

Centro Servizi e Tecnologie Ambientali	ISTRUZIONE OPERATIVA	Allegato 3 alla IOV-02
CAMPIONAMENTO_SUPERFICI		Rev. 0 Pag. 1 di 6

INDICE

1	RIFERIMENTI	2
2	DEFINIZIONI	2
3	PERSONALE AUTORIZZATO	2
4	MATERIALE DA UTILIZZARE	2
5	MODALITA' OPERATIVE	3
5.1	Principio del metodo	3
5.2	Metodo campionamento	4
5.2.1	Metodo della piastra a contatto	4
5.2.2	Metodo della tampone (Swab)	4
5.2.3	Metodo spugna o strofinaccio	5
5.3	Trasporto dei campioni	5
6	PIANIFICAZIONE DEI CAMPIONAMENTI	5
7	REGISTRAZIONI ED ARCHIVIAZIONE	5
7.1	Registrazioni minime	6

Preparato da	Verifico ed approvato da	Data
Operatore Tecnico OT	Responsabile Laboratorio RL	01/08/2014
Firma	Firma	
Descrizione delle revisioni	Prima stesura	

Centro Servizi e Tecnologie Ambientali	ISTRUZIONE OPERATIVA	Allegato 3 alla IOV-02
CAMPIONAMENTO_SUPERFICI		Rev. 0 Pag. 2 di 6

SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Scopo della presente procedura è quello di stabilire le modalità dei campionamenti da parte del laboratorio, al fine di assicurare la validità dei risultati ottenuti, nonché le modalità di trasporto e manipolazione dei campioni da provare.

Questa procedura si applica ai campioni il cui prelievo è a cura del laboratorio.

1 RIFERIMENTI

Manuale della Qualità	Sezioni 3,,: Definizioni; 4.12 Controllo delle registrazioni
Manuale della Qualità	DOC/MAQ/03: Elenco prove
Procedura gestionale	PG-02: Flusso operativo e gestione dei campioni
Procedura gestionale	PG-10: Stima incertezza di misura
Documento	DOC/000/01: Elenco delle matrici, delle prove e dei gruppi di prove.
Documento	DOC/000/04: Elenco delle matrici, delle prove e dei gruppi di prove (sintesi).
Documento	DOC/PG-02/03: Scadenziario Lavori
Campionamento superfici	ISO 18593:2004 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surface using contact plates and swabs

2 DEFINIZIONI

Nel testo del presente documento sono utilizzate le sigle/abbreviazioni definite nella Sezione 03 del Manuale della Qualità, alla quale si rimanda.

3 PERSONALE AUTORIZZATO

Il personale autorizzato ad eseguire le attività qui riportate è quello definito nel documento DOC/PG-08/02 Scheda autorizzazione, alle quali si rimanda.

4 MATERIALE DA UTILIZZARE

Tutto il materiale destinato a venire a contatto con i terreni di coltura, con il diluente e con il campione deve essere sterile; se necessario effettuare la sterilizzazione secondo l'istruzione IOV-04: Sterilizzazione.

- Provette sterili contenenti soluzione neutralizzante
- Piastre a contatto: piastre di plastica riempite con un volume determinato di terreno (in base allo specifico microrganismo) che forma un menisco convesso.
- Dipslide: lastra sintetica (da 7 a 10cm²), con una o entrambe i lati coperti da uno strato di terreno di crescita solido (scelto in base al tipo di microrganismo da ricercare).
- Swab: bastoncino rompibile con del cotone o materiale sintetico ad un apice, il tampone è confezionato in una provetta o in un involucro (plastica o carta).

Centro Servizi e Tecnologie Ambientali	ISTRUZIONE OPERATIVA	Allegato 3 alla IOV-02
CAMPIONAMENTO_SUPERFICI		Rev. 0 Pag. 3 di 6

- Nota: per alcuni tipi di superfici, i residui del cotone possono contaminare le parti interne di queste superfici dopo il campionamento.
- Tessuto o spugna: umidi, sterili, esenti da sostanze antimicrobiche, impacchettati individualmente in sacchetto di plastica sterile, usati per campionamenti di grandi superfici (> di 100cm²).
- Diluente peptone sale sterile in provetta in ragione di 10 mL
- Diluente peptone sale sterile in provetta in ragione di 25 mL
- Mascherina sterile con area di 100 cm² (10x10)
- Mascherina sterile con area di 20 cm² (4x5)
- Guanti sterili
- Sacchetto sterile richiudibile
- Piastre da contatto
- Dipslide, sintetico DIPSLIDE (tra 7 e 10 cm²), in cui uno o entrambi i lati sono coperti con uno stratodi terreno di crescita solido (scelto in accordo con il microrganismo bersaglio).
- Tamponi, bastoncini che si possono rompere, con tampone di cotone o materiale sintetico (comealginato o rayon) contenuto in una provetta o in una busta.

5 MODALITA' OPERATIVE

5.1 Principio del metodo

- Poiché questi metodi non sono quantitativamente attendibili o riproducibili, i risultati dovrebbero essere usati solo per un'analisi di tendenza.
- Una piastra a contatto riempita con terreno di coltura viene premuta contro la superficie da esaminare.
- Usando il metodo swab, viene delimitata una specifica area della superficie da esaminare e poi viene strisciata. Il bastoncino del swab viene rotto nella provetta contenente la soluzione diluente sterile o la soluzione neutralizzazione e mescolato a mano.
- Se la superficie viene strisciata con uno straccio o spugna sterile (umido), il dispositivo per il campionamento è immagazzinato in un noto volume di liquido di diluizione (es. 100ml per 100cm²)
- Dopo il campionamento la superficie è pulita e disinfettata, se necessario, per evitare tracce di nutrimenti risultanti dalla procedura di campionamento rimanente sulla superficie.

DILUENTI

In generale, la base dei liquidi di neutralizzazione è il BPW, o il sale-peptone, o qualsiasi altro appropriato diluente (come Soluzione Ringer per procarioti, Soluzione tampone fosfato a pH 7.5, soluzione peptone 1g/L).

In casi dove ci si aspetta dei residui di disinfettati, un'appropriata neutralizzazione dovrebbe essere aggiunta al liquido di diluizione e ai terreni usati sulle piastre a contatto per prevenire qualsiasi effetto inibitore dei disinfettanti sulla crescita.

Centro Servizi e Tecnologie Ambientali	ISTRUZIONE OPERATIVA	Allegato 3 alla IOV-02
CAMPIONAMENTO_SUPERFICI		Rev. 0 Pag. 4 di 6

Un appropriato neutralizzante per tutte le situazioni non può essere prescritto. Generalmente, sorbitano monooleato 30g/L e lecitina 3g/L sono utili per neutralizzare i residui di disinfettanti assorbiti (es. sali quaternari d'ammonio, amfotericidi). Sodio tiosolfato 5g/L è un buon neutralizzante per prodotti a base di alogenati. In casi di disinfettanti a base di perossido, catalasi o perossidasi possono essere usati come neutralizzanti. Una unità di questi enzimi catalizza la decomposizione di 1 micromole di H₂O₂ per minuto a 25°C e a pH 7±0.2.

I componenti di una soluzione neutralizzante che può essere usata in gran parte delle situazioni sono dati in Tabella 1. Produrre il neutralizzante partendo da una soluzione di peptone 1g/L e NaCl 8.5g/L ed aggiungere i componenti della tabella 1. Sterilizzare per 15 minuti a 121°C. Distribuire sterilmente in provette.

Tabella 1: neutralizzanti che possono esser utilizzati nella maggior parte delle situazioni

Componenti	Concentrazione
Sorbitano monooleato (polisorbato 80)	30g/L
Lecitina	3g/L
Sodio tiosolfato	5g/L
L-istidina	1g/L
Saponina	30g/L

5.2 Metodo campionamento

5.2.1 Metodo della piastra a contatto

Dopo averla tolta dal contenitore per il trasporto, pressare la superficie dell'agar della piastra o del diplside fermentante e senza movimenti laterali addosso alla superficie da testare.

Mantenere il contatto per 10 secondi con una leggera pressione

Chiudere le piastre o il diplside immediatamente dopo in campionamento e metterli di nuovo nel frigo per il trasporto.

Pulire la superficie testata con alcol dopo il campionamento, in modo da rimuovere il mezzo di coltura.

Non utilizzare tale metodo per superfici ricurve o che non garantiscono il completo contatto tra le parti

5.2.2 Metodo della tampone (Swab)

Estrarre, se possibile una mascherina sterile dal suo involucro posizionandola sulla superficie da campionare. Estrarre il cotton fioc dal suo involucro sterile facendo attenzione a non toccare nulla; se il cotton fioc non è già immerso nel liquido steril immergerlo assicurandosi di eliminare l'eccesso di liquido strofinando l'estremità sulla superficie interna alla provetta. Passare il cotton fioc su tutta la superficie delimitata dalla mascherina passando più volte (vedi foto 1); durante questa operazione ruotare il tampone tra il pollice e l'indice in due direzioni ad angolo retto tra di loro. Se non fosse possibile utilizzare la mascherina determinare la superficie campionata segnando sul foglio di campionamento le dimensioni.

Mettere il tampone nella provetta con tagliare il bastoncino.

il liquido di diluizione e rompere o

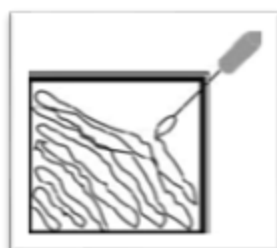


Foto 1

Centro Servizi e Tecnologie Ambientali	ISTRUZIONE OPERATIVA	Allegato 3 alla IOV-02
CAMPIONAMENTO_SUPERFICI		Rev. 0 Pag. 5 di 6

5.2.3 Metodo spugna o strofinaccio

Aprire il sacchetto di plastica o contenitore contenente straccio o spugna.

Umidificare lo strofinaccio o la spugna con una sufficiente quantità di diluente senza eccedere. In caso di superfici umide questo non è necessario. Estrarre asetticamente lo strofinaccio o spugna con pinze sterili o guanti sterili.

Campionare la superficie prescelta in due direzioni perpendicolari cambiando il lato dello strofinaccio o spugna.

Porre lo strofinaccio o spugna nel contenitore sterile, aggiungere il diluente e chiudere. Aggiungere un noto e sufficiente volume di diluente cosicché lo strofinaccio o spugna sarà ancora umido al momento dell'analisi.

Riporre lo strofinaccio o la spugna nel proprio sacchetto di plastica e chiuderlo in maniera che assicurerà nessuno sgocciolamento.

Alternativamente, aprire il sacchetto di plastica contenente spugna o strofinaccio. Prendere la spugna o strofinaccio attraverso il sacchetto, rivoltare il sacchetto in modo che copra la mano. Usare la spugna per campionare come descritto precedentemente e trasferire strofinaccio o spugna in un altro sacchetto sterile. Chiudere i sacchetti in modo da impedire lo sgocciolamento.

Non utilizzare tale metodo per campionare superfici con fessure o cavità di piccole dimensioni.

5.3 Trasporto dei campioni

Trasportare i vari campioni, preferibilmente entro le 4 ore, nel frigo. Esaminare in laboratorio il prima possibile e non dopo 24 ore.

Durante il trasporto i contenitori devono essere collocati nel frigo in modo da impedire il loro rovesciamento e, fra loro, devono essere collocati idonei sistemi di separazione per evitare rotture.

6 PIANIFICAZIONE DEI CAMPIONAMENTI

Allo scopo di ottimizzare la gestione dei campionamenti è compito dell'operatore registrare sul modulo DOC/PG-02/03: Scadenziario Lavori, le varie attività programmate al fine di permettere di decidere la suddivisione dei lavori

7 REGISTRAZIONI ED ARCHIVIAZIONE

Tutti i dati relativi al campionamento vanno registrati sul modulo MO/PG-02/01; in tale modulo si riporta la sigla identificativa del campione, il tipo di campione, il punto di prelievo e la zona di prelievo. Nel modulo vanno inserite tutte le informazioni relative alla quantità di campione, il contenitore, le informazioni di trasporto e informazioni in merito alle tipologie di analisi. La compilazione avviene attraverso all'inserimento di sigle ben precise riportate nel documento DOC/000/01: *Elenco delle matrici, delle prove e dei gruppi di prove*. DOC/000/01: *Elenco delle matrici, delle prove e dei gruppi di prove* oppure DOC/000/04: *Elenco delle matrici, delle prove e dei gruppi di prove (sintesi)*.

Sul modulo DOC/PG-02/03: Scadenziario Lavori l'operatore deve inserire l'attività pianificata sulla cella

Centro Servizi e Tecnologie Ambientali	ISTRUZIONE OPERATIVA	Allegato 3 alla IOV-02
CAMPIONAMENTO_SUPERFICI		Rev. 0 Pag. 6 di 6

relativa al giorno previsto utilizzando un colore specifico di riempimento per tipologia di attività (per esempio verde per campionamenti delle acque). I colori da utilizzare sono riportati nel documento

7.1 Registrazioni minime

Sul modulo MO/PG-02/01 effettuare le registrazioni previste ed in aggiunta:

- Data ed ora di campionamento;
- precisa annotazione del punto di prelievo;
- la descrizione delle condizioni ambientali di conservazione, se di rilievo;
- qualunque osservazione possa risultare utile nella interpretazione dei risultati analitici;