

**INSTITUTUL NAȚIONAL DE SĂNĂTATE PUBLICĂ
CENTRUL REGIONAL DE SĂNĂTATE PUBLICĂ TIMIȘOARA
SECȚIA SĂNĂTATE ÎN RELAȚIE CU MEDIUL**

GHID

PRELEVARE PROBE ALIMENTE

ÎN VEDEREA

ANALIZEI MICROBIOLOGICE

Dr. Mihaela COMAN

Material elaborat în cadrul Programul Național de Monitorizare a Factorilor
Determinanți din Mediul de Viașă și Muncă,

2017

INTRODUCERE

În vederea aplicării uniforme a Regulamentului Parlamentului European nr. 178/2002 privind siguranța alimentelor și a hranei pentru animale și a Regulamentului Parlamentului European nr. 882/2004 privind controalele oficiale efectuate pentru a asigura verificarea conformității cu legislația privind hrana pentru animale și produsele alimentare și cu normele de sănătate animală și de bunăstare a animalelor, între Ministerul Sănătății, și Autoritatea Națională Sanitară Veterinară și pentru Siguranța Alimentelor, s-a încheiat **Protocol de colaborare nr. RL 3398/25860/2012**, în care sunt stipulate atribuțiile și responsabilitățile autorităților competente semnatare ale acestuia.

Scopul Protocolului de colaborare este asigurarea funcționării sistemului de control oficial al alimentelor și coordonarea adecvată a activităților specifice de către autoritățile competente semnatare, cu responsabilități în domeniul siguranței alimentelor și prevenirea riscurilor legate de siguranța alimentelor pentru sănătatea publică, a protejării intereselor consumatorilor și informarea corectă a acestora.

Astfel, conform protocolului de colaborare mai sus menționat atribuțiile și responsabilitățile Ministerului Sănătății, în domeniul alimentelor sunt cele prevăzute în protocol și anume:

1. Controlul respectării normelor generale de igienă și sănătate publică, periodic, precum și în situații de risc epidemiologic, conform domeniilor de competență stabilite în Anexa I a protocolului;
2. Supravegherea stării de sănătate a personalului angajat și verificarea prevederilor legislative referitoare la noțiunile fundamentale de igienă pentru personalul lucrător care desfășoară activități în domeniul siguranței alimentelor;
3. Monitorizarea și controlul calității fizico-chimice, microbiologice și nutriționale în alimente și controlul respectării normelor de igienă prin teste de salubritate conform competențelor, stabilite în Anexa I;
4. Monitorizarea și controlul de audit a calitatii apei potabile;
5. Monitorizarea și controlul calității apei potabile îmbuteliată și a apei minerale naturale îmbuteliate;
6. Evaluarea, monitorizarea și comunicarea riscului pentru sănătatea populației, identificat prin activitatea de supraveghere și control, desfășurată în cadrul Programelor Naționale de Sănătate;
7. Verificarea respectării legislației specifice privind condițiile de funcționare a obiectivelor înregistrate care produc alimente de origine non-animală, supuse controlului M.S., conform competențelor;
8. Evaluarea ingestiei de aditivi alimentari;

9. Controlul respectării legislației aditivilor alimentari, arome, enzime, conform competențelor, stabilite în Anexa I;
10. Monitorizarea unităților de tratare cu radiații ionizante a alimentelor;
11. Monitorizarea și controlul alimentelor tratate cu radiații ionizante;
12. Monitorizarea și controlul materialelor care vin în contact cu alimentele, inclusiv la punctele de trecere a frontierei;
13. Efectuarea anchetei epidemiologice, în cazurile de toxiinfecție alimentară - TIA și de antropozoonoză, pe domeniul sănătății umane, și comunicarea de către structurile de specialitate, către serviciile de stat sanitare veterinare și pentru siguranța alimentelor, a datelor relevante legate de identificarea alimentului incriminat, în vederea aplicării măsurilor stabilite de legislația sanitară veterinară în vigoare și realizării trasabilității;
14. Controlul respectării regulilor de preparare a alimentelor, conform reglementărilor în vigoare, în unități sanitare, de învățământ (inclusiv after school), asistență socială, centre de plasament, tabere școlare și unități care organizează activități similare taberelor școlare. precum și unități de alimentație publică și colectivă care deserveșc unitățile menționate anterior;
15. Controlul respectării reglementărilor în vigoare privind alimentele cu destinație nutrițională specială;
16. Controlul respectării legislației în vigoare privind punerea pe piață a suplimentelor alimentare și a alimentelor, cu excepția celor din plante și a celor la care s-au adăugat vitamine, minerale și alte substanțe;
17. Controlul respectării reglementărilor în vigoare privind mențiunile nutriționale și de sănătate înscrise pe produsele alimentare;
18. Controlul publicității suplimentelor alimentare și a alimentelor la care s-au adăugat vitamine, minerale și alte substanțe;
19. Controlul respectării legislației în vigoare privind distribuirea, în școli și grădinițe, a produselor lactate și de panificație, conform legislației în vigoare.

În cadrul controalelor oficiale autoritățile competente, verifică respectarea regulilor și criteriilor stabilite în Regulamentul (CE) nr. 2073 / 2005 din 15 noiembrie 2005 cu privire la criteriile microbiologice pentru produsele alimentare elaborate în acord cu Regulamentul (CE) nr. 882 / 2004 fără prejudiciu în dreptul de a lua probe și a analiza în scopul de a detecta și măsura microorganismele, toxinele și metaboliții acestora, ca verificare a prelucrării pentru alimentele suspectate ca fiind nesigure sau în contextual analizei de risc.

SCOP

Elaborarea prezentului ghid are ca scop desfășurarea unitară a activității de prelevare a probelor de alimente conform responsabilităților ce revin Ministerului Sănătății, în cadrul controalelor oficiale desfășurate de către inspectorii sanitari ai

Serviciilor de Control în Sănătate Publică din cadrul Direcțiilor de Sănătate Publică județene și a municipiului București, în vederea examinării lor microbiologice în conformitate cu Regulamentul (CE) nr. 2073 / 2005.

DEFINIȚII

Proba - un set compus din una sau mai multe unități sau o porțiune de materie selectată prin diferite mijloace dintr-o populație sau dintr-o cantitate importantă de materie care este destinată pentru a obține informații despre un anumit caracter dat din populația studiată și să ofere o bază pentru deciziile privind populația sau materia în discuție sau în ceea ce privește procesul care a produs-o; (Articolul 2(j) al Regulamentului (CE) nr. 2073/2005);

Unitatea de probă - un obiect (o porțiune de materie) concret sau convențional pe care se pot face o serie de observații și care este prelevat o dată dintr-o cantitate mai mare de materie pentru a forma o probă; (CAC/GL 50-2004);

Probă reprezentativă – o probă în care toate caracteristicile lotului din care s-a extras sunt menținute. Acesta este cazul unei probe simple luate la întâmplare unde fiecărui articol sau produs al lotului i s-a dat aceeași probabilitate de a forma proba (Articolul 2(k) al Regulamentului (CE) nr. 2073/2005);

Criteriu microbiologic – criteriul ce definește acceptabilitatea unui produs sau a unui lot de alimente, bazat pe absența, prezența sau numărul de microorganisme, inclusiv paraziți și/sau cantitatea de toxine/metaboliți pe unitate/unități de masă , volum, suprafață sau lot (Articolul 2(b) al Regulamentului (CE) nr. 2073/2005);

Microorganisme – sunt bacterii, virusuri, drojdii, mucegaiuri, alge, protozoare parazitice, helminți , paraziți microscopici și toxinele și metaboliții acestora (Articolul 2(a) al Regulamentului (CE) nr. 2073/2005);

Microorganisme aerobe – se dezvoltă în prezența oxigenului;

Microorganisme psihrofile - care se dezvoltă optim în condiții de temperaturi scăzute și își desfășoară procesele vitale la frig;

PROCEDURA

În cadrul acțiunilor de control oficial (tematic, planificat, de necesitate, la solicitări /sesizări sau de recontrol) desfășurate de către inspectorii sanitari, se impune, după caz, prelevarea de probe de alimente (care sunt în responsabilitatea Ministerului

Sănătății), în vederea analizării lor din punct de vedere microbiologic pentru a demonstra conformitatea cu reglementările în vigoare.

În acest sens se parcurg mai multe etape:

A.Etapa de pregătire:

- stabilirea de principiu a obiectivului pentru care se prelevează probele de alimente ;
- stabilirea planului de prelevare și implicit a tipului de aliment și numărul de unități de probă care urmează a fi prelevate ;
- identificarea și contactarea laboratorului, din lista laboratoarelor acreditate, respectiv acreditate și desemnate de către Ministerul Sănătății pentru efectuarea controlului oficial al alimentului, unde urmează să fie trimise probele ;
- pregătirea recipientelor (dacă este cazul - de prelevare și/sau de transport) pentru prelevarea probelor și contraprobelor, instrumentelor (de măsurare, de prelevare) și materialelor (de protecție, etichetare, sigilare) necesare ;
- pregătirea formularelor necesare (proces-verbal de constatare, proces-verbal de recoltare a probelor de produse alimentare pentru examene de laborator– vezi Anexa (corelată cu Anexa 7 din Ordin.... MS 2017), raport de inspecție).

Planul de prelevare

Prelevarea de probe alimentare de către autoritățile competente în cadrul controalelor oficiale are ca scop verificarea conformității cu criteriile stabilite în Regulamentul (CE) nr. 2073/2005.

În cadrul controalelor oficiale efectuate de inspecția sanitară de stat, în care a fost identificată necesitatea de prelevarea de probe alimentare, strategia de recoltare trebuie bine planificată astfel încât planurile de prelevare să asigure obținerea de informații corecte și valide privind loturile de produse alimentare examinate. Din punct de vedere microbiologic, cele mai frecvent utilizate sunt planurile de prelevare cu două și trei clase de caracteristici, aceasta implicând recoltarea de unități de probă în număr mai mare (stabilirea numărului de unități se face în concordanță cu Regulamentul CE nr. 2073/2005).

Conform ghidului privind controalele oficiale elaborat în conformitate cu Regulamentul (CE) nr. 882/2004, la nivelul de vânzare cu amănuntul **pot fi** prelevate probe reprezentative, individuale, aleatorii **doar în contextul** unui program de monitorizare (conform Articolului 2 la Regulamentul nr.882/2004” prin monitorizare se înțelege efectuarea unei serii planificate de observații și măsurători concepute pentru verificarea nivelului de conformitate cu legislația privind hrana pentru animale și produse alimentare și cu dispozițiile privind sănătatea animală și bunăstarea animalelor”) și supraveghere („prin supraveghere

se înțelege observarea cu atenție a unuia sau mai multor întreprinderi din sectorul hranei pentru animale și din sectorul alimentar, animală unuia sau mai multor operatori din acest sector sau a activităților acestora”) și dacă distribuția agentului microbiologic căutat este omogenă în masa produsului (exemplu: alimentele solide nu pot asigura o distribuție omogenă a microorganismului).

Stabilirea planului de prelevare se face în funcție de:

- riscul de pericol pentru sănătate asociat cu tipurile de microorganisme posibil prezente,
- tratamentul (fierbere, congelare, etc.) aplicat produselor alimentare înainte de consum.

Atunci când se alege tipul planului de prelevare, trebuie luate în considerare o serie de aspecte: factori microbiologici, epidemiologici și ecologici, precum și probabilitatea de acceptare sau respingere a lotului, în plus, ar trebui să fie luate în considerare și costul de analiză, personalul și echipamentele.

În aceste planuri de prelevare, dimensiunea lotului nu este luată în considerare, deoarece se consideră a fi foarte mare.

Pentru examinările microbiologice, sunt utilizate pe scară largă planurile de prelevare cu două și trei clase de caracteristici care sunt incluse și în Regulamentul (CE) nr. 2073/2005.

1. Planul de prelevare cu două clase de caracteristici

Într-un plan de prelevare cu două clase, probele care urmează să fie examinate sunt împărțite în două categorii: acceptate și respinse, pe baza unei singure limite, m .

Un plan de două clase constă în urmărirea caracteristicilor: n , c , m
Unde:

n : numărul de unități extrase dintr-o probă care urmează să fie analizată,

c : numărul maxim acceptat de unități de probă care au valori peste valoarea m (c de obicei este 0),

m : valoarea limită care nu trebuie depășită.

Riscul pentru sănătate a microorganismului de interes, reprezentativ pentru consumator, determină strictețea planului de prelevare. Toxinele și microorganismele patogene reprezentând un pericol grav pentru consumator necesită planuri de prelevare mai stricte decât microorganismele mai inofensive. Cu cât este mai mare pericolul, cu atât este mai mare numărul de probe care urmează să fie testate și scade numărul de probe pozitive care pot fi acceptate.

În planurile de prelevare cu două clase de caracteristici, (c) este de obicei 0, adică nici un rezultat nu trebuie să depășească valoarea limită (m), prin urmare, aceste planuri sunt aplicate de obicei ca planuri de prelevare pentru microorganisme care reprezintă un risc mare pentru sănătate.

Influența tratamentului aplicat produsului alimentar înainte de consum este, de asemenea, de luat în considerare: dacă tratamentul aplicat va scădea, crește sau va fi fără efect asupra riscului de pericol pentru sănătate a consumatorilor.

În cazul în care este de așteptat ca stocarea și tratarea anterioară consumului unui produs alimentar să permită creșterea microorganismelor, există un risc crescut de pericol.

Atunci când tratamentul aplicat anterior consumului produselor alimentare scade riscul de pericol pentru sănătate, sunt necesare mai puține probe decât în cazul în care tratamentul aplicat anterior consumului (sau lipsa aplicării unui tratament) crește riscul de pericol pentru sănătate.

Pericol crescut - depozitare/ tratament, care să permită creșterea microorganismelor
- este necesar un plan strict de prelevare

Pericol nemodificat - depozitare / tratament, care este de așteptat să dea un număr neschimbat de microorganisme

Pericol scăzut - depozitare / tratament, care este de așteptat să reducă numărul de microorganisme, cum ar fi prepararea termică aplicată anterior consumului
- este necesar un plan de prelevare mai puțin strict

În tabelul 1 sunt prezentate planuri de prelevare cu două clase pentru două grupe de microorganisme:

- microorganisme unde răspândirea potențial extensivă în produsele alimentare este considerată a fi un pericol direct moderat pentru sănătate. Acestea sunt microorganisme care pot fi ușor răspândite de contaminare încrucișată și care va provoca boli prin prezența unui număr mic de microorganisme.
- microorganisme care prezintă în mod direct un pericol grav pentru sănătate.

Tabel 1- Planurile de prelevare cu două clase de caracteristici

Grupele de microorganisme ; Natura pericolului / categorii	Depozitarea/ Tratamentul aplicat produselor alimentare înainte de consum		
	Pericol scăzut	Pericol neschimbat	Pericol crescut
Micoorganisme cu răspândire	$n = 5, c = 0$	$n = 10, c = 0$	$n = 20, c = 0$

potențial extensivă în produsele alimentare ; Pericol direct moderat asupra sănătății			
Micoorganisme cu pericol sever direct asupra sănătății	$n = 15, c = 0$	$n = 30, c = 0$	$n = 60, c = 0$

Organismele care trebuie incluse în aceste două grupuri pot varia în funcție de factori medicali și epidemiologici.

În tabelul 2 sunt prezentate unele bacterii patogene sau toxigene pentru cele două grupuri de microorganisme indicate în tabelul 1.

Tabel 2. Bacterii patogene sau toxigene care produc toxiinfecții alimentare comune

Natura pericolului / categorii	Exemple de microorganisme
Pericol moderat, răspândire potențial extensivă în produsele alimentare *.	- E. coli patogen - Salmonella typhimurium și alte serotipuri de Salmonella, - Shigella flexneri, - sonnei și -boidii, grup Streptococcus A, C, G, B-hemolitic - Vibrio parahaemolyticus , *
Pericol sever direct asupra stării de sănătate	- Clostridium botulinum, - Listeria monocytogenes (grupuri de risc), - S. typhi, S. paratyphi, - Shigella dysenteriae 1, - Verotoxină producătoare de E. coli, - Vibrio tip colerae O 1,

* Campylobacter jejuni / coli nu este menționată în tabel, dar ar trebui să fie, probabil, considerată ca fiind cu pericol moderat cu răspândire potențial extensivă în produsele alimentare.

NOTĂ: NMKL PROCEDURE No.12(2014)

„ Acest tabel este parțial copiat din Specificații Microbiologice pentru alimente ale Comisiei Internaționale (ICMSF) „Microorganismele în produsele alimentare 2 - Prelevarea de probe pentru analize microbiologice: Principii și aplicații specifice“(1986), imprimare cu permisiunea de la ICMSF. ICMSF a publicat planurile de prelevare de probe pentru diferite tipuri de produse

alimentare, iar unele dintre acestea sunt adoptate de Codex, U.E. și de diferite regulamente guvernamentale și ghiduri.

U.E. a inclus planul de prelevare cu două clase (și trei-clase) în Regulamentul (CE) 2073/2005. ”

Ex. Pentru produsele destinate copiilor și a persoanelor cu nevoi medicale speciale : *Listeria monocytogenes* trebuie să fie absentă în 25 de grame, $n = 10$ și $c = 0$. Astfel *L. monocytogenes* nu trebuie să fie detectată în niciuna din probele examinate.

2. Planul de prelevare cu trei clase de caracteristici

Într-un plan de prelevare de trei clase, probele examinate sunt împărțite în trei categorii:

- acceptate
- acceptate la limită
- respinse

Un plan de prelevare de trei clase se aplică în cazul în care se acceptă ca unele probe să fie pozitive, atâta timp cât nu este depășit nivelul de contaminare de risc.

Un plan de prelevare de trei clase urmărește următoarele caracteristici: n , c , m și M
Unde :

n : numărul de unități extrase dintr-o probă care urmează să fie analizată

c : numărul maxim acceptat de unități de probă cu valori cuprinse între limita (m) și limita superioară (M). În cazul în care numărul de unități de probe respinse depășește (c), lotul este respins

m : valoarea limită care nu trebuie depășită

M : limita superioară, care nu trebuie depășită

În cazul în care toate rezultatele sunt mai mici decât (m), lotul este acceptat, ($x < m$ ⇒ acceptabil).

Dacă unul dintre rezultate este egal sau mai mare decât (M), lotul este respins, ($x \geq M$ ⇒ inacceptabil, lot respins).

Dacă rezultatul este între (m) și (M), rezultatul este acceptat la limită. În cazul în care numărul rezultatelor marginale depășesc (c), lotul trebuie să fie respins.

Valorile limită (m) și (M) sunt determinate în funcție de numărul de microorganisme care cauzează deteriorarea (gust sau miros modificate), indică condiții inacceptabile de igienă sau sunt legate de riscuri pentru sănătate, respectiv

în funcție de categoria de microorganisme de interes.

Planurile de prelevare cu trei clase se aplică prelevării de probe pentru microorganismele care pot fi incluse în următoarele trei categorii:

- Fără pericol direct asupra sănătății (alterarea și termenul de valabilitate)
- Pericol indirect scăzut pentru sănătate (microorganisme indicatoare)
- Pericol direct moderat pentru sănătate (răspândire limitată)

Microorganismele care pot fi clasificate în acest mod sunt prezentate în tabelul 3.

Tabelul 3: Exemple de microorganisme din diferite categorii

Natura pericolului / categorii	Exemple de microorganisme
Fără pericol direct asupra sănătății (alterarea și termenul de valabilitate)	Microorganisme aerobe Microorganisme psihrofile Bacterii producătoare de acid lactic Drojdii, mucegaiurile (cu excepția micotoxinei produsă de fungi)
Pericol indirect scăzut pentru sănătate (microorganisme indicatoare)	Bacterii coliforme Bacterii coliforme termotolerante Escherichia coli Enterococi
Pericol direct moderat pentru sănătate (răspândire limitată)	Bacillus cereus Clostridium perfringens Staphylococcus aureus Aeromonas hydrophila

Ca și în cazul planurilor de prelevare cu două clase, influența tratamentului aplicat ulterior trebuie luat în considerare în planurile de prelevare cu trei clase: dacă riscul de pericol pentru sănătatea consumatorului va fi scăzut, crescut sau rămâne nemodificat de tratamentul eventual aplicat.

Tabelul 4. Plan de prelevare cu trei clase de caracteristici

Grupele de microorganisme; Natura pericolului	Tratamentul aplicat anterior consumului de produse alimentare		
	Scăderea pericolului	Pericol neschimbat	Creșterea pericolului
Fără pericol direct asupra sănătății (alterarea și termenul de	$n = 5, c = 3$	$n = 5, c = 2$	$n = 5, c = 1$

valabilitate)			
Pericol indirect scăzut pentru sănătate (microorganisme indicatoare)	$n = 5, c = 3$	$n = 5, c = 2$	$n = 5, c = 1$
Pericol moderat direct asupra sănătății (răspîndire limitată)	$n = 5, c = 2$	$n = 5, c = 1$	$n = 10, c = 1$

După cum s-a menționat deja, ICMSF a publicat planurile de prelevare de probe pentru diferite tipuri de produse alimentare. UE a inclus planul de prelevare cu trei clase în Regulamentul Comisiei (CE) nr 2073/2005.

3. Planul de prelevare pentru apele minerale naturale îmbuteliate

În cazul apelor minerale naturale, care ca și celelalte produse alimentare ce revin în responsabilitatea MS, reglementările privind calitatea microbiologică sunt stipulate în Anexa I din “CODE OF HYGIENIC PRACTICE FOR COLLECTING, PROCESSING AND MARKETING OF NATURAL MINERAL WATERS (CAC/RCP 33-1985) “ transpuse în H.G. nr. 1020 din 01.09.2005 privind Normele tehnice din 1 septembrie 2005 de exploatare și comercializare a apelor minerale naturale, completate și modificate cu H.G. nr. 532 din 02.06.2010.

Producția de ape minerale naturale îmbuteliate în condiții de siguranță microbiologică depinde de menținerea unui nivel ridicat de control igienic - de la protecția acviferului, la extracție și până la ambalare.

În tabelul de mai jos sunt date criteriile microbiologice destinate verificării eficacității măsurilor de control al igienei implementate.

Autoritățile competente pot utiliza toate sau un subset din următoarele criterii microbiologice, după caz, pentru a verifica eficacitatea :

- (a) programelor de igienă în mediul de procesare și
- (b) măsurilor de control în instalațiile care utilizează HACCP sau alte sisteme de control al siguranței alimentare.

Criteriile microbiologice se impun a fi aplicate în următoarele puncte : la sursă, pe parcursul lanțului de producție și la produsul final.

Parametrul microbiologic	n	c	m	Clasa	Metoda standardizată (ediția în vigoare)
E. coli (2)	5	0	n.d. în 250 ml	2	ISO 9308-1

Coliformi totali (2)	5	0	n.d. în 250 ml	2	ISO 9308-1
Enterococci (2)	5	0	n.d. în 250 ml	2	ISO 7899/-2
Bacterii anaerobe sulfite-reductoare care se înmulțesc prin spori (2)	5	0	n.d. în 50 ml	2	ISO 6461/-2
Pseudomonas aeruginosa (3)	5	0	n.d. în 250 ml	2	ISO 16266
Număr total de germeni aerobi formatori de colonii - (NTG) (1),(3)	5	0	<p><u>La 37°C:</u></p> <p>- 20 ufc/ml (în decurs de 12 ore după îmbuteliere)</p> <p>- 5 ufc/ml (la sursă)</p> <p><u>La 22°C:</u></p> <p>- 100 ufc/ml (în decurs de 12 ore după îmbuteliere)</p> <p>- 20 ufc/ml (la sursă)</p>	2	ISO 6222

(1) Punct de aplicare: numai la sursă, în timpul procesului de producției și în decurs de 12 ore după îmbuteliere.

(2) Indicatori fecali

(3) Indicator de control al procesului de producție

În care :

n = numărul de unități de probă care trebuie să respecte criteriile de calitate microbiologice

c = numărul maxim admisibil de unități de probă pozitive (microorganism detectat) dintr-un plan de două clase de caracteristici

m = limită microbiologică care, într-un plan de două clase, separă o calitate bună acceptabilă de la o calitate proastă (neacceptabilă).

n.d. = nu poate fi detectat

Argumentarea parametrilor aleși:

E coli

E. coli este considerat unul dintre cei mai potriviți indicatori ai contaminării fecale.

Coliformii totali

Coliformii pot proveni din contaminarea fecală sau din mediul înconjurător.

Coliformii care pot apărea în mod natural în sol, apă și vegetație, indică o posibilă contaminare din surse provenind din aer sau din suprafețele de contact ale produsului care nu au fost dezinfectate în mod eficient. Coliformii nu sunt în mod

normal prezenți în sursele de apă minerală naturală. Prin urmare, ele sunt considerate ca un indicator al contaminării apei la sursă sau în timpul procesului de îmbuteliere.

Enterococci

Enterococci sunt un subgrup de streptococi fecali. În comparație cu E. coli și coliformii, ei tind să supraviețuiască mai mult în mediul acvatic și sunt, prin urmare, utilizați ca un indicator suplimentar al contaminării fecale.

Bacteriile anaerobe sulfito-reducătoare care formează spori

Sporii acestui grup de bacterii sunt foarte rezistenți la diferite tipuri de stres ecologic.

Bacteriile anaerobe sulfito-reducătoare care formează spori pot proveni din contaminarea fecală și din cauza supraviețuirii lor îndelungate în medii nefavorabile, acestea sunt de obicei utilizate ca un indicator al contaminării fecale.

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa nu este o componentă normală a florei naturale a apelor minerale naturale. Când este detectat, este de obicei în număr scăzut, dar Pseudomonas aeruginosa poate supraviețui și crește în apele minerale naturale. Prin urmare, prezența sa este considerată ca un indicator al contaminării apei la sursă sau în timpul procesului de îmbuteliere.

Numărul total de germeni aerobi mezofili formatori de colonii (NTG)

Conținutul de germeni aerobi mezofili face parte din flora naturală a apelor minerale naturale și este utilizat ca indicator de gestionare a procesului de îmbuteliere. O creștere limitată a numărului este normală de la sursă la îmbuteliere. Valorile care cresc peste un anumit nivel pot indica o deteriorare a gradului de curățenie, stagnare sau dezvoltarea biofilmului.

B. Etapa de prelevare (prelevarea în vederea efectuării determinărilor microbiologice a probelor de alimente care sunt în responsabilitatea MS (aditivi alimentari, arome, enzime, coloranți, ape minerale naturale îmbuteliate, suplimente alimentare, alimente la care s-au adăugat vitamine, minerale și alte substanțe, alimente cu destinație nutrițională specială, alimente noi, sare iodată).

În funcție de cerințele care stau la baza acțiunii de control se stabilește locul din unitatea verificată de unde se prelevează probele astfel încât să fie atinse toate obiectivele cerute (condițiile de depozitare, verificarea punctelor critice din procesul de producție, etc.).

1. Prelevarea probelor de produse alimentare ambalate individual

Produsele ambalate individual, se prelevează în ambalajul final, nedeschis pentru a evita contaminarea din mediu sau de alte persoane.

Numărul de unități de probă $-n-$ este în funcție de planul de prelevare stabilit (în conformitate cu Regulamentul Comisiei (CE) NR.2073/2005 cu privire la criteriile microbiologice pentru produsele alimentare) iar cantitatea de produs pe fiecare unitate prelevată trebuie să aibă cel puțin 200 gr / ml .

Pentru apele minerale îmbuteliate, dacă nu există alte cerințe specificate în acțiunea care stă la baza controlului se prelevează un număr $-n-$ de unități de probă în ambalaj original, fiecare având un volum minim de 250 ml x numărul de parametri microbiologici (parametrul NTG nu se ia în calcul) solicitați (în jur de 1500 ml dacă se solicită toți parametrii).

Fiecare unitate de probă se identifică clar și se etichetează. Se completează formularele aferente. Probele vor fi apoi sigilate și trimise la laborator.

2. Prelevarea probelor de produse alimentare ambalate în ambalaje mari sau vrac.

În cazul în care probele nu sunt prelevate în ambalajul lor final, pentru determinările microbiologice, recoltarea se face prin tehnici aseptice de prelevare folosind numai instrumente **sterile**, atât la deschiderea ambalajului cât și la prelevarea propriu- zisă, astfel încât manevra de prelevare să nu influențeze în nici un fel rezultatele determinărilor.

Dacă se impune recoltarea de probe pentru determinări diferite (chimice, senzoriale, etc.), proba pentru determinări microbiologice se prelevează prima.

O eșantionare secundară nu este recomandată deoarece în cazul determinărilor microbiologice crește riscul de contaminare.

Materialele necesare la prelevarea și transportul probelor sunt:

- echipamentele de protecție (mănuși sterile nepudrate, echipament de protecție de unică folosință - halate, acoperitori de încălțăminte, capeline și mănuși) – în special în spațiile de producție
- instrumentele de prelevare curate și sterile (foarfeci, bisturie, spatule, linguri, sonde, pipete, tamponane, recipiente corespunzători, etc.)
- instrumente de măsurat temperatura și umiditatea etalonate
- recipiente sau geantă frigorifică cu pastile de răcire, acolo unde se impune

Pentru prelevarea în vederea efectuării de determinări microbiologice instrumentele de prelevare, recipientele și capacele folosite trebuie să fie curate, uscate și sterile (ex. recipiente din material plastic de unică folosință sterile, pungi din plastic sterile cu un sistem de închidere adecvat, sticle cu dop din sticlă sau din plastic sterile) sau din materiale adecvate pentru sterilizare prin următoarele metode:

- sterilizare cu aer cald, la 170 °C...175 °C, timp de cel puțin 2 ore
- sterilizare cu vapori, la 121 °C ± 1°C, timp de cel puțin 20 minute, într-o autoclavă

După sterilizare echipamentul trebuie păstrat, până la utilizare, în condiții sterile.

Forma și capacitatea recipientelor trebuie să fie adaptate condițiilor particulare ale produsului de prelevat (recipientele pentru probe solide, semisolide sau vâscoase trebuie să aibă gât larg,) iar proba nu trebuie să ocupe mai mult de $\frac{3}{4}$ din volumul recipientului pentru a evita deversarea și pentru a permite omogenizarea corectă a probei în laborator înainte de analiză.

Recipientele nu trebuie închise cu dopuri de plută sau capsule cu interiorul de plută, chiar dacă sunt prevăzute cu garnituri.

Recipientul de prelevare steril se deschide, doar pentru un timp scurt necesar pentru transferul probei, după care se închide imediat.

Recipientul se identifică clar și se etichetează complet cu informații despre probă, se completează formularele aferente, se sigilează și se trimite la laborator în cel mai scurt timp posibil.

Numărul de unități de probă – n – este în funcție de planul de prelevare stabilit, iar cantitatea de produs pe fiecare unitate prelevată trebuie să aibă cel puțin de 200 gr / ml.

În cazul determinărilor microbiologice, este utilă temperatura din momentul prelevării pentru interpretarea rezultatelor.

Măsurarea temperaturii NU se face pe probele extrase pentru analiză, întrucât există riscul de contaminare de aceea este util să se preleveze o unitate de probă suplimentară pentru controlul temperaturii.

Instrumentul de măsurare folosit -termometrul- trebuie să fie etalonat și capabil să măsoare temperaturi între : - 30 °C și + 100 °C cu o acuratețe de ± 1°C.

3. Conservarea probelor

În mod normal, nu trebuie adăugați conservanți în probele prelevate în vederea efectuării determinărilor microbiologice.

Conservanții pot fi adăugați doar dacă laboratorul de analiză a emis o instrucțiune în acest scop, iar în procesul verbal de prelevare sunt trecute natura și cantitatea conservantului, care de altfel se trec și pe etichetă.

4. Depozitarea și transportul probelor

Depozitarea și expedierea probelor trebuie astfel realizate, încât starea acestora, din momentul prelevării să nu fie afectată prea mult.

Pe timpul transportului la laborator a probelor prelevate trebuie asigurate condiții de păstrare cât mai aproape posibil de starea de depozitare originală pentru a reduce la minim orice alterare a numărului de microorganisme prezente, de asemenea timpul de expediere să fie redus la minim, de preferință pînă în 24 ore, în lipsa altor instrucțiuni date de laboratorul care primește probele.

Proba trebuie ambalată astfel încât să se evite spargerea sau împrăștierea conținutului. Dacă este necesară refrigerarea, acest lucru, se va specifica pe eticheta produsului, iar pastila de răcire / gheața nu trebuie să vină în contact direct cu proba deoarece poate provoca înghețarea produsului ceea ce poate duce la modificarea numărului de microorganisme.

Dacă nu există alte specificații, în timpul transportului, se recomandă următoarele temperaturi:

- produse stabile: temperatura ambiantă (sub 40 °C)
- produse înghețate sau congelate : sub -15 °C, de preferat sub -18 C
- alte produse instabile la temperatura ambiantă : 1°C pînă la 8°C

Antetul institutiei care preleveaza

PROCES VERBAL DE RECOLTARE A PROBELOR DE PRODUSE ALIMENTARE
PENTRU EXAMEN DE LABORATOR

Nr.....Data.....Ora.....

Subsemnatul, având calitatea de..... în cadrul, însoțit de..... având calitatea de, la..... ne-am prezentat astăzi,....., ora....., la unitatea din....., aparținând, cu sediul în în prezența....., în calitate de.....și, în conformitate cu prevederile Legii nr. 95 din aprilie 2006, privind reforma în domeniul sănătății, republicată, cu modificările și completările ulterioare, am procedat la recoltarea următoarelor probe (produse alimentare) în vederea efectuării de analize de laborator, conform cererii nr.....

Nr. unitate proba / cod laborator	Denumirea probei	Cod lot / data expirarii	Cantitate recoltată	Stocul	Examinare de laborator (se enumeră parametrii solicitați)	Observatii (locul de prelevare, conservant, depozitare, temperatura, etc.)

Probele au fost ambalate și sigilate cu sigiliul nr.....conform instrucțiunilor în vigoare, și se vor expedia imediat la laboratorul (denumire, adresa)....., prin grija.....

Contraprobe identice, sigilate cu sigiliul nr.se păstrează la asigurându-se păstrarea lor corespunzătoare sub responsabilitatea care îndeplinește funcția de,având actul de identitate CI seria..... nr....., eliberat de.....la data.....

Până la sosirea rezultatelor examenelor de laborator, stocurile din care s-au recoltat probele menționate mai sus se vor supune următoarelor restricții:

Prezentul proces verbal s-aîncheiat în 4 exemplare, dintre care

- 2 exemplare însoțesc probele la laborator.....,
- 1 exemplar rămâne la reprezentanții DSP a,
- 1 exemplar se lasă la unitatea controlată.....,

REPREZENTANT
D.S.P.

.....

REPREZENTANT
Unitate controlată

.....

BIBLIOGRAFIE

1. Regulamentul Comisiei (CE) Nr. 2073/2005 cu privire la criteriile microbiologice pentru produsele alimentare
2. Ordinul 1078 din 27 iulie 2010 privind aprobarea regulamentului de organizare și funcționare a structurii organizatorice ale direcțiilor de sănătate publică județene și a municipiului București
3. NMKL procedure no.12 (2014) - guide on sampling for analysis of foods
4. General guidelines on sampling (CAC/GL 50-2004)
5. Code of hygienic practice for collecting, processing and marketing of natural mineral waters (CAC/RCP 33-1985)
6. Guidance document on official controls, under Regulation (EC) No 882/2004, concerning microbiological sampling and testing of foodstuffs , Brussels, 13 November 2006
7. SR EN ISO 7218:2009 – Microbiologia alimentelor și furajelor. Cerințe generale și ghid pentru examenele microbiologice.
8. SR EN ISO 707: 2000 – Lapte și produse lactate. Ghid pentru eșantionare
9. SR 13462-3: 2002 - Igiena agroalimentară - Pricipii de stabilire a criteriilor microbiologice pentru alimente

CUPRINS

Pagina

Introducere	2
Scop	3
Definiții	4
Procedură	4
A.Etapa de pregătire	5
Planul de prelevare	5
1. Planul de prelevare cu două clase de caracteristici	6
2. Planul de prelevare cu trei clase de caracteristici	9
3. Planul de prelevare pentru apele minerale naturale îmbuteliate	11
B. Etapa de prelevare	13
1. Prelevarea probelor de produse alimentare ambalate individual	14
2. Prelevarea probelor de produse alimentare ambalate în ambalaje mari sau vrac.	14
3. Conservarea probelor	15
4. Depozitarea și transportul probelor	16
ANEXA (Proces verbal de recoltare a probelor din produse alimentare pentru examine de laborator)	17
Bibliografie	18