



Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

## **Parte 3: Regole Specifiche per la preparazione dei campioni di pesce e dei prodotti per la pesca**

### **Applicazione della norma UNI EN ISO 6887-3:2017 e Amd.1:2020(E)**

**Laura Gasperetti**

**Esercitazioni: Carla Milioni**

Progetto Formativo Aziendale

*Preparazione dei campioni di prova nella  
microbiologia*

*degli alimenti -Aggiornamenti tecnici*

*8-15-22-29 settembre 2020*





## **1-Scopo**

**Descrive le modalità di preparazione di matrici che prevedono un trattamento differente a quanto indicato nella norma generale (Parte 1), Pesci e prodotti della pesca, inclusi molluschi crudi, tunicati ed echinodermi provenienti dalle zone di produzione primaria.**

**NB. Esclude la preparazione dei campioni sia per i metodi di conteggio che di ricerca, quando queste sono descritte nelle specifiche ISO di riferimento (es. ISO/TS 12516-1 e ISO/TS 15216-2, per la ricerca di HAV e Norovirus mediante real time RT-PCR)**

**L'AMENDMENT 1: introduce delle modifiche sui campioni di gasteropodi marini crudi.**





## **Si applica a:**

### **a) prodotti della pesca, molluschi ed echinodermi crudi:**

- Pesce intero o filetto di pesce con o senza pelle e testa ed eviscerato;
- Crostacei, interi o sgusciati;
- Cefalopodi;
- Molluschi bivalvi;
- Gasteropodi
- Tunicati ed echinodermi

### **b) Prodotti trasformati:**

- Pesce affumicato, intero o sfilettato, con o senza testa;
- Crostacei, molluschi, tunicati ed echinodermi cotti o precotti, interi o sgusciati;
- Pesce e prodotti a base di pesce, cotti o precotti.

### **c) Pesce, crostacei, molluschi e altri, congelati crudi o cotti, in blocchi o altro:**

- Pesce, filetti e pesce in parti;
- Crostacei interi e sgusciati (granchi in fiocchi o surimi e gamberi), molluschi, tunicati ed echinodermi.





## 2-Normative di riferimento

- ISO 6887-1
- ISO 7218 (Regole generali esame microbiologico)

**3- Termini e le definizioni** sono pure riportate nella ISO 6887-1.

## 4-Principi generali

- espressi nella ISO 6887-1, non ci sono **diluenti** aggiuntivi previsti per il pesce e prodotti della pesca.





**6 Apparecchiature** sono quelle indicate nella ISO 7218 e nella 6887-1, in particolare:

**6.1 Omogenizzatori:**

- miscelatore rotante/omogeneizzatore
- stomacher peristaltico

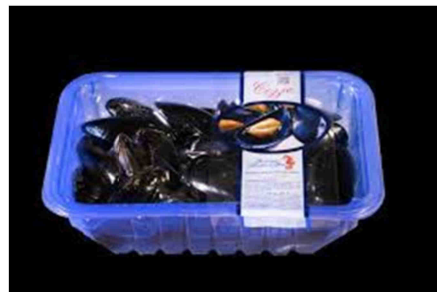
**6.2 Strumenti sterili** per la dissezione e per l'apertura di conchiglie coltelli per ostriche, forbici, scalpelli, raccoglitrice di crostacei,...)

- Pinze piccole e grandi, Spatole e cucchiari
- Spazzola per strofinare i gusci
- Trapano elettrico con punta di legno
- (Garza sterile per prevenire la scheggiatura
- Guanti resistenti antitaglio)



## 7.1 e 7.2 Procedure specifiche di campionamento per molluschi bivalvi, echinodermi e tunicati dalla produzione primaria e 7.3 molluschi bivalvi bivalvi, echinodermi gasteropodi e tunicati alla distribuzione.

Pur in accordo con le istruzioni date nei piani di campionamento, sia per la produzione primaria che per i prodotti al dettaglio, la norma sottolinea l'importanza della fase di campionamento, in quanto, soprattutto per questa tipologia di campioni, più che in tutte le altre (trattandosi di animali vivi e vitali), può condizionare i risultati di laboratorio.



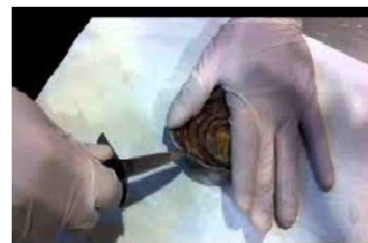


## 7.2 Metodo di campionamento (area di produzione primaria)

- Una volta tolti dall'acqua, gli animali devono essere puliti risciacquando con acqua di mare pulita o acqua potabile fresca.
- non devono essere reimmersi in acqua, ma inseriti in sacchetti di plastica resistenti e tracciati con etichette impermeabili.
- I campioni di laboratorio dovrebbero comprendere individui ti **taglia** commerciale ed in **numero** superiore a 10 animali, vivi e vitali, con una quantità minima di carne e liquido intervalvare di 50g, ammessi 25g per specie molto piccole come *Donax* spp. **(9.1.8.1)**.



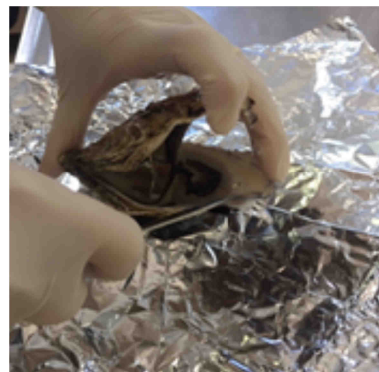
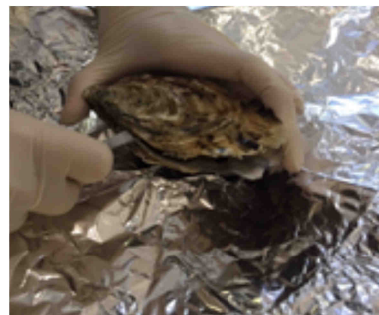
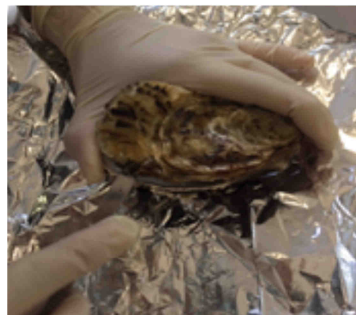
Prima del **prelievo**, sciacquare con acqua corrente e se necessario pulire la superficie e se presente tagliare il bisso. Aprire i MBV appoggiandoli su una superficie pulita.





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

## Apertura Ostriche







- **Temperatura di trasporto:** se il campione viene conferito al laboratorio entro 4h dal campionamento, la temperatura dell'aria interna al del contenitore di trasporto, deve essere inferiore a quella rilevata al momento del campionamento, altrimenti deve essere mantenuto tra 0°C e 10°C.

Il campione di laboratorio deve essere mantenuto a 3+/-2°C.

L'esame microbiologico dovrebbe essere avviato entro 24 ore dalla raccolta del campione.

Tuttavia studi effettuati nelle cozze (*Mytilus edulis*) o nelle ostriche del Pacifico (*Crassostrea gigas*) hanno dimostrato che:

***E. coli non aumenta in modo significativo a temperature di 15°C o inferiori per un massimo di 48h***



## Annex A (informative)

### Classification of major taxa

Taxonomical Division		Examples
Phylum — Chordata	Class — Myxini	Hagfish, Nuta-unagi, Meokjango, Yu sheng
	Class — Petromyzontida	Lamprey
	Class — Chondrichthyes	Whitefish, Makorepe, ghost shark
	Class — Elasmobranchii	Sharks, flake, sora, rays, skates
	Class — Actinopterygii	Fin fish
Phylum — Arthropoda, subphylum — Crustacea		Crayfish, yabby, marron, scampi, clawed lobster, spiny lobster, langoustines, shrimp, prawns, crabs.
Phylum — Mollusca	Class — Cephalopoda	Octopus, squid, cuttlefish, nautilus.
	Class — Bivalvia	Oysters, mussels, scallops, clams, cockles
	Class — Gastropoda	Abalone (paua), conch, periwinkles, whelks, limpets, sea slugs, snails
Phylum — Chordata, subphylum — Tunicata		Sea squirts, sea pork, sea tulips, sea violet, piure
Phylum — Echinodermata	Class — Holothurian	Sea cucumber, trepan, sea slug
	Class — Echinoidea	Sea urchins (hota, ututuk, kina, uni) star fish



## Annex B (informative)

### Recommended number of individual live bivalve molluscs to be submitted to the laboratory

Species		Number
Scientific name	Common name (English)	
<i>Pecten maximus</i>	King scallop	12 to 18
<i>Aequipecten opercularis</i>	Queen scallop	18 to 35
<i>Crassostrea gigas</i>	Pacific oyster	12 to 18
<i>Ostrea edulis</i>	Flat oyster	12 to 18
<i>Mercenaria mercenaria</i>	Hard clams	12 to 18
<i>Topes philippinarum</i>	Manilla clam	18 to 35
<i>Ruditapes decussatus</i>	Grooved carpet shells	18 to 35
<i>Spisula solida</i>	Thick trough shells	35 to 55
<i>Mya arenaria</i>	Sand gapers	12 to 18
<i>Ensis</i> spp.	Razor clams	12 to 18
<i>Mytilus</i> spp.	Mussels	18 to 35
<i>Cerastoderma edule</i>	Cockles	35 to 55
<i>Donax</i> spp.	Bean clams	40 to 70



## **8 Le procedure generali**

**Tutte le operazioni di preparazione e manipolazione dei campioni devono essere effettuate in condizioni asettiche e con attrezzi sterili.**

## **9. Procedure specifiche**

### **9.1 Prodotti della pesca freschi (Annex A)**

#### **9.1.1 Pesce intero sup a 15cm**

**Ricoprire branchie ed ano con cotone imbevuto in alcool 70% e disinfettare la regione dorsale.**

**Tagliare e rimuovere con bisturi e pinze sterili e prelevare un cubo di tessuto muscolare e diluirlo opportunamente.**

**•Se il pesce è eviscerato un campione di muscolo dorsale a forma di cubo deve essere rimosso dall'interno della cavità corporea.**

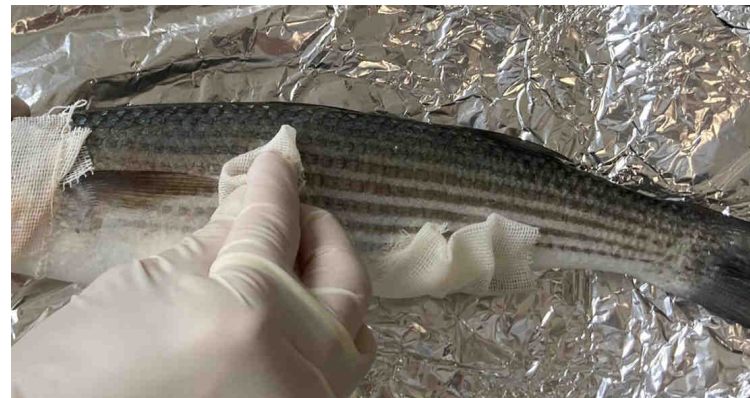
**Raggiungere il quantitativo necessario previsto nella procedura tecnica specifica ed aggiungere il diluente come previsto (1:10), quindi omogeneizzare.**







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

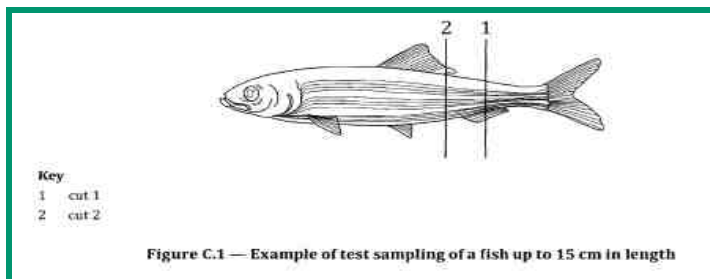


## Operazioni di preparazione per il prelievo da pesce fresco



### 9.1.2 Pesce intero inf a 15cm

Tagliare e rimuovere una porzione di muscolo davanti all'inserzione della coda, effettuando due tagli per produrre sezioni trasversali, facendo attenzione a non perforare i visceri (Fig. C1 Annex C).



### 9.1.4 Cefalopodi interi o a fette

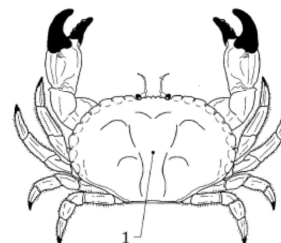
Disinfettare superficie e tentacoli con alcool 70% e rimuovere con bisturi e pinze sterili un quantitativo di muscolo rappresentativo come specificato nel metodo di prova e sminuzzare in pezzi piccoli prima di procedere al prelievo della polpa in quantità sufficienti secondo il metodo di prova. Si aggiunge diluente (1:10) e si omogeneizza.



### 9.1.5 Crostacei interi (Granchio)

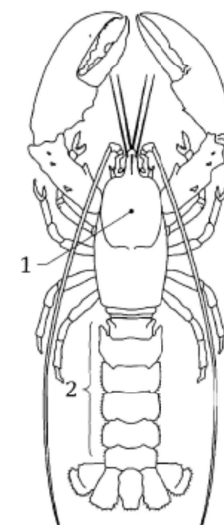
E' necessario rompere il guscio, utilizzando martello e punta o apri ostriche sterili e con pinze sterili, prelevare la polpa anche dalle chele, se necessario.

**9.1.7 Crostacei dove si consumano solo le code** (Aragosta) è necessario rompere il crostaceo all'incrocio tra cefalotorace e addome dopo aver disinfettato la superficie. Quindi con pinze e/o cucchiaio se molto grandi, prelevare la quantità necessaria di polpa.



Key  
1 carapace

Figure C.2 — Carapace of a crab



Key  
1 cephalothorax  
2 abdomen

Figure C.3 — Cephalothorax and abdomen of a lobster





**9.1.9 Prelievo da Echinodermi** (ricci di mare): utilizzare una pinza o indossare un guanto forte e pulito e tagliare la superficie ventrale con forbici affilate sterili, per esporre e prelevare tutta la polpa e il liquido in un contenitore sterile per l'omogeneizzazione.



### **9.1.10 Gasteropodi (Amd 1 2020)**

Lavare almeno 10 soggetti sotto acqua corrente potabile e posizionarle su un vassoio sterile.

Estrarre il corpo dell'animale con una pinza o raccoglitore di crostacei (a uncino). I gusci possono anche essere aperti con un martello.

Prima di omogeneizzare, si consiglia di tagliare la polpa rimuovendo i detriti del guscio con una pinza.



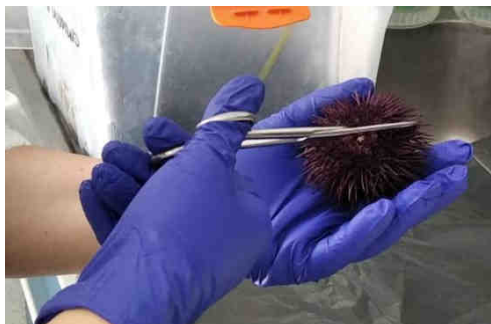


## Apertura Ricci di mare

1



2





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



**Nota:** per le prove microbiologiche su MVB, echinodermi, gasteropodi,...  
Si utilizza sia una parte di polpa che di liquido interno  
Si prepara una sospensione iniziale c.ca 1 a 3 in diluente e si omogeneizza.  
Quindi si aggiunge la quantità richiesta di diluente per ottenere una  
sospensione accurata 1 su 10.

E' opportuno rimuovere frammenti di gusci o aculei con pinze sterili prima  
di omogeneizzare, per evitare la rottura del sacchetto, eventualmente  
utilizzare un doppio o triplo sacchetto presto-chiuso.





## **9.2 Prodotti della pesca trasformati, interamente o parzialmente edibili:**

Utilizzare pinze, forbici, e gli altri utensili sterili (delicatamente anche un martello per i chiocciolini) per rimuovere gusci, interi o in parti e prelevare parti edibili in quantità previste dalle norme tecniche.

Preparare una diluizione 1:3 per omogeneizzare, quindi raggiungere quella prevista di 1:10.

### **9.2.4 Pesce e prodotti multicomponenti a base di pesce (es. insalate di mare)**

Prelevare parti rappresentative di ogni componente in proporzione alle quantità dell'intero prodotto, per una porzione di prova rappresentativa come specificato nel metodo di prova , diluire 1:10 ed omogeneizzare.

**Per gli altri prodotti trasformati non menzionati operare in accordo con la ISO 6887-1.**



### 9.3 Prodotti congelati

**Filetti di pesce, pezzi di pesce grandi congelati in blocchi, piccole parti congelate e monoporzioni**

- utilizzare un trapano con una punta sterile

**Crostacei sgusciati (come i gamberi) congelati in blocchi**

- separare il blocco in pezzi utilizzando martello sterile o coltello da macellaio o trapano con una punta sterile

➤ In alternativa scongelare a temperatura ambiente (da 18°C a 27 °C) per circa 60 minuti ma non più di 3 ore (per i blocchi grandi si può far scongelare ulteriormente) finché non sarà abbastanza morbido da tagliarlo in pezzi più piccoli con a coltello sterile e pinza.

Rimuovere i pezzi con pinze sterili.

Diluire ed omogeneizzare.







### **Crostacei interi congelati in blocchi**

- Scongellare a temperatura ambiente (da 18°C a 27°C) per circa 60 minuti ma non più di 3 ore.
- Estrarre i singoli animali con pinze sterili o scongelare in modo che il cefalotorace e l'addome possano essere separati e la parte edibile rimossa con pinza sterile.

### **Crostacei in fiocchi (surimi) congelati in blocchi**

- utilizzare un trapano con una punta sterile
- o scongelare a temperatura ambiente (da 18°C a 27°C) per circa 60 minuti ma non più di 3 ore, finché il blocco si rompe.

Così si procede anche per i Gasteropodi e Molluschi bivalvi congelati in blocchi, con o senza guscio, utilizzando a seconda del caso gli idonei utensili sterili fin qui menzionati.





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

## Diverse tipologie di pesce congelato





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

***Grazie per la vostra attenzione  
Un saluto da tutto il personale della Sezione di Pisa!***

