

	LABORATORIO	ANEXO
		I

Revisão	Data	Histórico de Alterações	Análise Crítica e Aprovação
0	16.01.2012	<i>Emissão Inicial</i>	DIREÇÃO

MANUAL DE COLETA

Verificado por: Gestor Técnico	Aprovado por: Direção
--------------------------------	-----------------------

1 - APRESENTAÇÃO

Este manual tem o objetivo de orientar a coleta e o envio de amostras de alimentos e água para ensaios laboratoriais, procurando de forma prática e simples sistematizar a forma de coleta, preparo e transporte das amostras, proporcionando o recebimento dos mesmos para a realização de um ensaio seguro.

2. CRITÉRIOS PARA A COLETA DE AMOSTRAS DE ALIMENTOS

O processo de coleta de amostras é um dos passos mais importantes a executar. Qualquer deficiência neste processo vai originar resultados não reais podendo proporcionar falsos alarmes.

Sempre que possível, as amostras de alimentos, acondicionados em embalagens individuais, devem ser coletadas e encaminhadas ao laboratório na sua embalagem original, lacrada e intacta. A estocagem e o transporte para o laboratório são também, etapas fundamentais para os ensaios.

2.1 - BOAS PRÁTICAS NO PROCEDIMENTO DE COLETA

- Deve efetuar em ambiente calmo, limpo e sem correntes de ar;
- O responsável pela coleta não deverá apresentar ferimentos nas mãos e braços. Se isso ocorrer, cobrir o ferimento com curativo e usar luvas de látex descartáveis e estéreis.
- Higienizar as mãos com sabão anti-séptico ou lavar com sabão e fazer assepsia com álcool 70%
- Não falar, tossir ou espirrar durante a coleta.
- Ao enviar o material, sempre identifique as amostras de forma clara e única, com etiquetas ou canetas de difícil remoção.
- Na etiqueta, deve constar informações suficientes que identifiquem o material em questão, (Ex: Descrição, Data de Coleta, Responsável pela Coleta, etc.)

- Deve-se tentar evitar contaminação cruzada entre as amostras (preparar conjuntos de amostras únicas, não misturar com amostras diferentes) e sempre utilizar de instrumentos estéreis ou novos.
- As amostras devem ser acondicionadas em embalagens seguras, livres de vazamentos.

2.2 - PROCEDIMENTOS PARA COLETA

Na realização da coleta, deverão ser seguidas algumas orientações, tendo em vista, todos os cuidados assépticos para garantir a não contaminação das amostras:

- Sempre que possível, promover uma mistura de toda a massa de alimento, antes de iniciar a coleta das unidades de amostra. Alimentos líquidos podem ser agitados, alimentos moídos ou em pó podem ser revolvidos, blocos de alimentos líquidos congelados podem ser acondicionados em dois sacos plásticos estéreis resistentes e quebrados com um martelo;
- Quando não for possível promover a mistura da massa de alimentos, antes do início da amostragem, deve-se tentar compor uma unidade de amostra com porções de diferentes partes do conteúdo, a menos que a experiência e o conhecimento prévio do produto garantam que as distribuições dos microorganismos sejam uniformes;
- Quando a abertura for uma torneira ou tubulação, limpar a parte externa da saída com álcool 70%, flambar, se o material for resistente ao fogo, e deixar escoar certa quantidade do produto, antes de iniciar a coleta. Isso vai promover uma lavagem e remoção dos resíduos acumulados;
- Para compor uma unidade de amostra com porções de diferentes pontos de alimentos em grandes peças sólidas, devem-se usar facas, pinças estéreis, para cortar pedaços menores de alimentos. No caso de grandes blocos de alimentos congelados, como blocos de ovo líquido, o mais adequado é utilizar uma furadeira elétrica;
- Em casos de alimentos envolvidos em surtos, tentar coletar e analisar amostras de refeições suspeitas o mais cedo possível, porém, não adianta coletar amostras de alimentos que tenham sofrido abuso de temperatura ou que já se encontrem em estado de parcial deterioração. Os resultados dessas análises vão ser de pouca ou de nenhuma valia;

- Coletar vasilhames onde as refeições se encontravam acondicionadas;
- Coletar amostras do lote de ingredientes, bem como, a matéria-prima utilizada na preparação das refeições;
- Coletar amostras de refeições similares, preparadas posteriormente sob as mesmas condições;
- Amostras de placas de ambiente, bem como, swabs, deverão seguir as recomendações de cada cliente.

2.3 - COLETAS DE AMOSTRAS DE ALIMENTOS ACONDICIONADOS EM EMBALAGENS NÃO INDIVIDUAIS

No caso de alimentos contidos em tanques ou grandes embalagens, impossíveis de serem transportadas ao laboratório, deve-se transferir porções representativas da massa total para frascos ou sacos estéreis, sob condições assépticas.

- Uma unidade de amostra deve conter, no mínimo, duas vezes a unidade analítica, de preferência, 3 a 4 vezes esse valor, para a separação da contra-amostra e prevenção de possíveis perdas. Usualmente 500g em alimentos sólidos e 300 a 500 ml em alimentos líquidos
- A quantidade de amostras para análise FQ de alimento, vai variar de acordo com os parâmetros a serem analisados.
- Frasco de coleta nunca deve ser completamente preenchido pelo alimento, sendo recomendável utilizar-se no máximo $\frac{3}{4}$ da sua capacidade, para facilitar a posterior mistura da amostra, na tomada da unidade analítica;
- Os frascos e utensílios utilizados na coleta das amostras (espátulas, colheres, tesouras, pinças, etc.) devem ser esterilizados individualmente. Algumas alternativas podem ser utilizadas como procedimento, como flambagem em chama, imersão em álcool 70% e combustão de álcool (este não eliminando esporos);
- Colher separadamente amostras para análises Físico Químico (FQ) e Microbiológico (Micro);

2.4 - COLETAS DE AMOSTRAS DE ALIMENTOS ACONDICIONADOS EM EMBALAGENS INDIVIDUAIS

Amostras acondicionadas em embalagens individuais devem ser enviadas ao laboratório em sua embalagem original, fechada e intacta. O volume a ser enviada deve ser igual ou maior a 250 gramas. Se a embalagem unitária for menor que a quantidade recomendada para o envio, recomenda-se coletar varias embalagens unitárias.

3 - TRANSPORTE E ESTOCAGEM DE AMOSTRAS PARA ENSAIO

Alimentos comercialmente estéreis em embalagens herméticas. Podem ser transportados e estocados à temperatura ambiente, devendo ser protegidos contra a exposição a temperaturas superiores a 45° C. Atenção: latas estufadas devem ser transportadas e mantidas sob refrigeração. Por outro lado, se a análise for destinada à confirmação de suspeita de deterioração por bactérias termófilas, a refrigeração é contraindicada, porque as células vegetativas desses microorganismos usualmente morrem sob efeito do frio, não sendo comum a ocorrência de esporulação nos produtos enlatados;

- Amostras de refrigerantes engarrafados, comercializados à temperatura ambiente, também podem ser transportados e estocados nessas condições;
- Alimentos com baixa atividade de água (desidratados, secos ou concentrados). Podem ser transportados e estocados à temperatura ambiente, devendo ser protegidos contra a umidade;
- Alimentos refrigerados devem ser transportados e mantidos sob refrigeração desde a coleta até o momento da análise. A temperatura deve ser entre 0°C e 4,4°C e o intervalo máximo de 24 horas entre a coleta e a análise. Na impossibilidade de se proceder à análise no intervalo de tempo preconizado, as amostras devem ser congeladas e mantidas nas mesmas condições descritas para amostras congeladas. O transporte deve ser feito em caixa de isopor com gelo, sendo recomendável o uso de sachês de gelo reutilizável em gel. Na indisponibilidade do gelo em gel, pode ser utilizado gelo comum, desde que acondicionado em bolsas plásticas (DEVE SER EVITADO! Alguns microorganismos são sensíveis ao congelamento o que pode interferir no resultado da análise). Sempre evitar o contato direto da amostra com o gelo. Rótulos e etiquetas devem ser a prova d'água.

- Alimentos congelados devem ser transportados congelados até o momento da análise, não podendo sofrer descongelamento total ou parcial durante o transporte. As temperaturas de estocagem dessas amostras não devem ser superiores a -10°C . O transporte deve ser feito em caixa de isopor com gelo seco, de forma que o produto não entre em contato direto com o gelo. No caso da embalagem não vedar a entrada de gases, deve-se utilizar uma embalagem secundária. Rótulos e etiquetas devem ser à prova d'água, para prevenir a perda de dados
- Amostras de ostras, mexilhões, mariscos, (moluscos de conchas), sem congelamento. Devem ser coletadas e enviadas ao laboratório em um período máximo de 6 horas, não devendo ser congeladas. Em nenhuma circunstância, essas amostras devem ser examinadas com mais de 24 horas, decorridas a partir do momento da coleta;
- Amostras de ovos líquidos resfriados. Devem ser analisadas, se possível, dentro de 4 horas após a coleta, não devendo ser congelados;
- Amostras de produtos vegetais fermentados ou acidificados não comercialmente estéreis. Devem ser estocados sob refrigeração por não mais de 24 horas, não devendo ser congeladas;
- Amostras destinadas à enumeração de M19-*Vibrio sp*, M05-*C.perfringens* e bactérias lácticas. Não devem ser congeladas, devido à grande susceptibilidade desses microorganismos às injúrias pelo congelamento;
- Amostras de swabs, bem como, placas de ambiente. Pode ser feito em caixas de isopor com gel conservador. [Caixa bem isolada e com gelo suficiente para envolver toda a embalagem ou frasco de amostra pode manter temperaturas de refrigeração adequadas por até 24 horas.

4 - COLETA DE AMOSTRAS DE ÁGUA PARA O CONSUMO (Torneiras, etc...)

A água para consumo humano deve atender aos parâmetros definidos na portaria do Ministério da Saúde nº 518, de 25 de março de 2004, que estabelece os procedimentos e responsabilidades relativas ao controle e vigilância da qualidade da água para o consumo humano e seu padrão de potabilidade e dá outras providências

- Para análise microbiológica da água deve ser coletado no mínimo 500 ml em embalagem estéril, frascos de vidro esterilizados ou sacos do tipo "whirl-park". E para

análise físico-química coletar 1 a 2 litros em garrafa plástica (polietileno) ou de vidro, nova ou limpa.

- Para água engarrafada na embalagem original (lacrada), o transporte e a estocagem devem ser realizados à temperatura ambiente, sem necessidade de refrigeração;
- Para embalagens abertas ou amostras transferidas para outros frascos, transportar sob refrigeração. O intervalo entre a coleta e a análise deve ser de no máximo 24h;
- Amostras de água clorada devem ter o cloro residual neutralizado imediatamente após a coleta, para impedir a continuação do seu poder bactericida sobre a microbiota presente. Para tanto, adicionar 0,1 ml de uma solução 10% de tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) aos frascos de coleta, antes da esterilização, para cada 100ml de amostra que se pretende coletar (concentração final na amostra = 100mg/ml). Essa quantidade é suficiente para neutralizar 15mg de cloro residual por litro de amostra. Uma alternativa consiste em, solicitar esse material de coleta com tiosulfato junto ao representante do laboratório;

4.1 - PROCEDIMENTO DA COLETA DE ÁGUA

- Identificar o frasco ou o saco de coleta com os dados da amostra;
- Limpar a torneira com água e sabão e passar álcool a 70%;
- Flambar a torneira (procedimento obrigatório para análise microbiológica).
- Abrir a torneira e deixar a água escoar por 3 a 5 minutos, fechando logo em seguida.
- Abrir novamente a torneira e deixar passar um pouco de água e encher o frasco até cerca de 80% do volume. Para físico-química, encher o frasco completamente. A presença de ar no interior do frasco é indesejada. Se a coleta for em saco, encher até a marca indicada.
- Manter a amostra sob refrigeração, colocando-as em caixas isotérmicas, contendo gelo reciclável;
- Enviar imediatamente ao laboratório

5 -TABELA COM QUANTIDADE DE AMOSTRAS: ALIMENTOS E ÁGUA

Produto	Microbiologia	Físico-Químico	Temperatura De Transporte
FRUTAS, LEGUMES E VERDURAS	500 g	-	AMBIENTE
LEITE PASTEURIZADO	250 ml	250 ml	REFRIGERADO
LEITE ESTERILIZADO-UHT	1000ml	1000ml	AMBIENTE
LEITE EM PÓ, FARINHAS LÁCTEAS	450 g	450 g	AMBIENTE
CREME DE LEITE FRESCO	250 g	250 g	REFRIGERADO
CREME DE LEITE ESTERILIZADO	01EMB.	01 EMB.	AMBIENTE
LEITE FERMENTADO E IOGURTE	1000ml	1000ml	REFRIGERADO
MANTEIGA, QUEIJOS E MARGARINAS	400 g	400 g	REFRIGERADO
CARNE "IN NATURA" E PREPARADA	500 g	500 g	REFRIGERADA OU CONGELADA
PRODUTOS CÁRNEOS	500 g	500 g	AMBIENTE OU REFRIGERADO
PESCADO "IN NATURA" CRU	500 g	-	CONGELADO
PESCADO CRU REFRIGERADO OU CONGELADO	500 g	-	REFRIGERADO OU CONGELADO
PESCADO SECO E/OU SALGADO, DEFUMADO	500 g	-	AMBIENTE
PESCADO PRECOZIDO E EMPANADO	500 g	-	REFRIGERADO

PESCADO ENLATADO	01 EMB.	02 EMB.	AMBIENTE
AMIDOS, FARINHAS, FÉCULAS, MASSAS SECAS, MISTURAS EM PÓ PARA BOLO, TORTAS, CEREAIS FLOCADOS, INFLADOS E /OU LAMINADOS E FARELOS.	01EMB. de 500 g	01EMB. de 500 g	AMBIENTE
MASSAS FRESCAS, CRUAS OU SEMI-ELABORADAS	500 g	500 g	REFRIGERADA
PÃO E PRODUTOS DE PANIFICAÇÃO	300 g	500 g	AMBIENTE
FERMENTO BIOLÓGICO	300 g	300 g	REFRIGERADO
AÇÚCAR, RAPADURA E MELADO	01EMB.	500 g	AMBIENTE
MEL DE ABELHA	01EMB. de 200 g	01EMB. de 200 g	AMBIENTE
SAL	-	500 g	AMBIENTE
CAFÉ, CHÁ, ERVA-MATE E PRODUTOS DE INFUSÃO	01EMB. de 250 g	01EMB. de 250 g	AMBIENTE
MISTURA PARA SOPAS, CALDOS, MOLHOS E MISTURAS OU PÓS PARA SOBREMESAS	250 g	250 g	AMBIENTE
CÓCO RALADO	01 EMB de 250 g	01 EMB de 250 g	AMBIENTE
REFRIGERANTES E CERVEJAS	01 EMB.	01 EMB	AMBIENTE
OUTRAS BEBIDAS	-	01 EMB	AMBIENTE
PURÊS E DOCES EM PASTA A VAREJO	400 g	400 g	AMBIENTE

DOCES DE FRUTAS	250 g	250 g	AMBIENTE
MOSTARDA DE MESA, MAIONESE INDUSTRIALIZADA, PICLES E SIMILARES, MOLHOS E OUTROS CONDIMENTOS PREPARADOS	250 g	250 g	AMBIENTE
VINAGRE	-	01 EMB	AMBIENTE
ÓLEOS COSMETÍVEIS	-	01 EMB	AMBIENTE
DOCES DE CONFEITARIA E BOLOS	500 g	-	REFRIGERADO
SALGADOS PRONTOS PARA CONSUMO	500 g	-	REFRIGERADO
BALAS, PASTILHAS, GOMA DE MASCAR	300 g	300 g	AMBIENTE
CHOCOLATE, BOMBONS, BISCOITOS E BOLACHAS	300 g	300 g	AMBIENTE
GRÃOS E CEREAIS	-	1000 g	AMBIENTE
ALIMENTOS CONGELADOS	500 g	-	CONGELADO
SORVETES	400 g	400 g	CONGELADO
PRATOS PRONTOS PARA CONSUMO	400 g	-	REFRIGERADO
ÁGUA MINERAL	05 lts	-	AMBIENTE
ADITIVOS (MATÉRIA-PRIMA)	-	400 g	AMBIENTE
EMBALAGENS PARA ALIMENTO	-	04 EMB	AMBIENTE

ESPECIARIAS E CONDIMENTOS PREPARADOS EM PÓ	250 g	250 g	AMBIENTE
SEMENTES COMESTÍVEIS CRUAS, TORRADAS E SALGADAS	-	1000 g	AMBIENTE
SUCOS E REFRESCOS	250 ml	250 mL	REFRIGERADO OU AMBIENTE
Frango (carcaça) IN70	-	-	REFRIFGERADO
Água para consumo	500 ml	1 a 2 lts	REFRIFGERADO

REFERÊNCIAS

1. BRASIL. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. **Oficializar os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água, com seus respectivos capítulos e anexos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados no Sistema de Laboratório Animal do Departamento de Defesa Animal.**

2. TORONTO. Internacional Commission on Microbiological Specifications for Foods. *Microorganismos de los alimentos*. University of Toronto Press, 2000.

3. SILVA, Neusely; JUNQUEIRA, Valeira Cristina Amstalden; SILVEIRA, Neliane Ferraz de Arruda. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 2.ed. São Paulo: Livraria Varela, 1997.

4. DOWNES, Francês Pouch; ITO, Keith. **Compendium of methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4 ed. Washington, DC 2001.

5. TRABULSI, Luiz Rachid; ALTERTHUM Flavio. **Microbiologia**. 4 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2004.

6. FRANCO, Bernadette D. Gombossy de Melo; LANDGRAF, Mariza. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo, Editora Atheneu, 2003.

7. 2009 Cernitas – CDV – Centro de Diagnóstico Veterinário – Laboratório por GMZ BrandingDesign

8. BRASIL. Portaria nº 518/MS de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativas ao controle e vigilância da qualidade da água para o consumo humano e seu padrão de potabilidade e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 26 de março de 2004.