

<b>INSES</b>	<i>Estratto della PROCEDURA OPERATIVA</i> N. 09	Sigla documento: Estratti PO-09 Revisione: 14 Data: 08/08/2025 Pagina: 1 di 4
Titolo della procedura:	<i>Campionamento e trasporto dei campioni -CAMPIONI DI SUPERFICIE</i>	

## 1. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

La presente procedura fornisce le informazioni necessarie per la corretta attività di campionamento e per le modalità più idonee alla loro conservazione durante il trasferimento al Laboratorio da parte del Personale qualificato INSES o del Cliente, qualora si occupi direttamente dell'esecuzione del campionamento.

Si applica al campionamento di alimenti, acque (in particolare quelle destinate al consumo umano), tapponi/spugne e piastre a contatto.

## 2. NORMATIVA DI RIFERIMENTO

- UNI EN ISO 18593:2018 “Metodi orizzontali per il campionamento di superficie
- ISO 7218:2024 “Microbiology of the food chain- General requirements and guidance and guidance for microbiological examinations”
- Regolamento (CE) n. 2073/2005 Della Commissione del 15 novembre 2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari
- Regolamento CE) N. 1441/2007 Della Commissione del 5 dicembre 2007 che modifica il regolamento (CE) n. 2073/2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari
- Regolamento (CE) N. 1168/2006 Della Commissione del 31 luglio 2006 che applica il regolamento (CE) n. 2160/2003 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda un obiettivo comunitario per la riduzione della prevalenza di determinati sierotipi di salmonella nelle ovaiole di Gallus gallus e modifica il regolamento (CE) n. 1003/2005
- UNI EN ISO 17604:2015 “Campionamento delle carcasse per analisi microbiologica”
- UNI EN ISO 6887-3 “Microbiologia della catena alimentare – preparazione dei campioni di analisi, sospensione iniziale e diluizioni decimali per l'analisi microbiologica- Part 3: regole specifiche per la preparazione del pesce e prodotti della pesca.”

## 3. CAMPIONI DI SUPERFICIE

### 3.1 Contact slides

La superficie campionata è pari a 10 cm<sup>2</sup>. Il terreno agarizzato forma un menisco convesso con la superficie della piastra e può essere di diverso tipo a seconda del microrganismo che si vuole ricercare.

#### 3.1.1 Esecuzione

- Svitare il tappo contenente la slide con i due terreni di coltura; evitare qualsiasi contatto con le superfici dell'agar;
- piegare il tappo fino a formare un angolo di 90° e poggiare la slide sulla superficie da esaminare esercitando una leggera pressione per almeno 10 secondi; procedere allo stesso modo per l'altra faccia della slide;
- riavvitare la slide nel suo bicchiere e porlo nel contenitore di trasporto.

### 3.2 Piastre a contatto

Si impiegano piastre di 24 cm<sup>2</sup> di diametro in accordo con il tipo di superficie da campionare. L'agar forma un menisco convesso con la superficie della piastra e può essere di diverso tipo a seconda del microrganismo che si vuole ricercare.

Titolo della procedura: *Campionamento e trasporto dei campioni -CAMPIONI DI SUPERFICIE*

### 3.2.1 Esecuzione

- Togliere il coperchio e premere la superficie dell'agar fermamente e senza movimenti laterali sulla superficie da campionare;
- Esercitare una pressione per almeno 10 secondi;
- Chiudere la piastra immediatamente dopo l'inoculo e porla nel contenitore di trasporto.

### 3.3 Tamponi a striscio

Trattasi di bastoncini con la punta ricoperta di cotone o materiale sintetico contenuti in provette o contenitori sterili provvisti o meno di soluzione eluente.

#### 3.3.1 Esecuzione su superfici (ISO 18593)

- Aprire la confezione sterile ed estrarre il tampone per il prelievo;
- Se provvisto di soluzione eluente, inumidire il tampone con la soluzione, quindi rimuovere il liquido in eccesso comprimendolo sulla parete del contenitore;
- Utilizzando la mascherina sterile in dotazione oppure quella metallica opportunamente pulita, disinfeccata e flambata di 100 cm<sup>2</sup> delimitare la superficie da campionare;
- Strisciare il tampone sulla superficie delimitata dalla maschera sterile roteando il bastoncino tra le dita secondo le due direzioni perpendicolari;
- Immergere il tampone nella provetta contenente la soluzione eluente di liquido isotonic;
- Richiudere la provetta e porla immediatamente nel contenitore di trasporto;
- Se il prelievo viene fatto su superfici dove non è possibile usare la mascherina sterile il risultato verrà espresso sul rapporto di prova non come UFC/cm<sup>2</sup> ma come UFC/superficie tamponata.
- Se il tampono viene utilizzato per dimostrare la presenza/assenza di specifici microrganismi (ad esempio *Listeria monocytogenes* o *Salmonella* spp.) l'area esaminata deve essere almeno di 100 cm<sup>2</sup> e preferibilmente circa 1.000 cm<sup>2</sup>

#### 3.3.2 Esecuzione su carcasse (ISO 17604)

- Aprire la confezione sterile ed estrarre il tampone per il prelievo;
- Bagnare il tampone in 10 ml di diluente (acqua peptonata/peptonata tamponata);
- Utilizzando la mascherina sterile in dotazione oppure quella metallica opportunamente pulita, disinfeccata e flambata di 100 cm<sup>2</sup> delimitare la superficie da campionare;
- Strofinare premendo il tampone sull'intera superficie spostandosi in orizzontale e in verticale, per almeno dieci volte in ogni direzione;
- Inserire il tampono nella provetta con il diluente utilizzato per bagnarla, spezzando l'asta di plastica all'interno della provetta;
- Con un tampono asciutto, sottoporre a campionamento di nuovo la stessa superficie, utilizzando la stessa tecnica per assorbire l'eventuale liquido rimasto dal tampone bagnato come sopra, e posizionare questo tampono nella stessa provetta;

### 3.4 Metodo della spugna

Per campionare aree di grandi dimensioni si utilizza una spugna (sponge bag) che diversamente dai tamponi a bastoncino, queste possono essere strofinite più vigorosamente sopra le superfici e sono altamente assorbenti. La

<b>INSES</b>	<i>Estratto della PROCEDURA OPERATIVA</i> N. 09	Sigla documento: Estratti PO-09 Revisione: 14 Data: 08/08/2025 Pagina: 3 di 4
Titolo della procedura:	<i>Campionamento e trasporto dei campioni -CAMPIONI DI SUPERFICIE</i>	

spugna dovrebbe essere inumidita con una quantità sufficiente di diluente; nel caso in cui l'area da campionare sia bagnata si può utilizzare una spugna asciutta.

#### *3.4.1 Esecuzione su superfici (ISO 18593)*

- Aprire il sacchetto di plastica sterile ed estrarre la spugna;
- Campionare la superficie orizzontalmente e verticalmente utilizzando una pressione uniforme, cambiando la faccia della spugna e assicurandosi che l'intera area sia campionata;
- Rimettere la spugna nel sacchetto e accertarsi che rimanga umida sino al momento dell'analisi;
- Chiudere il sacchetto e porlo immediatamente nel contenitore di trasporto;
- Se il prelievo viene fatto su superfici dove non è nota la grandezza della superficie il risultato verrà espresso sul rapporto di prova non come UFC/cm<sup>2</sup> ma come UFC/superficie tamponata;
- Se la spugna viene utilizzata per dimostrare la rilevabilità/non rilevabilità di specifici microrganismi (ad esempio *Listeria monocytogenes* o *Salmonella* spp.) l'area esaminata deve essere almeno di 100 cm<sup>2</sup> e preferibilmente circa 1.000 cm<sup>2</sup>

#### *3.4.2 Esecuzione su carcasse (ISO 17604)*

- Aprire il sacchetto di plastica contenente la spugna sterile e aggiungere 10 ml di diluente per bagnare la spugna e non lasciare liquido in eccesso massaggiare la spugna dall'esterno del sacchetto per bagnarla completamente;
- Utilizzando la mascherina sterile in dotazione oppure quella metallica opportunamente pulita, disinfeccata e flambata di 100 cm<sup>2</sup> delimitare la superficie da campionare;
- Posizionare il delimitatore sulla superficie di prova, utilizzare il sacchetto come un guanto rovesciandolo e afferrare la spugna per strofinarla sulla superficie di prova;
- Strofinare premendo la spugna sull'intera superficie spostandosi in orizzontale e in verticale, per almeno dieci volte in ogni direzione;
- Dopo il prelievo riporre la spugna nel suo sacchetto di plastica e all'arrivo in laboratorio aggiungere il resto del diluente
- Se la spugna viene utilizzata per dimostrare la rilevabilità/non rilevabilità di specifici microrganismi (ad esempio *Salmonella* spp.) l'area campione totale deve essere di almeno 400 cm<sup>2</sup>

I siti di campionamento da scegliere dipendono dalle diverse specie di animali. Per i dettagli si rimanda al prospetto A.1 della norma di riferimento (ISO 17604).

#### **3.5 Identificazione del tampone/piastra**

Riportare sui singoli tamponi e su il verbale di campionamento e accettazione (Mod. 49), le seguenti informazioni:

1. data del prelievo
2. tipo di superficie oggetto del tampone/piastra
3. nel caso di tamponi a striscio se è stata impiegata o meno la mascherina sterile.

#### **3.6 Modalità di trasporto**

Tamponi, spugne e piastre di contatto devono essere trasportati al Laboratorio nel minor tempo possibile (entro 24 ore dal campionamento) mediante frigo box a temperatura di 1-8°C.

<b>INSES</b>	<i>Estratto della PROCEDURA OPERATIVA</i> N. 09	Sigla documento: Estratti PO-09 Revisione: 14 Data: 08/08/2025 Pagina: 4 di 4
Titolo della procedura:	<i>Campionamento e trasporto dei campioni -CAMPIONI DI SUPERFICIE</i>	

Utilizzare un termometro di min-max (oppure un data logger) per la verifica del mantenimento della temperatura durante il trasporto. La registrazione della temperatura di trasporto viene riportata nel mod. 49 durante la fase di campionamento.

Assicurarsi che non si verifichino contaminazioni durante il trasporto.

### **3.7 Fase di accettazione**

In fase di accettazione del campione ACC controlla la temperatura mediante l'utilizzo di un termometro a raggi infrarossi (pirometro).

Il range di temperatura accettabile è di 1-8°C.

### **3.8 Conservazione prima dell'analisi**

Il Laboratorio analizza i campioni nel minor tempo possibile dal momento del ricevimento, possibilmente entro 24 ore dal campionamento. Se l'analisi non viene eseguita subito dopo ricezione, i campioni vengono conservati alla temperatura di  $3^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  per un massimo di 48 ore dal campionamento per tamponi/spugne su superfici o di 24 ore dal campionamento per tamponi/spugne su carcasse.

## **4. INFORMAZIONI ULTERIORI PER I CLIENTI**

Il personale del Laboratorio, su richiesta, fornisce il materiale necessario per il campionamento ed è a disposizione per qualsiasi informazione a riguardo.

Per parametri analitici non considerati nella presente procedura, chiamare sempre il Laboratorio ed accertarsi delle modalità di campionamento e della quantità di campione da prelevare.