 <b>Dipartimento di Scienze Mediche e Sanità Pubblica, Laboratorio Igiene degli alimenti</b>	I1/PG01 Rev 05 del 05-06-2020
	Pagina 1 di 18

## CAMPIONAMENTO PER ANALISI MICROBIOLOGICHE

### 1. SCOPO

La presente Istruzione Operativa descrive le modalità operative applicate dal Laboratorio per eseguire il campionamento per l'effettuazione di analisi microbiologiche; tale Istruzione Operativa deve garantire che il campione arrivi al laboratorio nelle stesse condizioni microbiologiche in cui si trova al momento del prelievo.

### 2. APPLICABILITA'

La presente Istruzione Operativa rappresenta un estratto delle diverse norme che disciplinano le attività di campionamento e si applica ai metodi utilizzati dal laboratorio per eseguire:

- Campionamento di acque per analisi microbiologiche
- Campionamento di alimenti per analisi microbiologiche
- Campionamento di superfici per analisi microbiologiche
- Campionamento per la misurazione dei microorganismi aerodispersi e dei composti microbici nei luoghi di lavoro

a partire dal prelievo in sterilità fino al corretto trasporto del campione in laboratorio.


L'estrema variabilità della natura dei prodotti da sottoporre a prova rende necessario individuare diverse modalità di campionamento, pertanto la presente Istruzione Operativa, per quanto riguarda le modalità operative, verrà così suddivisa:

- Campionamento acque
- Campionamento alimenti
- Campionamento superfici
- Campionamento aria
- Campionamento campioni provenienti dalla produzione primaria (feci)

### 3. RESPONSABILITA'

Il Laboratorio è responsabile del campionamento solo quando è effettuato da proprio personale.

La responsabilità del campionamento effettuato dal Cliente o da terzi è a loro carico. Il personale del laboratorio che effettua il campionamento deve attenersi alla presente Istruzione Operativa ed è responsabile dell'operazione. L'RL è incaricato di verificare che il personale addetto al campionamento sia adeguatamente istruito sia per l'esecuzione del campionamento che per il trasporto dei campioni.

 <p style="text-align: center;"><b>Dipartimento di Scienze Mediche e Sanità Pubblica, Laboratorio Igiene degli alimenti</b></p>	<p>I1/PG01 Rev 05 del 05-06-2020</p>
<p style="text-align: right;">Pagina 2 di 18</p>	

#### 4. RIFERIMENTI NORMATIVI

UNI EN ISO 18593:2018 Microbiologia della catena alimentare - Metodi orizzontali per il campionamento di superficie

UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2018 Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e taratura

UNI EN ISO19458:2006 Qualità dell'acqua - Campionamento per analisi microbiologiche

Linee Guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi (79/CSR del 7/5/2015)

PNC Salmonellosi 2016/2018

UNI EN ISO 14698-1:2004 Camere bianche ed ambienti associati controllati - Controllo della biocontaminazione - Parte 1: Principi generali e metodi

UNI EN 13098:2019 Esposizione nei luoghi di lavoro – Misurazione dei microorganismi aerodispersi e dei composti microbici – Requisiti generali

Linee guida INAIL 2010 - Il monitoraggio microbiologico negli ambienti di lavoro - Campionamento e analisi

#### 5. MODALITA' OPERATIVE

Il campionamento costituisce la prima operazione di ogni procedimento analitico. Si tratta di un'operazione complessa e delicata che può condizionare i risultati di tutte le fasi successive.

Pertanto il campione deve essere rappresentativo del materiale in esame e deve essere prelevato con una frequenza adeguata ad assicurare la rappresentatività dei parametri da rilevare, in funzione dell'obiettivo da perseguire. Il campione è prelevato, confezionato, trasportato e manipolato prima delle prove in modo tale che venga preservato da modificazioni dei suoi componenti e delle caratteristiche da valutare.

##### **Trasporto a temperatura controllata**

I campioni che necessitano di trasporto a temperatura controllata sono:

- alimenti deperibili
- tamponi
- acqua

in questo caso il trasporto deve avvenire con frigoriferi portatili senza generatore di freddo (frigocontenitori) e/o con frigoriferi portatili con generatore di freddo ed il trasporto deve avvenire nel minor tempo possibile. I frigoriferi portatili devono contenere dei panetti di materiale eutettico precongelati (icepack) sufficienti a garantire una temperatura interna possibilmente non superiore a 8°C. La temperatura durante il trasporto viene monitorata attraverso l'utilizzo di dispositivi di registrazione (data logger). Dopo avere eseguito il campionamento riporre immediatamente il campione nel frigorifero da trasporto. Una volta arrivato in laboratorio il campione deve essere immediatamente trasferito nella cella frigorifera e deve essere eseguito il controllo della temperatura mediante un termometro tarato.

Le condizioni di temperatura/tempo di trasporto devono rispettare le indicazioni riportate in Tab.1.

**Tab.1: Conservazione e trasporto tipologie di campioni**

Matrice	Temperatura min-max di trasporto	Tempo	Riferimento normativo
Tamponi, panni e spugne su superfici	1°C- 8°C	Preferibilmente entro 24 h dal campionamento o mantenuti a 3°C ± 2°C per un massimo di 48 h dal campionamento.	UNI EN ISO 18593:2018
Piastre a contatto	1°C- 8°C	Incubazione preferibilmente entro 48 h dal campionamento	UNI EN ISO 18593:2018
Aria (piastre da contatto)	<u>1°C- 8°C salvo diverse indicazioni</u>	Incubazione preferibilmente entro 24 h dal campionamento o mantenuti alla temperatura di refrigerazione	<u>UNI EN 13098:2019</u>
Alimenti	1°C- 8°C	36 h (dal campionamento per cominciare l'analisi) (opp. congelamento a T<-18°C)	ISO 7218:2007 Amd 2013
Alimenti (stabili a temperatura ambiente)	<40°C	36 h (dal campionamento per cominciare l'analisi) (oppure congelamento A T<- 18°C)	ISO 7218:2007 Amd 2013
Acque	2°C -8°C	12-18 h	ISO 19458:2006
Acque (per conta Legionella)	T° ambiente Opp +5°C ± 3°C	24 h (dal campionamento per cominciare l'analisi) Opp. 4 gg (dal campionamento per cominciare l'analisi)	Linee Guida per la prev. ed il controllo della Legionellosi (79/CSR del 7/5/2015) - Allegato 3
Feci avicole	T° ambiente ma al riparo dal calore eccessivo e dalla luce solare diretta (25°C)	24 h (dal campionamento per cominciare l'analisi) Opp. 4 gg (dal campionamento per cominciare l'analisi)	PNC Salmonellosi 2016/2018 p.to 8.2


Se i criteri della tabella non sono rispettati, e non sono stati presi accordi scritti con il committente per tempi/temperature di trasporto differenti, notificare l'evento al committente e prendere accordi per ripetere il campionamento o accettare il campione con riserva comunicando al committente le possibili conseguenze in termini di affidabilità del risultato analitico.

### Campioni caldi

Per tempi di trasporto brevi i campioni vanno trasferiti al laboratorio senza necessità di abbattimento della temperatura, altrimenti è necessario abbattere la temperatura in modo conveniente (possibilmente presso il cliente) e si procede come per i campioni refrigerati.

L' M1/PG01 "Verbale di campionamento" viene compilato in ogni sua parte a cura dell'operatore adibito al prelievo. Tale verbale riporta:

- Data del campionamento
- Ora di inizio e fine del campionamento
- Nome Cliente
- Luogo del campionamento

 <p style="text-align: center;"><b>Dipartimento di Scienze Mediche e Sanità Pubblica,</b> <b>Laboratorio Igiene degli alimenti</b></p>	<p>I1/PG01 Rev 05 del 05-06-2020</p>
<p style="text-align: right;">Pagina 4 di 18</p>	

- Indirizzo della ditta o stabilimento
- Nome del responsabile della struttura
- Tipo di campione (alimento, acqua, aria, superficie)
- Metodo di campionamento
- Tipo di campionamento
- Motivo del campionamento
- Numero dei campioni prelevati
- Numero univoco identificativo del campione (da aggiungere al momento dell'accettazione)
- Descrizione campione
- Punto di prelievo
- Osservazioni
- Campo riportante i seguenti dati relativi alle diverse matrici campionate: Superficie campionata; superficie sanificata o non sanificata; volume di acqua campionato; procedura di scorrimento e flambatura; cloro misurato; Volume d'aria aspirato; portata dello strumento; parametro da analizzare e substrato utilizzato (matrice aria); temperatura al prelievo; dispositivo di campionamento utilizzato (matrice aria)
- nome e firma di un responsabile al momento del prelievo
- nome e firma del campionatore

Sarà altresì compito dell'operatore adibito al campionamento annotare sul foglio di campionamento, nello spazio riservato alle note, tutte le notizie che potrebbero permettere una migliore interpretazione dei risultati e tutti gli scostamenti e le deviazioni dalle procedure. Tali informazioni potranno essere direttamente fornite dal committente dell'analisi o potranno essere desunte dall'operatore addetto al prelievo durante il prelievo stesso.


Una copia della presente Istruzione Operativa viene portata sul campo dai campionatori insieme all'eventuale piano di campionamento.

## **5.1 ALIMENTI**

Sulla base di quanto riportato nel "Registro campionamenti" M5PG01 procedere al prelievo dei campioni di alimenti in numero variabile possibilmente da punti differenti della massa per aumentare la rappresentatività del campione.

### **5.1.1 Campionamento**

- Introdurre il campione in sacchetti, o in altri contenitori sterili, operando velocemente ed impedendo al campione di entrare in contatto con l'aria (non toccare i bordi del contenitore né con le mani né con l'alimento).
- Qualora il cliente lo richieda su un'aliquota viene rilevata la temperatura mediante un termometro a sonda tarato.
- La quantità minima di campione da prelevare deve risultare complessivamente almeno di 100 g / 200 g o ml , da confezione integra se riguarda materie prime. Quando sono previsti per determinati alimenti piani a due o più classi con prelievo di più unità campionarie si rispettano le indicazioni della normativa vigente.
- Per il prelievo si farà uso delle posate presenti in linea se si tratta di un alimento pronto per il servizio e di attrezzature di cucina se l'alimento è in corso di preparazione. Si farà uso di posateria sterile se il prelievo riguarda la materia prima.

 <p style="text-align: center;"><b>Dipartimento di Scienze Mediche e Sanità Pubblica,</b> <b>Laboratorio Igiene degli alimenti</b></p>	<p>I1/PG01 Rev 05 del 05-06-2020</p> <hr/> <p>Pagina 5 di 18</p>
---	--

- In casi di necessità possono essere utilizzati alcol o altre soluzioni disinfettanti.
- Il materiale utilizzato per il prelievo consiste in:
  - borse termiche
  - termometro a sonda e IR
  - bunsen portatile
  - sacchetti o contenitori sterili
  - pinze e posate sterili
  - disinfettanti,
  - guanti, mascherine (se affetti da malattie dell'apparato respiratorio), cuffie copricapo, camice
  - siberini
- Il contenitore del campione viene numerato e la tipologia dell'alimento corrispondente riportata nel verbale di campionamento (M1PG01)

### 5.1.2 Trasporto

- Tutti i campioni vanno trasportati all'interno della borsa termica o frigorifero elettrico portatile; la temperatura di trasporto viene registrata attraverso l'utilizzo di data logger inseriti all'interno di tale borsa.
- I campioni caldi devono essere rapidamente raffreddati attraverso l'utilizzo di un abbattitore di temperatura (se presente in sede di campionamento), oppure quando non si ha la possibilità di utilizzare un abbattitore, si procede all'abbassamento della temperatura, ponendo il campione (di piccole dimensioni allo scopo di facilitarne il raffreddamento) tra due siberini refrigerati, e una volta raffreddato il campione può essere trasportato all'interno della borsa termica in un intervallo di temperatura compreso tra 1°C e 8°C.

## 5.2 CAMPIONAMENTO SUPERFICI E ARIA

I metodi di campionamento, trasporto e conservazione per le superfici a contatto con gli alimenti sono riportati nella UNI EN ISO18593:2018. Per le superfici ospedaliere vengono seguite le indicazioni della UNI EN ISO 14698-1:2004.

### 5.2.1 Modalità di prelievo superfici a contatto con gli alimenti

#### 5.2.2 Generalità


Posizioni e aree, tempi e tecniche di campionamento sono selezionate secondo i principi basati sul rischio e sono correlati alla maggiore probabilità di rilevare superfici contaminate durante la trasformazione degli alimenti, quando si valuta l'igiene di specifiche fasi di produzione o dell'intero processo produttivo.

#### 5.2.3 Punti di campionamento

La posizione di campionamento è definita in base ai dati pregressi collegati al sito di campionamento e dopo un attento esame delle varie fasi del processo produttivo.

Di seguito si indicano esempi di potenziali punti di campionamento

- **Superfici non a contatto con gli alimenti:** tubature di scarico, pavimenti, pozzetti per lo scarico dell'acqua su pavimento, attrezzi per la pulizia, aree di lavaggio, bilance da pavimento, tubi di gomma, cilindri cavi per i trasporti, trasportatori, struttura delle attrezzature, pannelli interni delle attrezzature, vasche di raccolta condensa, carrelli elevatori, carrelli a mano, carrelli merci, ruote dei carrelli, secchi dell'immondizia, congelatori, macchine per la produzione del ghiaccio, ventole di raffreddamento di condensatori, grembiuli, pareti, soffitti, punti freddi in cui l'acqua si condensa, isolamento umido nelle pareti o intorno alle tubature, unità refrigeranti, guarnizioni di gomma di porte (specialmente nei frigoriferi), aspirapolveri, maniglie di porte e rubinetti.

 <p style="text-align: center;"><b>Dipartimento di Scienze Mediche e Sanità Pubblica,</b> <b>Laboratorio Igiene degli alimenti</b></p>	<p>I1/PG01 Rev 05 del 05-06-2020</p>
<p style="text-align: right;">Pagina 6 di 18</p>	

- **Superfici a contatto con alimenti:** nastri trasportatori, affettatrici, taglieri, cubettatrici, tramogge, sminuzzatori, frullatori, pelapatate, macchine di assemblaggio, attrezzature di farcitura e confezionamento, contenitori, altri utensili, guanti e mani

#### 5.2.4 Area di campionamento

Deve essere identificata un'area specifica della superficie da esaminare. È importante che il laboratorio riceva un campione rappresentativo della superficie campionata. Se l'area non è definita da una dimensione numerica, l'area campionata deve essere chiaramente descritta. Se l'area è definita da una dimensione numerica, seguire le istruzioni di seguito.

Per quanto riguarda l'identificazione (presenza/assenza) di microrganismi su superfici accessibili, l'area totale del campionamento deve essere la più ampia possibile per incrementare la probabilità di ritrovamento del microrganismo. A tal proposito, si raccomanda, quando possibile, di campionare un'area compresa tra 1000 e 3000 cm<sup>2</sup> (cioè tra 0,1 e 0,3 m<sup>2</sup>). In caso di campionamento per la numerazione di microrganismi, l'area non deve essere necessariamente così ampia ma può essere ad es. ≤ 100 cm<sup>2</sup>

#### 5.2.5 Caratterizzazione delle superfici campionate

Compilare il modulo M1/PG01 “Verbale di campionamento” indicando nel campo “descrizione campione” le caratteristiche della superficie campionata, specificando “sanificata/sanificate” o “sanificata/sanificate no” e scrivere, solo se presente, “presenza di liquido sulle o sulla superficie campionata”. Nella caratterizzazione della superficie campionata possiamo avere 4 diverse situazioni:

A) Nella fase di campionamento vengono campionate come da routine del laboratorio 24 cm<sup>2</sup> con le piastre da contatto e 100 cm<sup>2</sup> utilizzando i metodi tampone e spugne. Il valore dell'area campionata è riportato nel campo “osservazioni” del modulo M1/PG01.

B) Nei casi in cui non sia esattamente specificabile l'area di campionamento, indicare nel campo “osservazioni” “superficie campionata seguita dall'area prelevata e dall'avverbio “circa” (es: superficie campionata 1m<sup>2</sup> circa)

C) Quando nella fase di campionamento non sia possibile definire neanche approssimativamente l'area di campionamento identificare il campione nella voce "descrizione del campione" dell'M1/PG01 come “tampone su “ seguito dall'indicazione del punto di prelievo (es: tampone su maniglia frigorifero)

D) Nei casi in cui sia esattamente specificabile l'area di campionamento, ma diversa dalla routine di laboratorio, indicare nel campo “osservazioni” “superficie campionata seguita dall'area prelevata” (es: superficie campionata 30 cm<sup>2</sup>)

Nei casi B, C vengono eseguite solo le analisi qualitative, e il risultato è espresso in presente/assente per tampone.


#### 5.2.6 Tempi di campionamento e frequenza

Il campionamento può essere eseguito durante / dopo la produzione o dopo la pulizia e la disinfezione. Il tempo di campionamento deve essere specificato nella procedura di campionamento di ciascun produttore, a seconda dell'obiettivo del prelievo.

La rilevazione di certi microrganismi può risultare difficile se i campioni sono prelevati immediatamente o poco dopo la pulizia e disinfezione; le cellule potrebbero essere ancora vitali ma non coltivabili, come conseguenza del danno causato dagli agenti chimici impiegati nella disinfezione, pertanto la loro presenza potrebbe non essere facilmente osservabile. Per incrementare la probabilità di individuare tali germi, il campionamento dovrebbe essere effettuato durante il processo produttivo dopo almeno 2 ore dall'inizio della produzione oppure al termine delle sessioni di produzione (cioè prima delle operazioni di pulizia e disinfezione).

Se il campionamento non viene eseguito quotidianamente, non dovrebbe essere eseguito nel/negli stesso/i giorno/i della settimana. Può essere opportuno prelevare campioni di superficie in seguito a



 <p style="text-align: center;"><b>Dipartimento di Scienze Mediche e Sanità Pubblica,</b> <b>Laboratorio Igiene degli alimenti</b></p>	<p>I1/PG01 Rev 05 del 05-06-2020</p>
<p style="text-align: right;">Pagina 7 di 18</p>	

riparazioni della strumentazione, implementazione e incremento della capacità produttiva poiché questi fattori possono aumentare il rischio di contaminazione microbica.

Il campionamento deve essere eseguito frequentemente nelle aree in cui l'alimento è esposto alla contaminazione; potrebbe essere comunque interessante campionare, con minore frequenza, le aree in cui non è esposto a contaminazioni (aree di stoccaggio).

## 5.2.7 Tecniche di campionamento

### 5.2.7.1 Generalità

Il metodo della piastra da contatto è applicabile solo a superfici piate, mentre gli altri metodi possono essere utilizzati per tutti i tipi di superfici. Per il campionamento di piccole aree difficili da raggiungere ( $\leq 100 \text{ cm}^2$ ), è necessario utilizzare tamponi sterili. Per il campionamento di aree ampie ( $> 100 \text{ cm}^2$ ), utilizzare spugne sterili. Per campionamenti su superfici  $\leq 100 \text{ cm}^2$  si possono utilizzare sia i tamponi a bastoncino sia panni sterili o spugne

Il campionamento può essere eseguito con o senza l'utilizzo del delimitatore.

- **prelievo con delimitatore:** da utilizzare per superfici piane, sufficientemente ampie e lisce; l'area della superficie che deve essere esaminata viene identificata con un delimitatore sterile di superficie nota. L'area del delimitatore espressa in  $\text{cm}^2$ , verrà riportata alla voce "osservazioni" nel "Verbale di campionamento" (M1PG01).

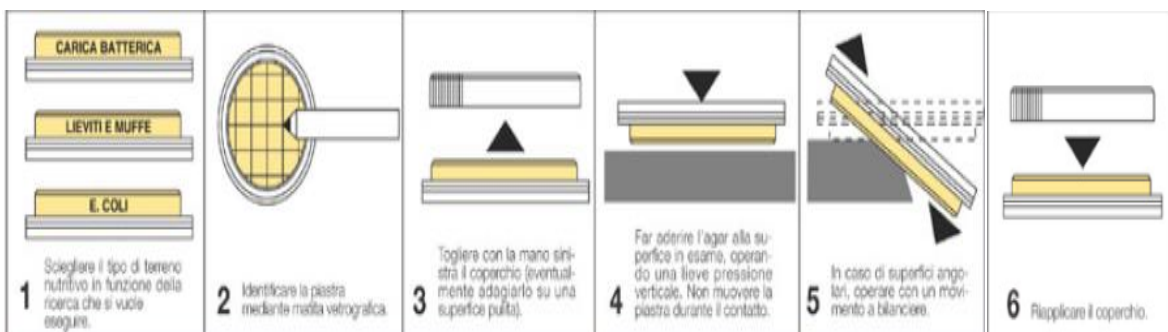
- **prelievo senza delimitatore:** da utilizzare generalmente per superfici non piane o non sufficientemente ampie, sulle quali non è possibile l'uso del delimitatore. La superficie campionata dovrà essere rappresentativa dell'utensile.


Il prelievo farà riferimento al tampone/spugna e non all'area di superficie; tale informazione è riportata alla voce "osservazioni" del "Verbale di campionamento" (M1PG01).

Dopo il campionamento, se necessario, la superficie va pulita e/o disinfettata, per evitare che tracce di nutrienti, umidità, elementi fisici e chimici derivanti dal campionamento stesso rimangano sulla superficie campionata. A tal scopo si possono utilizzare salviette sterili inumidite con alcol.

### 5.2.7.2 Metodo delle piastre da contatto

Premere con forza la superficie agar della piastra di contatto e senza movimenti laterali contro la superficie di prova. Il tempo del contatto deve essere 10 secondi e la pressione ottenuta ad esempio con una massa di 500 g, consentono una migliore riproducibilità dei risultati. Chiudere la piastra di contatto immediatamente dopo il campionamento e rimetterla nel contenitore di trasporto.



 <p style="text-align: center;"><b>Dipartimento di Scienze Mediche e Sanità Pubblica,</b> <b>Laboratorio Igiene degli alimenti</b></p>	<p>I1/PG01 Rev 05 del 05-06-2020</p>
<p style="text-align: right;">Pagina 8 di 18</p>	

### 5.2.7.3 Metodo del tampone

#### 5.2.7.3.1 Generalità

I tamponi sterili andrebbero utilizzati per il campionamento di aree piccole ( $\leq 100 \text{ cm}^2$ ), difficili da raggiungere (ad es. cilindri cavi o alloggiamenti di motori).

Si raccomanda l'utilizzo di un delimitatore per evitare il trasferimento di contaminanti e/o composti disinfettanti. L'ampiezza dell'area campionata deve essere nota e il punto di prelievo ben descritto. Nel caso in cui l'area da campionare sia umida, si può utilizzare un tampone a secco, a meno che non siano necessari neutralizzanti. Per aumentare il recupero dei microrganismi è bene utilizzare un tampone inumidito.

#### 5.2.7.3.2 Tampone inumidito o asciutto

Rimuovere il tampone dalla confezione sterile.

- Nel caso di utilizzo del tampone secco (quindi superficie umida) campionare la superficie da esaminare.
- In caso di tampone umido (o tampone secco da inumidire con diluente) (quindi superficie asciutta), inumidire la parte di cotone del tampone immergendolo in una provetta contenente il diluente/neutralizzante. Premere il cotone del tampone contro la parete della provetta per rimuovere l'eccesso di liquido.

Appoggiare la punta del tampone asciutto o inumidito sulla superficie da analizzare e strofinare un'area stimata ad es.  $\leq 100 \text{ cm}^2$  ruotando il tampone tra il pollice e l'indice in due direzioni tra loro perpendicolari. Per superfici piatte il campionamento va eseguito orizzontalmente e verticalmente, ad es. 10 volte in ciascuna direzione.

Per piccole superfici difficili da raggiungere assicurarsi di effettuare il prelievo sull'intero punto di campionamento, incluso fessure, aperture, punti di connessione, ecc.

Riporre il tampone nella provetta vuota (tampone a secco) o contenente il diluente/neutralizzante (tampone umido) e rompere l'asta in modo asettico (è possibile utilizzare forbici sterili).

Infine richiudere la provetta e assicurarsi che resti chiusa (e che mantenga l'umidità del tampone, se è il caso) fino all'analisi. Indentificare in modo univoco la provetta.

### 5.2.7.4 Metodo del panno/spugna

#### 5.2.7.4.1 Generalità

Le spugne sterili devono essere utilizzate per campionare superfici ampie ( $> 100 \text{ cm}^2$ ). A differenza dei tamponi, possono essere strofinate più vigorosamente e possiedono un'area altamente assorbente.


In caso di superfici umide, si utilizza per il campionamento una spugna a secco, a meno che non siano necessari neutralizzanti.

Nel caso in cui l'area sia asciutta si può utilizzare una spugna precedentemente inumidita con una quantità sufficiente di diluente/neutralizzante, senza eccessi. Per aumentare il recupero dei microrganismi è bene utilizzare una spugna inumidita.

#### 5.2.7.4.2 Spugna panno inumiditi o asciutti

- Aprire la confezione della spugna.
- Rimuovere asetticamente la spugna, ad es. con pinze sterili e/o con guanti sterili, oppure afferrare la spugna attraverso la sua confezione e rovesciare la busta stessa sopra la mano.
- Campionare la superficie da analizzare in due direzioni perpendicolari, esercitando con la spugna una pressione costante e uniforme e cambiando il lato della spugna. Assicurarsi che l'intera superficie venga campionata.
- Riporre la spugna in un sacchetto sterile nuovo e, in caso di spugne umidificate, assicurarsi che la spugna all'interno rimanga umida fino al momento dell'analisi.



 <p style="text-align: center;"><b>Dipartimento di Scienze Mediche e Sanità Pubblica,</b> <b>Laboratorio Igiene degli alimenti</b></p>	<p>I1/PG01 Rev 05 del 05-06-2020</p> <hr/> <p>Pagina 9 di 18</p>
---	--

Se sono necessari neutralizzanti, nel caso in cui la spugna non sia già preinumidita con essi, subito dopo il campionamento strizzare la spugna e lasciarla in ammollo nel diluente con i neutralizzanti affinché reagiscano completamente con gli agenti sanificanti.

Chiudere il sacchetto in modo tale da evitare perdite e contaminazione crociata.

Identificare in modo univoco il sacchetto.

### 5.2.8 Conservazione e trasporto

Vedere indicazioni riportate sulla Tab. 1 della presente istruzione e sulla P22/PG17 “Metodi orizzontali per il campionamento di superfici”.

### 5.2.9 MODALITÀ DI PRELIEVO ARIA

I metodi di campionamento, trasporto e conservazione per la matrice aria sono riportati nella UNI EN 13098:2019 e nella P26/PG17 Per ottenere un campione rappresentativo di aria al fine di valutare la qualità igienico sanitaria, si utilizza un campionatore attivo d’aria.


Il campionamento dell’aria è effettuato mediante l’utilizzo di un campionatore attivo SAS - "Surface Air System" - che aspira l’aria ad una velocità costante per un tempo variabile attraverso una testata dotata di piccoli fori. Il volume da aspirare dipende dal livello di contaminazione della zona da monitorare. Il flusso d’aria viene convogliato su delle piastre petri da contatto (di diametro di 55 mm) contenenti un terreno agarizzato differente a seconda dei microrganismi ricercati.

L’operatore deve essere formato per l’utilizzo di tecniche asettiche per evitare la contaminazione del campione durante qualsiasi fase di campionamento. Ciò include anche la conoscenza dell’attrezzatura necessaria per il campionamento e come eseguirlo

Durante tutte le fasi del campionamento, l’operatore deve mantenersi sottovento al campionatore SAS ed una distanza tale da non contaminare la zona di prelievo (circa 60 cm). Indossare guanti monouso durante le operazioni di campionamento.

Procedere nel seguente modo:

1. Accendere l’interruttore principale e selezionare i litri di aria da campionare seguendo quanto riportato nella I34PG17 istruzioni “Campionatore microbiologico Aria- SAS”.
2. Svitare la testata forata (preventivamente sterilizzata a 121°C per 15 min), tenendola per il bordo evitando di toccare la parte forata interna ed esterna. Per maggiore sicurezza usare l’apposita protezione in resina bianca autoclavabile.
3. Inserire una piastra da contatto da 55 mm con terreno agarizzato nell’apposita sede, quindi rimuoverne il coperchio. Evitare la contaminazione del terreno durante la fase di posizionamento della piastra.
4. Avvitare la testata forata, tenendola per il bordo, e togliere la protezione in resina bianca.
5. Selezionare i volume di aria da aspirare e la portata (es. 100 L/min) e procedere al campionamento premendo “START” sul display del campionatore SAS. I volumi da aspirare possono essere definiti e impostati in funzione dei livelli di inquinamento microbico presente e presunto consentendo, quindi, di effettuare campionamenti più mirati. Questo permette, non sapendo a priori quale sia la contaminazione ambientale, di ottenere una piastra con UFC contabili anche in caso di ampie variazioni di contaminazione ambientale. In genere i volumi aspirati individuati dal laboratorio sono quelli riportati nella seguente tabella (Linee guida INAIL 2010 - Il monitoraggio microbiologico negli ambienti di lavoro - Campionamento e analisi):

 <b>Dipartimento di Scienze Mediche e Sanità Pubblica,</b> <b>Laboratorio Igiene degli alimenti</b>	I1/PG01 Rev 05 del 05-06-2020
	Pagina 10 di 18

Tipologie ambiente	Volumi aspirati (L/min)
Aree ad alta contaminazione (comunità, stabulari, allevamenti)	10-200
Aree a bassa contaminazione (laboratori, locali produttivi)	200-500
Aree a rischio (camere operatorie)	500-1000
Aree sterili (clean room)	1000-1800

6. Al termine del campionamento (indicato da un segnale acustico) rimuovere il coperchio della testata. Rimettere il coperchio alla piastra da contatto ed estrarla dal SAS.il

7. Annotare nel “verbale di campionamento” M1/PG01 e nell’apposito riquadro dello stesso tutte le informazioni relative al campionamento (data ora inizio e fine campionamento, motivo campionamento, parametro e substrato utilizzato, volume in L di aria aspirato, portata, temperatura al prelievo, nome e codice identificativo dello strumento ecc).

8. Trasportare i campioni in laboratorio nella borsa termica preferibilmente ad una temperatura tra 1°C-8°C dotato di data logger per il monitoraggio della temperatura di trasporto.

8. Incubare le piastre per il tempo richiesto alla temperatura specifica per i microrganismi da ricercare.

### 5.3 CAMPIONAMENTO ACQUA

#### 5.3.1 Modalità di prelievo per parametri microbiologici

Avvertenze generali: durante il prelievo si dovranno osservare le massime cautele di asepsi al fine di evitare che microrganismi estranei all’acqua da esaminare vengano accidentalmente introdotti nella bottiglia; a tale scopo, durante il prelievo, si avrà cura di evitare che la parte interna del tappo e del collo della bottiglia possano venire a contatto con qualunque fonte di contaminazione e particolarmente con le mani dell’operatore.


**Acque potabili:** verificare con il cliente, prima del prelievo, se l’acqua è clorata. In caso di dubbio usare una bottiglia contenente una soluzione al 10% di sodio tiosolfato, in proporzione di 0,1 ml ogni 100 ml di volume della bottiglia. Poiché l’aggiunta, in bottiglie già sterilizzate, di una soluzione, se pure sterile, di neutralizzante può comportare il rischio di una contaminazione, è opportuno che la soluzione venga aggiunta prima della sterilizzazione dei contenitori. Le bottiglie utilizzate per prelevare campioni per analisi microbiologiche, non devono mai essere sciacquate al momento del prelievo.

Bottiglie contenenti Sodio tiosolfato possono essere utilizzate anche per il prelievo di campioni di acqua non clorata. Le bottiglie utilizzate hanno capacità di 250 mL, 500 mL o 1000 mL a seconda del numero dei parametri da determinare. Per le acque vendute imbottigliate o in contenitori (compresi campioni di ghiaccio) e le acque minerali prelevare un volume di almeno 1000 mL.

Le bottiglie possono essere in plastica monouso sterile o in vetro sterilizzate all’interno del laboratorio mediante autoclave (121°C- 15 min), etichettate con nastro per autoclave (che indichi l’avvenuta sterilizzazione). Le bottiglie non dovranno mai essere riempite completamente onde consentire un efficiente mescolamento, mediante agitazione, al momento dell’esame. Si raccomanda di evitare la trascinazione dell’acqua da campionare durante il prelievo.

Il campionamento nel caso generale viene eseguito secondo le seguenti operazioni:

- 1) rimuovere dal rubinetto eventuali tubi di gomma, plastica, ecc;
- 2) pulire meccanicamente la bocca del rubinetto se necessario;

 <p style="text-align: center;"><b>Dipartimento di Scienze Mediche e Sanità Pubblica,</b> <b>Laboratorio Igiene degli alimenti</b></p>	<p>I1/PG01 Rev 05 del 05-06-2020</p> <hr/> <p>Pagina 11 di 18</p>
---	---

- 3) procedere allo spurgo dell'acqua ristagnante nel rubinetto e nelle tubazioni aprendo completamente la valvola. L'operazione di spurgo dovrebbe essere protratta per almeno 1-3 minuti e, comunque, per un tempo sufficiente a rendere rappresentativo il campione prelevato;
- 4) chiudere il rubinetto e sterilizzare la parte esterna mediante una fiamma;
- 5) far scorrere l'acqua per almeno un minuto;
- 6) effettuare il prelievo evitando di modificare l'apertura del rubinetto durante la raccolta del campione;
- 7) All'atto del prelievo, aprire il contenitore sterile avendo cura di non toccare la parte interna che andrà a contatto con il campione prelevato
- 8) dopo il prelievo la bottiglia deve essere accuratamente chiusa ed etichettata o marcata in modo idoneo.

Subito dopo il prelievo porre il campione in borsa refrigerata (1-8°C) fornito di piastre refrigeranti o in frigorifero elettrico portatile con data logger. Registrare data, ora del prelievo e indicarla nel verbale di accompagnamento (M1PG01).

### **5.3.2 Campionamento per la ricerca di *Legionella spp***

#### **5.3.2.1 Generalità e misure di sicurezza**

I metodi di campionamento, trasporto e conservazione dei i campioni ambientali per la ricerca di *Legionella* sono riportati nelle Linee Guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi (79/CSR del 7/5/2015) - Allegato 3.

Il campionamento per *Legionella* deve essere effettuato prima di qualsiasi intervento di disinfezione oppure a distanza di un tempo congruo dalla sua esecuzione (dopo circa 48 ore dall'avvenuta messa a regime dell'impianto post intervento).

Eseguire le operazioni osservando le precauzioni necessarie alla tutela della salute dell'operatore (uso di mascherine, guanti, occhiali).


Il tecnico che preleva i campioni non deve appartenere ad una categoria a rischio (persone che sono sottoposte a trattamento con corticosteroidi, che abbiano affezioni croniche a carico dell'apparato respiratorio, diabetici, ecc.) ed è raccomandato che:

- Indossi quando necessario (ad es. in campionamenti in cui non è possibile lo spegnimento di torri di raffreddamento che determinano, nei confronti del campionatore, un'esposizione a rischio) dispositivi di protezione individuale;
- Minimizzi la formazione di aerosol facendo scorrere l'acqua delicatamente dall'erogatore oggetto del campionamento
- Eviti l'esposizione ad aerosol

Ove praticabile e necessario, richiedere la disattivazione delle torri di raffreddamento o dei condensatori evaporativi, almeno 20 minuti prima di effettuare il campionamento

#### **5.3.2.2 Campionamento**

*Legionella* sarà ricercata nell'ambiente idrico artificiale (impianti d'acqua destinata al consumo umano, impianti aeraulici, impianti di raffreddamento a torri evaporative/condensatori evaporativi, fontane decorative, idromassaggi, apparecchiature mediche per la respirazione assistita, impianti d'acqua termale e qualunque altro impianto risulti evidenziato dalla valutazione del rischio legionellosi o da osservazioni effettuate sul campo) limitando i prelievi ai punti che maggiormente possono essere critici, sia in base allo schema di ciascun impianto a rischio sia in funzione dei dati epidemiologici.

 <p style="text-align: center;"><b>Dipartimento di Scienze Mediche e Sanità Pubblica,</b> <b>Laboratorio Igiene degli alimenti</b></p>	<p>I1/PG01 Rev 05 del 05-06-2020</p>
<p style="text-align: right;">Pagina 12 di 18</p>	

### **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.

I campioni sono rappresentati principalmente da:

- acqua del circuito dell'acqua calda sanitaria e di quello dell'acqua fredda sanitaria soprattutto qualora la temperatura sia superiore a 20°C;
- depositi (cosiddetti "fanghi") o sedimenti da serbatoi e altri punti di raccolta dell'acqua;
- incrostazioni da 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;
- acqua d'umidificazione degli impianti aeraulici;
- acqua dell'impianto di raffreddamento a torri evaporative/condensatori evaporativi;
- filtri da impianti di climatizzazione;
- aria umidificata (ad es. quella che fuoriesce dalle torri evaporative/condensatori evaporativi);
- acqua da vasche idromassaggio, fontane decorative;
- acqua da sistemi per la respirazione assistita, aerosol;
- acqua e altre matrici tipiche di stabilimenti termali


### **5.3.2.3 Modalità di prelievo**

#### **ACQUA CALDA**

Il volume consigliabile è di almeno 1 litro, quando possibile. L'acqua sarà raccolta in bottiglie sterili contenenti una soluzione al 10% di sodio tiosolfato, in proporzione di 0,1 ml ogni 100 ml di acqua.

Per quanto riguarda il campionamento sono presenti due modalità:

1. **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.
2. **Per una ricerca di *Legionella* all'interno dell'impianto** (ossia per monitorarne le sue condizioni d'igiene):
  - far scorrere l'acqua per almeno 1 minuto;
  - chiudere il flusso e flambare all'interno e all'esterno dello sbocco o disinfettare lasciando agire il disinfettante almeno per 60 secondi;

 <p style="text-align: center;"><b>Dipartimento di Scienze Mediche e Sanità Pubblica, Laboratorio Igiene degli alimenti</b></p>	<p>I1/PG01 Rev 05 del 05-06-2020</p>
<p style="text-align: right;">Pagina 13 di 18</p>	

- 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.

## ACQUA FREDDA

Il volume consigliabile è di almeno 1 litro, quando possibile. L'acqua sarà raccolta in bottiglie sterili contenenti una soluzione al 10% di sodio tiosolfato, in proporzione di 0,1 ml ogni 100 ml di acqua.

### 1. 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.

### 2. 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.

### 5.3.2.4 Campionamento negli impianti idrosanitari


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 da effettuarsi in relazione agli esiti della valutazione del rischio e negli altri casi (es. verificarsi di un caso).

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).

I principali punti di controllo, da utilizzarsi come riferimento per la definizione della più opportuna mappatura analitica della rete idrica oggetto d'indagine sono i seguenti :

- 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 la temperatura di quest'ultima è  $\leq 20^{\circ}\text{C}$  il numero dei campioni può essere ridotto.

 <p style="text-align: center;"><b>Dipartimento di Scienze Mediche e Sanità Pubblica,</b> <b>Laboratorio Igiene degli alimenti</b></p>	<p>I1/PG01 Rev 05 del 05-06-2020</p>
<p style="text-align: right;">Pagina 14 di 18</p>	

### **5.3.2.5 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 o 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).

### **5.3.2.6 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.

### **5.3.2.7 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.

### **5.3.2.8 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).

### **5.3.2.9 Campionamento depositi o sedimenti**



 <b>Dipartimento di Scienze Mediche e Sanità Pubblica,</b> <b>Laboratorio Igiene degli alimenti</b>	I1/PG01 Rev 05 del 05-06-2020
	Pagina 15 di 18

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.

#### 5.3.2.10 Campionamento 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.

#### 5.3.2.10 Campionamento 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.

#### 5.3.2.10 Campionamento 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 cm<sup>2</sup>) se è di grandi dimensioni e conservarlo in un sacchetto di plastica sterile.

#### 5.3.2.11 Campionamento 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.

### 5.3.3 Numerosità campionaria

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

Il numero ed i siti da campionare sono indicati nella seguente tabella:

Tipologia di struttura	Numero di prelievi minimi da eseguire	
	ACQUA CALDA	ACQUA FREDDA
<b>Nosocomiale/Sanitaria</b>	Per ciascun impianto di acqua calda sanitaria: - mandata (oppure dal rubinetto più vicino al serbatoio/i) - ricircolo - fondo serbatoio/i - + almeno 3 in punti rappresentativi (ovvero i più lontani nella distribuzione idrica ed i più freddi) <b>Per posti letto superiori a 150, considerare almeno un punto di prelievo aggiuntivo ogni 100 posti letto in più</b>	Per ciascun impianto di acqua fredda sanitaria: - fondo serbatoio/i - almeno 2 in punti rappresentativi (ovvero il più lontano nella distribuzione idrica ed il più caldo).  <b>Per posti letto superiori a 150, considerare almeno un punto di prelievo aggiuntivo ogni 100 posti letto in più</b>
<b>Non Nosocomiale/Sanitaria</b>	Per ciascun impianto di acqua calda sanitaria: mandata( oppure dal rubinetto più vicino al serbatoio/i) ricircolo fondo serbatoio/i + almeno 3 in punti rappresentativi (ovvero i più lontani nella distribuzione idrica ed i più freddi)	Per ciascun impianto di acqua fredda sanitaria: fondo serbatoio/i almeno 2 in punti rappresentativi (ovvero il più lontano nella distribuzione idrica ed il più caldo).

### 5.3.4 Trasporto e conservazione

I campioni prelevati devono essere consegnati subito affinché l'analisi possa essere iniziata preferibilmente entro le 24 h 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.

Trascorse le 24 ore i campioni 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 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.

### 5.3.5 Frequenza campionamento

Tipologia struttura	Frequenza	Quali campioni
Strutture sanitarie	Almeno trimestrale (Reparti con pazienti ad alto rischio) Una volta l'anno (tutti gli altri reparti)	
Strutture con vasche idromassaggio	Ogni 3 mesi per <i>Legionella</i> 1 volta al mese associare il campionamento per CMT a 36°C, <i>P.aeruginosa</i> e i Coliformi totali ed <i>E coli</i> ( La CMT a 37°C deve essere <100 UFC/mL e preferibilmente <10 UFC/mL; <i>P.aeruginosa</i> dovrebbe essere presente in concentrazioni <10 UFC in 100 mL e i Coliformi assenti in 100 mL)	1 litro d'acqua dalla piscina e, se presente, dalla vasca di compenso. • Filtri e biofilm all'interno dei tubi
Stabilimenti termali	ogni 6 mesi e comunque ad ogni ripresa dell'attività	
Studi odontoiatrici	Effettuare il campionamento 1 volta all'anno,	Prelevando 1 litro miscelando 200 ml dalla siringa aria acqua, 200 ml dal micromotore, 200 ml dalla turbina, 200 ml dall'ablattore e 200 ml dal bicchiere.

Tutti gli altri ambienti la frequenza di campionamento risulterà ogni due anni.

## 5.4 CAMPIONAMENTO PER CAMPIONI PROVENIENTI DALLA PRODUZIONE PRIMARIA (FECI)

I protocolli ed metodi di campionamento, trasporto e conservazione per i campioni di feci sono indicati nel PNC Salmonellosi 2016/2018 - p.to 7.

### 5.4.1 Campionamenti di routine

#### 5.5.1.1 Riproduttori *Gallus gallus* e tacchini - in allevamento

Il campione, è composto per ciascun gruppo almeno da:

a) **pool di feci**: prelevare almeno 1 g di feci fresche da più punti del capannone in cui è tenuto il gruppo campionato. Nella tabella sottostante è indicato il numero di punti da cui prelevare il materiale fecale in funzione del numero di capi del gruppo campionato per costituire un campione composito.

N. CAPI per gruppo di riproduttori	N. sub-unità campionarie da prelevare per gruppo
250-349	200
350-449	220
450-799	250
800-999	260
1.000 o più	300

Mescolare il materiale così prelevato e formare almeno due campioni compositi.

**b) soprascarpe e/o campioni di polvere.**

- 5 paia di soprascarpe, rappresentanti ciascun paio il 20% circa della superficie occupata dal gruppo in esame. Le soprascarpe possono essere inviate al laboratorio raggruppate in almeno due campioni compositi (pool)
- 1 paio di soprascarpe rappresentante l'intera superficie del capannone ed un campione di polvere prelevato in più punti del capannone su cui la polvere sia visibile. Per campionare la polvere sono utilizzati uno o più tamponi di tessuto, con superficie totale di almeno 900 cmq; Oppure
- c) Nei gruppi in gabbia il campione è costituito da due pool di feci fresche di 150 grammi l'uno, prelevati dopo aver fatto azionare il sistema di rimozione della pollina per qualche minuto; nel caso in cui non siano presenti sistemi di rimozione della pollina devono essere prelevati almeno due campioni di feci fresche, ognuno di 150 grammi, nelle fosse di deiezione al di sotto delle gabbie.

**5.5.1.2 Ovaiole**

Il campione in autocontrollo è composto per ciascun gruppo almeno da:

- a) nei gruppi in gabbia - due pool di feci fresche di 150 grammi l'uno, prelevati dopo aver fatto azionare il sistema di rimozione della pollina per qualche minuto; nel caso in cui non siano presenti sistemi di rimozione della pollina devono essere prelevati almeno due campioni di feci fresche, ognuno di 150 grammi, presi da 60 posti diversi nelle fosse di deiezione al di sotto delle gabbie.
- b) Nei gruppi allevati a terra - almeno due paia di soprascarpe per gruppo.

**5.5.1.3 Polli da carne e tacchini da ingrasso**

Il campione, è composto per ciascun gruppo, almeno da due paia di soprascarpe (ogni paio copre circa il 50% dell'area calpestabile). Il SV può sostituire un paio di soprascarpe con un campione di polvere (100 grammi oppure un tampone di tessuto di 900 cmq). Nel caso di allevamenti "free range" i campioni devono essere prelevati solo nell'area all'interno del capannone. Nei gruppi con meno di 100 animali, quando non è possibile accedere al capannone a causa dello spazio limitato e non si possono usare le soprascarpe, i campioni di feci sono prelevati:

- Con la stessa tipologia di tamponi utilizzabili per il prelievo dei campioni di polvere strofinando le superfici contaminate con feci fresche; Utilizzando altri campioni adatti allo scopo.

**Trasporto**

I campioni sono inviati ai laboratori di analisi preferibilmente entro 24 h dal prelievo. Il trasporto può avvenire a temperatura ambiente, ma al riparo dal calore eccessivo (25°C) e dalla luce solare diretta. Presso il laboratorio, i campioni sono conservati a temperatura di refrigerazione fino all'analisi, in ogni caso eseguita entro 4 giorni dal prelievo.

**5.5 Documenti correlati**

M1/PG01 "verbale campionamento"

PG01 "Modalità di campionamento"

M2/PG01 "Elenco clienti Istruzioni campionamento"

PG22/PG 17" Metodi orizzontali per il campionamento di superfici"

P26/PG17 "Misurazione dei microrganismi aerodispersi e dei composti microbici nell'ambiente di lavoro"

I34PG17 "Campionatore microbiologico Aria- SAS".



<b>Rev.07</b>	<b>05-06-2020</b>	<b>Aggiornamento M1PG01 e UNI EN 13098:2019</b>	<b>Preparato da Valentina Carraro</b>	<b>Verificato e approvato da: Valentina Coroneo</b>
<b>Rev.04</b>	<b>15.01.2019</b>	<b>Aggiornamento norma superfici</b>	<b>Preparato da: Valentina Carraro</b>	<b>Verificato e approvato da V.Coroneo</b>
<b>Rev.03</b>	<b>05-02-2018</b>	<b>Inserimento specifiche volumi d'aria e area superfici</b>	<b>Preparato da: Valentina Carraro</b>	<b>Verificato e approvato da V.Coroneo</b>
<b>Rev.02</b>	<b>7-07-2016</b>	<b>Modalità campionamento Legionella</b>	<b>Preparato da: Valentina Coroneo, Antonella Pinna</b>	<b>Verificato e approvato da V.Coroneo</b>
<b>Rev.01</b>	<b>26-08-2014</b>	<b>Accorpamento istruzioni</b>	<b>Preparato e approvato da: Valentina Coroneo</b>	
<b>Rev.00</b>	<b>30-09-2008</b>	<b>1° emissione</b>	<b>Preparato da Valentina Coroneo</b>	<b>Approvato da Sandro Dessì</b>