
 CRAB Medicina Ambiente S.r.l.	SCOP_002 LABORATORIO DI PROVA Scheda operativa – Campionamento per l'analisi microbiologica di alimenti e mangimi	Data di emissione	29/12/2020
		Revisione	00

DATA	DESCRIZIONE MODIFICHE	REVISIONE	Entrata in vigore
29/12/2020	Prima emissione	00	07/01/2021

Sommario

1	Scopo.....	2
2	Modalità di campionamento.....	2
2.1	Generalità	2
2.2	Riferimenti.....	2
2.3	Responsabilità	3
2.4	Termini e definizioni.....	3
2.5	Congelamento post-campionamento.....	3
2.6	Tecniche di campionamento: attrezzatura	3
2.7	Tecniche di campionamento: protocollo generale	4
2.7.1	Prodotti sfusi	5
2.7.2	Prodotti confezionati	5
2.7.3	Prodotti refrigerati	5
2.7.4	Prodotti congelati	5
2.7.5	Blocchi di prodotti congelati.....	5
2.7.6	Prodotti conservati a temperatura ambiente.....	6
2.7.7	Prodotti caldi	6
2.7.8	Porzioni per i consumatori nei ristoranti	6
2.8	Tecniche di campionamento per prodotti specifici	6
2.8.1	Molluschi vivi.....	6
2.8.2	Uova intere	7
2.8.3	Campioni deteriorati.....	7
2.9	Tecniche di campionamento per latte e prodotti derivati.....	7
2.10	Formaggi.....	8
3	Campionamento con apparecchiatura automatica	8
4	Confezionamento	8
5	Trasporto	8
5.1	Trasporto per latte e prodotti derivati.....	9
6	Trasporto da parte di subappaltatore o corriere	10
7	Ricevimento in laboratorio e inizio analisi	10
8	Conservazione dei campioni in laboratorio	11

 CRAB Medicina Ambiente S.r.l.	SCOP_002 LABORATORIO DI PROVA Scheda operativa – Campionamento per l'analisi microbiologica di alimenti e mangimi	Data di emissione	29/12/2020
		Revisione	00

1 Scopo

Il campionamento costituisce la prima operazione di ogni procedimento analitico, e può condizionare i risultati di tutte le fasi successive.

Il campione deve, pertanto, essere rappresentativo del materiale in esame, e cioè deve riflettere il più accuratamente possibile le proprietà di interesse del lotto dal quale viene prelevato.

La presente scheda operativa ha lo scopo di definire le tecniche da adottare per effettuare un corretto campionamento, trasporto e conservazione di campioni, da sottoporre a prove microbiologiche, da parte del Cliente e del personale operante nel laboratorio di CRAB - Medicina Ambiente S.r.l..

Il campionamento non è oggetto di accreditamento; le prove contrassegnate con * non sono oggetto di accreditamento e le prove contrassegnate con # non sono oggetto di accreditamento e sono eseguite presso laboratori esterni da noi qualificati

2 Modalità di campionamento

2.1 Generalità


La presente rappresenta un estratto dei diversi metodi ufficiali che disciplinano le attività di campionamento e si applica a tutti i campioni destinati alle prove analitiche.

Prima del campionamento, deve essere concordata con il cliente la quantità minima richiesta per l'esame e tutte le istruzioni per il prelievo in loco come campione collettivo o composito.

Le tecniche di prelievo non devono modificare la flora microbica intrinseca del prodotto.

2.2 Riferimenti

- UNI EN ISO 7218: Microbiologia di alimenti e mangimi per animali – Requisiti generali e guida per le analisi microbiologiche
- UNI CEN ISO/TS 17728: Microbiologia della catena alimentare – Tecniche di campionamento per l'analisi microbiologica dei campioni di alimenti e mangimi
- UNI EN ISO 707: Latte e prodotti derivati – Guida per il campionamento

 CRAB Medicina Ambiente S.r.l.	SCOP_002 LABORATORIO DI PROVA Scheda operativa – Campionamento per l'analisi microbiologica di alimenti e mangimi	Data di emissione	29/12/2020
		Revisione	00

- UNI EN ISO 6887-1: Microbiologia della catena alimentare – Preparazione dei campioni di prova, della sospensione iniziale e delle diluizioni decimale per l'analisi microbiologica – Parte 1: Regole generali per la preparazione della sospensione iniziale e delle diluizioni decimali

2.3 Responsabilità

La responsabilità del prelievo è a carico dell'operatore, a seconda dei casi della ditta committente o del laboratorio di CRAB - Medicina Ambiente S.r.l..

2.4 Termini e definizioni

Si riportano alcune delle definizioni presenti nella norma UNI CEN ISO/TS 17728:


- Campionamento: procedura utilizzata per prelevare e creare un campione.
- Lotto: quantità definita di una merce fabbricata o prodotta in condizioni che si suppone siano uniformi.
- Campione rappresentativo: campione prelevato per riflettere il più accuratamente possibile, le proprietà di interesse del lotto dal quale è prelevato.
- Campione collettivo: è il campione misto di un numero di elementi dello stesso tipo di alimento, mangime per animali, animali o ambiente nel quale la miscela completa è la porzione di prova ed è prelevato nella sua interezza per l'esame in laboratorio.
- Campione composito è il campione misto di un numero di elementi dello stesso tipo di alimento, mangime per animali, animali o ambiente dal quale è prelevata una porzione di prova per l'esame.

2.5 Congelamento post-campionamento

È importante che i campioni che non erano congelati prima del prelievo, non vengano congelati successivamente: il congelamento può influenzare la vitalità della flora microbica intrinseca e comportare falsi negativi nella prova patogena o conte ridotte nei metodi quantitativi. Eccezionalmente, se necessario il congelamento post-prelievo, questo deve essere prima concordato con il cliente e registrato dal laboratorio.

2.6 Tecniche di campionamento: attrezzatura

L'attrezzatura e gli utensili utilizzati per prelevare i campioni devono essere puliti come minimo, e sterili ove richiesto, a seconda della finalità della prova.

 CRAB Medicina Ambiente S.r.l.	SCOP_002 LABORATORIO DI PROVA Scheda operativa – Campionamento per l'analisi microbiologica di alimenti e mangimi	Data di emissione	29/12/2020
		Revisione	00

Se la prova consiste nel controllare la flora microbica intrinseca del prodotto, allora l'attrezzatura deve essere sterile.

Se la prova consiste nel controllare le condizioni igieniche della ristorazione o della preparazione degli alimenti, allora utilizzare l'attrezzatura della ristorazione o l'attrezzatura utilizzata dal preparatore degli alimenti.

Analogamente, il confezionamento dei campioni può essere sterile o meno, a seconda della finalità della prova.


Di seguito sono riportate le principali attrezzature necessarie e idonee al prelievo:

- 1) Materiali per la decontaminazione del confezionamento, di strumenti e superfici di certi campioni:
 - Etanolo 70% o altri battericidi
 - Salviette o dischetti impregnati di alcol o altri battericidi
- 2) Sacchetti di plastica di dimensioni, tipo e capacità appropriate, adatti a contenere i campioni, sterili o meno, a seconda del campione e della finalità della prova; se possibile con etichette impermeabili.
- 3) Scatole, scatole portauova o altri contenitori per campioni fragili, sterili o meno, a seconda del campione e della finalità della prova.
- 4) Bottiglie o provette di materiali e capacità appropriati per contenere campioni di liquido, sterile o meno, a seconda del campione e della finalità della prova.
- 5) Termometri, sonde elettroniche e di superficie, sonde a infrarossi, tarate.
- 6) Cucchiari, pinze, coltelli, bisturi, campionatori a immersione, mestoli e altri utensili per applicazioni specifiche (esempio coltelli da ostriche, apertura bivalvi, ecc.) sterili o meno, a seconda del campione e della finalità della prova.
- 7) Trapano elettrico per prodotti congelati, sterili o meno, a seconda del campione e della finalità della prova.
- 8) Sega a nastro o sonda di carotaggio per certi prodotti (per esempio carne e formaggio) sterili o meno, a seconda del campione e della finalità della prova.
- 9) Indumenti di protezione per campionatori (se richiesti in strutture come stabilito con il cliente) come per esempio giacca, cappello, scarpe, guanti, ecc.

2.7 Tecniche di campionamento: protocollo generale

Il prelievo di campioni di grandi dimensioni può essere eseguito in azienda oppure questi prodotti possono essere trasportati al laboratorio. La procedura utilizzata per preparare le porzioni di prova può essere la stessa, come da ISO 6887.

In alcuni casi può essere prelevato un campione aggiuntivo per la registrazione della temperatura durante il trasporto o al ricevimento in laboratorio.

 CRAB Medicina Ambiente S.r.l.	SCOP_002 LABORATORIO DI PROVA Scheda operativa – Campionamento per l'analisi microbiologica di alimenti e mangimi	Data di emissione	29/12/2020
		Revisione	00

Prodotti caldi, a temperatura ambiente, refrigerati e congelati non devono essere inclusi nello stesso contenitore di trasporto.

2.7.1 Prodotti sfusi

Tra questi prodotti rientrano anche i prodotti in cucina di preparazione, prodotti in polvere (farina, semi, ecc.).

Prendere una porzione del prodotto con un utensile (utilizzare quelli elencati al paragrafo 2.6) e collocarlo in un sacchetto o una scatola se solido, oppure in una bottiglia o provetta se liquido. Chiudere il contenitore in modo sicuro per evitare perdite. Mettere il contenitore in borsa frigo, frigorifero o contenitore isolato come appropriato per lo stato del campione.

2.7.2 Prodotti confezionati

Il prodotto in questo caso è avvolto o sigillato nel luogo in cui è eseguito il prelievo (per esempio in azienda o nel ristorante, ecc.).

Prendere il prodotto senza danneggiare l'imballaggio, metterlo in un sacchetto o in una scatola se necessario, etichettare il contenitore. Mettere il contenitore in borsa frigo, frigorifero o contenitore isolato come appropriato per lo stato del campione.

2.7.3 Prodotti refrigerati


Sono i prodotti mantenuti ad una temperatura tra 2°C e 8°C. Prelevare rapidamente i campioni per evitare aumenti di temperatura.

2.7.4 Prodotti congelati

Sono i prodotti mantenuti in uno stato congelato. Prelevare rapidamente i campioni per evitare aumenti di temperatura.

2.7.5 Blocchi di prodotti congelati

Possono essere campionati in azienda o trasportati al laboratorio nello stato congelato. L'attrezzatura specifica da utilizzare in questo caso è il trapano elettrico o manuale, una spatola o un cucchiaino per raccogliere i trucioli generati (vedi paragrafo 2.6).

 CRAB Medicina Ambiente S.r.l.	SCOP_002 LABORATORIO DI PROVA Scheda operativa – Campionamento per l'analisi microbiologica di alimenti e mangimi	Data di emissione	29/12/2020
		Revisione	00

Utilizzare un trapano elettrico con una punta di dimensione appropriata o un trapano manuale, e praticare dei fori nei punti specifici. Impostare la velocità del trapano a circa 900 giri / minuto per evitare la fusione mediante calore o la dispersione dei trucioli. Utilizzare spatola o cucchiaio per raccogliere i trucioli e collocarli in un contenitore o in una borsa.

2.7.6 Prodotti conservati a temperatura ambiente

Sono i prodotti mantenuti a temperatura tra 18-27°C.

2.7.7 Prodotti caldi

Sono i prodotti preparati pronti al consumo (cotti durante la preparazione, hamburger preparati, prodotti riscaldati, pronti al consumo, ecc.).

Prendere una porzione del prodotto con un utensile appropriato e collocarlo in un sacchetto o in una scatola se solido, oppure in una bottiglia se liquido, e chiudere il contenitore in modo da evitare perdite.

2.7.8 Porzioni per i consumatori nei ristoranti

Sono i prodotti preparati appena prima di essere serviti. Le porzioni possono essere confezionate o meno.


Prendere una porzione del prodotto con uno degli utensili appropriati (a disposizione presso il ristorante) e collocarlo in un sacchetto o in una scatola se solido oppure in una bottiglia se liquido, e chiudere il contenitore in modo sicuro per evitare perdite. Mettere il contenitore in borsa frigo, frigorifero o contenitore isolato come appropriato per lo stato del campione.

Per la porzione destinata al consumatore servita su un piatto, far scivolare il prodotto in un sacchetto di campionamento idoneo. Se necessario, utilizzare un utensile appropriato o la parete del sacchetto per prendere l'intera porzione. Per prendere il prodotto può essere utilizzato un sacchetto di campionamento rivoltandolo sopra la mano e quindi rivoltandolo nuovamente sopra il prodotto al suo interno.

2.8 Tecniche di campionamento per prodotti specifici

2.8.1 Molluschi vivi

Sono tutti i molluschi filtratori marini o di acqua dolce, comprese altre specie come echinodermi, tunicati e gasteropodi. Procedura specifica: le specie in esame dovrebbero essere campionate utilizzando il metodo per la raccolta commerciale. Per evitare la contaminazione da parte di microrganismi adesi ai sedimenti marini, si deve

 CRAB Medicina Ambiente S.r.l.	SCOP_002 LABORATORIO DI PROVA Scheda operativa – Campionamento per l'analisi microbiologica di alimenti e mangimi	Data di emissione	29/12/2020
		Revisione	00

evitare di disturbare i sedimenti circostanti. Una volta rimosso dall'acqua e solo quando chiuso, il mollusco viene pulito mediante risciacquo e raschiatura con acqua di mare pulita o acqua dolce potabile. Il mollusco non deve essere re-immerso in acqua. I campioni dovrebbero essere ricostituiti da individui rientranti nell'intervallo usuale delle dimensioni commerciali.

Dovrebbero essere prelevati un minimo di 10 individui vivi per la prova di laboratorio. Il numero di individui vivi dovrebbe essere sufficiente per fornire un minimo di 50 grammi di polpa e liquido intervalvolare. Si devono raccogliere animali aggiuntivi per permettere che una porzione di individui ricevuti dal laboratorio sia in uno stato moribondo. Posizionare ogni campione in un sacchetto di plastica intatto separato con un'etichetta impermeabile in una borsa frigo con blocchi refrigeranti o in un frigorifero, come appropriato per lo stato del campione. Questo sacchetto può essere inserito in un secondo sacchetto per evitare perdite. Non posizionare i campioni a diretto contatto con i blocchi refrigeranti né congelarli poiché è richiesta la prova su molluschi vivi.

2.8.2 Uova intere

Prendere solo uova intere non rotte, e collocarle con estrema cura in scatole portauova o altre scatole idonee per alimenti (e prodotti fragili) per evitare la rottura durante il trasporto.


2.8.3 Campioni deteriorati

La finalità in queste circostanze è quella di accertare la causa del deterioramento. È importante mantenere l'integrità di tutti i prodotti deteriorati fino a quando inizia l'esame in laboratorio. Confezionare i campioni in materiali resistenti per contenere qualsiasi perdita ed evitare ulteriori danni. Evitare la contaminazione incrociata con altri campioni e pericoli potenziali per il personale raddoppiando l'imballaggio se necessario. Se si sospetta il deterioramento da parte di microrganismi termofili di lattine o di altre confezioni, non refrigerare né congelare i campioni.

2.9 Tecniche di campionamento per latte e prodotti derivati

Utilizzare contenitori e attrezzature sterili. In seguito al prelievo, il contenitore deve essere immediatamente chiuso, e se necessario, si possono utilizzare più contenitori sterili per raggiungere la quantità necessaria all'analisi. Conservanti non sono normalmente aggiunti ai campioni. Si veda la norma di riferimento (UNI EN ISO 707) per ulteriori specifiche sui prelievi del latte e / o prodotti derivati.

Per la quantità minima dei campioni, si rimanda alla Tabella del paragrafo 5.1. In alcuni casi è necessario prelevare più campioni per raggiungere la quantità minima desiderata (si ottiene il cosiddetto campione composito).

 CRAB Medicina Ambiente S.r.l.	SCOP_002 LABORATORIO DI PROVA Scheda operativa – Campionamento per l'analisi microbiologica di alimenti e mangimi	Data di emissione	29/12/2020
		Revisione	00

2.10 Formaggi

Il prelievo dipende dalla forma, dalla massa, e dal tipo di formaggio. L'eterogeneità del formaggio deve essere considerata durante il campionamento.

Il campione viene inserito in contenitori adatti alla sua forma, evitando di comprimere eccessivamente. È possibile tagliare il campione in piccoli pezzi per introdurlo all'interno del contenitore.

3 Campionamento con apparecchiatura automatica

Talvolta in produzione, i campioni sono prelevati direttamente dalla linea di produzione in automatico a intervalli di tempo specificati. Tali campioni devono essere raccolti, e inseriti in un contenitore.

4 Confezionamento


Dopo la raccolta, le bottiglie, i sacchetti o le scatole dei campioni devono essere inseriti in un contenitore di protezione ad una temperatura appropriata, come per esempio una borsa frigo contenente blocchi refrigeranti. I campioni devono essere confezionati per evitare la contaminazione crociata e per evitare perdite o umidità.

I campioni devono essere identificati correttamente e confezionati con materiali che assorbono gli urti per proteggere contro la rottura dei contenitori o il danneggiamento dei sigilli. Talvolta i sigilli di spedizione sono richiesti dal cliente per dimostrare che i campioni non sono stati manomessi durante il prelievo e la prova. È essenziale che i campioni non siano collocati a diretto contatto con superfici congelate come blocchi di ghiaccio, in quanto ciò può influire sulla flora batterica intrinseca.

5 Trasporto

Il tempo di trasporto al laboratorio deve essere il più breve possibile e non dovrebbe superare le 24 ore, in condizioni di temperatura controllata per assicurare il mantenimento dell'integrità del campione. In alcuni casi può essere prelevato un campione aggiuntivo per la registrazione della temperatura durante il trasporto o al ricevimento in laboratorio.

I prodotti caldi non devono essere posizionati nello stesso contenitore di trasporto di prodotti a temperatura ambiente, refrigerati o congelati.

 CRAB Medicina Ambiente S.r.l.	SCOP_002 LABORATORIO DI PROVA Scheda operativa – Campionamento per l'analisi microbiologica di alimenti e mangimi	Data di emissione	29/12/2020
		Revisione	00

Trasportare i prodotti refrigerati a temperature minori di 8°C, e i prodotti congelati a temperature minori di -15°C.

La temperatura dei campioni di molluschi vivi dovrebbe essere registrata immediatamente dopo la raccolta. La temperatura di transito deve essere compresa tra 0 e 10°C e l'attrezzatura utilizzata deve essere in grado di raggiungere questo intervallo di temperatura entro 4 ore dal confezionamento del campione e di mantenerla per almeno 24 ore. I campioni non devono essere congelati.

In generale, per il trasporto seguire le indicazioni stabilite nella ISO 7218, dove vengono segnalate le temperature di trasporto seguenti:


- Per prodotti stabili a temperatura ambiente, il trasporto deve essere condotto al di sotto di 40°C
- Per prodotti congelati, il trasporto comporta temperature al di sotto di -15°C, preferibilmente al di sotto di -18°C
- Altri prodotti non stabili a temperatura ambiente, prevedono una temperatura di trasporto tra 1 e 8°C

Quando non ci sono indicazioni specifiche, viene concordata la durata e la temperatura di trasporto tra le parti.

5.1 Trasporto per latte e prodotti derivati

La durata del trasporto, dal momento del prelievo, deve essere il più breve possibile. Preferibilmente il campione deve arrivare presso il laboratorio entro le 24 ore dal prelievo.

Prodotti di Latte e derivati	Temperatura di conservazione durante il Trasporto (°C) e prima dell'inizio analisi	Quantità minima di campione
Latte non pastorizzato e prodotti liquidi a base di latte	1 - 5	100 ml o 100 g
Latte pastorizzato, latte UHT, prodotti liquidi a base di latte pastorizzato, tenuti nei contenitori originali non aperti	Ambiente (massimo 30)	100 ml o 100 g
Latte pastorizzato, latte UHT, latte pastorizzato prelevato direttamente dalla linea di produzione o da una o più delle confezioni originali	1 - 5	100 ml o 100 g
Latte condensato dolcificato	Ambiente (massimo 30)	100 g
Prodotti derivati solidi e semi – solidi (esclusi burro e formaggi)	1 - 5	100 g

 CRAB Medicina Ambiente S.r.l.	SCOP_002 LABORATORIO DI PROVA Scheda operativa – Campionamento per l'analisi microbiologica di alimenti e mangimi	Data di emissione	29/12/2020
		Revisione	00

Prodotti di Latte e derivati	Temperatura di conservazione durante il Trasporto (°C) e prima dell'inizio analisi	Quantità minima di campione
Gelati edibili, e semilavorati dei gelati	≤ - 18	100 g
Latte in polvere e prodotti derivati a base di latte in polvere	Ambiente (massimo 30)	100 g
Burro e prodotti derivati a base di burro	1 – 5 (al buio)	50 g
Grasso di burro	1 – 5 (al buio)	50 g
Formaggi freschi	1 - 5	100 g
Formaggi a pasta fusa	1 - 5	100 g
Altri formaggi	1 - 5	100 g


6 Trasporto da parte di subappaltatore o corriere

Quando il trasporto avviene tramite un corriere (per esempio per lunghe distanze), è preferibile l'utilizzo di veicoli refrigerati. Misurare la temperatura massima raggiunta durante il trasporto; se ciò non fosse possibile, registrare la temperatura all'interno del contenitore appena prima di chiudere e dopo l'arrivo in laboratorio. Ogni volta che la temperatura o il tempo massimo di trasporto concordati sono superati, il cliente deve essere informato e se la prova è ancora richiesta, la temperatura e/o il tempo massimo di trasporto devono essere registrati sul rapporto di prova.

7 Ricevimento in laboratorio e inizio analisi

Come da ISO 7218, segnare le condizioni del campione all'arrivo presso il laboratorio. Se le condizioni non sono soddisfatte, il laboratorio può rifiutare il campione oppure può procedere, in accordo con il cliente, e il Rapporto di Prova finale includerà la riserva sulla validità dei dati.

In generale, all'arrivo del campione è necessario annotare le informazioni seguenti: data di accettazione, dettagli del prelievo (data del campionamento, condizioni di prelievo), nominativo del cliente (con eventuale indirizzo). Per i campioni deperibili, annotare la temperatura di trasporto o la temperatura di un campione simulato incluso per questo scopo.

 CRAB Medicina Ambiente S.r.l.	SCOP_002 LABORATORIO DI PROVA Scheda operativa – Campionamento per l'analisi microbiologica di alimenti e mangimi	Data di emissione	29/12/2020
		Revisione	00

Esaminare i campioni appena possibile in seguito all'accettazione, preferibilmente entro le 24 ore o come concordato con il cliente.

Per campioni altamente deperibili eseguire l'analisi entro 24 ore dal prelievo.

Per campioni deperibili eseguire l'analisi entro 36 ore.

Se i tempi di inizio analisi menzionati sopra non possono essere rispettati, il campione può essere congelato al di sotto di $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ (preferibilmente a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$), purchè venga dimostrato che il recupero della parte batterica non sia significativamente danneggiata.

8 Conservazione dei campioni in laboratorio

I campioni che attendono di essere analizzati, devono essere conservati in laboratorio in condizioni idonee; le seguenti temperature sono raccomandate secondo ISO 7218:

- Prodotti stabili: temperatura ambiente ($18 - 27\text{ }^{\circ}\text{C}$)
- Prodotti congelati: al di sotto di $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ (preferibilmente al di sotto di $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$)
- Altri prodotti non stabili a temperatura ambiente inclusi cibi avariati a $3\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Per i prodotti di latte e derivati si rimanda alla Tabella del paragrafo 5.1