

| | | |
|---|--|--|
| <p>Sistema Socio Sanitario</p>  <p>Regione Lombardia</p> <p>ATS Brianza</p> | <p>DIPARTIMENTODI IGIENE E PREVENZIONE SANITARIA</p> <p>SSD Laboratorio di Prevenzione</p> <p>Via Longoni, 13 OGGIONO (LC)</p> | <p>Member of CISQ Federation</p>  <p>RIIA IQNET</p> <p>CERTIFIED MANAGEMENT SYSTEM ISO 9001</p> |
|---|--|--|

ISTRUZIONE OPERATIVA

**MODALITA' DI
CAMPIONAMENTO DI VARIE
MATRICI PER ANALISI
MICROBIOLOGICHE
- UTENTI ESTERNI -**

ID 02521

| rev | data di approvazione | descrizione delle modifiche | FIRMA DI REDAZIONE | FIRMA DI VERIFICA | FIRMA DI APPROVAZIONE |
|-----|----------------------|--|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | | NOMINATIVO (FUNZIONE) | NOMINATIVO (FUNZIONE) | NOMINATIVO (FUNZIONE) |
| 0 | 19/12/2016 | Prima emissione | Eleonora Masala (RA) | Franca Facchini (RQ) | Anna Molinari (RL) |
| 1 | 14/02/2024 | Adeguamento format; Integrazione matrici | Franca Facchini (PL) | Franca Facchini (RQ) | Anna Molinari (RL) |
| 2 | 07/05/2024 | Eliminazione logo certificazione ISO 9001, in attesa di rinnovo certificazione | Franca Facchini (PL) | Franca Facchini (RQ) | Anna Molinari (RL) |
| 3 | 05/02/2025 | Integrazione logo certificazione ISO 9001 integrazione matrici | Eleonora Masala (RA) | Franca Facchini (RQ) | Anna Molinari (RL) |

**DOCUMENTO DI PROPRIETA' DELLA ATS DELLA BRIANZA
Sede territoriale di LECCO**



Sommario

| | | |
|-------|--|---|
| 1 | CAMPO DI APPLICAZIONE | 3 |
| 2 | SOGGETTI COINVOLTI | 3 |
| 3 | ATTIVITA' | 3 |
| 3.1 | Campionamento di acqua destinata al consumo umano per analisi microbiologica | 3 |
| 3.2 | Campionamento per il monitoraggio dei cianobatteri potenzialmente tossici | 4 |
| 3.3 | Campionamento di acque di piscina | 4 |
| 3.4 | Campionamento di matrici ambientali per la ricerca di Legionella spp | 5 |
| 3.4.1 | Campionamenti di acqua | 5 |
| 3.4.2 | Campionamenti di superfici | 6 |
| 3.5 | Campionamento di alimenti per analisi microbiologiche | 6 |
| 3.5.1 | Alimenti Confezionati | 6 |
| 3.5.2 | Alimenti non Confezionati | 6 |
| 3.6 | Esecuzione di tamponi di superficie | 7 |
| 3.7 | Verifica autoclavi per sterilizzazione a vapore con indicatori biologici | 8 |
| 3.8 | Trasporto e conservazione del campione | 8 |
| 4 | SUPPORTI | 8 |

| | | |
|---|--|--|
| <p>Sistema Socio Sanitario</p>  <p>Regione Lombardia</p> <p>ATS Brianza</p> | <p>Modalità di campionamento di matrici per analisi microbiologiche – UTENTI ESTERNI -</p> | <p>Member of CISQ Federation</p>  <p>RINA IQNET</p> <p>CERTIFIED MANAGEMENT SYSTEM ISO 9001</p> |
|---|--|--|

1 CAMPO DI APPLICAZIONE

L'istruzione operativa descrive le modalità da adottare per il prelievo di campioni destinati all'analisi microbiologica da conferire al Laboratorio di Prevenzione dell'ATS Brianza.

Queste istruzioni vengono fornite, in forma scritta o verbale, al cliente che intende effettuare autonomamente il campionamento; se richiesto, al cliente può essere fornito anche il materiale necessario. *Per le modalità di campionamento del bioareosol si rimanda alle IO MdP specifiche.*

Sono esclusi tutti i campionamenti di alimenti, bevande e MOCA effettuati dagli OSA per la verifica del proprio sistema interno di autocontrollo basato sui principi HACCP.

2 SOGGETTI COINVOLTI

- Utenti esterni all'ATS che ne facciano richiesta.
- RA
- PL
- PTc
- PAm

3 ATTIVITA'

3.1 Campionamento di acqua destinata al consumo umano per analisi microbiologica

Attrezzature

- Borsa termica per il trasporto a una temperatura < +10°C
- Flambatore portatile a gas liquido
- Bottiglie sterili eventualmente addizionate di tiosolfato
- Termometro
- Etichette
- *Modulo richiesta di analisi*

La quantità minima di acqua richiesta per le analisi microbiologiche è di 500 ml, ad eccezione del caso in cui sia prevista in aggiunta la ricerca di *Salmonella* spp. per la quale è necessario fornire ulteriori 1000 ml di campione.

- a) Contrassegnare, scrivendo i dati relativi al campione e la data del prelievo, le bottiglie sterili eventualmente addizionate con tiosolfato fornite dal laboratorio;
- b) tenere la bottiglia tappata e protetta fino al momento del prelievo
- c) asportare eventuali rompi getto o altre parti non termoresistenti
- d) aprire il rubinetto e lasciar fluire l'acqua per 5 minuti circa;

| | | |
|--|--|--|
| <p>Sistema Socio Sanitario</p>  <p>Regione Lombardia</p> <p>ATS Brianza</p> | <p>Modalità di campionamento di matrici per analisi microbiologiche - UTENTI ESTERNI -</p> | <p>Member of CISQ Federation</p>  <p>RINA IQNET</p> <p>CERTIFIED MANAGEMENT SYSTEM ISO 9001</p> |
|--|--|--|

- e) se possibile, misurare la temperatura dell'acqua e registrarla sul modulo di richiesta;
- f) quando possibile, sterilizzare con la fiamma il rubinetto da cui si effettua il prelievo;
- g) lasciar fluire di nuovo l'acqua per almeno 1 minuto;
- h) tenendosi il più possibile vicini al rubinetto, togliere il tappo dalla bottiglia e riempirla facendo attenzione a mantenere la sterilità;
- i) riporre la bottiglia nella borsa termica o frigorifero portatile;
- j) compilare *il modulo di richiesta analisi* in ogni sua parte

3.2 Campionamento per il monitoraggio dei cianobatteri potenzialmente tossici

Prelevare i quantitativi di acqua riportati nella tabella seguente a seconda del punto campionato:

| PUNTO DI CAMPIONAMENTO | Campione per conteggio cianobatteri | Campione per test tossicologico | Volume totale di acqua per punto |
|---|-------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| Acqua superficiale prima della potabilizzazione | 1 litro (1 bottiglia scura) | 5 litri (5 bottiglie scure) | 6 litri (6 bottiglie scure) |
| Acqua superficiale dopo la potabilizzazione | 5 litri (5 bottiglie scure) | 5 litri (5 bottiglie scure) | 10 litri (10 bottiglie scure) |
| Acqua di rete trattata | 5 litri (5 bottiglie scure) | 5 litri (5 bottiglie scure) | 10 litri (10 bottiglie scure) |

- a) al momento del prelievo verificare se possibile la temperatura dell'acqua, dell'ambiente e il pH e riportarli nel modulo di richiesta;
- b) riporre le bottiglie nella borsa termica;
- c) compilare *il modulo di richiesta analisi* in ogni sua parte

3.3 Campionamento di acque di piscina

Attrezzature

- Borsa termica per il trasporto a una temperatura < +10°C
- Bottiglie sterili eventualmente addizionate di tiosolfato
- Termometro
- Etichette
- Richieste d'analisi
- [...]

| | | |
|--|--|--|
| <p>Sistema Socio Sanitario</p>  <p>Regione Lombardia</p> <p>ATS Brianza</p> | <p>Modalità di campionamento di matrici per analisi microbiologiche - UTENTI ESTERNI -</p> | <p>Member of CISQ Federation</p>  <p>RINA IQNET</p> <p>CERTIFIED MANAGEMENT SYSTEM ISO 9001</p> |
|--|--|--|

- a) tenere la bottiglia tappata e protetta fino al momento del prelievo;
- b) togliere il tappo dalla bottiglia e riempirla immergendola in vasca facendo attenzione a mantenere il più possibile la sterilità;
- c) contrassegnare la bottiglia con etichetta autoadesiva scrivendo i dati relativi al campione e la data del prelievo;
- d) verificare la temperatura dell'acqua e dell'ambiente al momento del prelievo e riportarla nella richiesta;
- e) [...]
- f) riporre la bottiglia nella borsa termica;
- g) Compilare la richiesta di analisi in ogni sua parte.

3.4 Campionamento di matrici ambientali per la ricerca di Legionella spp

Attrezzature

- Borsa termica per il trasporto a una temperatura < +10°C
- Flambatore portatile a gas liquido
- Bottiglie sterili eventualmente addizionate di tiosolfato
- Pinze sterili
- Contenitori o sacchetti sterili
- Guanti sterili monouso
- Sponge bags
- DPI idonei
- Etichette
- Richieste d'analisi

3.4.1 Campionamenti di acqua

Per la ricerca di Legionella in condizioni di utilizzo comune, prelevare almeno un litro d'acqua, preferibilmente dal circuito dell'acqua calda, senza flambare, al punto di sbocco e senza far scorrere precedentemente l'acqua.

Per una ricerca quantitativa di Legionella nell'acqua all'interno dell'impianto, prelevare lo stesso quantitativo dopo aver fatto scorrere l'acqua per 5 minuti, flambando allo sbocco o *disinfettando con garze imbevute di idoneo sanificante (a base di ipoclorito)*.

Se si tratta di acqua sottoposta a clorazione è necessario raccogliere il campione in bottiglie con 0,1 ml di tiosolfato al 10% per ogni 100 ml di acqua (per neutralizzare i residui di cloro eventualmente presenti).

Qualora il circuito dell'acqua calda e quello dell'acqua fredda abbiano, in uscita, un unico miscelatore, il campione va prelevato miscelando l'acqua dei due circuiti.

Effettuare il rilievo della temperatura dell'acqua; nel caso in cui si effettui il prelievo con scorrimento, effettuare tale misura sia prima che dopo questo.

| | | |
|--|--|--|
| <p>Sistema Socio Sanitario</p>  <p>Regione Lombardia</p> <p>ATS Brianza</p> | <p>Modalità di campionamento di matrici per analisi microbiologiche - UTENTI ESTERNI -</p> | <p>Member of CISQ Federation</p>  <p>RINA IQNET</p> <p>CERTIFIED MANAGEMENT SYSTEM ISO 9001</p> |
|--|--|--|

3.4.2 Campionamenti di superfici

Inumidire, in modo omogeneo, la spugnetta con 10 ml di soluzione fisiologica per superfici.

Indossare i guanti monouso.

Asportare con la spugnetta o *altro supporto per il campionamento*, per strofinamento, il biofilm presente sul filtro e all'interno di un rubinetto o di un bulbo doccia.

3.5 Campionamento di alimenti per analisi microbiologiche

Attrezzature

- Borsa termica per il trasporto a una temperatura 2-8°C
- Cucchiari sterili
- Pinze sterili
- Contenitori o sacchetti sterili
- Guanti sterili monouso
- Richieste d'analisi
- Etichette

3.5.1 Alimenti Confezionati

- a) Prelevare una o più confezioni dell'alimento possibilmente integre e mantenute alla temperatura di conservazione del prodotto.

3.5.2 Alimenti non Confezionati

- a) Contrassegnare i contenitori sterili o le etichette da apporvi scrivendo i dati relativi al campione e la data del prelievo;
- b) indossare i guanti sterili;
- c) aprire il contenitore per il campionamento mantenendo le condizioni di sterilità, cioè facendo attenzione a non contaminarne l'interno;
- d) omogeneizzare l'alimento e prelevarne un quantitativo sufficiente (minimo 150 g) per le analisi richieste utilizzando le attrezzature sterili. Quando non è possibile omogeneizzare il campione, prelevare da punti diversi in modo da avere comunque un campione rappresentativo;
- e) riporre, se necessario, il campione nella borsa termica
- f) compilare la richiesta di analisi.

| | | |
|--|--|--|
| <p>Sistema Socio Sanitario</p>  <p>Regione Lombardia</p> <p>ATS Brianza</p> | <p>Modalità di campionamento di matrici per analisi microbiologiche - UTENTI ESTERNI -</p> | <p>Member of CISQ Federation</p>  <p>RINA IQNET</p> <p>CERTIFIED MANAGEMENT SYSTEM ISO 9001</p> |
|--|--|--|

3.6 Esecuzione di tamponi di superficie

Attrezzature

- Borsa termica per il trasporto a una temperatura < +10°C
 - Flambatore portatile a gas liquido
 - Guanti monouso
 - Spugnetta / Supporto per campionamento di superficie addizionato di opportuno diluente, come da specifiche o *piastre da contatto*.
 - Delimitatore quadrato con lato di 10 cm
 - Richiesta di analisi
- a) Contrassegnare il sacchetto contenente la spugnetta/tampone di superficie, scrivendo sull'apposita etichetta i dati di identificazione: data, luogo, tipo di superficie;
 - b) strappare il bordo superiore del sacchetto seguendo la linea tratteggiata;
 - c) tirare le linguette centrali verso l'esterno per aprire il sacchetto;
 - d) indossare i guanti;
 - e) inumidire la spugnetta, versando l'intero contenuto (10 ml) della provetta con la miscela di soluzione fisiologica addizionata di neutralizzante in modo da ottenere una reidratazione omogenea;
 - f) flambare il delimitatore di area, qualora venga usato, e appoggiarlo sulla superficie da campionare;
 - g) estrarre la spugnetta/tampone di superficie e strofinare in modo omogeneo la superficie sull'area delimitata o, se non fosse possibile utilizzare il delimitatore, strofinare la spugnetta su un'area di circa 10x10 cm.
 - h) riporre la spugnetta nel sacchetto;
 - i) tirare le linguette esterne e chiudere il sacchetto, in modo che rimanga poca aria al suo interno;
 - j) *nel caso di piastre da contatto identificare superfici uniformi, posizionare la piastra aperta e applicare una pressione lieve ed uniforme su tutta la piastra per 10 secondi.*
 - k) *Richiudere la piastra*
 - l) mettere tutto nella borsa termica e trasportare a una temperatura non superiore ai 10°C;
 - m) compilare la richiesta di analisi

E' indispensabile cambiare i guanti ad ogni campionamento per evitare fenomeni di trascinalmento!

| | | |
|--|--|--|
| <p>Sistema Socio Sanitario</p>  <p>Regione Lombardia</p> <p>ATS Brianza</p> | <p>Modalità di campionamento di matrici per analisi microbiologiche - UTENTI ESTERNI -</p> | <p>Member of CISQ Federation</p>  <p>RINA IQNET</p> <p>CERTIFIED MANAGEMENT SYSTEM ISO 9001</p> |
|--|--|--|

3.7 Verifica autoclavi per sterilizzazione a vapore con indicatori biologici

Attrezzature

- Indicatore biologico in fiala (fornito dal laboratorio)
- Sacchetto
- Richiesta di analisi

Gli indicatori biologici sono utilizzati per la verifica del corretto funzionamento di autoclavi per sterilizzazione a vapore. Sono costituiti da una fiala con all'interno un indicatore biologico in spore e un ampolla di vetro con il liquido di coltura. L'etichetta esterna della fiala ha un indicatore di processo, per verificare che l'indicatore biologico sia stato sottoposto a processo di sterilizzazione.

- a) Collocare la fiala all'esterno del carico, all'interno dell'autoclave, e avviare il processo di sterilizzazione.
- b) Dopo la sterilizzazione rimuovere la fiala, farla raffreddare per 15 minuti a temperatura ambiente e riparla in un sacchetto contrassegnando data ed eventuale localizzazione durante la sterilizzazione.
- c) Compilare la richiesta di analisi

Si ricorda che gli indicatori non devono essere utilizzati dopo la data di scadenza; non devono inoltre essere usati nei processi di sterilizzazione con calore a secco (le ampolle di vetro esploderebbero e la plastica della fiala si fonderebbe).

3.8 Trasporto e conservazione del campione

I campioni vanno consegnati, accompagnati dalla richiesta di analisi compilata in ogni sua parte, al laboratorio nel più breve tempo possibile e devono essere trasportati a temperatura controllata, ove previsto; in questi casi il LP, in fase di accettazione del campione, effettua la misura della temperatura di trasporto e la registra sulla richiesta di analisi; in caso di scostamento da quanto indicato nei precedenti paragrafi di questa istruzione operativa, la temperatura di trasporto viene riportata nelle note del rapporto di prova. Mantenere gli indicatori biologici (spore) a temperatura ambiente.

4 SUPPORTI

Le attrezzature necessarie per l'esecuzione dei campionamenti descritta nella presente IO sono dettagliati in ciascun paragrafo.