

PROCEDURE DI CAMPIONAMENTO PER CONTROLLI MICROBIOLOGICI DI SUPERFICI IN AMBITO ALIMENTARE

(rif. ISO 18593:2018)

Questa procedura specifica le tecniche di campionamento di superfici relative ad ambienti legati alla produzione o gestione di alimenti. Non dà alcun riferimento in merito alla frequenza dei campionamenti od al numero di campioni da eseguire, visto che tutto ciò va stabilito caso per caso insieme al cliente. Dà invece un'idea circa la tipologia di superfici da sottoporre ad analisi, indicando alcuni siti maggiormente adatti alla ricerca di microrganismi al fine di valutare le condizioni igieniche delle stesse. In ogni caso si consiglia, al fine di raggiungere quei siti particolarmente difficili da campionare, di disassemblare anche i componenti di apparecchiature da sottoporre a verifica igienica al fine di campionare in maniera la più efficace possibile. Tra le superfici consigliate si ricordano:

- Superfici a contatto con alimenti (superfici di lavoro varie, taglieri, affettatrici, lame, utensili vari, macchinari, dispositivi per imballaggio, nastri, abbigliamento e mani operatori, etc..)
- Superfici non a contatto con alimenti: pavimenti, maniglie, aree di condensa, pareti interne celle frigo, porta posate, etc..

L'area da campionare deve essere di 100 cm² in caso di conteggio dei microrganismi, in caso di ricerca della mera presenza, campionare 1000 cm². Nel caso non fosse possibile campionare un'area ben precisa (campionamento di utensili), evidenziarlo nel verbale di campionamento e refertare come: UFC/tampone.

Il campionamento può essere effettuato sia durante la produzione che dopo lavaggio e disinfezione (o entrambi, per meglio evidenziare l'efficacia del trattamento di sanificazione). Il campionamento durante la lavorazione potrebbe essere utile ad evidenziare la presenza anche molto limitata di eventuali patogeni la cui crescita potrebbe essere parzialmente inibita dai residui di disinfettanti presenti nel campione dopo la disinfezione.

Attrezzature/strumenti/accessori

- carrello, tavolo o altro idoneo piano di appoggio
- tamponi sterili e/o spugnette per prelievi microbiologici (privi di sostanze inibenti) e relativi contenitori da trasporto (provette, sacchetti sterili da stomacher...)
- delimitatore sterile (monouso)
- guanti monouso

I delimitatori, i tamponi sterili e le spugnette con i relativi contenitori da trasporto possono essere forniti ai clienti, **su richiesta**.

Norme generali

Il prelievo deve essere eseguito preferibilmente dal laboratorio, in caso contrario dalla persona specificatamente incaricata e formata, così individuata nel manuale di autocontrollo dell'impresa che dovrebbe includere una lista delle verifiche da condurre prima dell'esecuzione del campionamento quanto a:

- disponibilità e adeguatezza dei materiali e delle attrezzature necessari per la raccolta, la preparazione e l'invio dei campioni (sapone e disinfettante per le mani, un piano di appoggio adeguato, guanti sterili, delimitatore, soluzione tampone sterile in provette da trasporto, tamponi sterili per campionamento, spugnette, soluzione disinfettante o altri presidi per la disinfezione del delimitatore, etichette e quant'altro necessario per identificare il campione, ecc.)
- verifica della soluzione tampone sterile impiegata per la raccolta e la spedizione del campione per assenza di torbidità, flocculazioni, detriti o altre formazioni estranee
- disponibilità del laboratorio a ricevere e processare i campioni nei tempi previsti (entro 24 ore massimo dal momento del prelievo, a condizione che il campione venga mantenuto refrigerato)

Predisporre l'attrezzatura necessaria sul piano di lavoro assicurandosi di non entrare in contatto con le superfici sterili prima di avere indossato i guanti. Lavare e disinfettare le mani e asciugarle con carta a perdere prima di indossare i guanti stando attenti a non toccare la superficie esterna dei guanti.

Metodo per il campionamento di superfici ambientali mediante l'impiego di tamponi

Preparazione del prelievo

Inumidire il tampone in 10 ml di diluente sterile. Assicurarsi che il tampone sia adeguatamente imbevuto senza che lo stesso presenti un eccesso di liquido. In caso di superfici umide impiegare tamponi asciutti.

Esecuzione del prelievo

Dopo avere identificato i siti di campionamento, delimitare l'area da sottoporre a prelievo.

Possono essere impiegati delimitatori sterili monouso. L'area compresa nel perimetro interno del delimitatore non deve venire a contatto con le mani dell'operatore né con alcun altro materiale diverso dal tampone per campionamento.

Tamponare tutta l'area oggetto di prelievo esercitando una buona pressione, avendo cura di ruotare il tampone in modo che tutta la superficie del tampone stesso entri in contatto con la superficie da campionare. Il tampone deve essere strisciato sulla superficie da campionare orizzontalmente, verticalmente e in diagonale (circa 10 volte in ciascun senso).

Il tampone non deve essere strofinato al di fuori dell'area delimitata. Riporre quindi il tampone nella provetta contenete il diluente sterile, spezzando l'asta contro la parete del contenitore. Completate le attività di campionamento, riporre i tamponi nelle rispettive provette in un sacchetto di plastica sul quale sia stata apposta una etichetta identificativa del campione. Sigillare il sacchetto e predisporre per l'invio al laboratorio dopo avere verificato la corretta identificazione del campione.

Metodo per il campionamento di superfici ambientali mediante l'impiego di spugnette

Preparazione del prelievo

Usare ove possibile spugne pre-umidificate sterili oppure, in caso contrario, preparare le spugnette asciutte aggiungendo nel loro sacchetto una quantità di soluzione sterile peptonata sufficiente ad inumidire la spugna senza che rimanga del liquido libero visibile al fondo del sacchetto (10 ml dovrebbe essere una quantità adeguata). Massaggiare la spugna dall'esterno per essere certi che la stessa sia uniformemente inumidita, quindi, con adeguati movimenti dall'esterno, spingere la spugna verso l'apertura del sacchetto prima di aprire la busta plastica per estrarre la spugna stando attenti a che la stessa non entri in contatto con le superfici esterne. La spugna deve essere estratta dalla busta plastica al momento del prelievo da parte dell'operatore addetto al campionamento.

Esecuzione del prelievo

Dopo avere identificato i siti di campionamento, delimitare l'area da sottoporre a prelievo, che deve essere almeno di 1000 cm², mediante l'impiego della maschera che delimiti un'area quadrata di 100 cm di lato.

L'area compresa nel perimetro interno del delimitatore non deve venire a contatto con le mani dell'operatore né con alcun altro materiale diverso dalla spugnetta per campionamento. Strofinare la spugna esercitando una buona pressione sull'area delimitata dalla maschera sia in senso orizzontale che verticale (circa 10 volte in un senso e 10 nell'altro). L'intera superficie racchiusa all'interno del delimitatore deve essere interessata dal campionamento. La spugna non deve essere strofinata al di fuori dell'area delimitata. Completate le attività di campionamento, riporre la spugna nella busta di plastica. Sigillare il sacchetto e predisporre per l'invio al laboratorio dopo avere verificato la corretta identificazione del campione.

Metodo per il campionamento di superfici ambientali mediante l'impiego di piastre da contatto

Si utilizzano le piastre da microbiologia cosiddette RODAC aventi superficie di 24 cm² riempite con terreno specifico in modo da ottenere un menisco convesso. Esse devono essere conservate a 5±3°C fino al momento dell'utilizzo.

La piastra RODAC deve essere appoggiata per 10 secondi sulla superficie che si vuole monitorare con una leggera pressione (max 500g). Le piastre devono essere trasportate in laboratorio dove verranno poste ad incubare alla temperatura appropriata.

Questo metodo si applica esclusivamente a superfici piane e lisce.

• **NOTA: Se si richiedono più determinazioni su una stessa superficie** (es. analisi qualitative come ricerca di *Salmonella spp.* e ricerca di *Listeria monocytogenes*; e analisi quantitative ad es. conteggio della carica microbica totale, di *E.coli*, ecc): nel caso di campionamento mediante tamponi è necessario conferire al laboratorio tamponi diversi, uno per l'analisi quantitativa, e uno per ogni analisi qualitativa. Nel caso di campionamento mediante l'uso di spugnette è necessario conferire al laboratorio una spugnetta per l'analisi quantitativa ed eventualmente per la ricerca di *Salmonella spp.* e una spugnetta dedicata alla sola ricerca di *Listeria monocytogenes*.

Trasporto al laboratorio

I campioni devono essere analizzati nel più breve tempo possibile dal momento del prelievo e comunque preferibilmente entro le 24 ore nel caso di tamponi e spugne e 48 ore nel caso di piastre da contatto. I campioni devono essere trasportati al laboratorio NON CONGELATI ma ad una temperatura compresa tra +1° e +8°C dal momento della raccolta a quello dell'arrivo in laboratorio. I campioni non devono essere posti a contatto con le piastre congelate o con il ghiaccio impiegato per mantenere il campione alla temperatura prescritta durante il trasporto.

Le modalità di invio dei campioni al laboratorio devono prevenire la possibilità di versamento del liquido di trasporto durante il tragitto.

Una volta arrivati in laboratorio tamponi e spugne possono permanere in frigo ancora massimo 48 ore prima dell'analisi a 3°C ±2°C.

Al fine di neutralizzare la presenza di eventuali residui di disinfettanti i tamponi per il conteggio dei microrganismi devono contenere dei neutralizzanti (vedere elenco in tab. Annex A ISO 18593:2018); in allegato al metodo (su richiesta per il cliente) si trova la composizione dei tamponi in uso al laboratorio. Il laboratorio ha cura di conoscere la natura dei disinfettanti impiegati dai clienti prima di effettuare il campionamento (o di conferire il materiale al cliente necessario per il campionamento) in modo da impiegare un neutralizzante corretto (vedi sempre tabella Annex A).