

<p style="text-align: center;">CASTALAB CONSULENZE AGRO-INDUSTRIALI E SERVIZI TECNICI AVANZATI Laboratorio analisi</p>	<p style="text-align: center;">ISTRUZIONE OPERATIVA INERENTE AL PRELIEVO DI CAMPIONI PER RICERCA DI LEGIONELLA</p>	<p>Codice: IO01.4 Revisione 4 Data 11.02.2025 Pagina 1 di 4</p>	
--	---	--	--

1 Scopo

La presente I.O. ha lo scopo di descrivere le modalità per il campionamento di matrici ambientali di legionella in conformità a quanto descritto nell'accordo Stato Regioni 79/CSR del 07 maggio 2015 "Linee guida per la prevenzione ed il controllo della Legionellosi e dall'allegato n° 9 della deliberazione della giunta Regionale Emilia Romagna 12 giugno 2017, N. 828 "Approvazione delle Linee guida regionali per la sorveglianza e il controllo della Legionellosi".

2 Generalità

Nella presente istruzione si fa riferimento a sezioni del MQ in vigore nel laboratorio . Per quanto riguarda i clienti si prega di far riferimento, per le necessarie delucidazioni, al personale di riferimento del laboratorio.

Il prelievo può essere effettuato da personale del Laboratorio appositamente addestrato o direttamente dal Cliente a cui viene distribuita l'IO in oggetto (nel secondo caso la qualifica del personale non è di responsabilità CASTALAB).

La direzione Tecnica DT provvede a dare al personale addetto una specifica formazione sulle tecniche di campionamento atte a garantire che il campione sia rappresentativo di tutta la partita e ad essa conforme. Egli inoltre provvede ad addestrare il personale sulle modalità di etichettatura ed identificazione dei campioni, in conformità a quanto descritto nella linea guida di riferimento.

Il prelevamento od il ritiro dei campioni deve essere sempre accompagnato dal verbale di prelievo SR04AC compilato in ogni sua parte.

3 Prelievo di campioni di acqua

La ricerca di legionella viene eseguita in impianti d'acqua destinata a consumo umano, impianti aerulici, impianti di raffreddamento a torri evaporative/condensatori evaporativi, fontane decorative, idromassaggi, impianti d'acqua termale e qualunque altro impianto risulti evidenziato dalla valutazione, eseguita dal Cliente, del rischio legionellosi od in assenza da osservazioni effettuate sul campo .

I prelievi effettuati potranno essere limitati ai punti ritenuti maggiormente critici sulla base dell'analisi del rischio eseguita dal Cliente e di eventuali dati epidemiologici.

Nella rete idrosanitaria, nonostante sia maggiore la probabilità di riscontrare il batterio nell'impianto di distribuzione dell'acqua calda, è opportuno effettuare anche il campionamento dell'impianto di distribuzione dell'acqua fredda sanitaria in relazione agli esiti della valutazione del rischio e nel caso di casi positivi.

I campioni sono rappresentati principalmente da:

- acqua del circuito dell'acqua calda sanitaria e di quello dell'acqua fredda soprattutto qualora, per quest'ultima tipologia d'impianto, la temperatura sia superiore a 20°C;
- acqua da vasche idromassaggio, piscine, fontane decorative;
- acqua e altre matrici tipiche di stabilimenti termali.
- acque naturali provenienti da bacini idrogeologici, impianti di climatizzazione e trattamento dell'aria (torri di raffreddamento), acque industriali e di scarico
- matrici correlate all'acqua quali biofilm, depositi o sedimenti
- tamponi superficiali

<p>CASTALAB CONSULENZE AGRO-INDUSTRIALI E SERVIZI TECNICI AVANZATI Laboratorio analisi</p>	<p>ISTRUZIONE OPERATIVA INERENTE AL PRELIEVO DI CAMPIONI PER RICERCA DI LEGIONELLA</p>	<p>Codice: IO01.4 Revisione 4 Data 11.02.2025 Pagina 2 di 4</p>	
--	---	--	--

Le bottiglie non devono **essere mai** sciacquate all'atto del prelievo, esse devono essere aperte avendo cura di non toccare la parte del tappo che viene a contatto con il campione e la parte interna del collo della bottiglia. Subito dopo la raccolta del campione la bottiglia deve essere richiusa .

Il campione di acqua deve essere del volume adeguato (almeno un litro) alle analisi e non si deve mai riempire completamente la bottiglia al fine di consentire una buona agitazione del campione in laboratorio .

3.1. Materiale per il prelievo

- Borsa isoterma per il trasporto dei campioni
- Verbale di prelievo SR04AC dove registrare i dettagli del campionamento effettuato (luogo, temperatura, stanza, volume d'acqua prelevato, condizioni particolari del sito.
- Bottiglie sterili con capacità minima di un litro (vetro, polietilene o contenitori simili ed adeguati), contenenti una concentrazione di tiosolfato di sodio pentaidrato quando si presuppone un trattamento a base di cloro come sistema di disinfezione della linea acqua.
- Buste di plastica sterili per convogliare il flusso della doccia
- Disinfettante: etanolo al 70% v/v o propanolo al 70% v/v, ipoclorito di sodio al 10% (possibilmente in confezione spray) o flambatore.
- Termometro tarato, preferibilmente digitale con sensibilità 0,1 °C

In caso di campionamento presso siti ad alto rischio di contaminazione, l'operatore deve avere a disposizione tutte le attrezzature e i materiali necessari per il prelievo unitamente ai dispositivi di protezione individuale in dotazione (guanti, maschere, occhiali).

3.2. Tecnica di prelievo

3.2.1. Acqua calda

Il volume consigliabile è di almeno 1 litro.

Per la ricerca di Legionella, in condizioni di utilizzo comune (ossia campione istantaneo Pre-flush da rubinetto appena aperto, indicativo della contaminazione di quel tratto terminale che simula una eventuale esposizione da parte di un utente) operare come segue :

- prelevare senza flambare o disinfettare al punto di sbocco e senza far scorrere precedentemente l'acqua;
- misurare la temperatura al momento del prelievo;

Per una ricerca di Legionella all'interno dell'impianto (ossia per monitorarne le sue condizioni d'igiene) o in occasione dell' esecuzione dei monitoraggi microbiologici di autocontrollo di routine operare il campionamento con le seguenti modalità (Post-flush) :

- far scorrere l'acqua per almeno un minuto;
- chiudere il flusso pulendo meccanicamente se necessario, il punto di sbocco
- flambare all' interno e all'esterno dello sbocco, (quando la flambatura è tecnicamente possibile, allontanando eventuali rompigitto e/o parti mobili) oppure disinfettare con ipoclorito di sodio al 10% o etanolo o propanolo al 70% lasciando agire il disinfettante almeno per 60 secondi;
- fare scorrere l'acqua ancora per almeno 1 minuto per rimuovere l'eventuale disinfettante;
- prelevare il campione.

<p>CASTALAB CONSULENZE AGRO-INDUSTRIALI E SERVIZI TECNICI AVANZATI Laboratorio analisi</p>	<p>ISTRUZIONE OPERATIVA INERENTE AL PRELIEVO DI CAMPIONI PER RICERCA DI LEGIONELLA</p>	<p>Codice: IO01.4 Revisione 4 Data 11.02.2025 Pagina 3 di 4</p>	
--	---	--	--

- misurare la temperatura ponendo il termometro nel flusso d'acqua e aspettando il tempo necessario affinché raggiunga un valore pressoché costante;

3.2.2. **Acqua fredda**

Per la ricerca di Legionella in condizioni di utilizzo comune prelevare senza flambare o disinfettare al punto di sbocco e senza far scorrere precedentemente l'acqua e misurare la temperatura ponendo il termometro al centro del flusso. Quindi prelevare il campione.

Per la ricerca di Legionella nell'acqua all'interno dell'impianto di acqua fredda il campione si può prelevare seguendo quanto è stato descritto per l'acqua calda.

Se la temperatura dell'acqua nell'impianto è $\leq 20^{\circ}\text{C}$ il numero di campioni può essere ridotto in base all'analisi del rischio.

Per il prelievo di acqua da soffioni o parti terminali particolarmente grandi si utilizza un sacco sterile che avvolga la parte terminale, si pone all'interno il flacone sterile, si procede al prelievo tenendo la bottiglia verticale per agevolare il suo riempimento.

Terminata la fase di prelievo si tappa il flacone e lo si toglie dal sacchetto e si rileva la temperatura dell'acqua.

3.3. **Identificazione del campione.**

Identificare i campioni come riportato nel verbale di prelievo SR04AC.

- Sito del prelievo/punto prelievo
- Numero identificativo del campione (etichetta su flacone)
- Tutte le altre informazioni richieste sul campionamento effettuato

4 **Campioni ambientali a matrice non acquosa**

Per quanto riguarda i prelievi fatti dai Clienti, il laboratorio prende in carico il campione. Si ritiene comunque utile dare alcune indicazioni per il prelevamento.

I campionamenti possono essere effettuati su :

- Superfici varie e altri punti di raccolta dell'acqua;
- Tubature e serbatoi;
- Biofilm e/o altro materiale attaccato alle superfici interne delle tubazioni, allo sbocco di rubinetti, nei filtri rompigitto, all'interno del diffusore delle docce, da raccogliere utilizzando dei tamponi;
- Filtri da impianti di climatizzazione;

4.1. **Materiale per il prelievo**

- Contenitori in vetro o polietilene sterili per la raccolta di depositi e incrostazioni
- Tamponi sterili (cotone, poliestere o altro materiale)
- Provette con 2-5 mL di acqua sterile

4.2. **Tecnica di prelievo**

Depositi o sedimenti

Prelevare dallo scarico oppure dal fondo della raccolta di acqua, una quantità $> 5\text{mL}$ dopo aver eliminato l'acqua dall'alto. Raccogliere in recipienti sterili di vetro o altro materiale monouso.

<p>CASTALAB CONSULENZE AGRO-INDUSTRIALI E SERVIZI TECNICI AVANZATI Laboratorio analisi</p>	<p>ISTRUZIONE OPERATIVA INERENTE AL PRELIEVO DI CAMPIONI PER RICERCA DI LEGIONELLA</p>	<p>Codice: IO01.4 Revisione 4 Data 11.02.2025 Pagina 4 di 4</p>	
--	---	--	--

Incrostazioni

Prelevare da tubature e serbatoi, staccando meccanicamente con bisturi sterili il materiale depositatosi all'interno. Raccogliere in recipienti sterili di vetro o altro materiale monouso contenente una piccola quantità (2-5 mL) di acqua sterile.

Biofilm

Con un tampone sterile raccogliere il materiale depositato sulle superfici interne o esterne del punto terminale (effettuare il prelievo prima di aprire il flusso d'acqua, dopo aver smontato il rompi getto o il diffusore della doccia). Conservare il tampone in recipiente di vetro o altro materiale monouso (provetta) con tappo, contenente una piccola quantità (2-5 mL) di acqua sterile.

Filtri

Il controllo deve essere eseguito su filtri utilizzati da diverso tempo, e non su quelli lavati o sostituiti di recente. Prelevare il filtro o una porzione di esso se è di grandi dimensioni e conservarlo in un sacchetto di plastica sterile.

7. Trasporto dei campioni

I campioni prelevati devono essere consegnati prima possibile affinché l'analisi possa essere iniziata preferibilmente entro le 24 ore dal prelievo e trasportati a temperatura ambiente, al riparo dalla luce, avendo cura di separare i campioni di acqua calda da quelli di acqua fredda. [Le temperature di trasporto e accettazione dei campioni sono riportate nella scheda SR04AC.](#)

Trascorse le 24 ore i campioni d'acqua ed altre matrici devono essere conservati necessariamente $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ e successivamente trasportati in un contenitore in grado di mantenere tale temperatura e consegnati in tempo utile affinché l'analisi venga iniziata comunque non oltre i 4 giorni dal prelievo (acqua); per i tamponi l'analisi deve essere eseguita entro 48 dal prelievo.

Riferimenti:

- Deliberazione della giunta Regionale Emilia Romagna 12 giugno 2017, N. 828 Approvazione delle Linee guida regionali per la sorveglianza e il controllo della Legionellosi
- Accordo Stato Regioni 79/CSR del 07 maggio 2015 " Linee guida per la prevenzione ed il controllo della Legionellosi

Allegato

- Verbale di prelievo –ritiro -accettazione campioni Legionella (SR04AC)

Emessa e verificata da DT



Approvata da DG

