

INDAM LABORATORI SRL CASTELMELLA (BS)	Allegato G RIFERIMENTO PROCEDURA: PG 111	PAG. 1 DI 4
	TITOLO CAMPIONAMENTO, TRASPORTO E CONSERVAZIONE DI CAMPIONI PER LA RICERCA DI LEGIONELLA SPP.	REV. N° 4 DATA 30/06/2016
CLASSIFICAZIONE	N° DI REGISTRAZIONE Allegato G	EMESSO DA RAQ

1. SCOPO

Riassumere per campioni nei quali si ricerca Legionella:

- Modalità di campionamento
- Tipologia di contenitori da utilizzare
- Quantità di campione da prelevare
- Modalità di conservazione e di trasporto
- Eventuali preservanti da utilizzare per la conservazione del campione

2. RIFERIMENTI NORMATIVI

ISO 11731:1998
79/CSR/2015 Allegato 3

3. MODALITA' DI CAMPIONAMENTO

Le operazioni di campionamento della *Legionella spp.* devono essere eseguite osservando le precauzioni necessarie alla tutela della salute dell'operatore (uso di mascherine, guanti, occhiali).

Legionella spp. viene ricercata nell'ambiente idrico artificiale (impianti idrici, impianti di climatizzazione con refrigerazione ad acqua o ad aria, fontane decorative, idromassaggi, apparecchiature mediche per la respirazione assistita, stabilimenti termali) limitando i prelievi ai punti che maggiormente possono essere critici, sia in base alla struttura dell'impianto sia in funzione dei dati epidemiologici.

Materiale occorrente per il campionamento:

- Dispositivi di protezione individuale (guanti, maschere, occhiali)
- Borsa isoterma per il trasporto dei campioni
- Bottiglie sterili con capacità minima di 1 L di polipropilene (PP), contenenti una concentrazione di tiosolfato di sodio pentaidrato (come indicato nella norma UNI EN ISO19458 al punto 4.2.3), quando sappiamo che potrebbe essere stato utilizzato cloro come sistema di disinfezione, altrimenti se il sistema di disinfezione utilizza ioni rame o argento si neutralizza con EDTA (vedi ISO 19458)
- Contenitori in vetro o polietilene sterili per la raccolta di depositi e incrostazioni
- Tamponi sterili (cotone, poliestere o altro materiale)
- Termometro tarato, preferibilmente digitale con sensibilità 0,1 °C
- Alcool isopropilico (propanolo) 70% spray.

3.1 Campionamento acqua calda

Il volume consigliabile è di almeno 1 litro.

Per la ricerca di Legionella, in condizioni di utilizzo comune (ossia un campione istantaneo per simulare l'eventuale esposizione da parte di un utente), prelevare senza flambare o disinfettare al punto di sbocco e senza far scorrere precedentemente l'acqua e misurare la temperatura.

Per una ricerca di Legionella all'interno dell'impianto (ossia per monitorarne le sue condizioni d'igiene):

- far scorrere l'acqua per almeno un minuto;
- chiudere il flusso e flambare all'interno e all'esterno dello sbocco, (quando la flambatura è tecnicamente possibile) oppure disinfettare con ipoclorito al 1% o etanolo al 70% lasciando agire il disinfettante almeno per 60 secondi;
- fare scorrere l'acqua ancora per almeno 1 minuto per rimuovere l'eventuale disinfettante;
- misurare la temperatura ponendo il termometro nel flusso d'acqua e aspettando il tempo necessario affinché raggiunga un valore pressoché costante;
- prelevare il campione.

Si suggerisce l'applicazione di questa modalità di campionamento in occasione dell'esecuzione dei monitoraggi microbiologici di autocontrollo di routine.

INDAM LABORATORI SRL CASTELMELLA (BS)	Allegato G RIFERIMENTO PROCEDURA: PG 111	PAG. 2 DI 4
	TITOLO CAMPIONAMENTO, TRASPORTO E CONSERVAZIONE DI CAMPIONI PER LA RICERCA DI LEGIONELLA SPP.	REV. N° 4 DATA 30/06/2016
CLASSIFICAZIONE	N° DI REGISTRAZIONE Allegato G	EMESSO DA RAQ

3.2 Campionamento 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.

4. MODALITA' DI CAMPIONAMENTO PER IMPIANTI IDROTERMOSANITARI

Nella rete idrosanitaria, nonostante sia maggiore la probabilità di riscontrare il batterio nell'impianto di distribuzione dell'acqua calda, è necessario effettuare anche il campionamento dell'impianto di distribuzione dell'acqua fredda sanitaria.

Il percorso dell'acqua dovrebbe essere monitorato dal suo punto di partenza (punto di alimento idrico della rete, ossia dall'allacciamento all'acquedotto od al punto d'emungimento d'acqua di pozzo) fino ai terminali di utilizzo (erogatori sentinella).

A seguire, si riporta l'elenco dei principali punti di controllo, da utilizzarsi come riferimento per la definizione della più opportuna mappatura analitica della rete idrica oggetto d'indagine:

- allacciamento all'acquedotto od al punto d'emungimento d'acqua di pozzo
- accumuli acqua fredda destinata al consumo umano, serbatoi/bollitori acqua calda sanitaria (alla base e ad 1/3 dell'altezza, quando possibile)
- tutti i siti in cui possono essere presenti fenomeni di ristagno, sedimentazione od incrostazioni significative
- utenze poco utilizzate
- ricircolo dell'acqua calda sanitaria (anello di distribuzione)
- erogatori a servizio di bagni e/o docce distali (erogatori sentinella)
- addolcitori.

Il campionamento dei punti di controllo deve riguardare l'acqua sanitaria sia calda che fredda. Quando questa è $\leq 20^{\circ}\text{C}$ il numero dei campioni può essere ridotto.

La definizione di quali e quanti punti di controllo sottoporre a campionamento deve essere motivata dalla valutazione del rischio legionellosi, così come la frequenza d'esecuzione di tali controlli analitici.

5. CAMPIONAMENTO NELLE STRUTTURE TURISTICO-RICETTIVE

Per le strutture a funzionamento stagionale, il campionamento dovrà, comunque, essere **sempre** effettuato prima della loro riapertura.

Il campionamento deve essere effettuato prima che venga attuato un qualunque intervento di disinfezione o pratica preventiva (pulizia e/o disinfezione con qualunque metodo) oppure a distanza di un tempo congruo dalla sua esecuzione (rif. dopo circa 48 ore dall'avvenuta messa a regime dell'impianto post intervento).

E' opportuno che il numero di campioni sia proporzionato alle dimensioni dell'impianto.

Per ciascun impianto di acqua calda sanitaria devono essere effettuati almeno i seguenti prelievi:

- mandata (oppure dal rubinetto più vicino al serbatoio/i)
- ricircolo
- fondo serbatoio/i
- almeno 3 punti rappresentativi (ovvero i più lontani nella distribuzione idrica e i più freddi)

Per ciascun impianto di acqua fredda devono essere effettuati almeno i seguenti prelievi:

- fondo serbatoio/i
- almeno 2 in punti rappresentativi (ovvero il più lontano nella distribuzione idrica ed il più caldo).

INDAM LABORATORI SRL	Allegato G RIFERIMENTO PROCEDURA: PG 111	PAG. 3 DI 4
	TITOLO CAMPIONAMENTO, TRASPORTO E CONSERVAZIONE DI CAMPIONI PER LA RICERCA DI LEGIONELLA SPP.	REV. N° 4 DATA 30/06/2016
CASTELMELLA (BS)		
CLASSIFICAZIONE	N° DI REGISTRAZIONE Allegato G	EMESSO DA RAQ

6. CAMPIONAMENTO NELLE VASCHE IDROMASSAGGIO

Per vasche idromassaggio si intendono vasche o piscine di piccole o grandi dimensioni in cui l'acqua calda viene continuamente fatta ricircolare attraverso getti ad alta velocità. La temperatura dell'acqua è generalmente superiore ai 30°C e l'agitazione a cui è sottoposta genera un aerosol sopra la superficie dell'acqua.

L'acqua non viene cambiata dopo ogni utilizzatore, ma viene filtrata e trattata chimicamente.

Il campionamento per la ricerca di Legionella dovrebbe essere effettuato una volta ogni 3 mesi, raccogliendo 1 L d'acqua dalla piscina e, se presente, dalla vasca di compenso.

E' anche importante ispezionare le tubature e i tubi di circolazione dell'aria e dell'acqua per la presenza di biofilm contenente Legionella. Campioni di biofilm devono essere raccolti con tamponi dall'interno dei getti e alcune sezioni di questi tubi.

Talvolta è possibile farlo rimuovendo un getto, ma molto spesso sezioni di tubo dovrà essere tagliato per ottenere l'accesso adeguato.

7. CAMPIONAMENTO NEGLI STABILIMENTI TERMALI

Gli stabilimenti e gli alberghi termali, in ambienti diversi da quelli dedicati alle cure, da anni ormai integrano l'offerta delle prestazioni terapeutiche con quelle più propriamente di benessere.

Le prestazioni comprendono: bagni con idromassaggio, docce filiformi, "docce francesi", bagno turco, sauna, fanghi, massaggi, piscine con zone con idromassaggio, ecc.

Le caratteristiche della microflora tipica delle acque termali ed il fatto che queste le apparecchiature/le cure termali per le quali maggiore è il rischio di trasmissione possono essere:

- cure inalatorie (inalazioni, aerosol-humages, nebulizzazioni, docce nasali), sia per le caratteristiche delle apparecchiature utilizzate che per la tipologia degli utenti (soggetti a rischio per patologie croniche dell'apparato respiratorio);
- bagni con idromassaggio;
- docce d'annettamento (se previste).

8. CAMPIONAMENTO NELLE STRUTTURE SANITARIE

I reparti che ospitano pazienti profondamente immunocompromessi (trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche, trapianto di organo solido) devono avere impianti privi di Legionella.

Inoltre in questi reparti deve essere eseguito un campionamento ambientale almeno trimestrale per controllare l'assenza di colonizzazione con Legionella.

E' opportuno che il numero di campioni sia proporzionato alle dimensioni dell'impianto.

Per ciascun impianto di acqua calda sanitaria devono essere effettuati almeno i seguenti prelievi:

- mandata (oppure dal rubinetto più vicino al serbatoio/i)
- ricircolo
- fondo serbatoio/i
- almeno 3 punti rappresentativi (ovvero i più lontani nella distribuzione idrica e i più freddi).

Per strutture con numero di posti letto superiore a 150, considerare almeno un punto di prelievo aggiuntivo ogni 100 posti letto in più.

Per ciascun impianto di acqua fredda devono essere effettuati almeno i seguenti prelievi:

- fondo serbatoio/i
- almeno 2 in punti rappresentativi (ovvero il più lontano nella distribuzione idrica ed il più caldo).

Per strutture con numero di posti letto superiore a 150, considerare almeno un punto di prelievo aggiuntivo ogni 100 posti letto in più.

INDAM LABORATORI SRL CASTELMELLA (BS)	Allegato G RIFERIMENTO PROCEDURA: PG 111	PAG. 4 DI 4
	TITOLO CAMPIONAMENTO, TRASPORTO E CONSERVAZIONE DI CAMPIONI PER LA RICERCA DI LEGIONELLA SPP.	REV. N° 4 DATA 30/06/2016
CLASSIFICAZIONE	N° DI REGISTRAZIONE Allegato G	EMESSO DA RAQ

9. MODALITA' DI PRELIEVO PER IMPIANTI DI RAFFREDDAMENTO A TORRI EVAPORATIVE/CONDENSATORI EVAPORATIVI

I campioni devono essere prelevati dal bacino (tenendosi lontani dal punto di immissione dell'acqua tramite galleggiante) e/o dal ritorno caldo dalle utenze (torri evaporative).

E' sufficiente (a meno di risultanze diverse derivanti dalla valutazione del rischio legionellosi) il prelievo di un campione per ciascun impianto di raffreddamento.

E' opportuno, in presenza di eventi epidemici, effettuare anche un campionamento dell'aria che viene espulsa dalle torri /condensatori evaporativi.

10. MODALITA' DI PRELIEVO PER DEPOSITI O SEDIMENTI

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

11. MODALITA' DI PRELIEVO PER INCROSTAZIONI

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

12. MODALITA' DI PRELIEVO PER 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 soluzione Ringer o Page o acqua sterile.

13. MODALITA' DI PRELIEVO PER 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 (indicativamente 100 cm²) se è di grandi dimensioni e conservarlo in un sacchetto di plastica sterile.

14. TAMPONI

Per una valutazione qualitativa di *Legionella spp.* raccogliere con un tampone sterile il materiale depositato sulle superfici interne di tubature, serbatoi, scarichi ecc. Conservare il tampone in provette contenenti una piccola quantità di acqua dell'impianto o una soluzione conservante sterile.

Il laboratorio può fornire il materiale per il campionamento.

15. TRASPORTO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

I campioni prelevati se consegnati al laboratorio subito dopo il prelievo, devono essere trasportati a temperatura ambiente, al riparo dalla luce, avendo cura di separare i campioni di acqua calda da quelli di acqua fredda. Trascorse le 24 ore dal prelievo, i campioni devono essere conservati necessariamente +5°C ± 3°C e successivamente trasportati in un contenitore in grado di mantenere tale temperatura e consegnati in tempo utile affinché l'analisi venga iniziata il più presto possibile e comunque non oltre i 4 giorni dal prelievo.

Le condizioni di trasporto sono monitorate in fase di accettazione dei campioni. Il cliente è tenuto ad assumersi la responsabilità nel caso di trasporto/conservazione non corretti effettuati a sua discrezione, firmando la dichiarazione prevista dal modulo richiesta di analisi interno.

Le responsabilità derivanti dal campionamento, conservazione e consegna del campione eseguiti da terzi (clienti inclusi), sono a loro totale carico.