



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Progetto Formativo Aziendale

Preparazione dei campioni di prova nella microbiologia degli alimenti.
Aggiornamenti tecnici

**Regole specifiche per la
preparazione dei
campioni di prodotti
lattiero caseari.
Applicazione della
norma ISO 6887-5:2020**



16 crediti ECM per
veterinari, biologi, tecnici di
laboratorio

Tiziana Zottola – Pina Briganti

22 settembre 2020





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

UNI EN ISO 6887 – 5 : 2020

Microbiologia della catena alimentare - Preparazione dei campioni di prova, della sospensione iniziale e delle diluizioni decimali per l'esame microbiologico.

Norme specifiche per la preparazione del

LATTE e dei PRODOTTI LATTIERO-CASEARI





UNI EN ISO 6887 – 5 : 2020

in vigore dal 25/05/2020

recepisce

EN ISO 6887 – 5 : 2020

in vigore dal 13/05/2020

adotta

ISO 6887 – 5 : 2020

in vigore dal 30/04/2020

sostituisce

~~**ISO 6887 – 5 : 2010**~~





Enti di Normazione ISO - CEN - UNI

Hanno il compito di coinvolgere nella stesura delle norme produttori, utenti, pubbliche amministrazioni a livello mondiale, europeo, nazionale

ISO

Organizzazione
Internazionale
per la Normazione

Organismo non governativo fondato a Londra nel 1947. Vi aderiscono gli Enti Normatori di 164 paesi e **definisce STANDARDS COMUNI** per facilitare gli scambi di beni e servizi e per sviluppare la collaborazione nei campi scientifico-tecnico ed economico.

CEN Comitato Europeo di Normazione

Ha lo scopo di armonizzare e produrre norme tecniche **europee** in collaborazione con enti normativi nazionali e sovranazionali. Fondato nel 1961 è responsabile della normalizzazione in tutti i settori eccetto quello elettronico (CENELEC) e quello delle telecomunicazioni(ETSI)

UNI Ente Nazionale Italiano di Unificazione

Fondato nel 1921 vi collaborano Università, Amministrazioni Pubbliche, Ministeri, Tecnici di Imprese. Elabora, pubblica, diffonde norme e mantiene i contatti con ISO e CEN.



Reg. UE 2017/625

relativo ai controlli ufficiali e alle altre attività ufficiali effettuati per garantire l'applicazione della legislazione sugli alimenti e sui mangimi, delle norme sulla salute e sul benessere degli animali, sulla sanità delle piante nonché sui prodotti fitosanitari

art. 37 Laboratori ufficiali

I laboratori designati dalle Autorità Competenti per effettuare analisi, prove e diagnosi a partire da campioni prelevati nel contesto di controlli ufficiali e di altre attività ufficiali devono possedere

COMPETENZE,

ATTREZZATURE,

INFRASTRUTTURE

e PERSONALE

adeguati per eseguire tali compiti nel rispetto degli standard più elevati.



Accreditamento dei Laboratori ufficiali

Per garantire risultati solidi e affidabili, tali laboratori devono essere accreditati per l'utilizzo di analisi, prove e diagnosi secondo la norma

EN ISO/IEC 17025 «*Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura*».

L'accreditamento deve essere rilasciato da un organismo di accreditamento nazionale operante in conformità del Regolamento (CE) n. 765/2008 del Parlamento europeo e del Consiglio.



art. 34 Metodi di campionamento, analisi, prova e diagnosi

1. I metodi di campionamento e di analisi, prova e diagnosi di laboratorio utilizzati nel contesto dei controlli ufficiali e delle altre attività ufficiali **sono conformi alle norme dell'Unione che stabiliscono tali metodi o ai relativi criteri di efficienza.**



Reg. UE 2017/625 art. 37

art. 34 Metodi di campionamento, analisi, prova e diagnosi

In assenza di norme dell'Unione si utilizzano

- metodi disponibili conformi a pertinenti norme o protocolli riconosciuti internazionalmente, compresi quelli accettati dal Comitato Europeo di Normalizzazione (CEN);
- o metodi pertinenti sviluppati o raccomandati dai laboratori di riferimento dell'Unione Europea e convalidati in base a protocolli scientifici accettati internazionalmente;



art. 34 Metodi di campionamento, analisi, prova e diagnosi

In assenza delle norme o dei protocolli di cui alla precedente diapositiva possono essere utilizzati

- ✓ metodi conformi alle norme pertinenti definite a livello nazionale o, se tali norme non esistono, metodi pertinenti sviluppati o raccomandati dai laboratori di Referenza Nazionali e convalidati in base a protocolli scientifici accettati internazionalmente;
- ✓ o metodi pertinenti sviluppati e convalidati da studi interlaboratorio o intralaboratorio sulla convalida dei metodi in base a protocolli scientifici accettati internazionalmente.



Alimenti interessati

1. Latte e prodotti lattiero-caseari liquidi;
2. Prodotti lattiero-caseari disidratati;
3. Formaggi e derivati;
4. Caseina e caseinati;
5. Burro;
6. Gelati a base di latte;
7. Creme a base di latte, dessert e panna dolce;
8. Latte fermentato, yogurt, prodotti lattiero-caseari probiotici e panna acida;
9. Alimenti disidratati a base di latte per lattanti, con o senza probiotici.





UNI EN ISO 6887 – 5 : 2020

La norma specifica le regole per la preparazione di campioni di **latte e dei prodotti derivati** e delle loro sospensioni per l'esame microbiologico, quando i campioni richiedono una preparazione diversa dai metodi generali indicati nella UNI EN ISO 6887-1.

ed esclude la preparazione dei campioni da sottoporre a metodi microbiologici qualitativi (esame colturale-ricerca) e quantitativi (esame colturale – conta UFC) in cui i dettagli di preparazione sono specificati negli standard internazionali pertinenti.





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

UNI EN ISO 6887 – 5 : 2020

Deve essere utilizzata in combinazione con

UNI EN ISO 6887 – 1 : 2020

ISO 7218

Microbiologia degli alimenti e degli alimenti per animali - Requisiti generali e linee guida per gli esami microbiologici

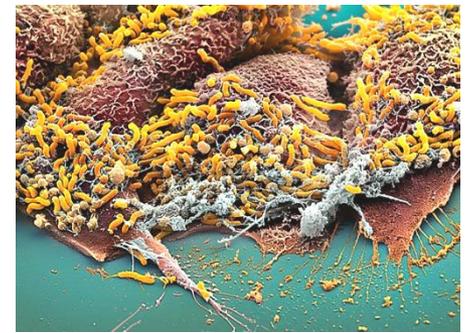
ISO 11133

Microbiologia di alimenti, mangimi e acqua - Preparazione, produzione, conservazione e test delle prestazioni dei terreni di coltura





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*



PREMESSA

I microrganismi non sono distribuiti in maniera uniforme negli alimenti.

Essi possono essere anche stressati dai processi di trasformazione e conservazione degli alimenti

PERTANTO

è necessario allestire opportunamente la porzione di prova affinché essa sia rappresentativa del campione di laboratorio e contenga una distribuzione più uniforme possibile dei germi.









FORMAGGIO A PASTA FILATA TENERA
INGREDIENTI: LATTE DI MUCCA INTERO PASTORIZZATO
CAGLIO NATURALE A PESO
DA VENDERSI A PESO
VALORE PER 100g
Proteine
Carboidrati
Grassi
Calorie



VALORE PER 100g
Proteine
Carboidrati
Grassi
Calorie

FORMAGGIO A PASTA FILATA TENERA
INGREDIENTI: LATTE DI MUCCA INTERO PASTORIZZATO
CAGLIO NATURALE A PESO
DA VENDERSI A PESO
VALORE PER 100g
Proteine
Carboidrati
Grassi
Calorie





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Campione di laboratorio - campione preparato per essere inviato al laboratorio e destinato all'ispezione o all'analisi

Campione di prova - campione preparato dal campione di laboratorio secondo una procedura specifica riportata nel metodo di prova e da cui sono prelevate le porzioni di prova

Porzione di prova - campione rappresentativo misurato (in volume o in massa) prelevato dal campione di laboratorio da utilizzare per la preparazione della sospensione iniziale



Attrezzature per il prelievo delle porzioni di prova



11x38

15x21

19x30

30x30

30x60

8x18

14x23

18x30

25x37

RWV

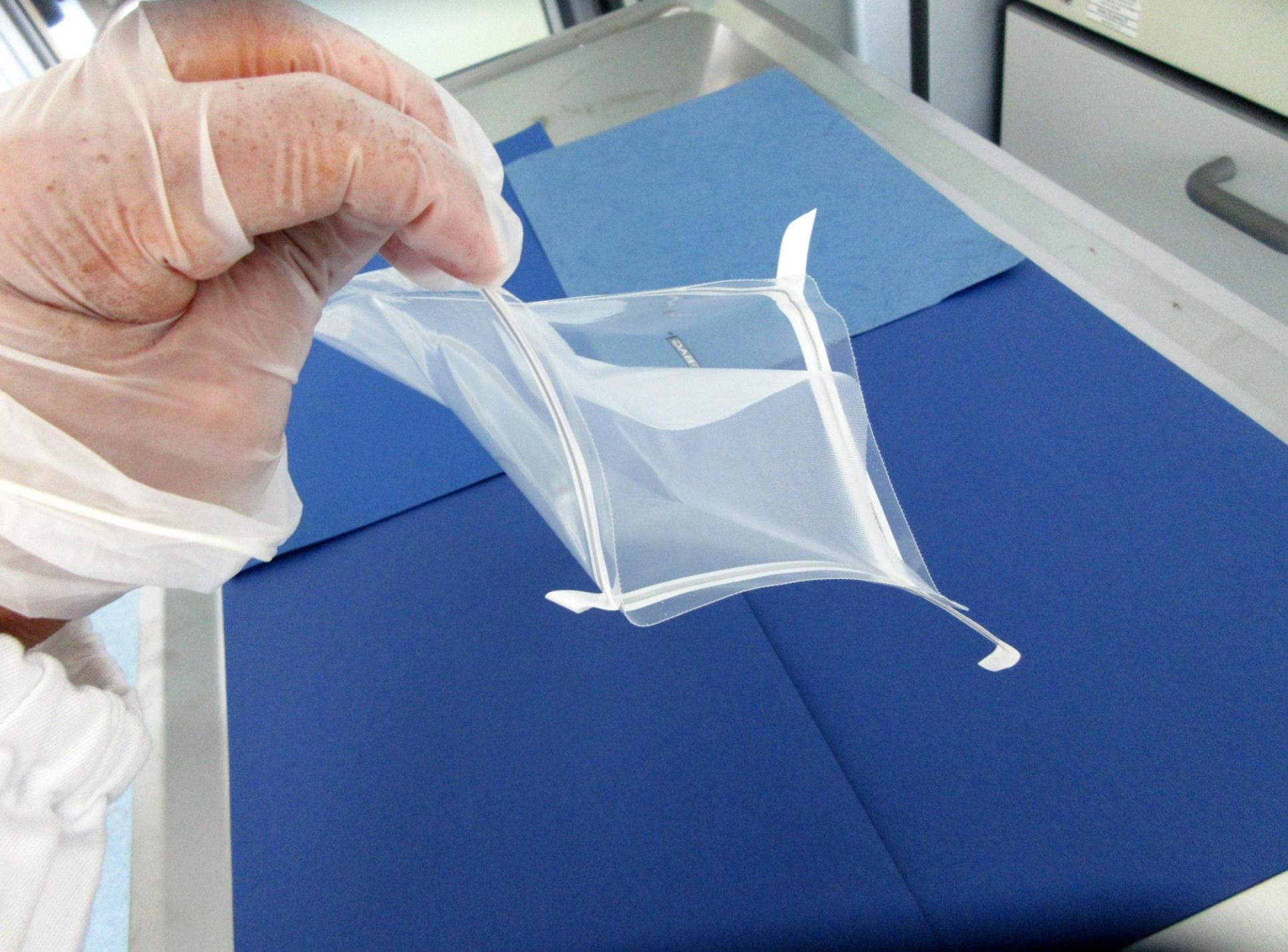


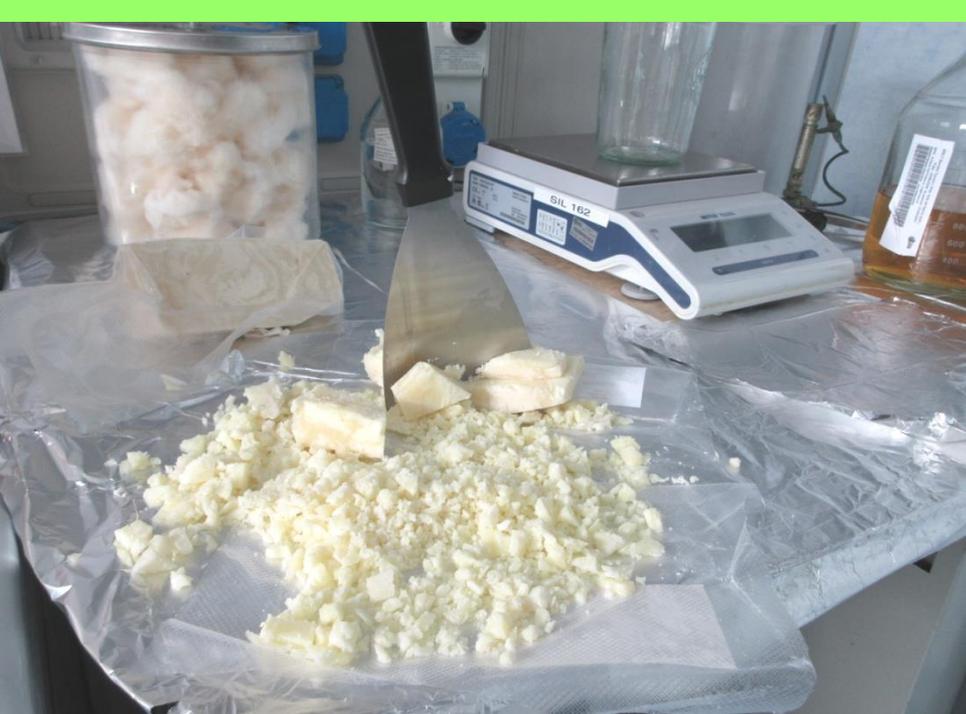
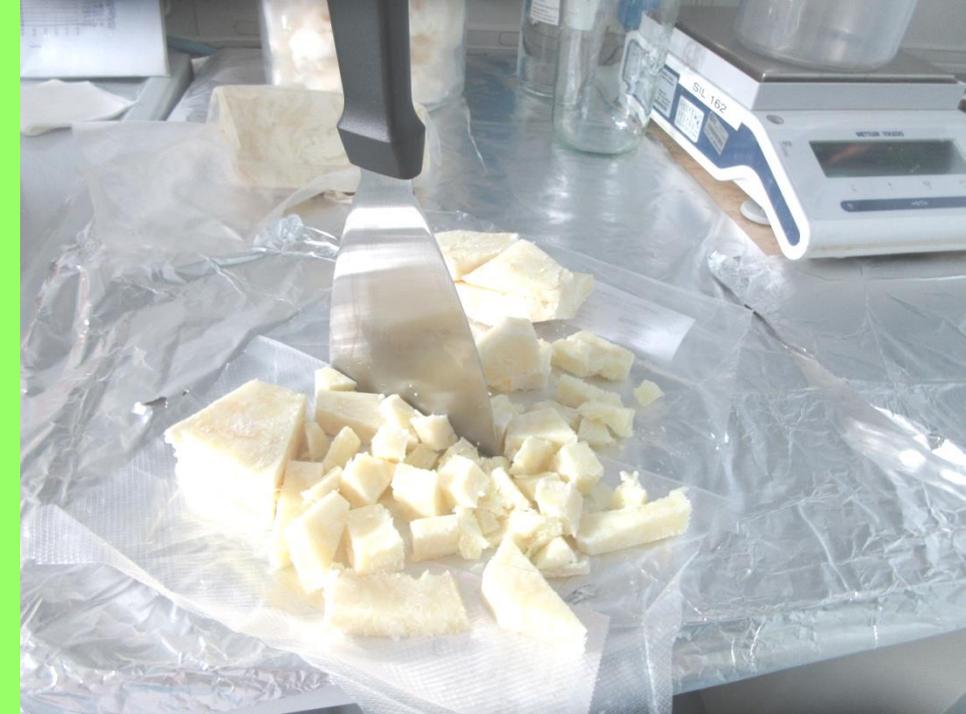
Diagramma di un sistema di pesatura e documenti tecnici.

Documenti tecnici e certificazioni.

Documenti tecnici e certificazioni.



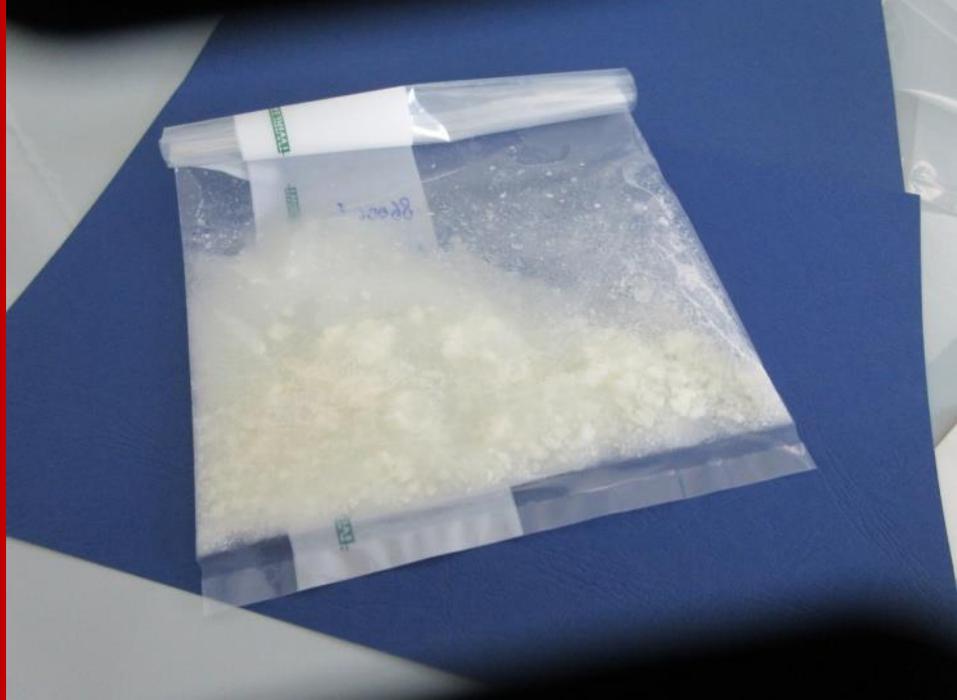






Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*







Diluenti per uso generale

menzionati ISO 6887 – 1: 2017

1. **Soluzione peptonata salata – Peptone salt solution (PTWS) NaCl 0,85%**
2. **Acqua peptonata tamponata - Buffered Peptone Water (BPW)**
3. **BPW a doppia concentrazione - Double-strength buffered peptone water**



Diluenti per uso generale

menzionati ISO 6887 – 5: 2020

1. Soluzione di Ringer con un quarto di concentrazione - **Quarter-strength Ringer's solution**
2. Soluzione peptonata - **Peptone solution (PTW)**
3. Soluzione di fosfato tamponata - **Phosphate buffer solution (PBS)**





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

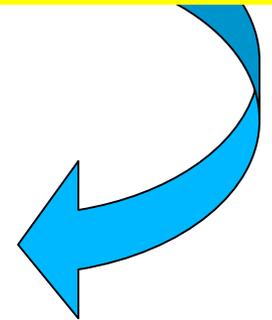


Diluenti per scopi particolari

menzionati ISO 6887 – 5: 2020

da utilizzarsi solo per la preparazione delle sospensioni iniziali

La sospensione, soluzione o emulsione iniziale si ottiene dopo aver pesato una determinata quantità di alimento e mescolata con 9 parti di diluente .

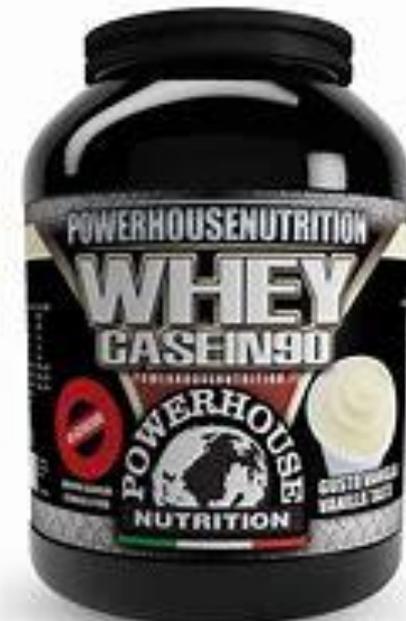


Diluenti per scopi particolari

1. Soluzione di sodio citrato

Sodium citrate solution

Formaggi
Latte in polvere
Caseinati



Diluenti per scopi particolari

2. Soluzione di potassio idrogeno fosfato

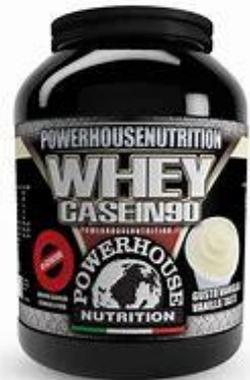
Dipotassium hydrogen phosphate solution

3. Soluzione di idrogeno fosfato dipotassico con agente antischiumogeno

Dipotassium hydrogen phosphate solution with antifoam agent

4. Soluzione di idrogeno fosfato dipotassico

Dipotassium hydrogen phosphate solution



Formaggi

Latte in polvere

Caseinati

Latte fermentato

Siero acido disidratato

Crema acida

Panna acida

Diluenti per scopi particolari

5 . Soluzione madre antischiumogena

Antifoam stock solution

6 . Soluzione di tripolifosfato

Tripolyphosphate solution

Caseina acida

Caseina lattica

Caseine con caglio



7 . Diluente per utilizzo generale con soluzione di alfa amilasi

Diluent for general use with α -amylase solution

Alimenti contenenti amido





Controllo delle prestazioni del diluente

Il numero delle colonie di *Escherichia coli* e di *Staphylococcus aureus* seminate su Triptone Soy Agar (TSA) non deve superare il 30 % di quelle contate al T_0 dopo incubazione di 45 min o 1 ora a temperatura ambiente (da 18 a 27 °C).



Latte e prodotti lattiero-caseari



Diluenti specifici per la ricerca e la conta dei microrganismi contemplati nel Reg. CE 2073/05

- **Salmonella BPW**

- **L. monocitogenes BPW - HFB**

- **Stafilococchi coagulasi positivi PTW**



- **Enterobatteri ed E. coli PTW**

- **Cronobacter sakasaki BPW**

- **Bacillus cereus presunto PTW**



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Latte e prodotti lattiero caseari liquidi

- * Mescolare accuratamente il campione capovolgendo rapidamente il contenitore **per 25 volte**.
- * Evitare la formazione di schiuma o consentire alla schiuma di disperdersi.
- * L'intervallo tra la miscelazione e il prelievo del saggio di prova non deve superare i 3 min.





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Latte in polvere, siero di latte , latticello e lattosio in polvere



Per migliorare la miscelazione, si possono usare microsfere di vetro, o preriscaldare il diluente a (44-47)°C a bagnomaria (preriscaldare il diluente è possibile anche per i formaggi e i prodotti caseari.

Se preriscaldiamo il diluente, tale procedura aggiuntiva va indicata nel rapporto di prova.



Burro

Se è necessario escludere dall'esame la superficie, utilizzare una spatola sterile per rimuovere lo strato superiore di uno spessore di almeno 5 mm (ISO 707 | IDF 50).



Pesiamo la porzione prova nel sacchetto presto chiuso e lo riponiamo in bagnomaria a (44 - 47)°C fino a quando l'intera porzione non si è sciolta. Aggiungiamo un diluente per uso generale riscaldato a (44 - 47) °C e mescoliamo.



Burro

La diluizione si può allestire utilizzando anche solo la fase acquosa.



Si prelevano una porzione di prova di 50 g contenente un rapporto volume/massa di acqua espresso in % ($W \text{ ml}/100 \text{ g}$). Aggiungere $(50 - [50 \times W / 100])$ ml di diluente per uso generale preriscaldato a bagnomaria a $(44 - 47)^\circ\text{C}$. Mettere il contenitore in un bagnomaria a T° di $44-47^\circ\text{C}$ fino a quando il burro si scioglie. Togliere dal bagnomaria, agitare bene e lasciare separare le fasi per non più di 15 minuti. Si può utilizzare anche una centrifuga. Prelevare con una pipetta sterile lo strato inferiore. In queste condizioni, 1 ml della fase acquosa corrisponde a 1 g di burro.



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Gelati

Pesare la porzione di prova in una beuta o in un sacchetto di plastica sterile per un miscelatore peristaltico. Aggiungere un diluente per uso generale a temperatura ambiente e miscelare. Il prodotto si scioglie durante la miscelazione.



Crema Dessert Yogurt Panna



Pesare l'aliquota da analizzare in una beuta contenente microsfere di vetro. Aggiungere un diluente per uso generale a temperatura ambiente e agitare per disperdere. In alternativa, può essere utilizzato un miscelatore peristaltico. In questo caso, il sacchetto non deve contenere perle di vetro.



GRAZIE