Analisi dell'acqua: *Legionella*

Materiali e metodi in accordo alla ISO 11731:2017



CHI SIAMO

Il marchio italiano sinonimo di qualità e innovazione nel rispetto dell'ambiente.





Fondata nel 1988 e situata nei pressi di Venezia, **Biosigma S.p.A.** è oggi un punto di riferimento nella produzione di materiali e strumenti per la microbiologia e la biologia molecolare.
Con oltre 12.000 m^2 di struttura produttiva, due clean room e un parco macchine all'avanguardia, l'azienda garantisce elevati standard qualitativi nel rispetto delle più rigorose normative internazionali.

Pur essendo principalmente conosciuta per la produzione di materiali in plastica, l'azienda vanta un'offerta molto più ampia. Nel settore del controllo qualità microbiologico, propone un catalogo completo: terreni di coltura, ceppi batterici per la verifica delle performance, consumabili e strumentazione necessari per completare l'intero processo analitico.

Per rafforzare ulteriormente l'impegno nella sicurezza microbiologica, Biosigma ha sviluppato una linea interamente dedicata al monitoraggio della *Legionella*, proponendo una gamma completa di soluzioni conformi alla norma **ISO 11731:2017**.

Il nostro contributo nel monitoraggio della *Legionella*
La ricerca di *Legionella* secondo la norma **ISO 11731:2017**, è un processo articolato, in cui procedure e materiali variano in base alla natura del campione e all'obiettivo dell'analisi.
Per garantire risultati affidabili, riproducibili e sicuri, è fondamentale che tutti i componenti utilizzati siano conformi agli standard normativi di riferimento.

Per questo motivo, Biosigma ha sviluppato una proposta strutturata che comprende:

- **Diluenti e terreni di coltura**, sia disidratati che pronti all'uso, prodotti in conformità alla **ISO 11133:2020**, inclusi tutti i terreni per *Legionella* con i differenti gradi di selettività (BCYE, BCYE w/o-cys, BCYE+AB, GVPC, MWY);
- **Ceppi batterici RM** per il controllo della produttività e della selettività dei terreni prodotti da produttore accreditato secondo l'**ISO 17034:2017**;
- **Membrane filtranti** prodotte in accordo alla **ISO 7704:2023**;
- **Consumabili e strumentazione** corrispondenti alle indicazioni della norma **ISO 11731:2017**.

Questa linea è progettata per rispondere alle diverse casistiche di analisi, dai campioni a bassa carica batterica fino a quelli con più alta carica di flora interferente.

Perché scegliere Biosigma
Affidarsi a Biosigma significa scegleiere un produttore italiano che unisce **esperienza**, **innovazione** e **qualità**.
Tutti i processi produttivi, interni e dei partner selezionati, sono sottoposti a rigorosi controlli secondo i più alti standard di qualità, per garantire l'assenza di contaminazioni e la piena conformità dei prodotti.

IMQ CERTIFIED QUALITY MANAGEMENT SYSTEM ISO 13485:2016
SYSTEM CERTIFICATION ISO 14001 SGS
SYSTEM CERTIFICATION ISO 45001 SGS
SYSTEM CERTIFICATION ISO 27001 SGS
my green lab. ACT Ecolabel
ISCC International Sustainability & Carbon Certification
FDA U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION
isber INTERNATIONAL SOCIETY FOR BIOLOGICAL AND ENVIRONMENTAL REPOSITORIES
CRIDIS Prime Company
ESBB European, Middle Eastern & African Society for Biopreservation and Biobanking
CONFINDUSTRIA VENETO EST Area Metropolitana Venezia Padova Rovigo Treviso

Stampato su **carta naturale**, certificata PEFC™, Promotion Sustainable Forest Management

SOMMARIO

Informazioni Generali 2

Introduzione alla Norma **4**

ISO 11731: 2017 Qualità dell'acqua - Conta di *Legionella* **1**

Caso 1: Alta *Legionella*, bassa flora interferente **5**
Caso 2: Bassa *Legionella*, bassa flora interferente **6**
Caso 3: Alta flora interferente **8**
Caso 4: Altissima flora interferente **9**

CASISTICHE **2**

Incubazione ed esame delle piastre **10**
Conferma **11**

VERIFICA DEI RISULTATI **3**

Microbiologia 12
Consumabili 13

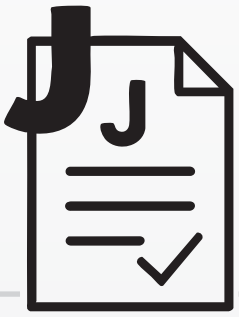


ISO 11731: 2017 Qualità dell'acqua - Conta di *Legionella*

INTRODUZIONE ALLA NORMA

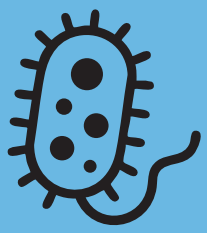
La norma **ISO 11731** descrive dei metodi per la rilevazione e la conta di *Legionella spp*. in campioni di acqua di varie tipologie e di altre matrici acqua-correlate (come ad esempio sedimenti o biofilm).

L'annesso J della norma contiene una matrice decisionale per determinare il metodo migliore per ciascun caso in base ai seguenti parametri:

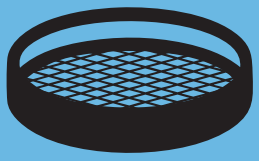




Natura del campione



Concentrazione attesa di *Legionella*



Concentrazione attesa di flora di back-ground



Target dell'analisi

Dalla combinazione dei suddetti parametri si delineano quattro casistiche e di conseguenza quattro metodi principali illustrati nelle pagine seguenti:

Caso 1:
Attesa di alta concentrazione di *Legionella* con bassa concentrazione della flora interferente

Caso 2:
Attesa di bassa concentrazione di *Legionella* con bassa concentrazione della flora interferente (due approcci)

Caso 3:
Alta concentrazione della flora interferente

Caso 4:
Altissima concentrazione della flora interferente

ISO 11731: 2017 Qualità dell'acqua - Conta di *Legionella*

CASO 1:

Attesa di alta concentrazione di *Legionella* con bassa concentrazione della flora interferente

Esempio: Acqua di rete prelevata a seguito di un'epidemia di legionellosi



Procedura d'analisi:

Quando la **concentrazione stimata supera 10^4 UFC/litro**, non è necessario procedere con una fase di concentrazione del campione.

È possibile inoculare direttamente il campione nei terreni di coltura.



Inoculazione - BCYEA

1. Inoculare 0,1-0,5mL di campione sul terreno BCYEA.



Inoculazione - BCYEA+AB

2. In parallelo, inoculare 0,1-0,5mL di campione sul terreno BCYEA+AB (moderatamente selettivo per *Legionella*).



Piastrare

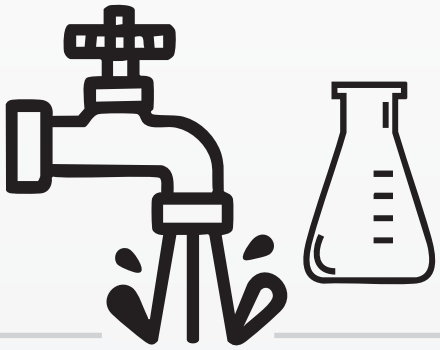
3. Distribuire l'inoculo con una bacchetta a L o a T.

ISO 11731: 2017 Qualità dell'acqua - Conta di *Legionella*

CASO 2:

Attesa di bassa concentrazione di *Legionella* con bassa concentrazione della flora interferente

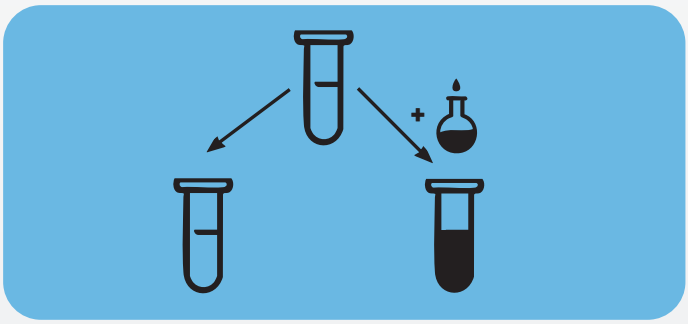
Esempio: Acqua di rete analizzata di routine



Il campione viene filtrato per aumentare la concentrazione microbica.

Sono possibili due approcci:

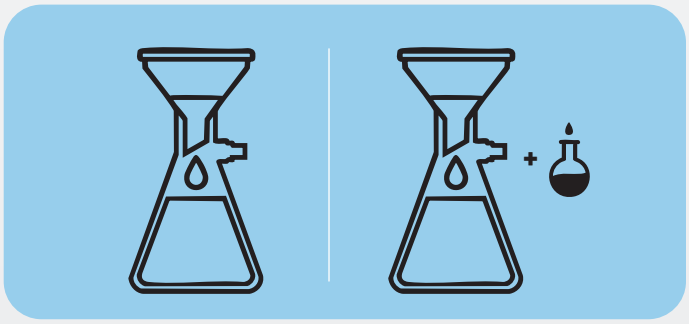
Approccio 1 - Procedura d'analisi:



Messa in coltura delle membrane

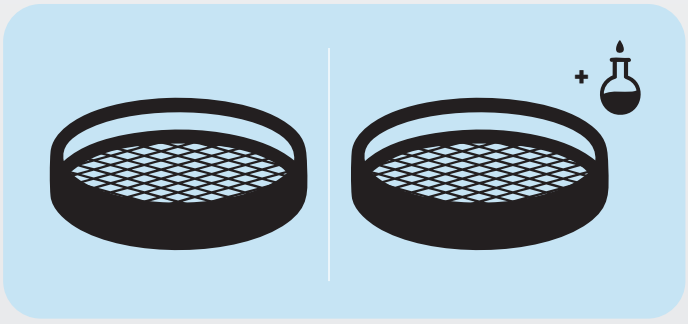
1. Si divide il campione. Una porzione non viene trattata e l'altra subisce il trattamento acido: viene diluita con l'aggiunta di nove volumi di soluzione acida per *Legionella*, mixata e lasciata riposare per 5 ± 0,5min*.

* in alternativa il trattamento può essere fatto direttamente sulla membrana nell'imbuto filtrante aggiungendo 30mL di soluzione acida, lasciando agire per 5 ± 0,5min, rimuovendo l'acido e risciacquando con 20mL di diluente



Filtrazione

2. Le due parti del campione vengono filtrate separatamente su membrane in NC o in MEC, diametro 47-50 mm e porosità 0,2-0,45 micron.



Prelevamento della membrana

3. Le membrane vengono prelevate e messe in coltura:
   - su terreno BCYEA per la porzione di campione non trattato
   - su un terreno selettivo per *Legionella* (BCYE+AB, GVPC, MWY) per la porzione trattata con soluzione acida.

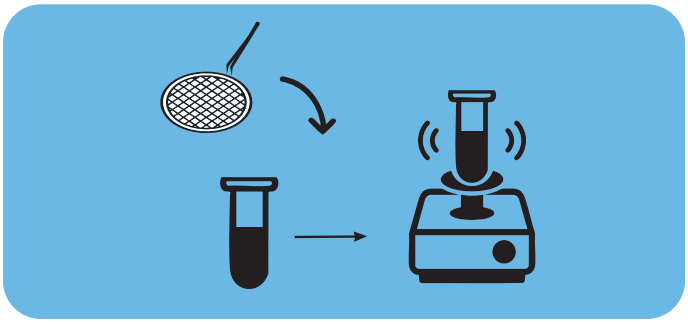
ISO 11731: 2017 Qualità dell'acqua - Conta di *Legionella*

Approccio 2 - Procedura d'analisi:



Filtrazione

1. Si filtra il campione su una membrana in PES o in policarbonato con diametro 47-142mm e porosità 0,2 micron.

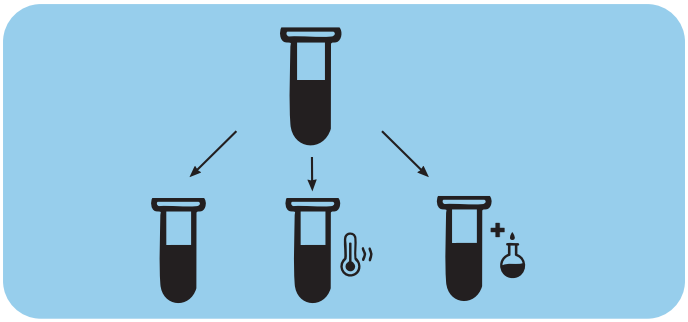


Recupero della membrana e agitazione

2. Si recupera e "lava" la membrana mettendola a faccia in basso in un contenitore sterile con 5-10mL di diluente sterile (facoltativamente con biglie in vetro sterili di 2-3mm).

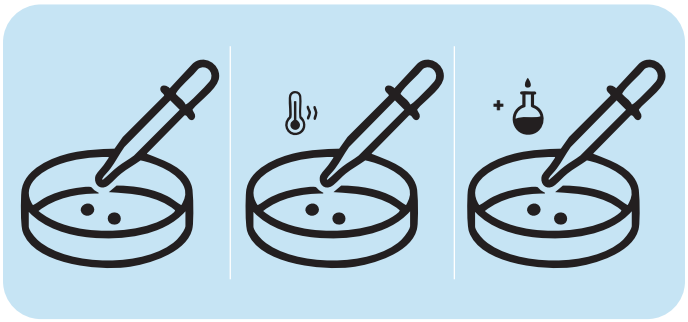
   Si agita 2 minuti con un vortex o in bagno a ultrasuoni.*

   * in alternativa è possibile raschiare la membrana con uno scraper



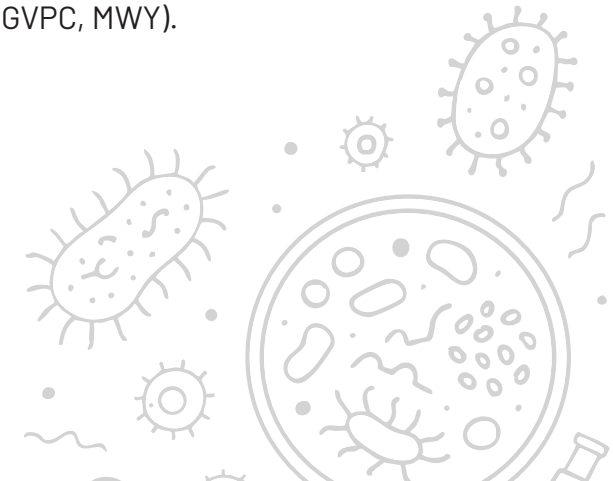
Divisione

3. Si preleva il campione dal contenitore e lo si divide in 3 porzioni:
   - una parte non viene trattata;
   - una parte si tratta con soluzione acida (1:10);
   - su una si effettua il trattamento termico in contenitore sterile a 50 ± 1°C per 30 ± 2 min.



Piastrare

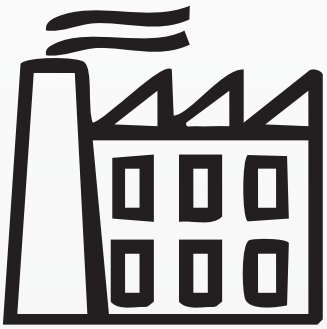
4. Da ciascuna si piastrano 0,1–0,5 mL su BCYE-A e un volume equivalente su uno o più terreni selettivi per *Legionella* (BCYE+AB, GVPC, MWY).



ISO 11731: 2017 Qualità dell'acqua - Conta di *Legionella*

CASO 3:
Alta concentrazione della flora interferente

Esempio: Acqua delle torri di raffreddamento

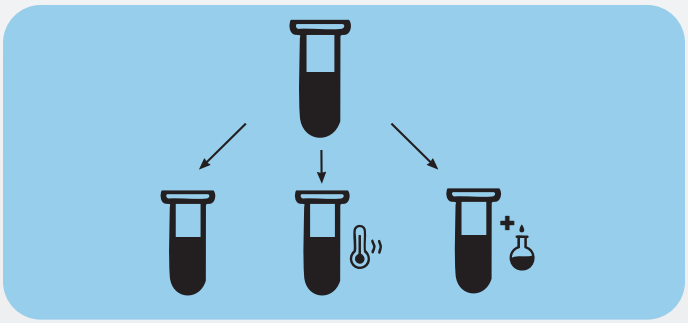


Procedura d'analisi:



Prima divisione

1. Si divide il campione in 3 parti:
   - una parte viene lasciata alla concentrazione originale
   - una parte viene concentrata per filtrazione
   - una parte viene diluita 1:10



Seconda divisione

2. I sub-campioni ottenuti vengono a loro volta divisi in 3 porzioni:
   - una non viene trattata
   - una subisce il trattamento acido
   - una subisce il trattamento termico



Piastrare

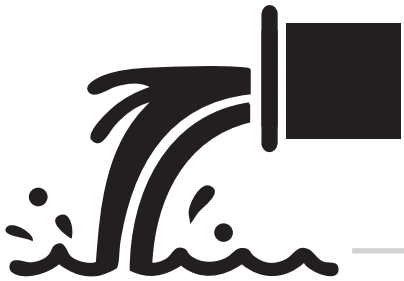
3. Di ciascuna parte vanno piastrati 0,1-0,5mL e distribuiti con una bacchetta a L o T in GVPC o MWY.



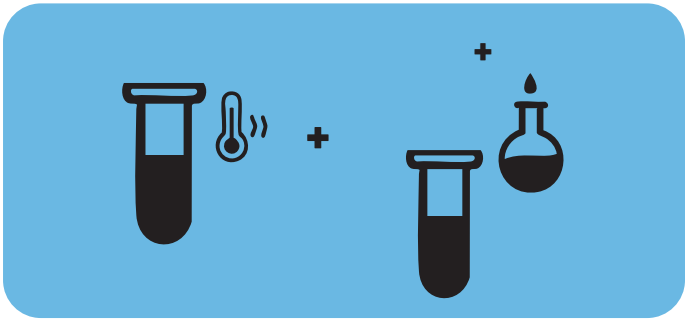
ISO 11731: 2017 Qualità dell'acqua - Conta di *Legionella*

CASO 4:
Altissima concentrazione della flora interferente

Esempio: Acque di scarico

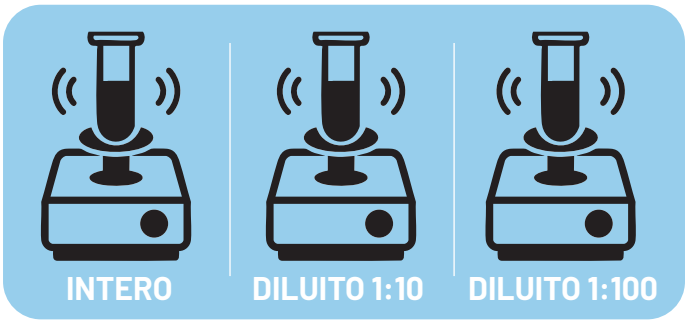


Procedura d'analisi:



Doppio trattamento

1. Si sottopone il campione a un doppio trattamento:
   - Si effettua il trattamento termico e si lascia raffreddare
   - Si esegue il trattamento acido



Agitazione

2. Il campione trattato viene diluito a 1:10 e 1:100.

- Si agitano poi il campione non diluito e le due diluizioni in vortex o in bagnetto ad ultrasuoni, eventualmente aggiungendo uno strato di biglie di vetro sul fondo del contenitore.

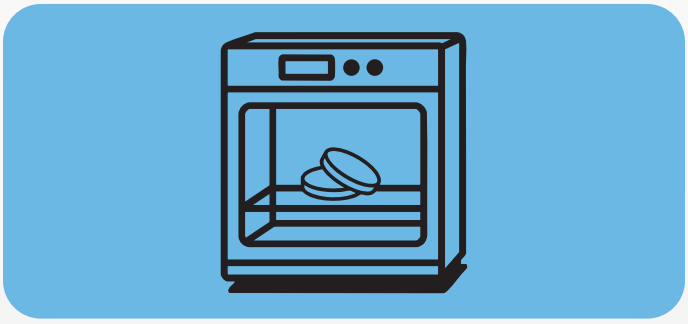


Inoculazione

3. Di ciascuna diluizione, si inoculano 0,1-0,5mL in terreno selettivo GVPC o MWY.

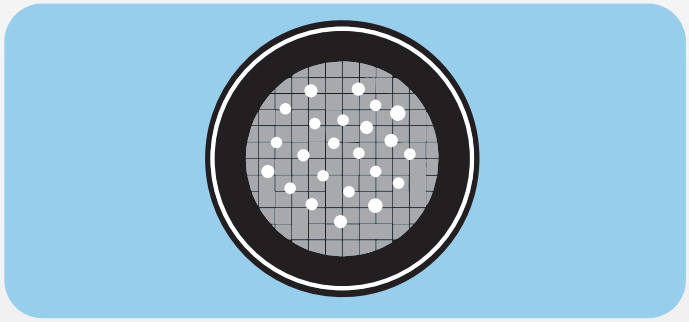
INCUBAZIONE ED ESAME DELLE PIASTRE

Indipendentemente dal metodo e dai terreni utilizzati, i parametri per l'incubazione delle piastre sono i medesimi:



Incubazione

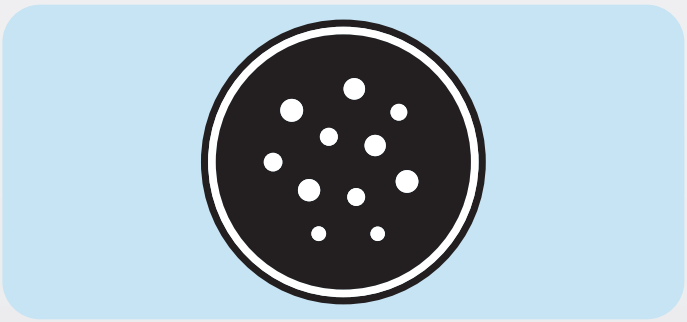
1. Tutte le piastre vanno incubate rovesciate (a 36 ± 2°C) per 7-10 giorni, facendo attenzione a che le piastre non si disidratino.



Ispezione

2. Le piastre vanno ispezionate prima del termine dell'incubazione, per verificare che non ci sia confluenza delle colonie:

- Le colonie solitamente crescono con colorazione bianco-grigia (occasionalmente anche in altre colorazioni), appaiono lisce, con i bordi arrotondati e presentano un aspetto simile al vetro smerigliato.



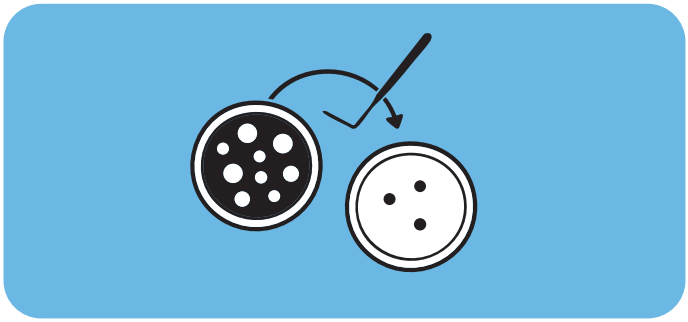
Ispezione

- Le colone di alcune specie presentano autofluorescenza, con colori che variano in base alla specie, se illuminate con una lampada a raggi UV.



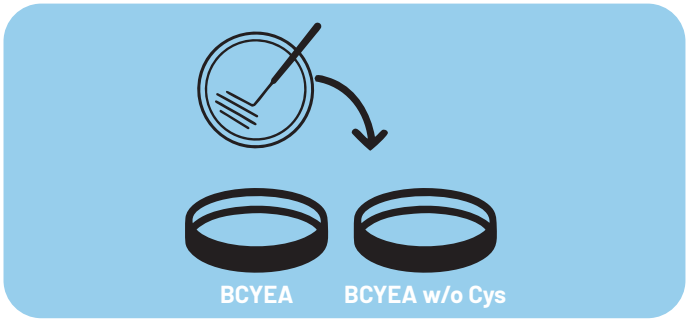
ISO 11731: 2017 Qualità dell'acqua - Conta di *Legionella*

CONFERMA



Sub-coltivazione

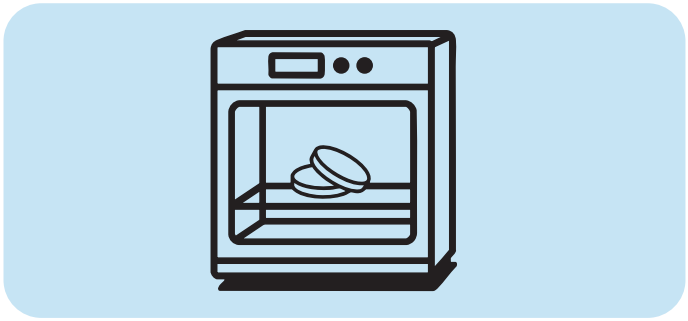
1. Si sub-coltivano le colonie presuntive di *Legionella* (3 colonie se è presente una sola morfologia, 1 colonia per morfologia se ne sono presenti diverse).



Semina

2. Le colonie vanno prelevate dalle piastre in cui si è rilevato il numero maggiore di colonie presuntive di *Legionella*.

   Vanno seminate in parallelo nei terreni BCYEA e in BCYEA w/o Cys (in alternativa a quest'ultimo in TSA, Blood Agar o Nutrient Agar).



Incubazione

3. Le piastre seminate vanno incubate a 36 ± 2°C per 2-5 giorni.

Sono da considerarsi *Legionella* spp., le colonie che trascorso questo tempo siano cresciute in BCYEA ma non in BCYEA w/o Cys.
Se le prime sub-culture non confermano *Legionella* spp., vanno analizzate altre colonie presuntive da piastre differenti (con campione trattato differentemente o seminato su altro tipo di terreno).

DILUENTI MICROBIOLOGIA:

Codice	Descrizione	Tipo	Formato	Unità di vendita
BLK85000	Acid Buffer pH 2.2	Flacone pronto	1 x 1000mL	1
BLK63666	Page's Saline Solution	Flacone pronto	12 x 200mL	1
BLK70426	Ringer Solution ¼	Flacone pronto	12 x 200mL	1
BLK63715	PBS (Phosphate Buffered Saline)	Flacone pronto	12 x 200mL	1
BLK63415	PBS (Phosphate Buffered Saline)	Flacone pronto	6 x 100mL	1
BLK5210/20P	PBS (Phosphate Buffered Saline)	Provette pronte	20 x 9mL	1

Parla con un nostro specialista scientifico:
0426 30 22 25

www.biosigma.it
Trovi tanti altri prodotti per microbiologia

TERRENI DI MICROBIOLOGIA:

Codice	Descrizione	Tipo	Formato	Confezione	Unità di vendita
BLK10119	*Legionella* CYE Agar base	Disidratato	1 x 500g	1	1
BLK16089	*Legionella* BCYE Alfa-Growth supplement	Supplemento	10 x 500mL	10	1
BLK16138	*Legionella* BCYE-Alfa growth supplement (W/O L-cysteine)	Supplemento	10 x 500mL	10	1
BLK16222	*Legionella* AB supplement *	Supplemento	5 x500mL	5	1
BLK16083	*Legionella* GVPC supplement *	Supplemento	10 x 500mL	10	1
BLK16134	*Legionella* MWY supplement *	Supplemento	10 x 500mL	10	1
BLK1554183/20	*Legionella* BCYE 20x90mm	Piastre pronte	20 x 90mm	20	1
BLK1592308/20	*Legionella* BCYE w/o L-Cysteine	Piastre pronte	20 x 90mm	20	1
BLK3250656/20	*Legionella* selective Agar BCYE+ AB	Piastre pronte	20 x 90mm	20	1
BLK1601604/20	*Legionella* selective Agar GVPC	Piastre pronte	20 x 90mm	20	1
BLK3250606/20	*Legionella* selective Agar MWY**	Piastre pronte	20 x 90mm	20	1
BLK10195	TSA (Tryptic Soy Agar)	Disidratato	1 x 500g	1	1
BLK2954369/20	TSA (Tryptic Soy Agar)	Piastre pronte	20 x 90mm	20	1

* utilizzato insieme al codice **BLK16089**
** minimo d'ordine di 5cf.

TEST DI IDENTIFICAZIONE:

Codice	Descrizione	Formato	Unità di vendita
BLKM45	Latex *Legionella* test	50	1

STANDARD DI TORBIDITÀ:

Codice	Descrizione	Standard	Unità di vendita
BLK8450	MC Farland Turbidity	0,5 - 1,0 - 2,0 - 3.0 - 4,0	5

CONSUMABILI:

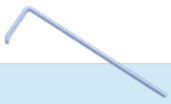
Selezione di prodotti da laboratorio di alta qualità.
Su www.biosigma.it sono disponibili oltre 300.000 articoli scientifici.

ANSE:



Codice	Descrizione	Confezione	Unità di vendita
BSV120	Anse da semina da 10µL	peel pack 20pz	10.000
BSV1200	Anse da semina da 10µL	peel pack 10pz	12.000
BSV1201	Anse da semina da 10µL	peel pack 1pz	2.100
BSV1205	Anse da semina da 10µL	peel pack 5pz	4.000
BSV121	Anse da semina da 1µL	peel pack 20pz	10.000
BSV1210	Anse da semina da 1µL	peel pack 10pz	12.000
BSV1211	Anse da semina da 1µL	peel pack 1pz	2.100
BSV1215	Anse da semina da 1µL	peel pack 5pz	4.000

BACCHETTE:



Codice	Descrizione	Confezione	Unità di vendita
BSM0230	Bacchetta ad L	10pz	500
BSM0231	Bacchetta ad L	singola	200
BSM0235	Bacchetta ad L	5pz	500
BSM0240	Bacchetta a T	10pz	500
BSM0241	Bacchetta a T	singola	200
BSM0245	Bacchetta a T	5pz	500

SCRAPER:



Codice	Descrizione	Lunghezza (cm)	Unità di vendita
010154B	Raschietto per cellule	25	200

SFERE:



Codice	Descrizione	Confezione (kg)	Unità di vendita
952446	Sfere in vetro da 2mm	1	1
952447	Sfere in vetro da 3mm	1	1

PIASTRE:



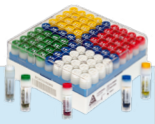
Codice	Descrizione	Diametro (mm)	Unità di vendita
BSM2120	Piastra sterile ventilata	90	480
BSM200	Piastra sterile non ventilata	60	1.080
BSM201	Piastra sterile ventilata	55	1.200

CONTENITORI:



Codice	Descrizione	Volume (mL)	Unità di vendita
BSC199	Contenitore tipo urina - sterile	200	200
BSC258	Contenitore tipo urina - sterile	120	250

CLEARSTABLE:



Codice	Descrizione	Crioprotettore	Unità di vendita
CL1D25/MIX	Provette 1D da 2mL con biglie assortite, sterile (rack)	Si	25
CLDR1D25/MIX	Provette 1D da 2mL con biglie assortite, sterile (rack)	No	25
CL1D80/MIX	Provette 1D da 2mL con biglie assortite, sterile (rack)	Si	80
CLDR1D80/MIX	Provette 1D da 2mL con biglie assortite, sterile (rack)	No	80

MEMBRANE:



Codice	Descrizione	Confezione	Unità di vendita
CL040	Membrana in nitrato di cellulosa (CN), bianca con griglia nera, sterile, porosità 0.22µm, ø 47mm	singola	100
CL041	Membrana in nitrato di cellulosa (CN), bianca con griglia nera, sterile, porosità 0.45 µm, ø 47mm	singola	100
CL043	Membrana in nitrato di cellulosa (CN), bianca con griglia nera, sterile, porosità 0.45 µm, ø 47mm	singola, versione in nastro	150
CL044	Membrana in esteri misti di cellulosa (MCE) bianca con griglia nera, sterile, porosità 0.22µm, ø 47mm	singola	100
CL045	Membrana in esteri misti di cellulosa (MCE) bianca con griglia nera, sterile, porosità 0.45 µm, ø 47mm	singola	100
CL047	Membrana in esteri misti di cellulosa (MCE), nera con griglia bianca, sterile, porosità 0.45 µm, ø 47mm	singola	100
CL048	Membrana in esteri misti di cellulosa (MCE) bianca con griglia nera, sterile, porosità 0.45 µm, ø 47mm	singola, versione in nastro	150
CL049	Membrana filtrante in PES, nera con griglia bianca, sterile, porosità 0.22µm, ø 47mm	singola	100
CL050	Membrana filtrante in PES, bianca con griglia nera, sterile, porosità 0.22µm, ø 47mm	singola, versione in nastro	150
CL052	Membrana filtrante in PES, bianca senza griglia, sterile, porosità 0.22µm, ø 47mm	singola	100

PROVETTE:



Codice	Descrizione	Confezione	Unità di vendita
CL474	Provetta conica da 50mL sterile	sacchetto	500
CL475	Provetta conica da 50mL sterile	rack	500
CL477	Provetta self-stand da 50mL sterile	sacchetto	500
CL482	Provetta conica da 15mL sterile	sacchetto	500
CL490	Provetta conica da 15mL sterile	rack	500

CONSUMABILI:

Per maggiori informazioni visita il nostro sito. Trovi tutti i certificati, le descrizioni e le schede tecniche sempre aggiornate.

PIPETTATORE:



Codice	Descrizione	Unità di vendita
BS400200	Pipettatore automatico BiPette	1
861000B	Pipettatore manuale blu	1
861003	Pipettatore manuale giallo	1

PIPETTE SIEROLOGICHE:



Codice	Descrizione	Volume (mL)	Unità di vendita
CL100	Pipetta sierologica, sterile	1	1000
CL101	Pipetta sierologica, sterile	2	800
CL102	Pipetta sierologica, sterile	5	300
CL103	Pipetta sierologica, sterile	10	200
CL111	Pipetta sierologica, sterile	25	200
CL112	Pipetta sierologica, sterile	50	100
CL113	Pipetta sierologica, sterile	10	50

MICROPIPETTE:



Codice	Descrizione	Volume (µL)	Unità di vendita
ABS124HPA	Micropipetta autoclavabile a volume fisso	200	1
ABS125HPA	Micropipetta autoclavabile a volume fisso	1.000	1
ABS131HPA	Micropipetta autoclavabile a volume variabile	20-200	1
ABS132HPA	Micropipetta autoclavabile a volume variabile	200-1.000	1

PUNTALI:



Codice	Descrizione	Volume (µL)	Unità di vendita
BSR0412	Puntale giallo per micropipette, in rack	0-200	960
BSR0422	Puntale giallo per micropipette, in rack	200-1000	960

BOTTIGLIE IN VETRO:



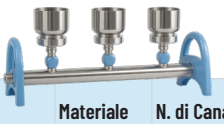
Codice	Descrizione	Volume (mL)	Unità di vendita
257065	Bottiglia ISO in vetro borosilicato 3.3	500	10
257066	Bottiglia ISO in vetro borosilicato 3.3	1000	10

CAMPIONAMENTO ACQUE:



Codice	Descrizione	Volume (mL)	Unità di vendita
BLP001	Bottiglia graduata sterile con tiosolfato	500	120
BLP003	Bottiglia graduata sterile con tiosolfato	1000	72

RAMPE DI FILTRAZIONE:



Codice	Descrizione	Materiale	N. di Canali	Unità di vendita
886196	Rampa di filtrazione MB con imbuto da 100mL	Acciaio inox	3	1
886197	Rampa di filtrazione MB con imbuto da 100mL	Acciaio inox	6	1
886039	Rampa di filtrazione MB (senza imbuto)	Acciaio inox	3	1
886040	Rampa di filtrazione MB (senza imbuto)	Acciaio inox	6	1
886037	Rampa di filtrazione MS (testa con tappo in silicone n°8)	Acciaio inox	3	1
886036	Rampa di filtrazione MS (testa con tappo in silicone n°8)	Acciaio inox	6	1
886038	Rampa di filtrazione MS (testa con tappo in silicone n°8)	Alluminio	3	1

IMBUTI:



Codice	Descrizione	Materiale	Filtro (mm)	Unità di vendita
886169	Imbuto per filtrazione 100mL	Acciaio inox	47	1
886170	Imbuto per filtrazione 300mL	Acciaio inox	47	1
886171	Imbuto per filtrazione 500mL	Acciaio inox	47	1

COPERCHI PER IMBUTO:



Codice	Descrizione	Materiale	Unità di vendita
886172	Coperchio per imbuto 100mL	Acciaio inox	1
886173	Coperchio per imbuto 300mL e 500mL	Acciaio inox	1

POMPA:



Codice	Descrizione	Unità di vendita
886127	Pompa per sistema di filtrazione Alligator 200	1

GUANTI:



Codice	Descrizione	Taglia	Unità di vendita
BSI0801R	Guanti in nitrile senza talco	XS	100
BSI081R	Guanti in nitrile senza talco	S	200
BSI082R	Guanti in nitrile senza talco	M	200
BSI083R	Guanti in nitrile senza talco	L	200
BSI084R	Guanti in nitrile senza talco	XL	200

NOTE:

Biosigma S.p.A - Dutscher Group
Via Valletta, 6 **|** 30010, Cona (Venezia) Italia
Tel. 0426 302225 **|** Fax 0426 748030
info@biosigmaeu.com **| www.biosigma.it**

Revisione 05/2025