

## POSITION PAPER DI AIISA PER IL CAMPIONAMENTO MICROBIOLOGICO DEGLI IMPIANTI AERAILICI

### PREMESSA

**I contenuti di questo documento definiscono la posizione di AIISA, riguardo il campionamento microbiologico degli impianti aeraulici. Le indicazioni operative proposte derivano dall'esperienza ultradecennale svolta sul campo da parte di tutti i soci e risultano coerenti con il Protocollo Operativo dell'Associazione.**

I campionamenti microbiologici sull'impianto aeraulico devono essere effettuati prima dell'intervento di bonifica, in fase di ispezione tecnica e/o dopo l'intervento di bonifica, in fase di verifica.

Qualora durante l'ispezione visiva si rilevassero evidenti segni di contaminazione fungina, depositi di particolato o detriti, non sussisterebbe la necessità di procedere al campionamento microbiologico delle superfici interne all'impianto e dell'aria da esso erogata. In tal caso, infatti, l'evidente compromissione dello stato igienico dell'impianto richiederebbe un intervento di bonifica, come previsto dalla procedura operativa dell'Accordo Stato Regioni del 7 febbraio 2013 (Flow Chart della procedura operativa).

### CAMPIONAMENTI MICROBIOLOGICI PRE – BONIFICA

I campionamenti microbiologici possono rendersi necessari se:

- l'ispezione visiva non ha rilevato evidenti depositi di particolato o segni di contaminazione fungina, ma sussistono dubbi oggettivi circa l'effettivo stato igienico dell'impianto.
- il committente chiede espressamente l'esecuzione dell'esame.

**AIISA raccomanda di eseguire comunque il campionamento microbiologico, quando si ispeziona un impianto per la prima volta.**

### CAMPIONAMENTI MICROBIOLOGICI POST – BONIFICA

I campionamenti microbiologici si rendono necessari per effettuare un confronto con i dati del campionamento pre-bonifica e verificare la riduzione logaritmica degli agenti microbiologici presenti.

Nell'esecuzione dei campionamenti microbiologici nell'impianto di climatizzazione, al fine di rendere confrontabili i dati di successivi campionamenti, è opportuno effettuare i campionamenti

sulle stesse matrici (superfici, aria) e monitorare nel tempo gli stessi punti di prelievo. In considerazione della variabilità stagionale delle concentrazioni di molti microrganismi, è necessario, al fine di confrontare i risultati ottenuti in diversi campionamenti, associare i principali rilievi microclimatici (Temperatura e Umidità Relativa). Deve inoltre essere sempre riportato il riferimento alla persona che ha effettuato il campionamento.

Considerando l'elevata dispersione dei dati relativi ai campionamenti microbiologici di aria, per contenere il margine di errore nell'espressione dei valori rilevati, le cariche microbiche dovrebbero essere riportate come il risultato della media di tre campionamenti per ciascun punto di prelievo.

Ripetere il campionamento tre volte, inoltre, consente anche di individuare eventuali valori eccezionali, presumibilmente dovuti a condizioni transitorie imprevedibili.

**AIISA è consapevole della difficoltà dei clienti nell'accettare il costo e l'aggravio di tempo dovuto alla ripetizione dei campionamenti per tre volte, ma raccomanda ai propri associati di proporlo sempre ai clienti spiegandone le ragioni.**

**AIISA raccomanda di utilizzare laboratori di comprovata affidabilità e accreditati ACCREDIA.**

## PROCEDURA PER IL CAMPIONAMENTO MICROBIOLOGICO DELLE SUPERFICI

Il campionamento è effettuato tramite l'uso di slide, spugne, tamponi (specialmente nel caso di superfici irregolari), o tramite piaste da contatto (nel caso di superfici lisce e regolari).

Le operazioni di prelievo devono essere effettuate ad impianto spento.

Le indagini microbiologiche interesseranno le cariche batteriche e micetiche totali, in caso si volesse indagare la presenza di specifici patogeni o allergeni (se ad esempio sono riferiti casi di reazioni allergiche di uno o più occupanti l'edificio) è consigliabile effettuare anche una analisi qualitativa per l'individuazione di particolari microrganismi. A titolo esemplificativo, si potrà indagare la presenza di batteri patogeni (quali *Staphylococcus Aureus*, *Pseudomonas Aeruginosa*) e di microfunghi allergizzanti appartenenti ai generi *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus* (quest'ultimo può avere anche effetti tossici).

Punti di prelievo per i campionamenti di superficie:

Nel Protocollo Operativo, si riportano i punti da campionare (consultare i Capitoli 6.2 FASE 2 – *ISPEZIONE TECNICA* e 6.5 FASE 5 - *BONIFICA IMPIANTO AERAUICO*).

**AIISA raccomanda di eseguire il campionamento almeno in un punto ogni 100 mt di distribuzione di canale.**

Nel caso in cui l'impianto includa o sia costituito esclusivamente da unità di condizionamento locali, il campionamento potrà essere effettuato sulla batteria di scambio termico di un numero statisticamente significativo di unità.

**AIISA raccomanda di eseguire i prelievi di campionamento su almeno il 10% delle unità locali.**

#### Superficie da campionare

È consigliato campionare una superficie pari a 100 cm<sup>2</sup>. Per i campionamenti con tampone sulle batterie di scambio termico individuare una superficie con area di campionamento il più possibile vicina a tale misura.

#### Conservazione e trasporto dei campioni

Slide, spugne o tamponi devono essere analizzati quanto prima, preferibilmente entro le 4 ore, e devono essere conservati a + 4°C tolleranza  $\pm 3^{\circ}\text{C}$ . Comunque, non vanno superate le 24 ore dal campionamento.

I singoli campioni vanno identificati in modo univoco, deve essere sempre possibile risalire al tipo di campione, al punto di prelievo, al giorno e orario di campionamento.

#### Interpretazione dei risultati

Non esistono valori di riferimento assoluti per le cariche batteriche e micetiche totali su superfici, pertanto nel caso in cui, in fase di ispezione tecnica si siano effettuati i campionamenti di superficie, i risultati andranno confrontati con quelli effettuati post-intervento, per verificare che le attività di sanificazione hanno prodotto una riduzione dei microrganismi pari ad almeno il 60%.

Altresì, si specifica che non esistono al momento metodi accreditati per ricercare, da parte di un laboratorio pur accreditato Accredia, flore microbiche e fungine rapportate al peso di polvere che le contiene. Sarà il laboratorio stesso che certificherà questa analisi utilizzando un suo metodo normato.

Nel caso in cui sia stata fatta una indagine di tipo qualitativo per l'individuazione di specie patogene o allergizzanti e si rilevasse la loro presenza, ciò sarebbe indicativo della necessità di procedere con un intervento di sanificazione/bonifica.

Nel Protocollo Operativo, si riportano i punti ed i valori di riferimento in particolare consultare i capitoli 6.2 FASE 2 – *ISPEZIONE TECNICA* e 6.5 FASE 5 - *BONIFICA IMPIANTO AERAUICO*.

**AIISA raccomanda per una corretta valutazione dei risultati di indicare sempre le condizioni termo-igrometriche rilevate in fase di campionamento delle matrici.**

**AIISA raccomanda di attenersi ai limiti di seguito indicati per l'analisi quantitativa dei sedimenti eseguita mediante NADCA VACUUM TEST:**

|   |       |                            |
|---|-------|----------------------------|
| per impianto in esercizio   | _____ | ≤ a 1 g/m <sup>2</sup>     |
| per impianto nuovo  | _____ | ≤ a 0,075 g/m <sup>2</sup> |
| per identificare un impianto igienicamente pulito dopo l'attività di bonifica |       | ≤ a 0,075 g/m <sup>2</sup> |

**AIISA raccomanda di attenersi ai limiti di seguito indicati per l'analisi quali/quantitativa dei seguenti agenti microbici eseguito impiegando un tampone su una superficie complessiva di 100 cm<sup>2</sup>:**

|                          |                              |   |                           |
|--------------------------|------------------------------|---|---------------------------|
| Batteri totali           | 300 UFC/ 100 cm <sup>2</sup> | o | 30.000 UFC/m <sup>2</sup> |
| Lieviti e Muffe          | 150 UFC/ 100 cm <sup>2</sup> | o | 15.000 UFC/m <sup>2</sup> |
| Aspergillus spp          | Assente                      |   |                           |
| Cladosporium spp         | Assente                      |   |                           |
| Pseudomonas aeruginosa   | Assente                      |   |                           |
| Staphylococcus aureus    | Assente                      |   |                           |
| ...altri agenti patogeni | Assenti                      |   |                           |

## **PROCEDURA PER IL CAMPIONAMENTO MICROBIOLOGICO DELL'ARIA TRATTATA DALL'IMPIANTO**

L'attrezzatura da adottare per il campionamento consiste in un impattatore a flusso ortogonale su superficie solida (es: piastre petri) tipo il SAS o il Microflow.

Le operazioni di prelievo devono essere effettuate ad impianto acceso.

Le indagini microbiologiche interesseranno le cariche totali batteriche e micotiche. In caso si volesse indagare la presenza di specifici patogeni o allergeni (se ad esempio sono riferiti casi di reazioni allergiche di uno o più occupanti l'edificio) è consigliabile effettuare anche una analisi qualitativa per l'individuazione di particolari microrganismi. A titolo esemplificativo, si potrà indagare la presenza di batteri patogeni (quali Staphylococcus Aureus, Pseudomonas Aeruginosa) e di microfunghi allergizzanti appartenenti ai generi Cladosporium, Alternaria, Penicillium, Aspergillus (quest'ultimo può avere anche effetti tossici).

### Punti di prelievo per i campionamenti d'aria:

Nel Protocollo Operativo, si riportano i punti da campionare (consultare i capitoli 6.2 FASE 2 – *ISPEZIONE TECNICA* e 6.5 FASE 5 - *BONIFICA IMPIANTO AERAUICO*).

In sintesi, i campionamenti vanno eseguiti:

- In prossimità della presa dell'aria esterna dell'impianto aeraulico;
- Davanti ai terminali di mandata a 50 cm di distanza ponendo il campionatore perpendicolarmente rispetto al flusso dell'aria in uscita.

ATTENZIONE: i campionamenti microbiologici dell'aria, se non sono effettuati sull'aria in uscita dai terminali di mandata, non sono direttamente correlabili con l'eventuale contaminazione microbiologica dell'impianto, perché facilmente influenzati da altre caratteristiche ambientali e pertanto non sono utili ai fini della valutazione dei requisiti igienici dell'impianto.

I punti di prelievo vanno scelti in base allo sviluppo planimetrico e altimetrico dell'impianto e alla destinazione d'uso degli ambienti serviti.

**AIISA raccomanda di eseguire i campionamenti almeno nel 5% dei terminali di mandata in ambiente per impianti fino a 100 terminali.**

### Schema di campionamento

Considerando l'elevata dispersione dei dati relativi ai campionamenti microbiologici, per contenere il margine di errore nell'espressione dei valori rilevati, le cariche microbiche dovrebbero essere riportate come il risultato della media di tre campionamenti per ciascun punto di prelievo.

**AIISA è consapevole della difficoltà dei clienti nell'accettare il costo e l'aggravio di tempo dovuto alla ripetizione dei campionamenti per tre volte, ma raccomanda ai propri associati di proporlo sempre ai clienti spiegandone le ragioni.**

### Conservazione e trasporto dei campioni

- Le singole piastre vanno identificate in modo univoco, deve essere sempre possibile risalire al tipo di campione, al punto di prelievo, al tipo di campionatore, al giorno e orario di campionamento e deve inoltre essere sempre riportato il riferimento alla persona che ha effettuato il campionamento.
- Ogni singola piastra deve essere parafilmata singolarmente e le tre repliche di ciascun punto di prelievo devono essere parafilmate insieme per evitare mescolamenti e l'accidentale apertura dei coperchi.

- Le piastre vanno poste in una borsa frigo con temperatura a circa + 4°C tolleranza  $\pm 3^{\circ}\text{C}$ .
- Le piastre devono essere trasportate a testa in giù per evitare che eventuale condensa sul coperchio possa gocciolare sulla superficie del terreno.
- I campioni devono essere trasportati in laboratorio per l'incubazione e successiva analisi entro le 24 ore dal campionamento.

### Interpretazione dei risultati

Poiché non esistono valori limite di riferimento contemplati dalla vigente legislazione italiana, né organismi istituzionali competenti in materia hanno formulato indicazioni a riguardo, le cariche microbiche misurate all'interno degli ambienti, espresse in unità formanti colonia per metro cubo d'aria (UFC/m<sup>3</sup>), possono essere confrontate con le cariche rilevate all'esterno dell'edificio, in prossimità della presa dell'aria, al fine di evidenziare eventuali fenomeni di concentrazione microbiologica. Potrebbero verificarsi fenomeni di concentrazione, per esempio in presenza di ricircolo dell'aria o con sistema di filtrazione non adeguato. In questo confronto bisogna tenere conto anche del grado di filtrazione presente nel sistema aeraulico.

Un impianto pulito ed efficiente garantisce la salubrità dell'aria servita, la quale dovrebbe risultare di qualità pari o superiore a quella esterna.

Nel caso in cui sia stata fatta una indagine di tipo qualitativo per l'individuazione di specie patogene o allergizzanti e si rilevasse la loro presenza, ciò sarebbe indicativo della necessità di procedere con un intervento di sanificazione impianto aeraulico se l'ispezione tecnica lo conferma.

In fase di verifica tecnica pre-intervento il confronto tra aria esterna e aria interna consente una valutazione di massima dell'eventuale contributo dell'impianto all'inquinamento microbiologico dell'aria. Successivamente alla bonifica dell'impianto, i dati dell'eventuale campionamento microbiologico, ripetuto negli stessi punti di prelievo del campionamento pre-intervento, possono essere confrontati con quelli post-intervento. Perché i risultati ante e post-intervento siano confrontabili devono essere pesati relativamente alle rispettive cariche microbiche esterne, anche in considerazione dei rilievi microclimatici.

**AIISA raccomanda, nella fase di ispezione post-intervento, di confrontare i valori dei campionamenti effettuati all'interno con quelli rilevati all'esterno. Il raffronto deve sempre permettere di ottenere, dei valori di cariche microbiche all'interno minori o al massimo uguali ai parametri campionati all'esterno.**

$$\text{Cariche microbiche interne} \leq \text{Cariche microbiche esterne}$$

**AIISA raccomanda per una corretta valutazione dei risultati di indicare sempre le condizioni termo-igrometriche rilevate in fase di campionamento delle matrici.**

Le temperature di incubazione devono essere per la carica batterica 30°C e 37°C e micetica totale 25°C e devono essere riportate nel certificato d'analisi.

Poiché esiste la probabilità che più di un microrganismo o di una particella impatti sullo stesso punto della piastra sono disponibili apposite tabelle statistiche, fornite insieme ai Manuali d'uso dei campionatori con le quali è possibile procedere alla correzione statistica del dato ottenuto dal conteggio (numero di colonie/piastra).

## PROCEDURA PER IL CAMPIONAMENTO MICROBIOLOGICO DELL'ACQUA DI UMIDIFICAZIONE

Il campionamento è effettuato in conformità a quanto disposto dalle *"Linee guida per la prevenzione e il controllo della Legionellosi"* del 7 maggio 2015.

Si utilizzano bottiglie sterili con capacità minima di 1 L preferibilmente di vetro o polietilene o contenitori simili, contenenti una concentrazione di tiosolfato di sodio pentaidrato (come indicato nella norma UNI EN ISO 19458 al punto 4.2.3), quando sia stato utilizzato cloro come sistema di disinfezione, altrimenti se il sistema di disinfezione utilizza ioni rame o argento si neutralizza con EDTA (come indicato nella norma UNI EN ISO 19458 alla nota del punto 4.2.3).

Le operazioni di prelievo devono essere effettuate ad impianto spento. L'accesso all'impianto deve avvenire solo dopo 10 minuti dallo spegnimento dell'UTA, per permettere al bio-aerosol di depositarsi e non costituire una fonte di rischio per l'operatore.

Le indagini microbiologiche hanno lo scopo di valutare la carica batterica totale. Nel caso in cui il valore rilevato eccedesse  $10^3$  UFC/L., sarebbe consigliabile indagare anche la presenza di Legionella Pneumophila.

### Punti di prelievo per i campionamenti dell'acqua di umidificazione:

I campionamenti devono essere effettuati all'interno delle vasche di raccolta dell'acqua di umidificazione delle unità di trattamento aria (tenendosi lontani dal punto di immissione dell'acqua tramite galleggiante).

**ATTENZIONE:** è importante adottare appropriate precauzioni per eliminare cross-contamination tra i siti di campionamento quando si raccolgono campioni ad immersione. Ad esempio, cambiare i guanti ogni volta che si effettua un campionamento ad immersione, alternativamente le mani dell'operatore devono essere disinfettate con alcool isopropilico (propanolo) o etanolo al 70% v/v. Anche la superficie esterna delle bottiglie non deve essere contaminata. Se c'è qualsiasi dubbio in proposito, la bottiglia deve essere eliminata o disinfettata con alcool isopropilico (propanolo) o etanolo al 70% v/v prima dell'uso.

## Volume di acqua da campionare

Il volume consigliabile è di almeno 1 litro.

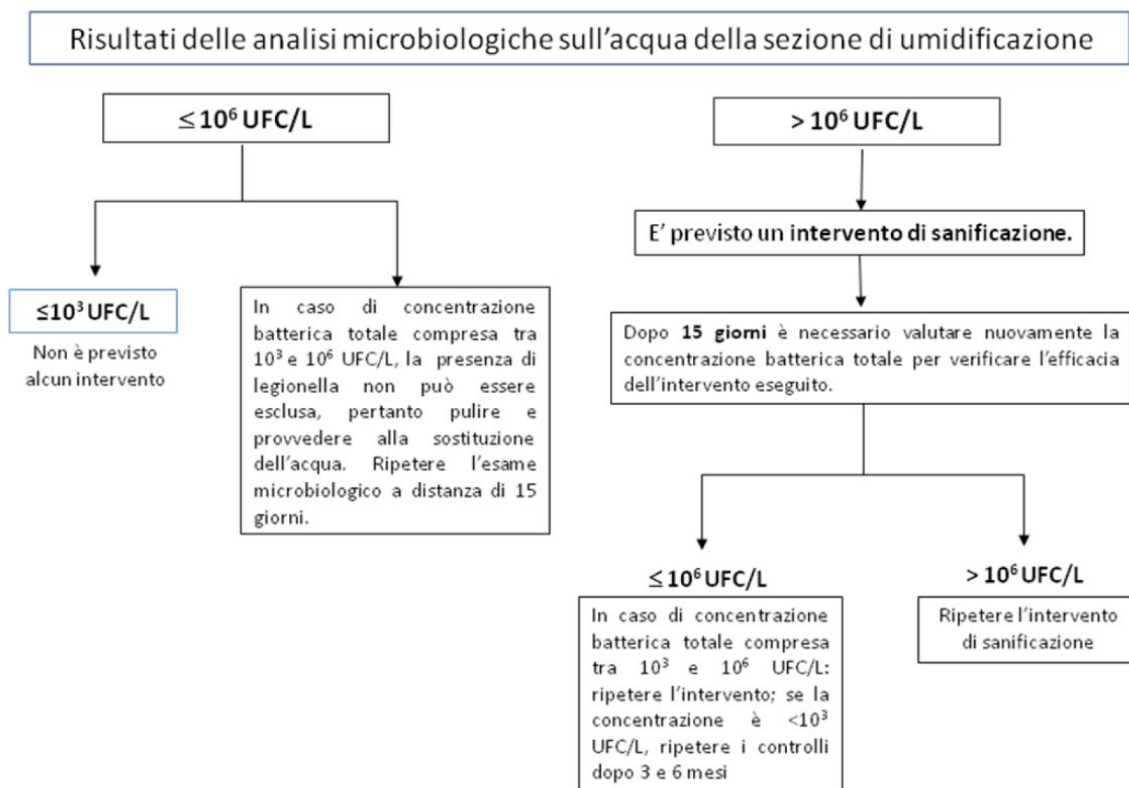
## Conservazione e trasporto dei campioni

I singoli campioni vanno identificati in modo univoco, deve essere sempre possibile risalire al tipo di campione, al punto di prelievo, al giorno e orario di campionamento.

I campioni prelevati devono essere consegnati subito affinché l'analisi possa essere iniziata preferibilmente entro le 24 ore dal prelievo e trasportati a temperatura ambiente, al riparo dalla luce. Trascorse le 24 ore i campioni devono essere conservati a + 4°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.

## Interpretazione dei risultati

La carica batterica totale nell'acqua della sezione di umidificazione deve essere rilevata ad una temperatura di incubazione di 20°C ±1°C e 36°C ±1°C e non deve eccedere il valore standard di 10<sup>6</sup> UFC/L. La presenza di Legionella negli umidificatori è prossima allo 0, se la carica batterica non eccede 10<sup>3</sup> UFC/L. Nel caso in cui il risultato sia compreso tra 10<sup>3</sup> e 10<sup>6</sup> fare riferimento alla procedura operativa dell'Accordo Stato Regioni del 7 febbraio 2013, come da schema seguente:



In ogni caso, se nell'acqua campionata all'interno dell'unità di trattamento aria risultasse la presenza di Legionella Pneumophila, sarà necessario procedere con la sanificazione dell'apparato.