

**LINEE GUIDA PER IL CAMPIONAMENTO AI FINI DEL  
CONTROLLO UFFICIALE DEI MANGIMI**

**INDICE**

Introduzione . . . . .	2
1 Principi generali. . . . .	2
2 Definizioni. . . . .	4
3 Criteri di Campionamento. . . . .	5
4 Personale che esegue i campionamenti. . . . .	6
5 Tipo di campionamento. . . . .	6
6 Matrici da sottoporre a campionamento e analiti da rilevare/determinare. . . . .	7
7 Strumenti per il campionamento. . . . .	8
8 Formazione, confezionamento ed invio dei campioni al laboratorio. . . . .	11
9 Istruzioni specifiche per la preparazione del campione per l'analisi delle micotossine e degli OGM in materie prime in granella . . . . .	16
10 Requisiti quantitativi . . . . .	22
11 Campionamento di lotti molto grandi immagazzinati o trasportati con modalità che non permettono il prelievo di campioni da tutto il lotto . . . . .	25

## INTRODUZIONE

Con la presente Linea Guida, parte integrante del PNAA, ai sensi dell'Allegato 1 del D.lgs. n. 27 del 02/02/2021, si forniscono agli operatori addetti al controllo ufficiale gli strumenti per attuare il campionamento ufficiale dei mangimi in conformità con la normativa comunitaria, in maniera particolare del Regolamento (CE) N. 152/2009, recentemente modificato dai Regolamenti (UE) n. 691/2013 e n. 51/2013 e Regolamento (UE) n. 1560/2020 del 26 ottobre u.s.

Il Regolamento (CE) N. 152/2009 abroga la Direttiva 76/371/CE, che fissa i metodi di prelievo dei campioni per il controllo ufficiale degli alimenti per gli animali, sostituendo nel contempo il D.M. 20 aprile 1978 per quanto riguarda la determinazione dei costituenti di origine animale vietati (OAV), degli additivi, delle sostanze indesiderabili, degli OGM e dei Pesticidi.

Tuttavia, in considerazione della garanzia di rappresentatività che offre il Regolamento suddetto, e della maggiore praticità operativa, si ritiene opportuno estendere a tutti i campionamenti ufficiali dei mangimi l'applicazione del Reg. (CE) 152/2009, così come modificato dal Reg. (UE) 691/2013. Tale azione è utile inoltre per garantire il principio di equivalenza ed omogeneità dei campionamenti ufficiali tra gli SS. MM.

### 1. PRINCIPI GENERALI

Il prelievo di campioni di mangimi deve essere eseguito tenendo conto delle "buone pratiche di campionamento". Le modalità di campionamento condizionano in modo determinante le successive procedure di controllo analitico, pertanto l'applicazione delle buone pratiche risulta uno strumento indispensabile affinché non sussistano contestabili vizi procedurali.

Un campione prelevato al di fuori delle procedure di campionamento previste dalle norme o da codici di buone pratiche deve essere considerato inidoneo all'analisi al fine del controllo ufficiale, non possedendo i requisiti minimi di qualità.

Il campione va idoneamente prelevato, manipolato, ed etichettato in modo tale da garantirne il valore legale e la validità scientifica e tecnica (art 34, comma 5 del Regolamento (UE) n. 2017/625). Inoltre, esso deve essere accompagnato dal relativo verbale di prelievo, adeguatamente e correttamente compilato.

Nel prelevare i campioni l'AC devono considerare di rendere sempre possibile il diritto alla contropertenza e alla controversia come stabilito dall'art. 35 del Regolamento (UE) n. 2017/625, a meno che l'operatore non rinunci esplicitamente a tale diritto.

I requisiti fondamentali di un buon campionamento sono: **la rappresentatività e la praticabilità.**

Un campione rappresentativo si ottiene utilizzando attrezzature idonee e procedure che consentano di prelevare da tutta la partita oggetto del campionamento, campioni elementari e globali (i campioni globali non sono prelevati ma preparati da quelli elementari) di numero e peso adeguato (grandezza).

Per realizzare un campionamento rappresentativo si deve tenere in considerazione sia la tipologia di matrice su cui si interviene (tipologia, presentazione sfusa o confezionata, grandezza), sia la distribuzione dell'analita nella massa (uniformemente distribuito o meno).

Inoltre si deve prestare attenzione all'aspetto dei mangimi da sottoporre a campionamento. Qualora porzioni del mangime da sottoporre a campionamento mostrino, ad un esame visivo, una differenza di qualità rispetto al resto del mangime dello stesso lotto, tali porzioni devono essere separate dal resto e trattate come un sottolotto distinto. Qualora non fosse possibile suddividere il

lotto in sottolotti, il mangime viene sottoposto a campionamento come lotto unico. In tali casi, ne è fatta menzione nel verbale di campionamento.

Una corretta procedura di campionamento prevede:

- garanzia di rappresentatività (per numero di campioni elementari, numero di punti di prelievo, grandezza del campione globale e del campione finale);
- un'accurata omogeneizzazione del campione globale;
- conservazione del campione prima dell'analisi in luogo fresco e asciutto (salvo diversamente specificato per particolari prodotti) in modo da evitare modificazioni fisiche della matrice (es.: riduzione o aumento della percentuale di umidità) e fenomeni di alterazione delle sostanze da ricercare;
- limitata esposizione alla luce, per evitare che le sostanze fotosensibili possano essere danneggiate dall'esposizione ai raggi solari;
- assenza di eventi di contaminazione dei campioni prelevati dopo e durante la fase di campionamento.

## 2. DEFINIZIONI

- **Analita:** ciò che è oggetto della ricerca analitica, ad esempio una sostanza indesiderabile, un microrganismo o un componente del mangime.
- **Additivi per mangimi:** sostanze, microrganismi o preparati, diversi dai mangimi e dalle premiscele che sono intenzionalmente aggiunti agli alimenti per animali o all'acqua al fine di influenzare favorevolmente le caratteristiche dei mangimi, dei prodotti di origine animale, il colore di pesci e uccelli ornamentali, la produzione e le prestazioni o il benessere degli animali influenzando, in particolare, sulla flora gastrointestinale o sulla digeribilità degli alimenti per animali; inoltre sono in grado di soddisfare le esigenze nutrizionali degli animali, di avere un effetto positivo sulle conseguenze ambientali della produzione animale e un effetto coccidiostatico o istomonostatico.
- **Campionamento:** procedura utilizzata per prelevare e/o costituire un campione. Nella presente Linea guida per campionamento s'intende il campionamento ufficiale.
- **Campione di laboratorio (CL):** campione destinato al laboratorio (come ricevuto dal laboratorio) che può essere il campione finale, il campione ridotto o il campione globale.
- **Campione elementare (CE):** quantità prelevata da un punto della porzione campionata. **Campione finale (CF):** parte del campione ridotto o del campione globale omogeneizzato, ("aliquota" così come indicata nell'Allegato 1 del Dl.gs. n. 27 del 02/02/21).
- **Campione globale (CG):** insieme di campioni elementari prelevati da una stessa porzione campionata.
- **Campione globale omogeneizzato (CGO):** CG sottoposto a idoneo mescolamento in modo da uniformare quanto più possibile il CG. Cfr par 9.3
- **Campione ridotto (CR):** parte rappresentativa del CGO, ottenuta mediante riduzione rappresentativa di quest'ultimo.
- **Macinazione:** operazione che consente di ridurre in frantumi, in granuli minuti o in polvere il materiale campionato, per mezzo di opportune attrezzature meccaniche.
- **Mangime complementare:** mangime composto con contenuto elevato di talune sostanze, ma che, per la sua composizione, è sufficiente per una razione giornaliera soltanto se utilizzato in associazione con altri mangimi.
- **Mangime completo:** mangime composto che, per la sua composizione, è sufficiente per una razione giornaliera.
- **Mangime composto:** miscela di almeno due materie prime per mangimi, contenente o meno additivi per mangimi, destinata all'alimentazione degli animali per via orale sotto forma di mangimi completi o complementari.
- **Mangime d'allattamento:** mangime composto somministrato allo stato secco o diluito in una determinata quantità di liquido, destinato all'alimentazione dei giovani animali come complemento o in sostituzione del latte materno postcolostrale o destinato ad animali giovani, come vitelli.
- **Mangime medicato:** qualsiasi miscela di medicinale/i veterinario/i e alimento preparata prima della sua immissione in commercio e destinata ad essere somministrata agli animali senza trasformazione per le sue proprietà curative o preventive.
- **Mangime minerale:** mangime complementare contenente almeno il 40 % di ceneri grezze.
- **Mangime:** qualsiasi sostanza o prodotto, compresi gli additivi, trasformato, parzialmente trasformato o non trasformato, destinato alla nutrizione per via orale degli animali.
- **Materie prime per mangimi:** prodotti di origine vegetale o animale, il cui obiettivo principale è soddisfare le esigenze nutrizionali degli animali, allo stato naturale, freschi o conservati,

nonché i derivati della loro trasformazione industriale, come pure le sostanze organiche o inorganiche, contenenti o meno additivi per mangimi, destinati all'alimentazione degli animali per via orale, in quanto tali o previa trasformazione, oppure alla preparazione di mangimi composti oppure ad essere usati come supporto di premiscele.

- **Omogeneizzazione:** operazione di mescolamento mediante la quale una miscela eterogenea viene resa omogenea. In alcuni casi, l'omogeneizzazione della miscela non è sufficiente per determinare l'omogeneità dell'analita contenuto nella miscela.
- **Partita o lotto (art.3 del regolamento CE n.767/2009):** una quantità identificabile di mangimi che possiedono caratteristiche comuni come l'origine, la varietà, il tipo d'imballaggio, l'identità dell'imballatore, quella dello speditore o l'etichettatura e, nel caso di un processo produttivo, un'unità di produzione prodotta in un singolo impianto applicando parametri di produzione uniformi o più unità di produzione, se prodotte in ordine continuo e immagazzinate nello stesso impianto.
- **Porzione campionata:** lotto o parte identificata del lotto o sottolotto costituente un'unità e avente caratteristiche presunte uniformi *e pertanto sottoposta a campionamento*".
- **Premiscela medicata:** qualsiasi medicinale veterinario preparato in anticipo per la successiva fabbricazione di mangimi medicati.
- **Premiscele:** le miscele di additivi per mangimi o le miscele di uno o più additivi per mangimi con materie prime per mangimi o acqua, utilizzate come supporto, non destinate ad essere somministrate direttamente agli animali.
- **Prodotto intermedio:** prodotto medicato ottenuto dalla miscelazione di una premiscela medicata autorizzata con uno o più mangimi, che contiene una concentrazione di elemento medicamentoso multipla della dose giornaliera consentita per la specie animale di destinazione e destinato alla fabbricazione successiva di mangimi medicati pronti per l'uso.

### 3. CRITERI DI CAMPIONAMENTO

I Criteri di campionamento sono tre:

1. **casuale** o **non mirato:** indica il campionamento ufficiale programmato nell'ambito del **piano di Monitoraggio**, atto a valutare l'evoluzione nel tempo di un determinato fenomeno, in riferimento ad obiettivi o requisiti predefiniti. Non è previsto il sequestro amministrativo preventivo della partita/lotto campionato.
2. **mirato:** indica il campionamento ufficiale programmato nell'ambito del piano di Sorveglianza che tiene conto di taluni criteri di rischio potenziale per gli animali, per l'uomo e per l'ambiente e delle precedenti non conformità. Non è previsto il sequestro amministrativo preventivo della partita/lotto campionato.
3. **su sospetto:** è un campionamento ufficiale non programmato, ma effettuato sulla base di:
  - sospetto di irregolarità (in base a filoni d'indagine, notizie anamnestiche, segnalazione da parte di altri organi di controllo);
  - emergenze epidemiologiche;
  - emergenze tossicologiche;
  - eventi comunque straordinari.

Per tale tipo di campionamento è previsto il sequestro amministrativo preventivo della partita/lotto campionato, la raccolta di tutte le informazioni utili per circoscrivere l'episodio, la

messa in atto di tutte le misure necessarie a rintracciare i mangimi non conformi o sospetti e la valutazione delle misure preventive da adottare.

#### **4. PERSONALE CHE ESEGUE I CAMPIONAMENTI**

Le Autorità competenti devono disporre di personale in numero sufficiente, adeguatamente qualificato e di attrezzature idonee per espletare l'attività di campionamento.

Secondo l'art. 5 comma 4 del Regolamento (UE) n. 2017/625, la stessa Autorità Competente assicura che tutto il suo personale che esegue controlli ufficiali:

- a) riceve, per il proprio ambito di competenza, una formazione adeguata che gli consenta di svolgere i propri compiti con competenza e di effettuare i controlli ufficiali e le altre attività ufficiali in modo coerente;
- b) si mantiene aggiornato nel proprio ambito di competenza e riceve, se del caso, ulteriore formazione su base regolare; e
- c) riceve formazione sui temi di cui al capo I dell'allegato II e sugli obblighi inerenti alle autorità competenti in forza del presente regolamento, se del caso.

Il personale dell'AC deve eseguire i campionamenti in maniera assolutamente autonoma (a meno che imprevedibili esigenze di sicurezza non richieda la collaborazione di altro personale) e in nessun caso deve ricorrere all'ausilio dell'operatore.

#### **5. TIPO DI CAMPIONAMENTO**

##### **5.1. Campionamento Statico**

I prelievi vengono effettuati in punti specifici ripartiti sulla massa non in movimento. Norma ISO 24333:2009 (prelievo in punti diversi di una massa stoccata), operando sulle superfici libere della massa stessa.

Può essere eseguito mediante attrezzature automatiche o manualmente con pale con bordi rialzati o sonde lunghe fessurate in successione (Nobbe). Il margine di errore, di per sé più alto rispetto al prelievo dinamico, per questa modalità, decresce progressivamente al diminuire della massa campionata (vagone > silos > sacchi > piccole confezioni).

##### **5.2. Campionamento Dinamico**

I prelievi vengono effettuati in tempi diversi da una massa in movimento (per merci alla rinfusa). Norma ISO 24333:2009. Può essere eseguito mediante sistemi manuali od automatici (campionatori), con prelievi da nastri trasportatori o da masse di alimenti in flusso (es. durante il carico o lo scarico).

La frequenza di prelievo dei campioni elementari (intesa come intervallo di tempo) è in funzione della velocità di flusso, delle dimensioni della matrice e del campione globale da prelevare; il prelievo del campione va effettuato considerando che gli intervalli di tempo tra un prelievo e l'altro siano commisurati alla durata dello scarico o del carico.

Al fine di determinare l'intervallo di tempo (minuti) che deve intercorrere tra il prelievo di un campione elementare e l'altro, si può utilizzare la seguente formula:

Intervallo di campionamento (espresso in minuti) =

$$\text{Durata dello scarico (in minuti)} / \text{numero di CE da prelevare}$$

Es.: Scarico di 400 t, velocità di scarico sia pari a 100 t/ora, la durata dello scarico risulta pari a 240 minuti; considerando di dover prelevare 40 CE

**Intervallo di campionamento = 240 / 40 = 6 min**

Pertanto si deve prelevare 1 C.E. ogni 6 minuti.

## **6. MATRICI DA SOTTOPORRE A CAMPIONAMENTO E ANALITI DA RILEVARE/DETERMINARE**

Le tipologie di mangimi oggetto di campionamento e considerate nel Piano Nazionale di Controllo ufficiale sull’Alimentazione Animale (PNAA), redatto dal Ministero della Salute, Direzione Generale della Sanità Animale e dei Farmaci Veterinari, Ufficio 7 sono le seguenti:

- additivi;
- premiscele di additivi;
- materie prime per mangimi;
- mangimi composti non medicati (completi e complementari);
- alimenti medicamentosi per animali (contenenti premiscele medicate);
- prodotti intermedi,
- Aqua di abbeverata.

Le modalità di esecuzione del campionamento si differenziano in relazione alla distribuzione degli analiti da ricercare nel mangime da campionare.

Ai fini della presente Linea Guida si distinguono due tipologie di distribuzione:

- **CATEGORIA A)** analiti distribuiti in modo uniforme;
- **CATEGORIA B)** analiti distribuiti in modo non uniforme.

Di seguito si riportano gli analiti, considerati nel PNAA, suddivisi in funzione della tipologia di distribuzione:

**Tabella n.1**

<b>Tipologia di distribuzione A: analiti distribuiti in modo uniforme</b>	<b>Tipologia di distribuzione B: analiti distribuiti in modo non uniforme</b>
Principi farmacologicamente attivi e additivi	Principi farmacologicamente attivi e additivi (contaminazione crociata / carry over)
Radionuclidi	Costituenti origine animale vietati
Metalli Pesanti (arsenico, piombo, mercurio, cadmio)	Micotossine e Tossine Vegetali
Altre sostanze indesiderabili (nitriti, melamina)	OGM granella
OGM non in granella	
Diossine - PCB Diossina - simili - PCB non Diossina Simili	Sostanze indesiderabili (di cui alla direttiva 2002/32/CE, allegato I sezioni III e IV)
Pesticidi	<i>Salmonella</i> spp.

È importante precisare che la maggior parte degli analiti distribuiti in modo non uniforme nelle materie prime possono però essere distribuiti in modo uniforme **nei mangimi composti** a seguito dell'attività di miscelazione che comporta una uniformità nella distribuzione degli analiti attraverso l'intera massa del mangime. Pertanto mentre per le materie prime per mangimi il campionamento deve essere **generalmente** effettuato secondo quanto indicato al punto 5.2 dell'allegato I al Reg. (UE) n. 691/2013 (vedi Tabella 3 di cui alla presente linea guida), per i mangimi completi e complementari potranno essere utilizzati i metodi di cui al punto 5.1 del suddetto allegato I (vedi Tabella 2 di cui alla presente linea guida).

**Nel caso in cui l'autorità di controllo sospetti fortemente che si abbia una distribuzione non uniforme anche in un mangime composto come nel caso di contaminazione crociata ad esempio da componenti di origine animale vietati o da principi farmacologicamente attivi, è raccomandabile comunque applicare i requisiti previsti per gli analiti non uniformemente distribuiti (Tabella 3).**

Per gli analiti non previsti dal PNAA, il campionamento dovrà essere eseguito tenendo conto della distribuzione uniforme o non uniforme, sentito il parere dell'Istituto Superiore di Sanità e/o del Centro di Referenza nazionale per la Sorveglianza e il controllo degli alimenti per animali (C.Re.A.A.). Le Regioni/Istituti dovranno informare il Ministero in merito alle modalità di campionamento adottate.

## 7. STRUMENTI PER IL CAMPIONAMENTO

Gli strumenti utilizzati devono essere realizzati con materiali che non possono contaminare i prodotti da campionare, devono essere puliti, e quando necessario sterili. Idonei dispositivi di protezione individuale devono essere utilizzati qualora necessari.



Se destinati ad essere riutilizzati varie volte, gli strumenti devono consentire una agevole pulizia, per evitare una contaminazione crociata.

L'AC deve disporre della propria attrezzatura di campionamento selezionata in base alle esigenze di servizio e non deve ricorrere a quella messa a disposizione dell'operatore.

## **7.1 Strumenti raccomandati per il prelievo di campioni da mangimi solidi**

### **7.1.1 Campionamento manuale**

- Pala a fondo piatto e liscio e a bordi laterali verticali.
- Sonda a lungo setto o a partizioni (tipo Nobbe). Le dimensioni della sonda devono essere adeguate alle caratteristiche della partita da campionare (profondità del recipiente, misure del sacco ecc.) e alla dimensione delle particelle costituenti il mangime.

### **7.1.2 Campionamento meccanico**

Per il prelievo di campioni di mangimi in flusso possono essere utilizzati strumenti meccanici appropriati, vale a dire che consentano di sottoporre a campionamento almeno l'intera sezione del flusso. Il campionamento dei mangimi in movimento (a elevata velocità di flusso) può essere effettuato facendo uso di campionatori automatici.

## **7.2 Strumenti raccomandati per il prelievo di campioni da mangimi liquidi**

Oli e grassi, melasso e altri mangimi liquidi stoccati in taniche o bidoni possono essere campionati utilizzando una sonda a tubo di vetro/acciaio, o con strumenti atti alla raccolta di liquidi (mestoli etc..) di acciaio inossidabile. I liquidi sfusi possono richiedere un campionatore meccanico a pompa.

In tutti i casi, i liquidi dovrebbero essere soggetti a mescolamento (manuale o meccanico) prima del prelievo dei campioni elementari.

## **7.3 Divisori**

Si ricorda che, per preparare campioni ridotti rappresentativi, devono essere utilizzati strumenti che garantiscono la suddivisione dei campioni in parti uguali (divisori meccanici o automatici). Pertanto al fine di aumentare il livello di qualità dell'attività di campionamento, ove il numero di campioni ufficiali sia tale da giustificare lo sforzo economico, si raccomanda di implementare la dotazione strumentale anche con tale attrezzatura. In caso tali strumenti non siano disponibili, può essere comunque utilizzato il sistema suddivisione del CG in quarti, tranne che per la ricerca di analiti distribuiti in modo non uniformi.

## **7.4 Contenitori**

I contenitori utilizzati per la raccolta del campione, devono essere asciutti e puliti, costituiti da materiale inerte, in grado di proteggerlo da contaminazioni, deterioramento, perdita di analiti, eventuali danni causati dal trasporto e dai raggi solari.

Un contenitore adeguato dovrebbe possedere le seguenti caratteristiche:

- tenuta ermetica;
- infrangibile;
- facilmente trasportabile;
- apertura "a bocca larga";
- presenza di una zona per l'identificazione.

I contenitori devono essere opachi. Se si utilizzano contenitori trasparenti, essi, una volta riempiti, dovranno essere conservati al riparo dalla luce.

Il contenitore da utilizzare viene scelto in relazione alla tipologia del campione, ovvero se il campione si presenta allo stato solido o liquido.

Possono essere usati contenitori di plastica monouso, oppure sacchetti di plastica, con adeguati mezzi di chiusura. Va evitato l'uso di contenitori di plastica rigida (es. barattoli per l'analisi delle urine ad uso umano) che si fessurano facilmente alle temperature di congelamento e che hanno la chiusura del tappo esclusivamente a pressione. Le buste di cartone sigillate mediante fermagli metallici non garantiscono a lungo l'integrità del sigillo che facilmente può staccarsi dal cartone. La confezione contenente il campione deve riportare in modo indelebile i dati identificativi del campione, in maniera tale da essere collegato inequivocabilmente al verbale di campionamento evitando l'uso di pennarelli il cui inchiostro si diluisce a contatto con l'acqua o l'umidità. Al fine di garantire la corretta sigillatura ed identificazione dei campioni di matrici liquide e solide si raccomanda l'uso di buste antimanomissione, ove possibile.

#### **7.4.1 Contenitori per matrici solide**

I mangimi solidi devono essere posti all'interno di idonei contenitori che proteggano il campione dall'esposizione solare e nello stesso tempo assicurino la conservabilità del campione in laboratorio. E' corretto utilizzare un doppio sacchetto (non per micotossine): un sacchetto interno in plastica contenente il campione, posto entro un contenitore inviolabile, o, in subordine, in busta di cartone.

I campioni di alimenti secchi per la ricerca di micotossine vanno conservati in un sacchetto di carta a doppio strato o in un sacchetto di cotone e in un posto freddo e asciutto a meno di non congelare immediatamente il campione. I campioni umidi devono essere conservati in un sacchetto di plastica e congelati.

#### **7.4.2 Contenitori per matrici liquide**

I mangimi liquidi devono essere prelevati in idonei contenitori di plastica per uso alimentare dotati di doppio tappo (tappo a pressione interno più tappo a vite esterno) o comunque a chiusura ermetica inviolabile.

#### **7.4.3 Prescrizioni per i contenitori per la raccolta di mangimi per la ricerca di Diossine e di PCB diossina-simili**

I campioni devono essere conservati e trasportati in appositi contenitori in vetro, alluminio polipropilene o polietilene. Ad esempio, prodotti liquidi, come gli oli vegetali, o semisolidi, come i grassi animali, dovranno essere confezionati in barattolo a chiusura ermetica, mentre i prodotti solidi, come mangimi secchi o umidi, dovranno essere confezionati in sacchetto, sempre ermeticamente chiuso. Non devono mai essere utilizzati contenitori di carta.

## 8 FORMAZIONE, CONFEZIONAMENTO ED INVIO DEI CAMPIONI AL LABORATORIO

(leggere in combinato disposto con le tabelle n. 2 e 3)

Prelevare e formare i campioni il più rapidamente possibile prendendo le precauzioni necessarie per evitare qualsiasi alterazione o contaminazione. Le superfici, i recipienti e gli strumenti impiegati devono essere puliti e asciutti e se del caso sterili.

La grandezza della porzione da campionare deve essere tale da consentire il prelievo di CE in ogni sua parte.

### 8.1. Campioni elementari

I CE vanno prelevati a caso dall'insieme della porzione da campionare e devono generalmente risultare d'entità approssimativamente uguale e pari ad almeno 100 grammi o a 25 grammi in caso di foraggio grossolano o foraggio a basso peso specifico.

Qualora siano da prelevare meno di 40 campioni elementari, conformemente alle norme procedurali per il campionamento fissate ai punti 10 e 11, le dimensioni di tali campioni sono determinate in funzione delle dimensioni prescritte per il campione globale (tabella n.2 e 3).

Ad esempio nel caso di un campionamento avente come scopo quello di determinare il contenuto di zinco (distribuzione uniforme) in un lotto di 300 q di mangime composto sfuso per suini, le dimensioni dei 7 CE (ved. tabella 2) dovrebbero essere pari a circa 600 g/CE per permettere la formazione di un CG di almeno 4 Kg.

Se per il campionamento si utilizza una sonda tipo Nobbe a partizioni, in via generale, si può considerare che ad ogni foro della sonda corrisponda un campione elementare (a condizione che sia raccolta la minima quantità definita per i CE) se c'è una distanza di almeno 50 cm da un foro all'altro. In tal caso, è necessario avere cura di inserire obliquamente (angolo di 10° dalla verticale) la sonda nella massa da campionare con i fori completamente chiusi e rivolti verso l'alto, prendoli solo quando la sonda è in posizione, con la parte finale quanto più vicina possibile al fondo della massa per fare sì che il campione sia prelevato in diversi punti della porzione da campionare.

In caso di campionamento di piccoli lotti di mangime confezionato da cui, in base ai requisiti quantitativi, sia da prelevare un numero limitato di campioni elementari, il campione elementare è dato dal contenuto di un'unità originaria di peso non superiore a 1 kg o di volume non superiore a 1 litro.

Per i campionamenti di mangime confezionato costituito da piccole confezioni (ad esempio < 250 g), le dimensioni del campione elementare dipendono dalle dimensioni delle confezioni.

In caso di partite molto grandi o di difficile accesso (cfr. par11) il campionamento può riguardare soltanto una parte rappresentativa (porzione campionata) del lotto/partita. Il numero di campioni elementari è determinato tenendo conto delle dimensioni della porzione realmente campionata.

#### 8.1.1. Alimenti alla rinfusa

Eventualmente si può procedere al campionamento al momento della messa in movimento della partita da campionare (carico o scarico).

Se si preleva da materie prime o mangimi composti alla **rinfusa**, suddividere virtualmente la partita in parti approssimativamente uguali il cui numero corrisponde al numero di campioni elementari. Prelevare almeno un campione elementare da ciascun settore virtuale; in alternativa, qualora si decidesse di prelevare due campioni elementari da uno stesso settore, operare in modo analogo anche negli altri punti di prelievo così da ottenere un prelievo bilanciato (campionamento statico).

### **8.1.2. Alimenti in confezioni**

Dopo aver selezionato il numero prescritto di confezioni unità da campionare di uno stesso lotto secondo quanto indicato nelle tabelle n. 2 o 3, prelevare con una sonda o con una pala una parte del contenuto di ciascuna di tali confezioni. All'occorrenza svuotare separatamente le confezioni.

Ove praticabile, prelevare senza ledere il sigillo della confezione, utilizzando strumenti capaci di forare l'imballaggio e prelevare il materiale. Il foro praticato nell'imballaggio deve essere successivamente chiuso con il sigillo dell'autorità competente prelevatrice.

### **8.1.3. Alimenti liquidi o semiliquidi omogenei o omogeneizzabili**

Dopo aver selezionato il numero prescritto di unità da campionare secondo quanto indicato nelle tabelle n. 2 o 3, prelevare una parte del contenuto di ciascuna unità, se necessario dopo omogeneizzazione. I CE possono eventualmente essere prelevati al momento del travaso del prodotto.

### **8.1.4 Alimenti liquidi o semiliquidi non omogeneizzabili**

Dopo aver selezionato il numero prescritto di unità da campionare secondo quanto indicato nelle tabelle n. 2 o 3, prelevare i campioni a diversi livelli. I campioni possono essere prelevati anche al momento del travaso del prodotto, dopo eliminazione delle prime frazioni.

In entrambi i casi, il volume totale dei prelievi non deve essere inferiore a 10 litri.

### **8.1.5. Alimenti minerali formellati o mattonelle di sali minerali**

Dopo aver selezionato il numero prescritto di formellati o mattonelle da campionare secondo quanto indicato nelle tabelle n. 2 o 3, prelevare una parte da ciascun formellato o da ciascuna mattonella. Se si ha il sospetto che un formellato o una mattonella non sia omogeneo/a, può essere prelevato come campione l'intero formellato o l'intera mattonella. Per i formellati o le mattonelle di peso unitario non superiore a 1 kg, il CE è costituito dal contenuto di un formellato o di una mattonella.

## **8.2. Formazione dei campioni globali/campioni ridotti**

Riunire tutti i campioni elementari prelevati dalla partita per ottenere **un unico** campione globale. Il materiale del campione globale va omogeneizzato anche con l'utilizzo di un apposito contenitore, mediante opportuna (per tempo e portata) e accurata mescolatura. Eventuali grumi vanno schiacciati e poi reintegrati nella massa.

Il CGO può essere "ridotto" ad un peso di 2 Kg mediante diversi metodi, ma sempre attraverso un divisore automatico nel caso che il campione sia destinato alla ricerca di analiti non uniformemente distribuiti.

Nel caso di ricerca di micotossine e OGM in materie prime in granello è auspicabile che la riduzione avvenga dopo la macinazione, in alternativa qualora ciò risulti eccessivamente difficile o possa generare situazioni di scarsa sicurezza (ad es. movimentazione di carichi eccessivi) la riduzione può precedere la macinazione ma tale eventualità deve essere debitamente motivata nel verbale di prelievo.

Se il mangime da sottoporre a campionamento ha un valore particolarmente elevato, è possibile prelevare una quantità inferiore di CG purché ciò sia indicato e documentato nel verbale di prelievo.

### 8.3. Formazione dei campioni finali

Formare dal CGO o da quello ridotto, se del caso macinati, almeno 4 campioni finali (nel caso in cui il detentore sia diverso dal produttore prelevare 1 CF aggiuntivo per quest'ultimo) di massa o di volume approssimativamente uguale e rispondenti alle prescrizioni quantitative di cui alle tabelle n. 2 o 3.

Se il campione è destinato ad analisi microbiologiche formare un unico CF.

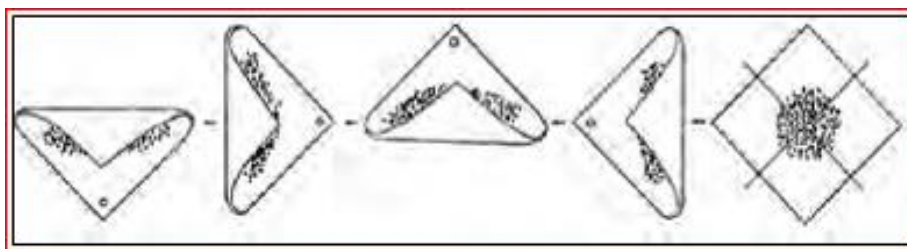
Introdurre ciascun campione finale in un contenitore/recipiente idoneo, prendendo tutte le precauzioni necessarie per evitare qualsiasi modifica di composizione, contaminazione o alterazione fortuita del campione durante la conservazione, compreso il trasporto.

Nel caso sia necessario formare i campioni finali da un campione ridotto, si raccomanda per la formazione di quest'ultimo, l'uso di un divisore meccanico o automatico. soprattutto per la ricerca di sostanze non uniformemente distribuite.

Per la ricerca di analiti presumibilmente distribuiti **in modo uniforme**, il CGO può essere ridotto in modo rappresentativo a non meno di 2 kg o 2 litri a meno che esigenze di analisi specifiche richiedano diversamente. Per la verifica della presenza di residui di pesticidi in leguminose, cereali in granella e frutta in guscio, il campione ridotto deve essere di almeno 3 Kg.

Solo in caso non sia possibile a causa della natura del mangime, si può ricorrere al metodo della suddivisione in quarti.

Esempio:



Per la ricerca di **analiti presumibilmente distribuiti in modo non uniforme**, il campione globale dovrà essere interamente e accuratamente omogeneizzato e successivamente diviso in campioni finali, oppure sempre previa accurata omogeneizzazione ridotto a non meno di 2 kg o 2 litri (ad eccezione del foraggio a basso peso specifico) esclusivamente mediante divisori meccanici o automatici. Ulteriori prescrizioni specifiche per la ricerca di OGM e micotossine in materie prime in granella, considerata la distribuzione non uniforme di tali sostanze e la difficoltà di ottenere una distribuzione omogenea dell'analita nel CF, legata alla tipologia delle matrici, sono fornite al paragrafo 9.

Per quanto riguarda i campionamenti effettuati dai PCF, fatto salvo quanto disposto per le partite oggetto di blocco ufficiale presso il PCF, dalla nota ministeriale DGSAN 0015199-P-10/05/2011 (prelievo di 3 CF), si precisa che i campioni prelevati, senza blocco, ai sensi del presente Piano, dovranno seguire quanto indicato dalle presenti Linee Guida con il prelievo di 4 CF.

### 8.4. Confezionamento dei campioni

Sigillare ed etichettare i recipienti o le confezioni in modo che non possano essere aperti senza violare il sigillo: si raccomanda l'uso di buste auto sigillanti. L'etichetta del campione, completa di tutte le informazioni necessarie, deve essere incorporata nel sigillo. Nel caso di buste auto sigillanti i riferimenti che legano il campione al verbale di prelievo sono riportati sulla busta stessa che pertanto sostituisce il cartellino.

Il campione deve essere sigillato in modo tale da non essere accessibile senza la rottura o l'asportazione del sigillo. Il marchio del sigillo deve essere chiaramente identificabile e ben visibile. In alternativa, il campione può essere inserito in un recipiente dotato di chiusura antimanomissione.

È necessario prendere tutte le precauzioni del caso per evitare qualsiasi modifica della composizione del campione o qualsiasi contaminazione o alterazione fortuita durante il trasporto o lo stoccaggio, compresa l'esposizione ai raggi solari e a temperature non idonee.

Ove necessario, la conservazione e il trasporto dei campioni dovrà avvenire in condizioni di temperatura controllata.

### **8.5. Identificazione e destino dei campioni finali.**

Di seguito si descrivono le modalità secondo cui procedere nel caso in cui i CF siano preparati dal personale ufficialmente designato dalla ASL/PCF di competenza.

Il campione deve essere contrassegnato in modo indelebile e deve essere identificato in maniera tale da essere collegato inequivocabilmente al verbale di campionamento corrispondente.

Per ogni operazione di campionamento, e se del caso, di macinazione e successiva formazione dei CF è necessario redigere un verbale che descriva tutte le procedure di campionamento in maniera precisa e comprensibile (Allegato 1, 1a e 1b Macinazione) con la compilazione di tutti i dati richiesti.

Il **verbale di prelevamento**, comprensivo della sezione dove descrivere le operazioni di prelievo eseguite, deve essere compilato in modo chiaro e leggibile. Il verbale di prelevamento è reperibile anche dal sistema informatico SINVSA accessibile dal link: <https://www.vetinfo.sanita.it>. Al verbale deve essere allegata l'etichetta o copia del documento commerciale.

Il verbale viene redatto in un numero sufficiente di copie tali da accompagnare ogni CF più una copia che resterà agli atti dell'AC che ha effettuato il campionamento.

I CF sono consegnati, sigillati e accompagnati da copia del verbale come segue:

- n. 1 al detentore e sarà utile per la prova di controperizia, (nel caso in cui il detentore sia diverso dal produttore prelevare 1 CF aggiuntivo anche per quest'ultimo, tranne per i PCF).
- n. 3 vengono consegnati all'IZS territorialmente competente:
  - n. 1 verrà sottoposto alle prove di laboratorio di prima istanza,
  - n. 1 verrà conservato per renderlo eventualmente disponibile all'ISS per l'effettuazione delle analisi di controversia,
  - e n. 1 verrà conservato per l'Autorità Giudiziaria (tranne per i PCF).

L'AC nel momento in cui consegnerà i CF al OSM presso il quale ha effettuato il campionamento, darà tutte le informazioni utili a garantirne la corretta conservazione anche del CF destinato al produttore del mangime, ricordandogli di dare al produttore tempestiva comunicazione dell'avvenuto campionamento, con inoltro di una copia del verbale.

Nel caso in cui l'OSM volesse procedere ad effettuare una controperizia l'AC è tenuta a consegnare la documentazione utile nel più breve tempo possibile.

Nel caso di campioni destinati a prove microbiologiche, per tutti i tipi di matrice, si procede con la formazione di un unico CF che sarà destinato all'IZS territorialmente competente per la prova unica e irripetibile. Deve essere garantita la convocazione delle parti interessate da parte dell'AC attraverso il verbale di campionamento.

**Nel caso di controlli analitici per i quali è prevista una prima analisi di screening seguita da un'analisi di conferma, se il laboratorio non dispone del metodo di conferma accreditato, l'autorità competente dovrà procedere al prelievo di un ulteriore campione finale**

**al fine di avere un ulteriore CF disponibile per l'inoltro dal suddetto laboratorio ad un altro I.Z.S. in possesso della prova accreditata, al fine del completamento dell'analisi.**

Infatti, la nota del Ministero della Salute n. prot. DSVET-4333-P del 03/08/2011 avente per oggetto: “Gestione dei campioni per l’esecuzione dei controlli ufficiali sugli alimenti e mangimi di cui al Regolamento (CE) n. 882/2004” prevede “*nel caso in cui sia conferito un campione per il quale l’Istituto Zooprofilattico Sperimentale competente per territorio non disponga della metodica accreditata, su base continuativa o per circostanze impreviste, tale Istituto può subappaltare tale prova ad un laboratorio in possesso della prova accreditata. In tal caso il campione deve essere trasferito tal quale dal laboratorio ricevente al laboratorio in possesso della prova accreditata.*”

Nel caso di prelievo da mangimi sfusi in allevamento, se presenti, il personale che effettua il prelievo deve acquisire l’informazione della presenza o meno di campioni di mangimi in contraddittorio ai sensi della Legge 281/63 e farne menzione nel verbale di prelievamento.

### **8.6. Invio dei campioni al laboratorio.**

La buona conservazione del campione dopo il prelievo è importante per garantire un buon risultato analitico. In genere tutti i campioni vanno tenuti in luogo fresco e asciutto fino alla consegna al laboratorio, se necessario in frigorifero.

Il tempo che intercorre tra il prelievo e la consegna al laboratorio dovrebbe essere il più breve possibile e, comunque, **non eccedere le 48 ore**. In caso di tempi più lunghi potrebbe essere opportuno consultare il laboratorio per verificare l’eventuale necessità di congelare il campione.

I campioni devono essere accompagnati dal verbale di prelievo e con esso vanno inviate anche tutte le informazioni ritenute necessarie per il laboratorio.

## 9. ISTRUZIONI SPECIFICHE PER LA PREPARAZIONE DEL CAMPIONE PER L'ANALISI DELLE MICOTOSSINE E DEGLI OGM IN MATERIE PRIME IN GRANELLA - DISTRIBUZIONE NON UNIFORME

### 9.1 Formazione del campione globale (CG)

Il CG deve essere formato dall' unione di tutti i CE prelevati dalla partita. Nel caso di prodotti in confezioni inferiori a 1 kg è necessario aprire le singole confezioni e riunire tutti i CE formanti il CG dopo aver preso le precauzioni necessarie per evitare possibili contaminazioni crociate.

Per la verifica della presenza di materiale geneticamente modificato nel quadro del regolamento (UE) n. 619/2011, il campione globale/ridotto deve essere tale da permettere di ottenere campioni finali di almeno 10 000 semi/grani, pertanto la dimensione del campione globale non deve essere inferiore al peso corrispondente a 35000 semi/semi.

Tuttavia, essendo almeno 4 i campioni finali previsti dalla normativa nazionale, il campione globale deve essere costituito da almeno 40000 semi.

Ciò significa che per il mais il campione globale deve essere pari ad almeno 12 kg e per la soia a 8 kg. Per altri semi e grani come orzo, miglio, avena, riso, segale, frumento e colza, il campione globale di 4 kg è costituito da ben più di 40.000 semi. Nel caso siano necessari più campioni finali sarà necessario prelevare quantità superiori di materiale utilizzando come guida la tabella successiva.

Per quanto attiene invece ai controlli frontali operati dai PCF sempre nel contesto del regolamento (UE) n. 619/2011, essendo prevista, in base a quanto disposto dal Ministero della Salute (DGSAN 15199-P-10/05/2011), la formazione di 3 campioni finali, il campione globale/ridotto deve essere almeno pari a 9 kg per il mais, 6 kg per la soia, mentre per altri semi e grani, quali quelli già elencati nel capoverso precedente, un campione globale di 4 kg risulterà più che sufficiente.

Si riporta di seguito una tabella riepilogativa dei campionamenti di materie prime in granella per la ricerca di **OGM non autorizzati ricadenti nel campo di applicazione del Regolamento (CE) 619/2011 e che si ricorda hanno una distribuzione non uniforme nel mangime.**

Specie vegetale	Campione finale in gr (corrispondente a 10000 semi)	Campione globale minimo in kg per i controlli sul territorio nazionale	Campione globale minimo in kg per i controlli all'importazione
Orzo, miglio, avena, riso, segale, frumento	400	4	4
Granturco	3000	12	9
Soia	2000	8	6
Semi di colza	40	4	4

Il CG deve successivamente essere omogeneizzato con apposito strumento, adeguatamente pulito, mediante opportuna (per tempo e portata) mescolatura.



Il CGO è opportunamente sigillato e munito di cartellino identificativo recante le informazioni necessarie ad individuare la partita a cui il campione appartiene. **Il CGO è successivamente consegnato dagli organi ufficiali preposti al campionamento al laboratorio** di analisi per l'espletamento della successiva fase relativa alla formazione dei campioni finali.

Il CGO deve necessariamente essere accompagnato da un verbale di prelevamento recante tutte le informazioni, rese in modo leggibile, necessarie ad identificare sia la partita di riferimento sia le modalità di campionamento effettuate (Allegato 1/1a del PNAA).

## **9.2 Formazione del campione ridotto**

Come specificato nel paragrafo 8.2, è auspicabile che la riduzione avvenga dopo la macinazione, in alternativa qualora ciò risulti eccessivamente difficile o possa generare situazioni di scarsa sicurezza (ad es. movimentazione di carichi eccessivi) la riduzione può precedere la macinazione, ma tale eventualità deve essere debitamente motivata nel verbale di prelievo.

## **9.3 Formazione dei campioni finali**

Al fine di garantire una distribuzione uniforme dell'analita nei CF, **le operazioni di macinazione devono essere effettuate sul campione globale opportunamente omogeneizzato** salvo diverse disposizioni derivanti da normative specifiche (es. Decisione 2013/287/UE – prodotti di riso provenienti dalla Cina).

La fase di macinazione consente di ottenere una migliore attendibilità dei risultati di laboratorio in quanto consente di fornire una migliore precisione, ripetibilità ed esattezza delle analisi di laboratorio.

I CF sono ottenuti dalla macinazione del CGO con apposita apparecchiatura o da banco o industriale.

Considerate le diverse realtà organizzative regionali e le varie dinamiche produttive e commerciali, le operazioni di macinazione del CGO, devono essere effettuate da personale adeguatamente formato, con attrezzature idonee, presso locali con adeguati requisiti strutturali appositamente individuati dalle Autorità regionali.

Ai fini di una uniforme applicazione del PNAA, la macinazione per l'omogeneizzazione come parte della preparazione del campione è preferibile che sia eseguita presso strutture idonee di pertinenza della ASL. Ove tale condizione non sia praticabile, il Ministero raccomanda che le Autorità Regionali individuino **gli IZS come sedi idonee** in cui effettuare l'attività di macinazione del campione globale per l'ottenimento dei CF.

Pertanto, se la macinazione del CGO non avviene nel luogo di prelievo, il CGO dovrà essere sigillato e munito di cartellino identificativo recante le informazioni necessarie ad individuare la partita a cui il campione appartiene.

Inoltre, il CGO deve necessariamente essere accompagnato nel luogo individuato dalle Autorità competenti per la macinazione da un verbale di prelevamento recante tutte le informazioni, rese in modo leggibile, necessarie ad identificare sia la partita di riferimento sia le modalità di campionamento (Allegato 1/1a e 1b del PNAA).

Se è richiesta la valutazione del contenuto di umidità, è opportuno che quest'ultimo sia determinato prima della fase di omogeneizzazione.

### **9.3.1 Micotossine**

Per le micotossine, l'omogeneizzazione delle materie prime in granella potrà essere effettuata con:  
i) la macinazione a secco, attraverso l'uso di strumenti che raggiungano una sufficiente granulometria, o ii) tramite formazione dello slurry, prodotto ottenuto per miscelazione della matrice alimentare con porzioni adeguate di acqua.

La **macinazione** delle materie prime in granella a diverse granulometrie si ottiene con opportuni macinini a tamburo che sono capaci di frantumare i semi fino ad ottenere un macinato di composizione variabile di granulometria. Quanto maggiore la percentuale di particelle a granulometria < a 200 µm tanto più sarà garantita l'omogeneità [5].

L'utilizzo di setacci da 0.75 mm danno una composizione di granulometria con le seguenti percentuali:

- il 64% di particelle di dimensioni < 200 µm
- il 25 % di particelle di dimensioni fra 200 a 315 µm
- il 10 % di particelle di dimensioni fra 315 a 500 µm

L'utilizzo di una doppia macinazione con setacci da 2 mm prima e 0,5 mm poi, danno una composizione di granulometria con:

- l'88 % di particelle di dimensioni < 200 µm
- il 12 % di particelle di dimensioni fra 200 a 315 µm
- lo 0,15 % di particelle di dimensioni fra 315 a 500 µm

Lo **slurry** è una pasta omogenea che si ottiene per miscelazione di porzioni definite di campione globale (CG) con una quantità di acqua di rete tale da ottenere una pasta densa ed omogenea in cui non sono più visibili grani interi di matrice né acqua separata dalla matrice (slurry). Uno slurry pastoso ben preparato (senza grani visibili) garantisce una omogeneità paragonabile alla macinazione fine (doppia macinazione) ma superiore al macinato a secco con setacci da 2 mm [1].

Il grado di omogeneità delle micotossine nel campione (es. CGO o campione finale) costituito da materie prime in granella macinate (es. mais) è fortemente influenzato dalla granulometria del campione stesso. Alcune pubblicazioni [1,3] hanno dimostrato l'effetto della macinazione o produzione di slurry nella distribuzione delle micotossine attraverso analisi ripetute di campioni indipendenti di macinati o slurry. I risultati mostrano che sia la macinazione fine che la procedura di slurry risultano le tecniche più adeguate ad ottenere l'omogeneizzazione ottimale del campione. Il processo di omogeneizzazione è stato valutato in termini di risultati analitici attraverso la misura dei coefficienti di variazione ottenuti nei diversi trattamenti (macinazione a granulometriche grossolana, macinazione a granulometria fine e slurry). L'efficacia del processo di omogeneizzazione è stato valutato in termini di risultati analitici attraverso la misura del coefficiente di variazione ottenuto per l'elaborazione del campione macinato a granulometria grossolana, macinato a granulometria fine e lo slurry.

### ***Vantaggi/svantaggi***

Tra le due tecniche (macinazione a secco e formazione dello slurry) ci sono svantaggi e vantaggi che possono orientare per l'uso dell'una o l'altra modalità. La tipologia di matrice, la quantità o la strumentazione disponibile possono portare a preferire una o l'altra. Il tempo contenuto necessario per la preparazione di slurry con matrici di semi oleaginosi, per esempio, è un vantaggio rispetto alla macinazione a secco che provocherebbe l'occlusione dei macinini per l'alto contenuto di grasso. Dopo la preparazione dello slurry, il vantaggio di pulire l'attrezzatura con un getto d'acqua è preferibile rispetto alla pulizia del mulino durante la macinazione a secco a causa della formazione di polveri aerodisperse che obbliga all'uso di mascherine adatte per evitare l'esposizione alle polveri. Infine, la quantità di rifiuti che deve essere smaltita in seguito alla preparazione di grosse quantità di slurry rappresenta invece uno svantaggio di questa procedura rispetto alla produzione delle farine durante la macinazione. Infatti, per ogni kg di campione di materie prime in granella da omogeneizzare si producono circa 2-3 kg di slurry che devono essere smaltiti.

### ***Precauzioni***

La procedura di omogeneizzazione di cereali può risultare in uno slurry soggetto a degradazione microbica. Per evitare questo fenomeno, è opportuno che i campioni di laboratorio omogeneizzati e i campioni analitici prelevati dal campione omogeneizzato siano rispettivamente trasportati e/o conservati in condizioni di refrigerazione. Inoltre è importante fare attenzione a non permettere la

perdita di acqua in un'eventuale separazione acqua/matrice in quanto l'acqua dello slurry entra nel calcolo di estrazione della micotossina.

### ***Fasi operative***

La fase di macinazione per l'omogeneizzazione come parte della preparazione del campione può essere eseguita presso strutture idonee con la raccomandazione che il locale dove viene eseguita la macinazione sia adeguato, l'attrezzatura di macinazione sia appropriata, e sia disponibile una procedura per la descrizione delle operazioni di omogeneizzazione.

In particolare, la procedura deve fornire indicazioni almeno su

- Identificazione degli strumenti (macinini o omogeneizzazione per lo slurry) e delle loro caratteristiche;
- Operazioni di pesata e del campione e di prelievo dei volumi di acqua,
- Tempi orientativi per la macinazione o per l'ottenimento del campione di slurry, evitando di surriscaldare il campione;
- Procedura di creazione e confezionamento dei CF,
- Smaltimento dei residui
- Conservazione dei campioni di slurry.

### **9.3.2 OGM**

Per la ricerca di OGM, l'omogeneizzazione delle matrici in granella o di semi oleaginosi dovrà essere effettuata **esclusivamente** mediante macinazione a secco, sempre facendo uso di strumenti che garantiscano la necessaria granulometria del prodotto di macinazione. La miscelazione umida (slurry) non è infatti applicabile alla preparazione di campioni destinati all'analisi OGM in quanto nel materiale macinato in ambiente acquoso intervengono marcati fenomeni di degradazione enzimatica del DNA (analita) ad opera delle endonucleasi rilasciate dalle cellule vegetali disgregate [4].

### ***Requisiti granulometrici***

Una granulometria finale massima di 0,75 mm garantisce un grado accettabile di omogeneità del campione per le successive analisi OGM, come desunto dalle ENGL Guidelines for sample preparation procedures in GMO analysis [5].

### ***Fasi operative***

La fase di macinazione per l'omogeneizzazione come parte della preparazione del campione può essere eseguita presso strutture idonee con la raccomandazione che il locale dove viene eseguita la macinazione sia adeguato, l'attrezzatura di macinazione sia appropriata, e sia disponibile una procedura per la descrizione delle operazioni di omogeneizzazione.

La procedura deve fornire indicazioni almeno su:

- Identificazione degli strumenti e delle loro caratteristiche,
- Operazioni di pesata del campione,
- Tempi orientativi di omogeneizzazione (macinazione),
- Procedura di creazione e confezionamento dei CF,
- Smaltimento dei residui.

## **9.4 Delega**

Con lo scopo di un migliore utilizzo delle risorse umane ed economiche e ove si ritenesse necessario, nel caso in cui la macinazione sia effettuata in una sede degli IZZSS, le Autorità sanitarie che hanno prelevato il campione potranno delegare altre Autorità locali (colleghi della

stessa amministrazione di appartenenza (ASL/PCF) con sede più vicina al laboratorio che dovrà effettuare le analisi.

Alla formazione dei campioni finali, potrà essere presente, anche il titolare dell'azienda o il proprietario/detentore del mangime, presente alla formazione del CGO/campione ridotto o altro delegato (modelli di delega di cui all'Allegato 2 e 2a del PNAA). A tal fine è necessario che siano convocate le parti interessate nei tempi previsti per legge.

Il titolare dell'azienda o il proprietario/detentore del mangime, nel caso in cui non abbia intenzione di essere presente alla formazione dei CF presso la sede in cui avverrà la formazione dei CF, potrà comunicarlo per iscritto alle Autorità interessate (che hanno effettuato il prelievo e la preparazione del CGO/campione ridotto).

### **9.5 Strumentazione**

La tipologia di strumento da utilizzare per la formazione dello slurry dipende dalla quantità di campione da macinare.

- I blender da laboratorio (frullatori) possono omogeneizzare campioni in rapporti di acqua (ml)/campione (g) da 100 ml/100 g fino a 2500 ml/2500 g.
- Per quantità superiori (fino a 5 kg di matrice secca) esistono strumenti come lo “Stephan and Robot coupe mixers” che caricano la matrice e l'acqua nel grosso recipiente e producono lo slurry per miscelazione veloce.
- Per quantità superiori a 5 kg (fino a 30 kg) esistono strumenti come l'ultraturrax/silverson che funzionano per immersione della testa disintegrante di macinazione nel bidone contenente la materia prima in granella e l'acqua (immersione del braccio a lame che frantuma e miscelare grosse quantità di matrice).

Gli strumenti idonei alla macinazione a secco di materia prima in granella destinate ad analisi di OGM e micotossine ricadono nelle due seguenti tipologie:

- mulino ultracentrifugo con macinazione indotta da forze di taglio e impatto esercitate nell'area compresa tra il rotore ed il setaccio anulare (si consiglia doppia macinazione con setacci da 2 mm prima e 0,5 mm poi, ove necessario)
- mulino a coltelli a velocità variabile e regolabile per ridurre il rischio di surriscaldamento del campione e conseguente degradazione del DNA, in grado di ottenere granulometria finale massima di 0,75 mm.

### **9.6 Procedure di pulizia degli strumenti di macinazione**

Per le micotossine è necessario sciacquare con acqua di rete le apparecchiature utilizzate fino a completa scomparsa dei residui prima di processare un nuovo campione.

Per gli OGM, per evitare contaminazioni, è necessario tra un campione e l'altro pulire l'apparecchiatura utilizzata, da eventuali residui di materiale e decontaminare gli utensili con opportuni detergenti (DNA away, soluzione di ipoclorito di Na all'1% o di alcool etilico). La macinazione deve essere effettuata in un ambiente separato per evitare la contaminazione delle aree destinate all'analisi.

Le procedure adottate per le suddette attività di pulizia devono essere scritte e rese disponibili agli operatori addetti.

### **9.7 Responsabilità**

Le responsabilità delle parti coinvolte nelle attività inerenti all'omogeneizzazione ed alla formazione dei campioni finali per l'analisi riflettono direttamente quelle già designate a termini di

legge per le specifiche competenze di ciascuna di esse, nel rispetto anche di quanto indicato nel PNAA - Parte Generale.

Qualora le operazioni di macinazione/omogeneizzazione si svolgano presso un IZS il responsabile di laboratorio o un suo delegato ha la responsabilità delle attività di macinazione/omogeneizzazione svolte dal personale tecnico abilitato.

Gli operatori di AA.SS.LL. e PCF sono responsabili per le convocazioni delle parti, il prelievo e il confezionamento dei campioni per l'analisi secondo le modalità stabilite dal Reg. n. 152/2009/CE e dalle relative linee guida di attuazione predisposte dal Ministero della Salute.

Per quanto riguarda le modalità esecutive, ciascuna parte dovrà seguire gli adempimenti come indicato:

- 1) **adempimenti per le attività di macinazione/omogeneizzazione:** le attività di macinazione e omogeneizzazione sono eseguite dal personale delle ASL/PCF o dell'IZS presso il quale viene conferito il CG (alla presenza dell'AC che ha eseguito il campionamento o suo delegato - cfr. sottoparagrafo 9.4 - oltre alle parti interessate convocate), per tali attività deve essere redatta apposita procedura o istruzione operativa.
  
- 2) **adempimenti delle Autorità competenti: ASL/PCF:** l'autorità competente che ha effettuato il campionamento (o suo delegato – cfr. sottoparagrafo 9.4) è responsabile della formazione dei campioni finali (CF), dopo le operazioni di macinazione/omogeneizzazione, fino al conferimento/consegna degli stessi all'accettazione presso l'IZS responsabile dell'esecuzione delle analisi previste per il controllo ufficiale.

### **9.8 Redazione del verbale di formazione dei campioni finali**

All'atto della formazione dei campioni finali il personale degli organi ufficiali preposti al campionamento deve redigere un verbale aggiuntivo (Allegato 1b del PNAA), da allegare al precedente verbale di campionamento e che ne riporti gli estremi, recante informazioni, rese in forma leggibile, sulle procedure utilizzate per la formazione dei campioni finali.

## **10. REQUISITI QUANTITATIVI**

Il campionamento di una partita si basa su metodi statistico-matematici volti a definire quantitativamente il numero di campioni elementari necessari e sufficienti affinché il campione finale sia rappresentativo dell'intera partita campionata.

I campioni destinati al controllo ufficiale dei mangimi sono prelevati rispettando il numero e le quantità indicate nell'Allegato I del Regolamento (UE) n. 691/2013 riportati nelle tabelle n.2 e 3, della presente Linea Guida.

I requisiti quantitativi sono definiti in relazione alla distribuzione dell'analita da ricercare nel mangime, alla dimensione della partita e alla tipologia di presentazione dei mangimi, ovvero a seconda che si tratti di:

- alimenti solidi o liquidi alla rinfusa;
- alimenti in confezioni;
- alimenti liquidi o semiliquidi;
- alimenti minerali formellati o mattonelle di sali minerali;
- foraggi grossolani/foraggi.

Nel caso di grandi partite (superiori alle 500 tonnellate) è possibile ricorrere alla suddivisione della partita in sottolotti più piccoli e di sottoporre a campionamento ciascun sottolotto, seguendo la procedura descritta per le partite inferiori alle 500 tonnellate.

Tale procedura è possibile solo nel caso in cui sia fisicamente possibile suddividere la grande partita in sottolotti, e mantenere la divisione per la successiva immissione sul mercato, altrimenti il campionamento dovrà avvenire sull'unico lotto. Ciò in relazione al giudizio di conformità o meno dei singoli sottolotti campionati.

Perciò nel caso di grandi partite alla rinfusa il CG dovrà essere formato dal prelievo di un numero di CE pari a  $100 + \sqrt{\text{tonnellate}}$  che costituiscono la partita campionata o  $40 + \sqrt{\text{tonnellate}}$  che costituiscono la partita campionata, a seconda della ripartizione eterogenea o omogenea delle sostanze indesiderabili ricercate.

**Tabella n. 2:**  
**Requisiti quantitativi per il controllo degli analiti ripartiti in modo UNIFORME negli alimenti per animali (Tipologia di distribuzione A).**

**N.B. : PORRE PARTICOLARE ATTENZIONE ALLE ANNOTAZIONI IN FONDO ALLE TABELLE**

Sostanze/constituenti distribuite in modo UNIFORME				
Dimensioni della porzione da campionare	Numero minimo di campioni elementari (*)		Dimensione minima del campione globale	Dimensione del campione finale(§)
<b>Mangimi solidi alla rinfusa</b>				
≤ 2.5 ton	7		4 Kg	500 g
> 2.5 ton	√ di 20 volte il numero di tonnellate che costituiscono la porzione campionata, fino a un massimo di 40 campioni elementari			
> 500 ton	40 + √ tonnellate che costituiscono la porzione campionata			
<b>Mangimi liquidi alla rinfusa</b>				
≤ 2.5 ton o ≤ 2500 litri	4 (**)		4 litri	500 ml
> 2.5 ton o > 2500 litri	7(**)			
> 500 ton o >500.000 litri	40 + √ tonnellate che costituiscono la porzione campionata			
<b>Mangimi in confezioni (iiii)</b>				
Da 1 a 20 confezioni	1 confezione (***) (i)		4 kg (ii)	500g o 500ml
Da 21 a 150 confezioni	3 confezioni (***) (i)			
Da 151 a 400 confezioni	5 confezioni (***) (i)			
> 400 confezioni	¼ della √ del numero di confezioni che costituiscono la porzione campionata, fino a un massimo di 40 confezioni (i)			
<b>Mangimi minerali formellati o mattonelle di sali minerali</b>				
≤ 25 unità	Da 1 a 4 unità	Per unità di peso non superiore a 1 kg, il campione elementare è costituito da una unità	Per unità di peso superiore a 1 kg il CG deve essere di 4 Kg. Per unità di peso non superiore a 1 kg il CG deve corrispondere al peso di 4 unità.	500g
> 25 unità	Da 1 a 4 unità ogni 25 unità			
<b>Foraggi grossolani/foraggi</b>				
≤ 5 ton	5		4 kg (iii)	500g
> 5 ton	√ di 5 volte il numero di tonnellate che costituiscono la			

	porzione campionata, fino a un massimo di 40 campioni elementari		
--	------------------------------------------------------------------	--	--

**Tabella n. 3**

**Requisiti quantitativi per il controllo degli analiti ripartiti in modo NON UNIFORME negli alimenti per animali (Tipologia di distribuzione B).**

**N.B. : PORRE PARTICOLARE ATTENZIONE ALLE ANNOTAZIONI IN FONDO ALLE TABELLE**

Sostanze/constituenti distribuiti in modo NON UNIFORME				
Dimensioni della porzione da campionare	Numero minimo di campioni elementari (*)	Dimensione minima del campione globale (§§)	Dimensione del campione finale (§§)	
<b>Mangimi solidi alla rinfusa</b>				
≤ 2.5 ton	18	4 Kg	500 g	
> 2.5 ton e < 80 ton	2.5 x √ di 20 volte il numero di tonnellate che costituiscono la porzione campionata fino a un massimo di 100 campioni elementari			
≥ 80 ton e ≤ 500 ton	100			
> 500 ton	100 + √ tonnellate della partita che costituiscono la porzione campionata			
<b>Mangimi liquidi alla rinfusa</b>				
≤ 2.5 ton o ≤ 2500 litri	10 (**)	4 litri	500 ml	
> 2.5 ton o > 2500 litri	18(**)			
≥ 80 ton o 80.000 litri < 500 ton /500.000 litri	100			
> 500 ton o >500.000 litri	100 + √ tonnellate della partita			
<b>Mangimi in confezioni (iiii) (§§§)</b>				
Da 1 a 20 confezioni	3 confezioni (***) (i)	4 kg (ii)	500g o 500ml	
Da 21 a 150 confezioni	8 confezioni (***) (i)			
Da 151 a 400 confezioni	13 confezioni (***) (i)			
> 400 confezioni	2.5 x ¼ della √ del numero di confezioni che costituiscono la porzione campionata, fino a un massimo di 100 confezioni (i)			
≥ 80 ton	100			
<b>Mangimi minerali formellati o mattonelle di sali minerali</b>				
≤ 25 unità	Da 3 a 10 unità	Per unità di peso non superiore a 1	Per unità di peso superiore a 1 kg il C.G. deve essere di 4Kg.	500g
> 25 unità	Da 3 a 10			



	unità ogni 25 unità	kg, il campione elementare è costituito da una unità	Per unità di peso non superiore a 1 kg il C.G. deve corrispondere al peso di 4 unità.	
<b>Foraggi grossolani/foraggi</b>				
≤ 5 ton	13		4 kg (iii)	500g
> 5 ton <80 ton	2.5 x √ di 5 volte il numero di tonnellate che costituiscono la porzione campionata), fino a un massimo di 100 campioni elementari			
≥ 80 ton	100			

(\*) Se il risultato del calcolo è un numero decimale, si arrotonda al numero intero superiore.

(\*\*) Nel caso in cui non sia possibile rendere omogeneo il liquido, il numero di campioni elementari deve essere aumentato.

(\*\*\*) Per le confezioni di contenuto non superiore a 1 kg o a un litro, il campione elementare è costituito dal contenuto di un confezione originaria.

(i) Qualora l'apertura di confezione possa alterare i risultati dell'analisi (per esempio nel caso di mangimi umidi deperibili), il campione elementare è costituito da una confezione non aperta.

(ii) Nel caso degli alimenti confezionati, è possibile che le dimensioni delle singole unità non consentano di prelevare 4 kg per il campione globale.

(iii) Qualora si tratti di foraggio grossolano o foraggio a basso peso specifico (ad esempio fieno o paglia), il campione globale deve essere di almeno 1 kg.

(iiii) Le confezioni (sacchi, fusti, barattoli) di grandi dimensioni con contenuti superiori o uguali a 500 litri o kg, devono essere campionati come prescritto per i mangimi solidi o liquidi alla rinfusa.

(§) per la determinazione dei radionuclidi il CF deve essere sempre di 2Kg.

(§§) Per granelle prelevate per la ricerca di OGM nel contesto del Regolamento (UE) 619/2011 i quantitativi minimi di riferimento sono specificati al capitolo 9.

(§§§) Per la ricerca di *Salmonella* spp. in snack dog-chews, in confezioni molto piccole (o singole), è previsto di campionare un numero di confezioni appartenenti al medesimo lotto di produzione tale da consentire la formazione di un CG (composto da minimo 4 confezioni) dal quale sia possibile ottenere un unico CF di almeno 100 gr.

## **11. CAMPIONAMENTO DI LOTTI MOLTO GRANDI IMMAGAZZINATI O TRASPORTATI CON MODALITÀ CHE NON PERMETTONO IL PRELIEVO DI CAMPIONI DA TUTTO IL LOTTO**

### **Principi generali**

Se le modalità di trasporto o di immagazzinamento di un lotto/partita non consentono il prelievo di campioni elementari da tutto il lotto, è preferibile effettuare il campionamento dinamico quando il lotto è in movimento.

In caso di applicazione delle procedure di campionamento previste dalle presenti Linee Guida, l'OSM o il suo rappresentante ne deve essere informato. Se la procedura viene contestata, l'operatore o il suo rappresentante deve consentire all'autorità competente di effettuare i prelievi per il campionamento in tutte le parti del lotto a proprie spese (con l'installazione preventiva di un campionatore automatico o la movimentazione con mezzi meccanici di tutta la massa interessata).

Nel caso dei grandi depositi/magazzini, gli operatori andrebbero incoraggiati ad installare attrezzature che consentano di effettuare il campionamento (automatico) su tutto il lotto immagazzinato.

In caso di campionamento di una parte di un lotto di mangimi della stessa classe o con la medesima descrizione (porzione campionata) e se tale parte del lotto non è risultata conforme ai

requisiti UE, si presume che i risultati valgano per tutto il mangime di tale lotto, a meno che, a seguito di un esame dettagliato (ad esempio della correttezza della procedura di campionamento), non risulti prova alcuna della non conformità del resto del lotto ai requisiti UE.

## **11.1 Grandi lotti trasportati via nave**

### **11.1.1 . Campionamento dinamico di grandi lotti trasportati via nave**

Per il campionamento di grandi lotti nelle navi è preferibile effettuare un campionamento dinamico quando il prodotto è in movimento.

Il campionamento si effettua stiva per stiva (intendendo come stiva uno spazio separabile fisicamente). Le stive vengono comunque parzialmente svuotate l'una dopo l'altra, così che l'iniziale separazione fisica non sussiste più dopo il trasferimento nelle strutture di stoccaggio. Il campionamento può pertanto essere effettuato in funzione della separazione fisica iniziale o della separazione dopo il trasferimento nelle strutture di stoccaggio.

Le operazioni di scarico di una nave possono durare diversi giorni. Di norma, il campionamento deve essere effettuato ad intervalli regolari durante l'intera fase di scarico. La presenza di un ispettore ufficiale per il campionamento durante l'intera operazione di scarico non è tuttavia sempre possibile o opportuna. Pertanto, il campionamento può riguardare soltanto una parte (porzione campionata) del lotto. Il numero di campioni elementari è determinato tenendo conto delle dimensioni della sola porzione realmente campionata.

La presenza di un ispettore è necessaria anche quando il campione ufficiale è prelevato automaticamente. Tuttavia, nel caso in cui il campionamento sia effettuato in modo automatico con parametri prefissati non modificabili nel corso dello stesso e i campioni elementari siano posti in un recipiente sigillato, così da prevenire possibili frodi, la presenza di un ispettore è richiesta solo all'inizio del campionamento, ogni volta che il recipiente dei campioni deve essere cambiato e alla fine del campionamento.

### **11.1.2 Campionamento statico di grandi lotti trasportati via nave**

Se il campionamento è eseguito in modo statico, si applica la stessa procedura prevista per le strutture di stoccaggio (sili) accessibili dall'alto (cfr. punto 11.3.1).

Il campionamento si effettua sulla parte accessibile (parte superiore della massa) del lotto/della stiva. Il numero di campioni elementari è determinato tenendo conto delle dimensioni della porzione campionata (desumibile dal volume di prodotto che si riesce a raggiungere, ossia che si riesce a campionare, in base alla lunghezza della sonda disponibile).

## **11.2 Campionamento di grandi lotti immagazzinati in depositi**

Il campionamento si effettua sulla parte accessibile del lotto. Il numero di campioni elementari è determinato tenendo conto delle dimensioni della porzione campionata.

## **11.3 Campionamento di strutture di stoccaggio (sili)**

### **11.3.1. Campionamento di sili (facilmente) accessibili dall'alto**

Il campionamento si effettua sulla parte accessibile del lotto. Il numero di campioni elementari è determinato tenendo conto delle dimensioni della sola porzione realmente campionata.

### **11.3.2 Campionamento di sili non accessibili dall'alto (chiusi)**

- a) Sili non accessibili dall'alto di dimensioni >100 tonnellate.

Il mangime immagazzinato in siffatti sili non è campionabile in modo statico. Pertanto, qualora si debba campionare il mangime che si trova all'interno del silo e non vi sia possibilità di movimentare la partita per consentire il campionamento, occorre accordarsi con l'operatore affinché questi informi l'ispettore su quando sarà svuotato il silo, di modo che il campionamento possa essere eseguito con il mangime in movimento.

b) Sili non accessibili dall'alto di dimensioni <100 tonnellate.

La procedura di campionamento prevede che si introduca in un recipiente un quantitativo compreso fra 50 e 100 kg e che si prelevi da esso il campione. Le dimensioni del campione globale corrispondono alla totalità del lotto originale (almeno 4 kg) mentre il numero dei campioni elementari deriva dalla quantità tratta dal silo e immessa nel recipiente per il campionamento (porzione campionata). (ad es. per 100Kg di porzione campionata andranno prelevati n. 7 CE per la ricerca di sostanze uniformemente distribuite e n. 18 CE per la ricerca di sostanze non uniformemente distribuite).

#### **11.4 Campionamento di alimenti alla rinfusa in grandi contenitori chiusi**

Spesso tali lotti sono campionabili solo dopo essere stati scaricati. In certi casi non è possibile scaricare presso il punto di importazione o di controllo, per cui il campionamento va eseguito al momento dello scarico dei contenitori a destino.

#### **Riferimenti**

- [1] M.C. Spanjer, J.M. Scholten, S. Kastrup, U.JO<sup>o</sup> Rissen, T.F. Schatzki, and N. Toyofuku. Sample comminution for mycotoxin analysis: Dry milling or slurry mixing? *Food Additives and Contaminants*, January 2006; 23(1): 73–83;
- [2] ISSN 1123-3117 Rapporti ISTISAN 13/18, 2013 e ISSN 0393-5620 ISTISAN Congressi 12/C3, 2012, IV Congresso Nazionale: Le micotossine nella filiera agro-alimentare;
- [3] Guidance Document for Competent Authorities for the Control of Compliance with EU Legislation on Aflatoxins, 2010).
- [4] Corbisier, P., Trapmann, S., Gancberg, D., Hannes, L., Van Iwaarden, P., Berben, G., Schimmel, H., Emons, H. (2005), 'Quantitative determination of Roundup Ready soybean (Glycine max) extracted from highly processed flour', *Anal. Bioanal. Chem.*, Vol. 383, No 2, pp. 282-290.
- [5] Guidelines for sample preparation procedures in GMO analysis ISBN 978-92-79-44704-4 <https://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/doc/WG-SPP-Final-Report.pdf>.