.5.3. Punti di campionamento

Di seguito vengono riportati i siti delle carcasse di suino, bovino ed ovino sui quali si consiglia di effettuare il campionamento. Si possono scegliere parti diverse quando si può dimostrare che, in considerazione delle tecnologie di abbattimento adottate in un particolare stabilimento, risulta più probabile che altre parti presentino livelli più alti di contaminazione, ragion per cui si possono scegliere quelle parti.

Suini	Bovini	Ovini e Caprini
Lombo	Collo	Pancia
Guancia	Punta di petto	Costato
Pancetta	Pancia	Punta del petto
Faccia mediale della coscia	Scamone	Petto

Di seguito elenco e punti di campionamento indicati nella ISO 17604:2015

**Table A.1 — Sites most often identified as more highly contaminated**

Pigs <sup>a</sup>	Cattle <sup>a</sup>	Sheep <sup>a</sup>
1 Pelvic channel internal	1 Pelvic channel internal	1 Knee external aspect
2 Pelvic channel external	2 Pelvic channel external	2 Pelvic channel internal
3 Abdominal	3 Hock external aspect	3 Abdominal external
4 Xiphoid external	4 Hock internal aspect	4 Anterior sternum external
5 Xiphoid internal	5 Internal thigh	5 Foreleg, elbow, external aspect
6 Pillar of diaphragm	6 Sternum external	6 Neck, prescapular region external
7 Submaxillary external	7 Sternum internal	
8 Submaxillary internal	8 Xiphoid external	
9 Fore foot external aspect	9 Xiphoid internal	
10 Fore foot internal aspect	10 Foreleg internal aspect	
	11 Atlanto-occipital internal aspect	
	12 Atlanto-occipital external aspect	

<sup>a</sup> The numbers 1 to 12 indicate the sampling sites in [Figure A.1](#) to [Figure A.3](#).

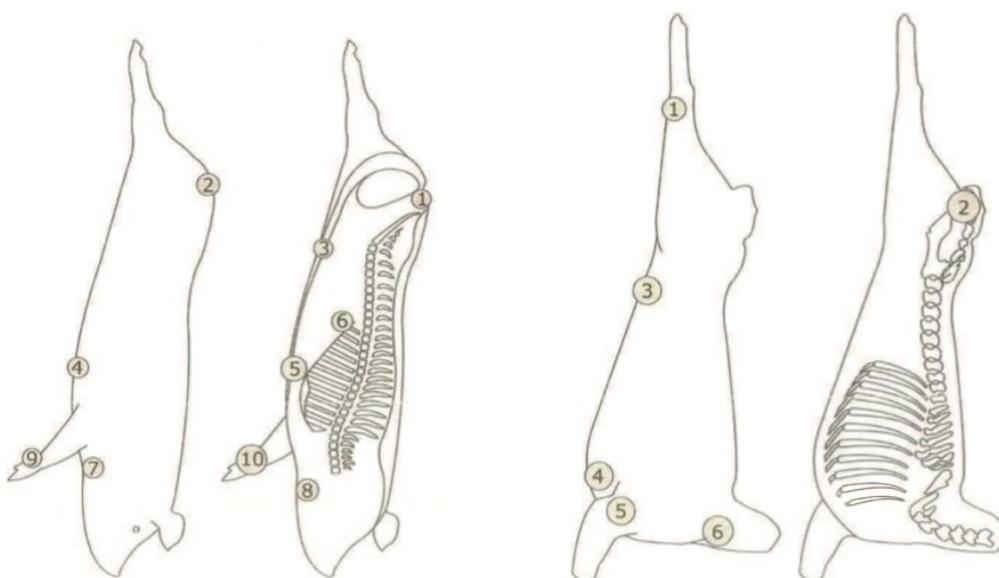


Figure A.1 — Pig: examples of sampling sites (left = lateral, right = medial) Figure A.3 — Sheep: examples of sampling sites (left = lateral, right = medial)

Per il campionamento di matrici non riportate nell'istruzione operativa fare riferimento al laboratorio che potrà fornire quando necessario le modalità operative più adeguate per il campionamento.