

 REMETE ANALYTICA	INSTRUCȚIUNE DE LUCRU	Ediția: 01
	INSTRUCȚIUNE DE PRELEVARE TESTE DE SANITAȚIE ȘI MICROAEROFLORĂ PENTRU CLIENȚI Cod : IL – 06	Revizia: 0
		Exemplar:2
		Pagina 1 din 6

1. SCOP

Prezenta instrucțiune de lucru descrie reguli generale pentru prelevarea teste de sanitație și microerofloră de către Clienți.

2. DESCRIEREA ACTIVITĂȚII

2.1 Aspecte generale

Probele recoltate trebuie să fie reprezentative și să fie adecvate pentru analiza solicitată.

Prelevarea se face cu respectarea condițiilor aseptice, astfel încât să se evite orice contaminare suplimentară a acestora.

În vederea asigurării interpretării corecte a rezultatelor testelor, se recomandă ca, înainte de recoltare, părțile interesate să se pună de acord asupra: echipamentului de protecție pentru personalul care realizează prelevarea, instrumentarului de recoltare utilizat, steril.

Depozitarea și expedierea probelor de laborator trebuie realizate astfel încât să nu fie afectată starea acestora din momentul prelevării. Pe durata transportului trebuie să se ia măsuri de precauție la lumina directă a soarelui și la alte condiții nefavorabile.

Probele recoltate trebuie transportate la laborator, în cel mai scurt timp de la prelevare cu respectarea condițiilor de timp și temperatură (refrigerare) fără a depăși 12h.

2.2 Prelevare de teste de sanitație

Metoda tamponului este o metodă de recoltare care permite recuperarea microorganismelor cultivabile detașabile de pe suprafețe. Scopul este izolarea unui posibil microorganism patogen. Rezultatele obținute depind în mod direct de calitatea recoltării, tipul de material recoltat (plastic, metal. etc.), de tipul suprafeței (netedă, rugoasă), forța de aplicare pe verticală a tamponului (dispozitiv de recoltare).

2.2.1 Suprafețe, utilaje, instrumente, echipamente de protecție

Prelevarea testelor pentru controlul bacteriologic/microbiologic al suprafețelor ce vin în contact cu produsul alimentar se execută înainte de începerea procesului de lucru sau după spălare sau decontaminare și niciodată în timpul producției. În situația în care se observă murdărie vizibilă, resturi de materie organică, curățenia trebuie considerată ca neacceptabilă fără nici o altă evaluare microbiologică. Locurile cărora trebuie să li se acorde cea mai mare atenție sunt zonele în care este cel mai probabil să apară risc de contaminare microbiologică, respectiv zonele care sunt destinate să intre în contact cu produsul.

	INSTRUCȚIUNE DE LUCRU	Ediția: 01
	INSTRUCȚIUNE DE PRELEVARE TESTE DE SANITAȚIE ȘI MICROAEROFLORĂ PENTRU CLIEȚI Cod : IL – 06	Revizia: 0
		Exemplar:2
		Pagina 2 din 6

Suprafața de pe care se face prelevarea probelor trebuie să fie cel puțin 1/10000 din suprafața totală supusă decontaminării.

Prelevarea probelor se execută prin ștergerea suprafeței de testat cu tampon, astfel încât să se acopere o suprafață totală de 100 cm² (10 cm x 10 cm), marcată de un șablon steril sau prin apreciere. Recoltarea se face aplicând o presiune fermă pe suprafață, trecând tamponul de 3 ori prin același loc, în direcții diferite (a doua trecere perpendiculară pe prima, iar a treia, oblică pe primele două)

Pentru zonele umede pot fi suficiente tampoanele din bumbac uscate. În cazul suprafețelor uscate, tampoanele din bumbac se umectează cu 1 ml soluție fiziologică peptonată, sterilă. Dacă recoltarea se efectuează după curățenie și dezinfecție, la soluția de umectare pentru tampoane trebuie adăugată o cantitate de 30 g/l Tween 80 și 3 g/l Lecitină (sau alte produse cu un efect similar), după caz.

Pentru detectarea *Listeriei monocytogenes* suprafața totală prelevată trebuie să fie cât mai mare posibil pentru a crește probabilitatea identificării *L. monocytogenes*. Când este posibil, se prelevează probe de pe suprafețe cu arii cuprinse între 1000 cm² și 3000 cm², adică atunci când zonele sunt deschise și plane. Tamponul cu tijă trebuie utilizat pentru a testa zone mici greu accesibile (de exemplu, în interiorul rotelor goale, sau al carcasei motorului).

Buretele, pânză țesută sau nețesută ori tamponul de tifon se utilizează pentru prelevarea de probe de pe suprafețe mari, spre deosebire de tampoanele cu tijă, cu acestea se poate realiza o ștergere mai energetică a suprafețelor și sunt foarte absorbante.

Dimensiunea zonei de pe care se realizează prelevarea trebuie să fie consecventă, astfel încât tendințele să poată fi monitorizate în timp.

2.2.2 Controlul microbiologic al unor materiale de ambalaj – (folii de material plastic, hârtie pergaminată, tăvițe polistiren, ș.a.)

Se vor recolta prin sondaj un număr minim de 5 și maxim de 10 unități de ambalaj. Pentru ambalarea și sigilarea acestor recipiente se utilizează ambalaje de polietilenă de uz alimentar, aflate la prima utilizare.

2.2.3 Mâini personal

Cu tamponul ușor umectat în ser fiziologic sau uscat, după caz, se șterge fața palmară și spațiile interdigitale de la o mână, frecându-se cu tamponul de 3 ori pe același loc. Se spală bine tamponul în serul fiziologic din eprubetă, se stoarce cât mai bine prin presarea lui pe pereții acesteia. Cu același tampon se execută în același mod, ștergerea celeilalte mâini. Tamponul se introduce în eprubetă cu ser fiziologic și se trimite în laborator.

 REMETE ANALYTICA	INSTRUCȚIUNE DE LUCRU	Ediția: 01
	INSTRUCȚIUNE DE PRELEVARE TESTE DE SANITAȚIE ȘI MICROAEROFLORĂ PENTRU CLIEȚI Cod : IL – 06	Revizia: 0
		Exemplar:2
		Pagina 3 din 6

2.2.4 Microaerofloră

Metoda de expunere - Pentru a verifica îndeplinirea și realizarea criteriilor de igienă de proces și a criteriilor de siguranță a alimentelor, trebuie luate probe din arii de procesare, transport și comercializare a alimentelor. Controlul microbiologic al aerului ambiant se adresează spațiilor de lucru și depozitare ale produselor destinate consumului uman. Prelevarea testelor pentru controlul bacteriologic/microbiologic al aerului din încăperi se execută înainte de începerea lucrului sau după efectuarea curățeniei și decontaminări și niciodată în timpul procesului tehnologic.

Se solicită laboratorului pregătirea plăcilor cu mediile de cultură specifice determinărilor. Pentru fiecare încăpere se vor folosi 2 grupe de plăci Petri, fiecare grupă cuprinzând 2 plăci (cu mediu DG18 pentru drojdii și mușgaiuri, respectiv PCA pentru număr total de germeni). Un grup de plăci se va expune în mijlocul încăperii pe o masă/ la înălțimea unei mese (la 60-100 cm de pardoseală), al doilea grup va fi expus într-un colț al încăperii la înălțimea unei mese (la 60-100 cm de pardoseală). Numărul de plăci necesare se calculează în funcție de volumul încăperii. Expunerea se va face prin ridicarea capacului cutiilor Petri și așezarea capacelor cu deschiderea în jos alături de cutiile Petri cu mediile selectate. Timpul de expunere va fi strict cronometrat din momentul ridicării capacelor de la plăcile Petri cu acestea urmând să fie lăsate deschise 10 minute.

2.2.5 Recipiente

În recipientul de controlat se introduce aseptice lichidul de spălare sterilizat (ser fiziologic steril sau apă distilată sterilă), adus de inspector/operator de la laborator. Cantitatea de lichid de spălare va fi egală cu 1/100 din capacitatea recipientului de controlat (de ex. 10 ml pentru un recipient de 1L, 50 ml pentru unul de 5L). Prin urmare, 1 mL lichid de spălare reprezintă 100 mL din capacitatea recipientului. Se vor utiliza un număr suficient de recipiente, astfel încât capacitatea lor totală să fie de 1 L.

Recipientul se acoperă cu capacul propriu sau cu altele improvizate, dar sterilizate, se agită bine prin mișcări în sensuri diferite, în așa fel încât lichidul de spălare să treacă prin același loc de cel puțin 10 ori.

Se recoltează lichidul de spălare în mod aseptice, în vasele din care a provenit și se transportă rapid la laborator pentru a fi introdus imediat în lucru.

Ca alternativă, dacă nu pot fi asigurate condiții stricte de asepsie în timpul operațiilor descrise (spălare și prelevare a lichidului de spălare), este preferabilă prelevarea în condiții de asepsie a recipientelor și expedierea lor la laborator. Pentru ambalarea și sigilarea acestor recipiente se pot utiliza ambalaje de polietilenă de uz alimentar, aflate la prima utilizare.

	INSTRUCȚIUNE DE LUCRU	Ediția: 01
	INSTRUCȚIUNE DE PRELEVARE TESTE DE SANITAȚIE ȘI MICROAEROFLORĂ PENTRU CLIEȚI Cod : IL – 06	Revizia: 0
		Exemplar:2
		Pagina 4 din 6

Pentru controlul microbiologic al recipientelor, se vor recolta prin sondaj un număr minim de 5 și maxim de 10 recipiente, cu precizarea că este necesar ca în cazul ambalajelor de capacitate redusă, să se recolteze suficiente recipiente, astfel încât capacitatea lor totală să fie de minim 1 litru.

2.2.6. Carcase

A. Recoltarea probelor prin metoda distructivă

La fiecare recoltare, probele se prelevează aleatoriu din cinci carcase. Pentru examinarea locurilor cu cea mai mare prelevanță de contaminare, în funcție de specie și tehnologia de sacrificare utilizată în fiecare unitate, se selectează pentru prelevare 4 zone de pe suprafața fiecărei carcase. În cazul analizelor referitoare la Enterobacteriaceae și numărul total de germeni, din patru zone ale fiecărei carcase se vor preleva patru probe de țesut/piele, reprezentând o suprafață totală de 20 cm². Cele 4 porțiuni de țesut/piele se recoltează cu ajutorul unui dispozitiv steril (o sondă cu suprafață de tăiere circulară, cu diametru de cca. 2,5 cm), obținând astfel 4 lambouri de țesut sau piele, cu suprafață de aprox. 5 cm² și 2 mm grosime. Cele 4 lambouri se introduc, în condiții aseptice, într-o pungă de diluție din plastic sterile, etichetată, fiind transferate ulterior în laborator.

B. Recoltarea probelor prin metoda nedistructivă

La fiecare recoltare, probele se prelevează aleatoriu din cinci carcase. Pentru examinarea locurilor cu cea mai mare prevalență de contaminare, în funcție de specie și tehnologia de sacrificare utilizată în fiecare unitate, se selectează pentru prelevare 4 zone de pe suprafața fiecărei carcase. Prelevarea de probe pentru analizele referitoare la *Salmonella* și *Listeria monocytogenes* se efectuează cu ajutorul metodei buretelui abraziv, suprafața totală de prelevare fiind de minimum 400 cm²/carcasă (100 cm²/loc de recoltare). În cazul rumegătoarelor mici, suprafața totală de prelevare este de minimum 200 cm²/carcasă (50 cm²/loc de recoltare).

Prelevarea de probe pentru analizele referitoare la Enterobacteriaceae și numărul total de germeni se poate efectua cu ajutorul metodei buretelui abraziv, suprafața totală de prelevare fiind de minimum 400 cm²/carcasă (100 cm²/loc de recoltare). În cazul rumegătoarelor mici, suprafața totală de prelevare este de minimum 200 cm²/carcasă (50 cm²/loc de recoltare). Cei 4 bureți abrazivi, recoltați de pe suprafața unei carcase, se introduc, în condiții aseptice, într-o pungă de diluție din plastic sterile, etichetată.

În cazul utilizării metodei nedistructive, tampoanele trebuie umezite înainte de prelevarea probelor. Ca mediu steril pentru umezirea tampoanelor se utilizează bulion 0,1 % peptonă +0,85 % NaCl. În cazul folosirii tampoanelor, aria de recoltare trebuie să acopere cel puțin 100 cm² pentru fiecare loc de recoltare. Este necesar ca tamponul să fie umezit timp de cel puțin 5 secunde și apoi să fie frecat inițial vertical, apoi orizontal și pe diagonala minimum 20 de secunde pe

 REMETE ANALYTICA	INSTRUCȚIUNE DE LUCRU	Ediția: 01
	INSTRUCȚIUNE DE PRELEVARE TESTE DE SANITAȚIE ȘI MICROAEROFLORĂ PENTRU CLIEȚI Cod : IL – 06	Revizia: 0
		Exemplar:2
		Pagina 5 din 6

întreaga suprafața a carcasei delimitată printr-un șablon apăsând atât cât este posibil. După folosirea tamponului umed, aceeași procedură de recoltare trebuie repetată utilizându-se un tampon uscat. Pentru obținerea unor rezultate comparabile trebuie menținută rigurozitatea executării tehnice între probe, carcase și zile de recoltare.

Pentru controlul procesării se vor utiliza de regulă următoarele locuri de recoltare a probelor:

- Vită: gât, piept, flanc și coapsă
- Oaie: capră: flanc, torace lateral și piept
- Porc: spate, gusa, pulpă și piept
- Cal: flanc, piept, spate și coapsă

2.4 Transportul probelor la laborator

Teste de sanitație

Probele se individualizează prin etichetare și se trimit la laborator cu asigurarea temperaturii de la 2 °C până la 8 °C. În timpul transportului se va evita o expunere directă la lumina soarelui. Timpul între prelevarea probelor și testarea în laborator trebuie să fie cel mai scurt posibil.

Probele prelevate din mediu pentru detectarea *Listeria monocytogenes* :

- Trebuie răcite anterior introducerii în containerele de transport (cutii termoizolante) și trebuie transportate la temperaturi cuprinse între 1 și 8 °C
- Perioada de timp dintre momentul prelevării probei și cel al testării trebuie să fie cât mai scurt posibil, probele ar trebui examinate în maximum 24 h de la prelevare
- Dacă testarea nu se poate realiza imediat după recepția în laborator, probele pot fi depozitate la temperaturi de 3 °C ± 2 °C maximum 48 h de la prelevare.

Microaerofloră

Probele se identifică prin etichetare în funcție de locul prelevării, se ambalează, se sigilează și se trimit la laborator la temperatura camerei. În timpul transportului se va evita o expunere directă la lumina soarelui. Probele se vor incuba imediat în laborator.

Recipiente

Lichidul de spălare recoltat aseptice, se va ambala în condiții care să asigure integritatea și se expediază la laborator, în condiții de refrigerare (2-4 °C) în cel mai scurt timp posibil astfel încât intervalul scurs între prelevare și introducerea în lucru, să nu depășească 24 ore.

În situația în care se vor preleva direct recipiente, acestea ambalate, etichetate și sigilate se vor expedia la laborator în maxim 24 de ore.

	INSTRUCȚIUNE DE LUCRU	Ediția: 01
	INSTRUCȚIUNE DE PRELEVARE TESTE DE SANITAȚIE ȘI MICROAEROFLORĂ PENTRU CLIEȚI Cod : IL – 06	Revizia: 0
		Exemplar:2
		Pagina 6 din 6

Carcase

Probele recoltate prin metoda distructivă sau tampoanele reocoltate prin metoda nedistructivă trebuie păstrate la o temperatură de refrigerare de 4 °C până la examinare.

Pentru probele care necesită răcire se asigură că temperatura de depozitare și transport va fi de $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ (transport în cutii/lăzi frigorifice cu acumulate de gheață). Atenție probele nu trebuie să înghețe!!!

Teste de sanitație se transportă în laborator cât mai repede posibil în condiții care nu modifică viabilitatea sau numărul de microorganisme, protejate de contaminare de preferință în mai puțin de 4 ore. Dacă timpul de transport este mai mare de 4 ore proba va fi păstrată la $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$. Timpul de transport nu poate depăși niciodată 24 de ore.

Condițiile pentru transportul probelor de microaerofloră trebuie să asigure supraviețuirea microorganismelor recoltate. După prelevarea probei de microaerofloră cutiile Petri se acoperă cu capacul și se depozitează în geanta de transport, cu capacul în jos, pentru a evita deschiderea lor accidentală. Probele nu se pun la frigider și se transportă la laborator în cel mai scurt timp posibil (max 24 e ore) la temperatura camerei.

Datele din prelevare se vor înregistra pe cererea de analiză pusă la dispoziție de către laborator.

2.5 Condiții de refuz la recepția probelor

Laboratorul are dreptul de a respinge probele la recepție în următoarele cazuri:

- Probe necorespunzătoare (volum insuficient, recipient necorespunzător, probe prelevate necorespunzător);
- Probele pentru care timpul de păstrare este depășit și rezultatele pot fi influențate;
- Probe netichetate corespunzător;
- Probele însoțite fără cerere de analiză sau cu date incomplete care pot influența validitatea rezultatelor.

Șef laborator Analize Microbilogice

dr. ing. Benedek Tibor

Data: 02.09.2024



-Sfârșitul documentului-