



PROCEDURA SPECIFICA

PRELEVAREA PROBELOR DIN MEDIU
PENTRU DETECTAREA *LISTERIEI MONOCYTOGENES*

COD: PS-15-DSAON

Ediția: 1

Revizia: 0

Pagina: 1 din 16

Prelevarea probelor din mediu pentru detectarea *Listeriei monocytogenes*

	Elaborat	Verificat	Avizat	Aprobat
Nume:	1. Liliana Amariței 2. Iuliana Mihai	1. Cristian Duicu 2. Monica Neagu 3. Georgeta Popovici	Stelian Caramitru	Alexandru Nicolae Bociu
Funcția:	1. Consilier DSAON 2. Șef serviciu microbiologie IISPV	1. Director General DGSA 2. Director DSAON 3. Responsabil SCIM	Președinte Comisie monitorizare	Președinte ANSVSA
Data:	18.03.2022	21.03.2022	22.03.2022	24.03.2022
Semnătura:	1. 2.	1. 2. 3.		





PROCEDURA SPECIFICA

PRELEVAREA PROBELOR DIN MEDIU
PENTRU DETECTAREA *LISTERIEI MONOCYTOGENES*

COD: PS-15-DSAON

Ediția: 1

Revizia: 0

Pagina: 2 din 16



CUPRINS

1. Scop	3
2. Domeniu de aplicare	3
3. Documente de referință	3
4. Definiții și abrevieri	4
5. Descriere procedură	4
6. Responsabilități	15
7. Evidența modificărilor	16
8. Formular analiză procedură (după caz)	16
9. Lista de difuzare	16
10. Anexe și înregistrări (inclusiv Diagrama de proces)	16



1. SCOP

Procedura are ca scop stabilirea modului de organizare și desfășurare a activităților de prelevare, transport și păstrare/depozitare a probelor recoltate din mediu și de pe echipamente din unitățile de procesare a alimentelor în vederea detecției prezenței *L. monocytogenes*.

2. DOMENIU DE APLICARE

Procedura se aplică în cadrul activității de control oficial realizată de inspectorii desemnați ai DSVSA județene și a municipiului București în unitățile de producere a alimentelor gata de consum.

Procedura facilitează înțelegerea și aplicarea de către inspectorii oficiali ai ANSVSA/DSVSA a prevederilor legislației specifice domeniului microbiologic și asigură desfășurarea în mod unitar a prelevării probelor în cadrul controalelor oficiale și interpretarea rezultatelor analizelor microbiologice.

3. DOCUMENTE DE REFERINȚĂ

- Regulamentul (CE) nr. 178/2002 de stabilire a principiilor și cerințelor generale ale legislației în domeniul alimentelor, de înființare a Autorității Europene pentru Siguranța Alimentelor și de stabilire a procedurilor în domeniul siguranței alimentelor, cu amendamentele ulterioare;
- Regulamentul (CE) nr. 625/2017 privind controalele oficiale și alte activități oficiale efectuate pentru a asigura aplicarea legislației privind alimentele și furajele, a normelor privind sănătatea și bunăstarea animalelor, sănătatea plantelor și produsele de protecție a plantelor, de modificare a Regulamentelor (CE) nr. 999/2001, (CE) nr. 396/2005, (CE) nr. 1069/2009, (CE) nr. 1107/2009, (UE) nr. 1151/2012, (UE) nr. 652/2014, (UE) 2016/429 și (UE) 2016/2031 ale Parlamentului European și ale Consiliului, a Regulamentelor (CE) nr. 1/2005 și (CE) nr. 1099/2009 ale Consiliului și a Directivelor 98/58/CE, 1999/74/CE, 2007/43/CE, 2008/119/CE și 2008/120/CE ale Consiliului și de abrogare a Regulamentelor (CE) nr. 854/2004 și (CE) nr. 882/2004 ale Parlamentului European și ale Consiliului, precum și a Directivelor 89/608/CEE, 89/662/CEE, 90/425/CEE, 91/496/CEE, 96/23/CE, 96/93/CE și 97/78/CE ale Consiliului și a Deciziei 92/438/CEE a Consiliului (Regulamentul privind controalele oficiale), cu amendamentele ulterioare;
- Regulamentul (CE) nr. 2073/2005 privind criteriile microbiologice pentru alimente, cu amendamentele ulterioare;
- Regulamentul (CE) nr. 852/2004 cu privire la igiena produselor alimentare, cu amendamentele ulterioare;
- CAC/GL 50-2004 - General Guidelines on Sampling;
- European Commission - Health and Consumer Protection Directorate General - Guidance Document on official controls, under Regulation (EC) No 882/2004, concerning microbiological sampling and testing of foodstuffs;
- ISO 18593: Microbiologia alimentelor și hranei pentru animale - metode orizontale privind tehnicile de prelevare de pe suprafețe folosind plăci de contact și tamponuri;
- ISO 7218: Microbiologia alimentelor și hranei pentru animale - Reguli generale pentru examene microbiologice;
- ISO 6887-1: Microbiologia alimentelor și a furajelor pentru animale. Pregătirea probelor de testare, suspensia inițială și diluțiile zecimale pentru examinarea microbiologică. Partea 1: Reguli generale pentru pregătirea suspensiei inițiale și a diluțiilor zecimale;
- ISO 11290-1: Microbiologia alimentelor și furajelor pentru animale. Metodă orizontală pentru detectarea și enumerarea *Listeria monocytogenes*. Partea 1: Metoda de detectare;



- ISO 11133: Microbiologia alimentelor și hranei pentru animale - Liniile directoare privind pregătirea și producerea mediilor de cultură;
- EURL și ANSES - Liniile directoare privind prelevarea zonei de procesare a alimentelor și a echipamentelor pentru detectarea *Listeria monocytogenes* - Version 3 - 20/08/2012;
- *Listeria monocytogenes* environmental sampling program in ready-to-eat processing facilities: A practical approach, C. Spanu și K. Jordan.

4. DEFINIȚII și ABREVIERI

4.1. Definiții

Prezenta procedură utilizează termenii definiți de documentele de referință indicate și în legislația aplicabilă domeniului de activitate al ANSVSA.

- *Risc* - probabilitatea apariției unui efect nociv pentru sănătate, precum și severitatea acestui efect, ca urmare a expunerii la un pericol; Articolul 3(9) al Regulamentului (CE) nr. 178/2002;
- *Prelevarea* - procedura utilizată pentru obținerea sau constituirea unei probe.

4.2 Abrevieri

- ANSVSA - Autoritatea Națională Sanitară Veterinară și pentru Siguranța Alimentelor
DSAON - Direcția Siguranța Alimentelor de Origine Nonanimală
DSVSA - Direcția Sanitară Veterinară și pentru Siguranța Alimentelor
EN - Standard european
ISO - Organizația Internațională pentru Standardizare
HACCP - Hazard Analysis Critical Control Points (Analiza pericolelor. Puncte critice de control)
ODA - Operator din domeniul alimentar
R (CE) - Regulament al Comisiei Europene

5. DESCRIERE PROCEDURĂ

5.1. Considerații generale

Alimentele gata de consum pot fi contaminate în timpul prelucrării cu diferite subtipuri de *Listeria monocytogenes* care persistă în unitățile de prelucrare/procesare.

Pentru prelevarea probelor din zonele de procesare și de pe echipamente în vederea determinării prezenței *L. monocytogenes* este necesară și obligatorie utilizarea unei scheme de prelevare, în conformitate cu prevederile R (CE) 2073/2005 privind criteriile microbiologice pentru alimente. Astfel de scheme de prelevare au ca scop detectarea și eliminarea unei tulpini persistente sau, dacă eliminarea este imposibilă, implementarea unor acțiuni corective pentru a evita contaminarea alimentelor cu bacterii patogene.

Standardul internațional ISO 18593, care descrie metodele de prelevare a probelor de pe suprafețe pentru detectarea sau numărarea microorganismelor viabile, nu oferă suficiente îndrumări sau sfaturi specifice detectării *L. monocytogenes*.

Metodele de prelevare a probelor prin ștergere (metoda cu tampon și metoda cu burete/pânză) sunt singurele metode adecvate de utilizat pentru *L. monocytogenes*. Standardul ISO nu descrie când trebuie efectuată prelevarea sau din ce zone.



Prezenta procedură își propune să compenseze această lipsă la punerea în aplicare a articolului 5.2 din R (CE) 2073/2005.

Procedura nu abordează modul de numărare a *L. monocytogenes* de pe suprafețe din următoarele motive:

- tamponul nu detașează toate celulele bacteriene și proporția celulelor detașate este necunoscută și variabilă;
- celulele de *L. monocytogenes* nu sunt distribuite uniform pe o suprafață și compararea rezultatelor din zone mari și mici ar fi, așadar, nevalide.

După prelevare, analizarea probei se realizează în conformitate cu EN ISO 11290-1.

5.2. Scopul prelevării. Prelevarea în controlul oficial

Prelevarea probelor de mediu pentru determinarea *L. monocytogenes* se realizează pentru:

- a verifica eficacitatea programelor de control pentru *L. Monocytogenes* a ODA,
- a determina prevalența și sursa *L. monocytogenes* în mediul de procesare,
- a evalua eficacitatea acțiunilor corective în eliminarea *L. monocytogenes* din mediu,
- a investiga unele situații suspecte de toxiinfecții alimentare
- a identifica cauzele apariției neconformităților.

În cazul în care obiectivul este verificarea eficacității curățării și dezinfectării, probele trebuie prelevate de pe suprafețele curățate înainte de operațiunile de pornire a procesului.

În cazul în care obiectivul este determinarea prevalenței sau a sursei de *L. monocytogenes*, probele trebuie prelevate în timpul procesului de producție, înainte de curățenie și dezinfecție.

Frecvența prelevării probelor, locul de prelevare și parametrii care se determină prin analize de laborator din probele de mediu prelevate sunt prevăzute în „Programul de supraveghere și control în domeniul siguranței alimentelor”.

5.3. Alegerea locului de prelevare

L. monocytogenes poate fi găsită pe suprafețe curate vizual, dar cel mai frecvent se găsește în locuri umede și murdare în care bacteria este capabilă să crească și să persiste.

Posibilele locuri de adăpostire/supraviețuire care trebuie verificate sunt spațiile greu accesibile, cum ar fi găuri sau crăpături în materiale fibroase, poroase, ruginite și goale, precum și echipamentele greu de curățat.

Zonele inaccesibile în care se pot aduna resturi alimentare trebuie abordate după demontarea echipamentului de către echipa de întreținere, utilizând tehnica de ștergere pentru detașarea microorganismelor de pe suprafețe.

Prelevarea de probe trebuie făcută cel mai frecvent din zonele în care produsul alimentar este expus la contaminare; mai rar, se pot preleva probe și din zonele în care nu este posibilă contaminarea (zone de depozitare).

Alegerea locului de prelevare se face în funcție de datele istorice ale fiecărei unități de procesare și după o examinare pas cu pas a procesului tehnologic.



Posibile locuri de prelevare:

- **Suprafețe care nu intră în contact cu produsele alimentare:** drenuri, pardoseli, bazine de apă poziționate pe podea, instrumente de curățare, zone de spălare, echipamente de cântărit poziționate în podea, furtunuri, role pentru transportoare, benzi transportoare, cadre pentru echipamente, panoul intern al echipamentului, tăvi pentru colectarea condensului, stivuitoare, platforme manuale, cărucioare, roți pentru cărucioare, coșuri de gunoi, congelatoare, aparate de fabricat gheață, aripioare de răcire în condensatoare, șorțuri, pereți, tavane, zone reci unde apa se condensează (izolații umede în pereți sau în jurul conductelor și unităților de răcire), garnituri de cauciuc în jurul ușilor, în special la frigidere, conținutul aspiratoarelor, mânerul ușilor, robinetele.
- **Suprafețe care vin în contact cu produsele alimentare:** benzi transportoare, feliatoare, tocătoare, instrumentar pentru tăiat sub formă de cuburi, coșuri, pâlnii, blendere, mixere, concasoare, echipamente pentru decojire, echipamente pentru sortare, echipamente de umplere și ambalare, containere, recipiente, alte ustensile, mănuși de unică folosință.

5.4. Activități preliminare. Pregătirea prelevării

Prelevarea probelor din mediu este precedată de activități pregătitoare pentru asigurarea cu:

- documentele necesare: Procesul verbal de prelevare, Cererea de analiză, Eticheta probei;
- echipamentul individual de protecție;
- echipamentele și instrumentele sterile pentru prelevare;
- recipiente pentru transportul probelor;
- echipamente de măsură și control (termometru);
- ladă frigorifică - ambalaj pentru transportul probelor, care să asigure temperatura de conservare a acestora până la laboratorul de destinație, precum și condiții de transport pentru ca proba să nu fie deteriorată, iar sigiliul să rămână intact.

Prelevarea probelor în cadrul controlului oficial este realizată în mod obligatoriu de inspectorul oficial, în prezența operatorului sau a unui reprezentant legal al acestuia (un martor).

5.5. Alegerea momentului în care se realizează prelevarea

Detectarea *L. monocytogenes* poate fi dificilă dacă probele sunt prelevate imediat sau la scurt timp după activitățile de curățenie și dezinfecție. Din cauza stresului produs de agenții chimici utilizați pentru curățare și dezinfecție, celulele bacteriene pot fi încă vii, dar necultivabile, deci nu sunt atât de ușor de detectat. De asemenea, celulele rămase în locurile de refugiu, în ciuda operațiunilor de curățenie și dezinfecție, pot fi nedetectate. Ele sunt mai accesibile prelevării de probe în timpul procesării deoarece sunt dislocate de echipamentele care vibrează și/sau pentru că alimentele și lichidele vin în contact cu locurile de adăpostire/supraviețuire.

Prin urmare, pentru a crește probabilitatea de a detecta o tulpină persistentă, prelevarea trebuie efectuată în timpul procesării, după cel puțin două ore de producție sau la sfârșitul ciclurilor de producție, adică înainte de curățenie și dezinfecție.

În liniile de producție în care alimentele sunt fabricate din produse neprelucrate care nu au fost supuse unui tratament care să reducă nivelul microorganismelor, *L. monocytogenes* detectată într-o probă de sanitație prelevată de pe suprafețe, în timpul procesului de prelucrare, poate proveni atât din aceste produse neprelucrate, precum și din locurile în care celulele *L. monocytogenes* pot persista în mediul de procesare a alimentelor.



În unitățile în care sunt prelucrate produse pasteurizate sau materii prime care nu sunt în mod frecvent contaminate, prezența *L. monocytogenes* într-o probă de suprafață trebuie investigată ca o *L. monocytogenes* persistentă.

Când produsele alimentare intrate în unitățile de prelucrare sunt crude sau au fost tratate pentru a se reduce încărcătura microbiană (prin pasteurizare, microfiltrare etc.), ODA trebuie să stabilească, ca parte a planului lor HACCP, un număr acceptabil de probe pozitive pentru detectarea *L. monocytogenes*, în mod diferențiat pentru suprafețele care vin în contact cu alimentele și pentru suprafețele care nu vin în contact cu alimentele. Când acesta număr acceptabil de probe pozitive e depășit, acțiunile corective trebuie puse în aplicare, conform planului HACCP întocmit.

Numărul acceptabil de probe pozitive este zero atunci când produsele alimentare care intră în unitățile de prelucrare au fost tratate pentru a reduce încărcătura microbiană.

Când sunt procesate alimente crude, suplimentar față de prelevarea efectuată în timpul prelucrării poate fi efectuată prelevarea după curățare și dezinfectare sau la începutul producției. Totuși, acest lucru poate duce la un fals sentiment de securitate.

În schimb, detectarea *L. monocytogenes* pe suprafețele în contact cu alimentele după curățare și dezinfectare indică un eșec grav în procedurile de desfășurare a acestor operații.

În cazul în care prelevările nu se efectuează zilnic, acestea nu trebuie realizate întotdeauna în aceeași zi a săptămânii. Este indicat ca probele să fie luate după acțiuni de întreținere a echipamentelor, după reparații ale acestora, reparații ale construcției, precum și după o producție sporită, deoarece acestea pot crește riscul contaminării cu *L. monocytogenes*.

5.6. Diluanți utilizați pentru a umezi dispozitivele de prelevare prin ștergere

5.6.1. Diluanți simpli

În zonele ușor accesibile din care sunt prelevate probe în timpul sau la sfârșitul prelucrării/procesării, se utilizează diluanți simpli care nu conțin neutralizator pentru umezirea tamponelor cu tijă și a celorlalte tipuri de dispozitive utilizate pentru recoltare (cârpe, comprese sterile).

Diluanții recomandați sunt: soluție de peptonă 1 g/1000 ml, soluție salină peptonată sau soluție Ringier diluție 1/4, distribuită în tuburi sau sticle și sterilizată timp de 15 minute la 121°C.

Nu se recomandă utilizarea diluanților tamponați cu fosfat pentru celulele stresate de condițiile ostile ale spațiilor de procesare a alimentelor (sare, acid, produse de curățare și dezinfectare etc.), deoarece pot avea un impact dăunător asupra capacității de a le cultiva.

Este recomandat să nu se utilizeze un diluant neutralizant atunci când nu se așteaptă apariția unor reziduuri de dezinfectanți. Un neutralizant utilizat pentru a stopa acțiunea dezinfectantului rezidual poate avea un ușor impact dăunător asupra celulelor bacteriene și un astfel de impact poate fi mai mare atunci când celulele sunt stresate.

În locul unui diluant nu se utilizează bulionul Fraser sau semi-Fraser, deoarece acestea pot favoriza creșterea *L. monocytogenes* în locul de procesare.

5.6.2. Diluanți neutralizanți

În toate zonele în care este posibilă prezența reziduurilor de dezinfectanți sau când se prelevează probe imediat după dezinfectie, trebuie folosiți diluanți de neutralizare pentru umezirea tamponelor cu tijă sau a altor dispozitive de prelevare a probelor.

Când se utilizează clor sau compuși care eliberează clor, se alege ca neutralizant tiosulfatul de sodiu. Pentru alte substanțe active sunt disponibili alți neutralizanți (a se vedea EN 1276, EN 1650,



EN 13697 și EN 13704), însă niciunul dintre ei nu este adecvat pentru toți dezinfectanții („universal”).

Un diluant de neutralizare care poate fi utilizat în majoritatea situațiilor este descris în tabelul 1. Acesta trebuie distribuit în tuburi sau sticle și sterilizat timp de 15 minute la 121°C.

Tabelul 1: Diluant de neutralizare care poate fi utilizat în majoritatea situațiilor (adaptat din ISO 18593)

Component	Concentrație
Monooleat de sorbitan (Polisorbat 80)	30 g/l
Lecitină	3 g/l
Tiosulfatul de sodiu	5 g/l
L-Histidină	1 g/l
Saponină	30 g/l
Peptone	1 g/l
Clorură de sodiu	8,5 g/l

5.7. Medii de cultură - conform standard EN ISO 11290-1.

5.8. Aparatură și sticlărie

Cerințe generale: standard EN ISO 7218.

Cerințe specifice *L. monocytogenes*: standard EN ISO 11290-1 cu amendamentele ulterioare.

Aparatură obișnuită pentru laboratoarele de microbiologie și, în special, următoarele:

Dispozitive de prelevare prin ștergere

(1) **Tampon cu tijă**, steril, cu vârf de bumbac sau material sintetic, ambalat individual într-un tub steril. Materialul utilizat trebuie să fie însoțit de documente care să ateste că nu are substanțe inhibitoare.



NOTĂ: Pentru anumite tipuri de suprafețe, reziduurile de bumbac pot contamina părțile interne ale acestor suprafețe după prelevare.

(2) **Burete, pânză țesută sau nețesută sau tamponi de tifon**, sterilizate și ambalate individual într-o pungă de plastic sterilizată. Materialul utilizat trebuie să fie însoțit de documente care să ateste că nu are substanțe inhibitoare.



(3) **Mănuși sterile de unică folosință** (opțional).

(4) **Cutie termoizolantă** cu elemente de răcire, capabilă să mențină probele între 1- 8°C în timpul transportului la laborator (a se vedea ISO 18593).

(5) **Hârtie absorbantă sterilizată**, capabilă să absoarbă apa stagnantă (ex. bălți de apă de pe podele).

(6) **Mixer**, pentru amestecarea lichidelor în tuburi.

(7) **Omogenizator peristaltic**, pentru a pregăti suspensiile inițiale prin mișcare peristaltică.



5.9. Ariile de pe care se prelevează probele

Suprafața totală vizată în timpul unei campanii de prelevare 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 (0,1 m² până la 0,3 m²), adică atunci când zonele sunt deschise și plane (transportoare, rafturi etc.).

Tamponul cu tijă trebuie utilizat pentru a testa zone mici greu accesibile (de exemplu, în interiorul rotelor goale, sau al carcasei motorului).

Buretele, pânza 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.

Nu se recomandă utilizarea de șabloane sau rigle gradate, deoarece acestea pot transfera contaminarea și/sau dezinfectarea lor poate interfera cu testul; cu toate acestea, dimensiunile zonei de pe care se realizează prelevarea trebuie cunoscute cu aproximație.

În acest scop, lungimea antebrațului, de la vârful degetului mijlociu până la cot este de aproximativ 45 cm. În mod similar, când degetele sunt întinse, distanța dintre vârful degetului mare și cea a degetului mic (o întindere) este de aproximativ 20 cm.

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

5.10. Pregătirea dispozitivelor de prelevare

Nu trebuie introdus într-o zonă de producție alimentară niciun echipament care a fost în interiorul unui laborator de microbiologie, din cauza riscurilor de introducere a contaminării.

Dispozitivele pentru prelevarea probelor de suprafață și echipamentul individual de protecție trebuie depozitate și manipulate separat de activitățile de laborator, în special de incinta laboratorului care se ocupă cu analiza patogenilor.

Niciun articol folosit pentru prelevare de probe nu trebuie lăsat în zona de producție. În acest scop, se recomandă numărarea acestor elemente înainte și după prelevarea probelor.

(1) Tampoane cu tijă

Tamponul cu tijă poate fi utilizat uscat sau umezit. În cazul în care aria de prelevare este umedă, se utilizează un tampon uscat; în cazul în care aria de prelevare este uscată, trebuie să se utilizeze un tampon umezit. În situația în care prelevarea trebuie făcută într-un loc umed sau uscat în care se așteaptă să fie reziduuri de dezinfectanți (frecvent în zonele greu accesibile), tamponul trebuie umezit cu un diluant neutralizant

Tampoanele umezite pot fi preparate în mod aseptice în laborator, înaintea începerii activității de prelevare. Capătul tamponului trebuie să atingă ușor suprafața diluantului astfel încât tamponul să nu picure. Apoi se readuce tamponul în tub și se închide etanș, pentru a menține atât sterilitatea, cât și umiditatea.

(2) Burete, pânză țesută/nețesută sau tampon de tifon

Înainte de a începe prelevarea probelor, dispozitivele de ștergere umezite pot fi pregătite în laborator utilizând un volum adecvat și înregistrat de diluant sterilizat, astfel încât să nu picure. După umezirea dispozitivului de ștergere, se închide punga de plastic într-un mod care să asigure sterilitatea și să păstreze umiditatea.

Dacă se efectuează umezirea dispozitivelor de prelevare în zona de prelucrare, diluantul nu trebuie păstrat într-un recipient de sticlă.



5.11. Prelevarea

(1) Metoda tamponelor cu tijă

Evitând o posibilă contaminare, se scoate un tampon din tubul său și se șterge cât mai energic posibil, fără a-l dezintegra; se rotește tamponul pe interiorul piesei de echipament sau peste orice altă zonă greu accesibilă care trebuie abordată.

Se introduce tamponul în tubul original și se închide astfel încât conținutul acestuia să fie protejat de orice contaminare, iar capătul tamponului să rămână umed până la analiză.

După prelevare, zona respectivă trebuie ștersă cu un șervețel cu alcool.

(2). Metoda burete/pânză/tampon de tifon

În cazul în care zona vizată este prea umedă (adică apă acumulată pe podea), lichidul în exces trebuie mai întâi îndepărtat prin aplicarea ușoară de hârtie absorbantă sterilizată.

Se deschide punga de plastic care conține dispozitivul de ștergere.

Se îndepărtează aseptice dispozitivul de ștergere cu o mână cu mănușă sterilă. Alternativ, dispozitivul de ștergere poate fi prins prin punga de plastic, trăgând punga inversată peste mână, așa cum se arată în Figura 1.



Figura 1: Dispozitiv de ștergere prins printr-o pungă de plastic

Se șterge energic cu o mișcare în zig-zag întreaga suprafață aleasă în două direcții perpendiculare, schimbând fața dispozitivului de ștergere, cu evitarea unei posibile contaminări. Se introduce dispozitivul de ștergere în punga de plastic sterilă și se închide astfel încât conținutul acesteia să fie protejat de orice contaminare și să rămână umed până la analiză.

După prelevare, zona respectivă se șterge cu un șervețel cu alcool.

5.12. Transportul, depozitarea probelor și începutul analizei

După prelevare, fiecare probă se indentifică unic prin etichetare, se ambalează separat, în recipiente inerte și curate, care să confere protecție adecvată împotriva contaminării externe și deteriorării probei în timpul transportului.

Apoi probele se sigilează în așa fel încât deschiderile neautorizate să fie detectabile (pentru a nu fi posibilă substituirea produsului sau contaminarea lui). Numărul sigiliului aplicat este menționat în *Procesul verbal de prelevare*.

Conform ISO 18593:

- probele 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.

5.13. Specificații privind analiza probelor

(1) Metoda tamponelor cu tijă

Se adăugă un volum suficient (dar cel puțin 9 ml) de bulion semi-Fraser (conform ISO 11290-1) în tubul care conține un tampon, astfel încât vârful să fie complet cufundat în bulion.



Se amestecă bine conținutul tuburilor care conțin tampoane folosind un mixer timp de 30 de secunde, apoi se realizează detecția *L. monocytogenes* utilizând metoda standard ISO 11290-1 sau o metodă alternativă validată.

(2) Metoda cu burete/pânză/tampon de tifon

În punga care conține dispozitivul de recoltare se adaugă un volum suficient (de 9 ori greutatea dispozitivului de ștergere umezit) de bulion semi-Fraser (vezi ISO 11290-1), astfel încât dispozitivul să fie complet imersat în bulion.

Se agită conținutul pungilor într-un omogenizator peristaltic timp de 1 minut, apoi se realizează detecția *L. monocytogenes* utilizând metoda standard ISO 11290-1 sau o metodă alternativă validată.

5.14 Exprimarea rezultatelor

Rezultatele se raportează conform ISO 11290-1 ca fiind „detectat” sau „nedetectat” în porțiunea testată, cu specificarea suprafeței în centimetri pătrați sau per dispozitiv de prelevare (ex. „nedetectat/tampon sanitație”).

5.15. Documente utilizate în activitatea de prelevare oficială

Documentele asociate activității de prelevare în cadrul controlului oficial sunt:

Procesul verbal de prelevare - formular cod F-01-PS-15-DSAON;

Cererea de analiză - formular model IISPV;

Eticheta probei

Buletinul de analiză - formular model laborator.

Procesul verbal de prelevare

Prelevarea implică completarea formularului de proces verbal, în care trebuie completate obligatoriu următoarele informații:

- numele inspectorului oficial în clar și semnătura,
- datele de identificare ale operatorului (denumirea societății, CUI, nr. înregistrare sanitar veterinar și pentru siguranța alimentelor),
- numele martorului sau a reprezentantului legal al ODA,
- data și locul prelevării,
- ora prelevării,
- temperatura la care se transportă proba către laborator
- motivul prelevării - control oficial,
- numărul sigiliului aplicat probelor;
- temperatura la care se transportă probele către laborator,
- metoda de prelevare utilizată (denumire procedură),
- alte informații suplimentare ceare pot veni în sprijinul analistului, cum ar fi durata (în ore) a transportului și condițiile de transport, precum și orice alte date suplimentare pot fi completate la rubrica „Mențiuni”.



Orice abatere de la prezenta procedură de prelevare se consemnează în *Procesul verbal de prelevare*. Se anexează un raport detaliat despre procedura de prelevare care a fost aplicată, și cauzele care au condus la neaplicarea prezentei proceduri.

Cererea de analiză - instrucțiuni conform emitent

Este documentul care însoțește proba (probele) prelevate la laboratorul care o (le) va analiza și care conține:

- datele de identificare a probei prelevate și supuse analizelor de laborator,
- detalii referitoare la tipul analizelor solicitate.
- natura eventualei pretratări (unde e cazul, de ex. la apă);
- agenții de conservare sau stabilizare folosiți (în cazul conservării probei).

Eticheta

Probele trebuie să fie clar (vizibil și lizibil) și unic identificate prin etichetare. Ambalajul final ce reunește toate unitățile unei probe se etichetează.

Eticheta trebuie să conțină cel puțin următoarele date:

- numărul probei (în situația în care sunt prelevate mai multe probe cu un singur *proves verbal de prelevare*)
- zona prelevată.

Completarea *Procesului verbal de prelevare* și a *Cererii de analiză* se face în trei exemplare, semnate și șampilate de părțile implicate (reprezentant autoritate, reprezentant operator economic), iar cele trei exemplare se distribuie astfel:

- 1 exemplar rămâne la inspectorul oficial și se îndODARIAZĂ în conformitate cu procedura proprie privind controlul înregistrărilor;
- 1 exemplar este predat operatorului;
- 1 exemplar însoțește proba la laboratorul indicat în *Cererea de analiză*.

Buletinul de analiză

Buletinul de analiză este documentul emis de laboratorul care efectuează testarea probei prelevate și, după emitere, acesta este transmis către DSVSA județeană sau a municipiului București care a solicitat efectuarea analizelor.

Buletinul de analiză completează, alături de *Procesul verbal de prelevare* și *Cererea de analiză* lista documentelor întocmite cu ocazia prelevării oficiale.

5.16. Echipamente

Echipamentele utilizate în activitatea de prelevare a probelor de sanitație în vederea testării microbiologice sunt: echipamentul individual de protecție folosit de persoana care efectuează prelevarea, instrumente și recipiente sterile folosite pentru prelevarea și transportul probelor la laborator.

Echipamentul individual de prelevare folosit de inspectorul care realizează prelevarea probelor trebuie să fie curat și să elimine riscul contaminării accidentale a probei prelevate. El include: halat, mănuși chirurgicale, mască facială, bonetă (capelină), botoși.

Instrumente de prelevare - Pentru examenul microbiologic se folosesc pentru prelevare instrumente sterile, iar probele prelevate se ambalează în recipiente sterile (pentru unități) sau în pungi de polietilenă de uz alimentar (pentru proba finală).



Instrumente sterile pentru prelevare



Prelevarea succesivă a mai multor probe trebuie să se facă în așa fel încât să nu se amestece părți din acestea, sau să nu se contamineze între ele.

Recipiente sterile pentru prelevare și transportul probelor



Celelalte materiale, instrumente și ambalaje pentru unități/probe sunt asigurate de către DSVSA județeană și a municipiului București, ele trebuind să fie sterile în momentul efectuării prelevării.

Pentru asigurarea transportului probelor în condiții optime, cu menținerea temperaturii probelor la un nivel constant, se folosesc lăzi frigorifice.

Mijloace de măsură și control: termometru.

5.17. Stabilirea conformității

(1) Interpretarea rezultatelor analizelor

Probele de sanitație sunt analizate prin îmbogățire, cu obținerea unui rezultat pozitiv sau negativ.

Un rezultat negativ poate fi determinat de faptul că nivelul de contaminare a fost sub limita de detectare a metodei sau contaminarea nu a fost distribuită uniform pe o suprafață, ceea ce înseamnă că se poate pierde pur și simplu contaminarea în timpul tamponării.

Absența *L. monocytogenes* de-a lungul timpului, constatată la prelevări realizate în etapele preoperatorii, poate fi dovada eficacității procedurilor de igienizare și a procedurilor de curățenie și dezinfecție.

Prezența *L. monocytogenes* indică fie un potențial eșec al procedurilor de curățenie și dezinfecție, fie prezența unor surse de contaminare în mediul de procesare. În aceste cazuri, trebuie prelevate și analizate probe suplimentare pentru a identifica sursa de contaminare.

Contaminarea probelor prelevate în cursul etapelor operaționale oferă indicii asupra faptului că igiena în timpul procesului de fabricare a alimentelor nu a fost adecvată și că e posibilă prezența biofilmului sau a zonelor de refugiu în echipamentele de procesare și/sau în mediul de procesare. Cartografierea și analiza tendințelor permit vizualizarea acestor cazuri de contaminare în timp.

Pentru alimentele încadrate în categoria celor care permit creșterea *L. monocytogenes*, ODA trebuie să se asigure (oferind justificări științifice) că la sfârșitul termenului de valabilitate concentrația de *L. monocytogenes* în produs nu depășește limita de 100 ufc/gram sau mililitru.

Dacă ODA nu poate susține acest lucru prin studii suplimentare, altele decât evaluarea caracteristicilor fizico-chimice ale produsului, atunci este necesar ca la sfârșitul procesului de producție să fie evaluată absența microorganismului în probă.

Dacă rezultatul este > 100 ufc/gram sau mililitru, alimentele sunt considerate nesigure.



Rezultatele pozitive pentru suprafețele care vin în contact cu alimentele trebuie să constituie o permanentă preocupare pentru ODA.

Astfel, dacă în probele prelevate de pe suprafețe se detectează *L. monocytogenes*, testările trebuie extinse asupra tuturor loturilor produse de la ultima curățenie și dezinfectie.

Dacă în probele prelevate de pe suprafețe se detectează *Listeria spp.* trebuie inițiate o curățenie și o dezinfectie temeinică, urmate de o prelevare suplimentară, pentru a confirma eficacitatea acestor operațiuni.

Dacă se obțin rezultate pozitive pentru suprafețele care nu vin în contact cu alimentare, trebuie efectuată o curățenie profundă dacă este vorba de *L. monocytogenes* sau o curățenie completă dacă este o altă specie de *Listeria*. În ambele cazuri, eficacitatea operațiunilor trebuie investigată prin prelevarea de probe suplimentare.

(2) Analiza tendințelor

Tendințele pot indica diferite scenarii de contaminare, cum ar fi:

- probe pozitive repetate de-a lungul timpului într-o anumită arie sau zonă pot indica de exemplu, prezența unor nișe ecologice,
- probe pozitive, în ocazii neconsecutive, pot indica prezența unor nișe ecologice sau reintroducerea contaminării în unitate, și
- numărul crescut de probe pozitive globale în unitate sau într-o anumită zonă poate indica eșecul programului de monitorizare a *Listeriei*.

Prezența aceleiași tulpini în timp indică faptul că microorganismul a devenit rezident, în timp ce prezența diferitelor tulpini poate sugera introducerea de noi tulpini ale contaminantului.

Detecția tulpinilor identice din probe diferite prelevate de-a lungul unei linii de producție indică o răspândire în aval a contaminării, cu posibilitate de contaminare a produsului, în timp ce prezența aceleiași tulpini între diferite linii de producție indică o contaminare încrucișată.

Trasabilitatea contaminării este deosebit de utilă în timpul prelevării de investigație realizată după începutul unui focar și pentru a preveni o viitoare contaminare a alimentelor.

Cauza principală a contaminării zonelor sensibile trebuie investigată pentru a preveni o posibilă problemă de retragere/rechemare.

În cazul unei contaminări persistente în mediul de procesare a alimentelor, trebuie identificate nișele sau locurile de refugiu ale bacteriei.

Prezența unei contaminări care se repetă într-o zonă pe o perioadă determinată este o indicație a prezenței posibilelor locuri de refugiu unde microorganismele pot supraviețui.

5.18. Măsuri în caz de neconformitate

(1) Măsuri luate de ANSVSA - inspectorii din cadrul DSVSA județene și a municipiului București

În cazul rezultatelor care indică prezența *L. monocytogenes*, personalul de specialitate din cadrul DSVSA județene, respectiv a municipiului efectuează controale oficiale pentru:

- luarea măsurilor necesare în vederea stabilirii originii și amplitudinii cazului de neconformitate,
- verificarea sistemului propriu de control al operatorului prin evaluarea schemelor de prelevare și testare, analiza înregistrărilor realizate, inclusiv a buletinelor de analiză obținute în urma testării, unde este cazul,



- luarea măsurilor adecvate pentru a se asigura că operatorul în cauză remediază neconformitatea și previne repetarea apariției acesteia, prin evaluarea acțiunilor corective și preventive întreprinse de operator și adecvanța lor.

Inspectorii din cadrul DSVSA județene și a municipiului București:

- dispun retragerea și/sau rechemarea produsului de pe piață/de la consumator, distrugerea lotului neconform, în cazul în care prelevarea s-a realizat de pe o suprafață care vine în contact cu alimentele,
- dispun creșterea frecvenței controalelor efectuate de către operator,
- dispun suspendarea pe o durată determinată sau încetarea tuturor activităților operatorului în cauză sau a unei părți din acestea, pentru remedierea neconformităților, dacă este cazul,
- dispun suspendarea sau retragerea înregistrării unității în cauză, dacă este cazul.

Căi de atac: în cazul în care operatorii economici sunt nemulțumiți de rezultatul controlului oficial, pot formula contestație în termenele și în condițiile prevăzute de către Legea nr. 554/2004 a contenciosului administrativ, cu modificările și completările ulterioare și/sau apelează la dreptul lor asigurat prin art 35 din R (CE) nr. 625/2017.

(2) Măsuri luate de ODA

Dacă prezența *L. monocytogenes* este detectată pe o suprafață care vine în contact cu alimentele, ODA trebuie să inițieze acțiuni corective, în interesul sănătății publice. Alimentele produse în linia contaminată, dacă sunt încă în controlul imediat al ODA, trebuie puse în așteptare și testate pentru prezența *L. monocytogenes*.

Dacă rezultatul analizei produsului alimentar este negativ, nu este necesară nicio altă acțiune.

Dacă rezultatul este pozitiv, produsul alimentar trebuie distrus, rechemat sau reprocessat, după caz. Dacă alimentele au părăsit controlul imediat al ODA, trebuie inițiată procedura de retragere/rechemare.

Dacă *L. monocytogenes* este detectată pe o suprafață care nu intră în contact cu alimentele, nu este necesară distrugerea alimentelor. În toate cazurile în care nu este necesară nicio acțiune, echipa pentru siguranța alimentelor poate continua să ia măsuri pe baza riscului; de exemplu pot fi luate în considerare următoarele:

- potențialul transfer pe suprafețele care vin în contact cu alimentele,
- zona de control igienic (de exemplu, cu risc ridicat sau scăzut),
- indiferent dacă alimentele permit sau nu creșterea *L. monocytogenes* sau, dacă
- alimentele sunt destinate consumatorilor cu risc ridicat (de exemplu, case de îngrijire medicală și spitale).

6. RESPONSABILITĂȚI:

6.1. Responsabilitățile ANSVSA - inspectorii din cadrul DSVSA județene și a municipiului București

- Pregătirea prelevării,
- Prelevarea și transportul probelor,
- Completarea *Procesului verbal de prelevare* și a *Cererii de analiză, a etichetei probei,*
- Păstrarea înregistrărilor (*Procesului verbal de prelevare* și a *Cererii de analiză, Buletin de analiză*) conform legislației în vigoare,
- Interpretarea rezultatelor,

**PRELEVAREA PROBELOR DIN MEDIU
PENTRU DETECTAREA LISTERIEI MONOCYTOGENES**

COD: PS-15-DSAON



- Acțiunile întreprinse în cazul neconformităților, păstrarea înregistrărilor acestora
- Informarea ODA privind acțiuni întreprinse în conformitate cu procedurile de lucru ale laboratorului (denaturarea probelor, neanalizarea lor, etc.).

6.2. Responsabilitățile laboratorului

- Recepționarea și păstrarea probelor,
- Introducerea în lucru în cel mai scurt timp posibil, a probelor prelevate în vederea testării microbiologice, cu precizarea că intervalul maxim este de 24 ore de la momentul primirii, respectiv maximum 48 ore din momentul prelevării lor,
- Păstrarea înregistrărilor (*Procesului verbal de prelevare și a Cererii de analiză*, Buletin de analiză) conform legislației în vigoare,
- Comunicarea inspectorului oficial a oricăror alte acțiuni întreprinse în conformitate cu procedurile de lucru ale laboratorului (denaturarea probelor, neanalizarea lor, etc.) sunt comunicate, acesta informând la rândul său ODA.

6.3. Responsabilitățile ODA

- Asigură condiții optime pentru desfășurarea controlului oficial respectiv acțiunea de prelevare de probe,
- Asigură prezența unui reprezentant pe durata desfășurării controlului oficial/prelevării probelor,
- În cazul unor rezultate nesatisfăcătoare inițiază proceduri de retragere/rechemare a produselor neconforme.

7. EVIDENȚA MODIFICĂRILOR - Nu e cazul**8. FORMULAR ANALIZĂ PROCEDURĂ** - Nu e cazul**9. LISTA DE DIFUZARE:**

Ex. nr.	Compartiment	Scopul difuzării	Responsabil -funcție-	Nume, prenume	Data primirii	Semnătura	Data retragerii	Semnătura
1.	Comisia SCIM	Informare	Președinte COM	S. Năstase	Trasmitere format electronic			
2.	DSVSA județene	Aplicare	Director executiv					
3.	LSVSA județene	Informare	Sef laborator					
4.	SCLD	Informare afișare	Șef serviciu	Alina Monea				

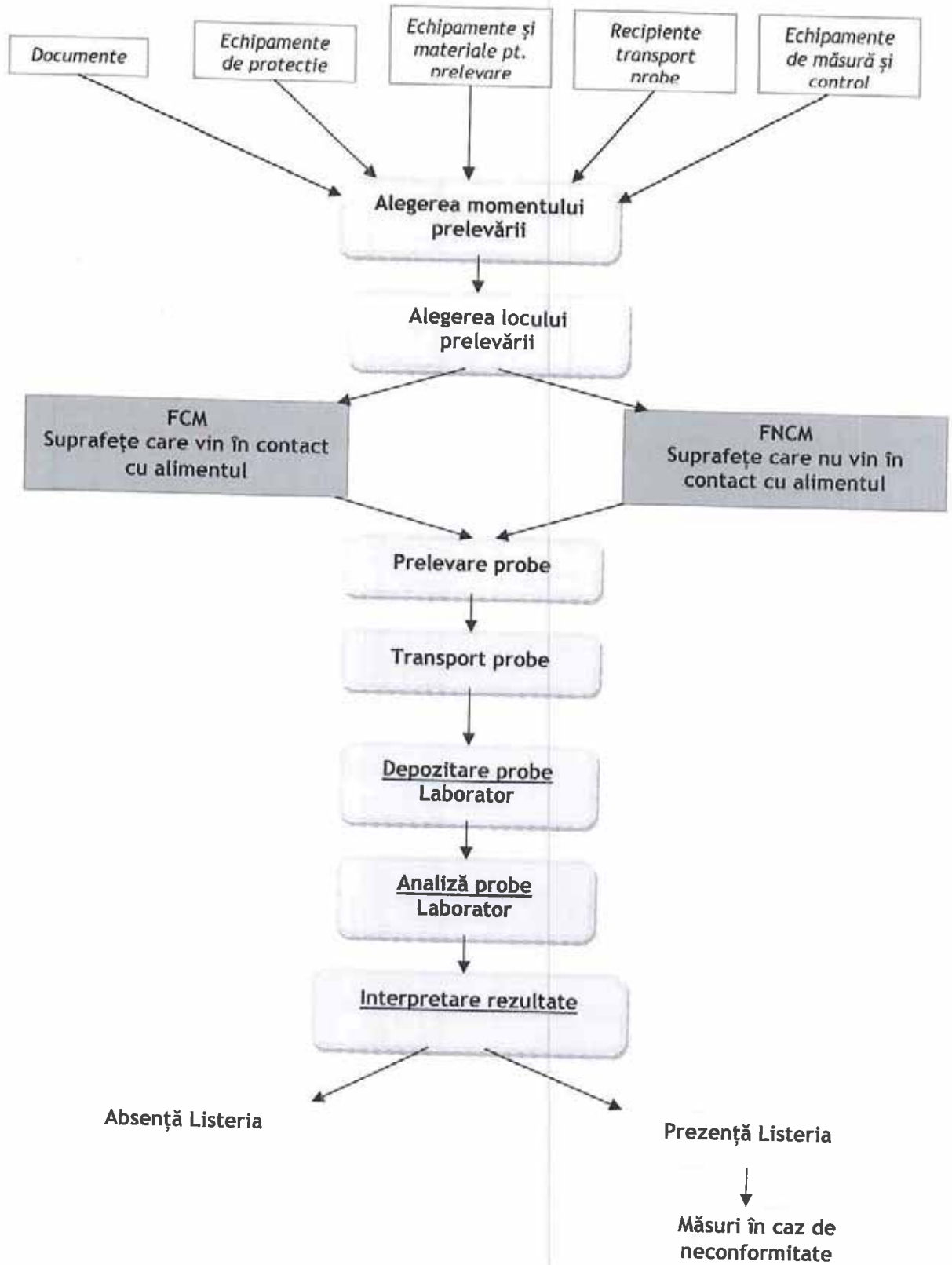
10. ANEXE ȘI ÎNREGISTRĂRI:

Anexa 1: Diagrama de proces

Anexa 2: Proces verbal de prelevare - formular cod: F-01-PS-15-DSAON



Diagrama de proces





PROCES VERBAL DE PRELEVARE

Întocmit la data de (zi) (luna) (anul), ora

Subsemnații, și
în cadrul controlului oficial la unitatea, înregistrată sanitar-
veterinar și pentru siguranța alimentelor cu nr. reprezentată legal de
..... în prezența
doamnei/domnului....., care se
legitimează cu BI/CI serianr....., în calitate de
....., am procedat la prelevarea probei/probelor astfel:

* prelevare planificată /selectivă /la suspiciune/alte:

* procedura de prelevare aplicată:

Constatări în relație cu recoltarea probei/probelor:

Modul de transport la laborator al probei/probelor recoltate:

Temperatura recomandată în timpul transportului.....

Laboratorul care analizează proba/probele (denumirea și adresa):

Inspectori,

.....
(semnătura și parafa, după caz)

Reprezentantul unității,

.....
(semnătura și ștampila)