

1. Scopo e campo di applicazione

Questo documento descrive le modalità che devono essere attuate da parte dei clienti per il corretto campionamento di alimenti e acque da sottoporre ad analisi microbiologiche.

Esso si applica alle seguenti matrici:

- alimenti sfusi destinati a consumo umano e animale;
- acque sorgive, sotterranee e superficiali, da destinare o destinate al consumo umano, acque ad uso ricreativo (piscine), acque ad uso zootecnico, ecc.

2. Documenti di riferimento

Acque

- Rapporti ISTISAN: 07/5 - Metodi analitici di riferimento per le acque destinate al consumo umano ai sensi del DL.vo 31/2001. Metodi microbiologici
- APAT CNR IRSA 6010 Man 29 2003
- Conferenza permanente per i rapporti tra lo Stato, le Regioni e le Province autonome di Trento e Bolzano Doc 04/04/2000 GU n° 103 05/05/2000 All. 2 e 3.

Alimenti

- ORDINANZA MINISTERIALE 11/10/1978 – Limiti di cariche microbiche tollerabili in determinate sostanze alimentari e bevande
- D. lgs 3/3/93 n. 123 - Attuazione della direttiva 89/397/CEE relativa al controllo ufficiale dei prodotti alimentari
- DM 16/12/93 - Individuazione delle sostanze alimentari deteriorabili alle quali si applica il regime dei controlli microbiologici ufficiali
- DPR 26/3/80 n. 327 - Regolamento di esecuzione della L. 30 aprile 1962, n.283, e successive modificazioni, in materia di disciplina igienica della produzione e della vendita delle sostanze alimentari e delle bevande.

3. Definizioni e acronimi utilizzati

- **Matrici alimentari sfuse:** Per matrici alimentari sfuse si intendono matrici alimentari non confezionate.

4. Descrizione delle attività e responsabilità

Il campionamento è a carico del cliente.

4.1 Attrezzature/strumenti/accessori

- Contenitori sterili (sacchetti, flaconi, bottiglie, ecc.);
- Flambatore;
- Guanti sterili;
- Strumenti sterili per eseguire il prelievo: forbici, pinze.

4.2 Modalità di prelievo

4.2.1 Acque

Durante il prelievo si dovranno osservare le massime cautele di asepsi al fine di evitare che microrganismi estranei 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.

Le acque destinate al consumo umano sono spesso trattate e contengono quindi tracce di cloro. Bottiglie/contenitori per i prelievi dovrebbero quindi contenere sodio tiosolfato in concentrazione idonea ad inibire l'azione del disinfettante. Ai valori di pH normalmente rilevabili delle acque potabili e con le concentrazioni di cloro generalmente in uso è sufficiente aggiungere una soluzione al 10% di sodio tiosolfato nella quantità di 0,1 mL per ogni 100 mL di capacità della bottiglia. Tale quantità è 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.

La presenza di sodio tiosolfato nelle quantità indicate non interferisce con i risultati delle analisi microbiologiche.

In commercio sono comunque disponibili bottiglie sterili contenenti già il sodio tiosolfato in concentrazione idonea.

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

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

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

In genere, contenitori di capacità di 500 mL sono sufficienti per l'analisi dei parametri indicatori, se invece si deve procedere alla determinazione di *Legionella spp.* è necessario prelevare 1000 mL di acqua.

Prelievi effettuati dai rubinetti per l'analisi di acque destinate al consumo umano devono essere effettuati secondo procedure che consentano di ottenere campioni rappresentativi.

I rubinetti devono essere detersi e disinfettati prima del campionamento.

Deve essere eseguita una disinfezione con una soluzione di sodio ipoclorito o analoghi disinfettanti: possono essere utilizzate soluzioni al 10% di sodio ipoclorito commerciale o di sodio dicloroisocianurato. Poiché hanno effetto corrosivo, le soluzioni vanno utilizzate dagli operatori con particolari cautele. Se vengono in contatto con la pelle, lavare immediatamente con molta acqua.

È opportuno disinfettare il rubinetto esternamente e internamente rimuovendo, se presenti, tubi di plastica e gomma. Depositi di grasso devono essere rimossi strofinando con 2-propanolo. Una volta lavato il rubinetto con la soluzione disinfettante, lasciare agire il disinfettante per 2-3 minuti. Sciacquare quindi l'esterno con acqua per assicurarsi che non ci siano più residui di disinfettante. Aprire quindi il rubinetto e fare scorrere l'acqua per un tempo sufficiente a far sì che i disinfettanti vengano eliminati prima della raccolta del campione.

L'operazione di flambaggio del rubinetto, solo supplementare alla pulizia e disinfezione, comunque obbligatorie, può essere effettuata solo su rubinetti metallici. Tuttavia, se effettuata in modo superficiale e fugace, non esplica alcun effetto sulla eventuale contaminazione microbica presente.

Volendo procedere al flambaggio, per la produzione della fiamma utilizzare gas propano o butano che permettono sia di raggiungere temperature più elevate, sia di controllare la fiamma, per evitare danni al personale e alle cose.

Eseguire il prelievo dopo avere fatto scorrere l'acqua dal rubinetto per 1-3 minuti, evitando di modificare la portata del flusso durante la raccolta del campione.

All'atto del prelievo, aprire la bottiglia sterile avendo cura di non toccare la parte interna del tappo che andrà a contatto con il campione prelevato, né l'interno del collo della bottiglia e provvedere all'immediata chiusura della stessa subito dopo il prelievo, avendo cura di non riempirla completamente al fine di consentire una efficace omogeneizzazione del campione, in laboratorio, al momento dell'analisi.

Anche le apparecchiature eventualmente necessarie per il campionamento devono risultare sterili anche allo scopo di evitare fenomeni di contaminazione crociata. Se il prelievo viene effettuato per immersione, la bottiglia o il contenitore devono essere sterilizzati avvolti in fogli protettivi. All'atto del prelievo, dopo avere liberato dall'involucro la bottiglia, la superficie esterna che entrerà in contatto con il campione non deve mai essere toccata con le mani, bensì la bottiglia deve essere afferrata con una pinza sterile o con altro analogo

idoneo sistema. L'apparecchiatura più semplice per lo svolgimento del campionamento istantaneo a profondità predeterminata è rappresentata da flaconi zavorrati che, immersi chiusi nella massa di acqua, si aprono a comando alla profondità prestabilita.

4.2.2 Alimenti

Per matrici che si presentano allo stato sfuso è importante che l'aliquota da prelevare sia rappresentativa del campione in toto:

- Per campioni liquidi: mescolare prima del prelievo.
- Per campioni solidi di piccole dimensioni: prelevare unità intere o più campioni in punti diversi.
- Per campioni solidi di grosse dimensioni: con attrezzature da taglio adeguate, prelevare in punti diversi del campione stesso dalla superficie alla profondità.

Eseguire il prelievo con attrezzature sterili (bisturi, pinze, coltelli, ecc.) e riporre il campione prelevato in un contenitore sterile (sacchetto, flacone ecc.), operando velocemente, impedendo al campione di entrare in contatto con l'aria.

Il contenitore del campione non dovrebbe essere riempito per più di $\frac{3}{4}$ della sua capacità.

Apporre sul contenitore i riferimenti necessari per l'identificazione del campione.

La quantità minima da prelevare è: 200 g o mL

4.3 Trasporto al laboratorio

I campioni inviati al laboratorio devono essere accompagnati da un modulo contenente almeno i seguenti dati:

- identificazione dello stabilimento;
- descrizione del campione;
- indicazione del punto di prelievo, nel caso di acque;
- indicazione degli accertamenti richiesti;
- indicazione del responsabile del prelievo;
- data e ora del campionamento.

4.3.1 Acque

Il campione deve essere protetto sia dalla luce (ultravioletta e visibile) sia dalle alte temperature e deve essere trasportato in laboratorio in idonee condizioni igieniche. Inoltre, durante il trasporto le bottiglie devono essere collocate nel contenitore in modo da impedire il loro rovesciamento e devono essere collocati fra esse idonei sistemi di separazione per evitare rotture.

Tutti i campioni, dall'atto del prelievo sino all'arrivo in laboratorio, vanno conservati ad una temperatura inferiore a 10 °C; l'intervallo tra (2-8) °C è quello consigliabile.

Al fine di consentire il mantenimento della temperatura è consigliabile l'uso di frigoriferi portatili a batteria con termocoppie registranti la temperatura; tuttavia usare almeno contenitori termoisolanti che contengano piastre eutetiche, evitando comunque il congelamento del campione.

4.3.2 Alimenti

Trasportare e conservare il campione secondo le modalità sotto-riportate:

- a) Prodotti stabili: temperatura ambiente;
- b) Prodotti freschi e refrigerati: tra 0 e +4°C;
- c) Molluschi bivalvi (D.M. 31/07/95): tra 0 e +6°C;
- d) Prodotti surgelati e congelati: sotto i -18°C;
- e) Prodotti pastorizzati e simili: tra 0 e +4°C;

f) Prodotti stabili alterati: tra 0 e +4°C.

Nota: la versione aggiornata della presente linea guida è quella disponibile on line: www.izsvenezie.it, nella sezione “Servizi → Servizi diagnostici → Raccolta campioni”.