

ORGANISMO RICONOSCIMENTO LABORATORI

Istituto Superiore di Sanità

Viale Regina Elena, 299 Roma

Workshop

Laboratori di prova per la sicurezza alimentare:
esperienze, criticità e prospettive per l'accreditamento

13 - 14 dicembre 2007

Requisiti tecnici previsti dalla norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2005 Parte II e ISO 7218:2007. Criteri applicativi ed esperienze relative alla verifica della conduzione delle prove microbiologiche

A. Benassi – S. Morabito

Documenti di riferimento:

- ★UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2005 Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura**
- ★PGCV VL01.004: RELAZIONE VERIFICA ISPETTIVA**
- ★ISO 7218:2007 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- General requirements and guidance for microbiological examinations**
- EA-4/10 Accreditation for Laboratories Performing Microbiological Testing rev 2:2002**

Molti fattori determinano la correttezza e l'affidabilità delle prove e/o tarature eseguite da un laboratorio.

Questi fattori includono contributi da:

- **fattori umani (punto 5.2)**
- **luogo di lavoro e condizioni ambientali (punto 5.3)**
- **metodi di prova e di taratura e metodi di validazione (punto 5.4)**
- **apparecchiature (punto 5.5)**
- **riferibilità delle misure (punto 5.6)**
- **campionamento (punto 5.7)**
- **manipolazione degli oggetti da provare e da tarare (punto 5.8).**

La direzione del laboratorio deve garantire la competenza di tutti coloro che utilizzano apparecchiature specifiche, eseguono prove e/o tarature, valutano i risultati e firmano i rapporti di prova e di taratura.

Il laboratorio deve avere politiche e procedure per identificare le esigenze di addestramento del personale e per assicurare l'addestramento stesso.

La direzione del laboratorio deve definire le responsabilità per tutte le attività che hanno influenza sulla qualità

★ Titolo di studio

★ Le strutture laboratoristiche pubbliche hanno una organizzazione che deriva da normative cogenti.

Il titolo di studio necessario per accedere alle funzioni è di norma sufficiente ai requisiti previsti dalla 17025

• **Curriculum vitae**

• **SCHEDA PERSONALE**

Criticità emerse in sede di visita ispettiva:

- procedure carenti
- mancanza di criteri per valutare l'efficacia della formazione.
- evidenze oggettive delle diverse fasi
- comunicazione all'operatore

5.3.1 le condizioni di illuminazione e dell'ambiente, devono essere tali da facilitare l'esecuzione corretta delle prove e/o delle tarature.

Il laboratorio deve garantire che le condizioni ambientali non invalidino i risultati o influenzino in modo negativo la qualità richiesta di ogni misurazione.

5.3.2 Il laboratorio deve **monitorare, controllare e registrare le condizioni ambientali conformemente alle specifiche, ai metodi e alle procedure relative o quando influenzano la qualità dei risultati.** Particolari precauzioni devono essere prese, per esempio, nei riguardi della sterilità biologica, la polvere la temperatura **Le prove e le tarature devono essere interrotte quando le condizioni ambientali hanno un effetto tale da compromettere risultati delle prove e/o delle tarature.**

5.3.3 Deve esserci una separazione efficace fra i settori vicini in cui si svolgono attività incompatibili. Devono essere adottate misure per prevenire la contaminazione incrociata.

5.3.4 L'accesso e l'utilizzo di aree che hanno influenza sulla qualità delle prove e/o tarature deve essere controllato.....

5.3.5 Devono essere adottate misure per garantire un buon mantenimento del laboratorio. Quando necessario devono essere preparate procedure speciali.

- I locali possono influire nei risultati delle prove microbiologiche determinando la possibilità di contaminazioni crociate**
- Predisporre il più possibile percorsi diversificati per campioni ad alta contaminazione e campioni a bassa contaminazione**
- Evitare che la stessa superficie sia utilizzata per gli inoculi e per le successive fasi del processo analitico, senza interventi di sanificazione**

Requisiti strutturali dei locali (EA-04/10 3.1.6)

- superfici di lavoro lisce e facilmente sanificabili**
- evitare giunture concave nei pavimenti**
- finestre chiuse durante l'esecuzione delle prove**
- tende parasole posizionate all'esterno o facilmente pulibili**
- filtri negli eventuali sistemi di ventilazione forzati**
- modelli costruttivi che evitano l'accumulo di polvere**
- lavandini automatici o con comando a pedali**

- La contaminazione microbica dell'aria e delle superfici di lavoro deve essere monitorata**
- La frequenza delle misure deve essere compatibile con la qualità del dato di prova (settimanale EA-04/10)**
- Devono essere fissati i limiti di accettabilità**
- Registro visitatori**

GESTIONE CORRETTA DEI RIFIUTI

Presenza di un sistema di smaltimento dei rifiuti che eviti l'accumulo di materiale infetto all'interno del laboratorio.

I rifiuti infetti devono essere adeguatamente trattati, al fine di ridurre la capacità di contaminazione

Punti critici rilevati in sede di visita ispettiva:

- ★ Carenze strutturali (rilievo generalmente richiesto)
- ★ Possibilità di contaminazione crociata
- ★ Presenza in laboratorio di materiale cartaceo e altro materiale non utile per le analisi (materiale personale, piante ...)
 - Mancanza di DPI (vedi PGCV VL01.004 punto 5.3.5)
- ★ Frequenza controlli non documentata
- ★ Mancanza limiti di accettabilità del risultato

Il laboratorio deve adottare metodi e procedure appropriati per tutte le prove e/o tarature che rientrano nei suoi scopi

Questi includono :

- Il campionamento ,
- la manipolazione ,
- il trasporto,
- l'immagazzinamento,
- la preparazione,

degli oggetti da provare e/o tarare, e quando appropriato, una stima dell'incertezza di misura come pure le tecniche statistiche per l'analisi dei dati di prova e/o taratura.

METODI MICROBIOLOGICI

Il laboratorio utilizza terreni colturali:

- Ricostruiti in laboratorio da formulati completi acquistati da fornitori e quindi sterilizzati
- Formulati e sterilizzati in laboratorio partendo da componenti semplici (fonti di aminoacidi, zuccheri, lipidi, sali minerali, tamponi,) ect...
- Pronti all'uso acquistati da fornitori esterni.

Terreni ricostruiti in laboratorio

Verificare che sia procedurato:

- Controllo del magazzino
- Verifica dell'integrità della confezione all'arrivo e all'apertura
- Apposizione della data della prima apertura
- Controllo delle caratteristiche organolettiche

La data di scadenza è quella indicata dal produttore all'apertura

- Registro terreni

Terreni pronti all'uso

Certificato di qualità e condizioni di immagazzinamento.

Sterilità

Fertilità: capacità dei microrganismi ricercati di crescere in quel terreno

Selettività: capacità di rallentare o inibire la crescita degli interferenti

I metodi preferibilmente devono essere:

- 1) Metodi cogenti (metodi ufficiali)
- 2) Metodi normati o normalizzati (ISO, UNI,
- 3) Metodi redatti da organismi scientifici di riconosciuto prestigio (AOAC, ISS, ICMFS, ect)
- 4) Metodi pubblicati su riviste scientifiche
- 5) metodi sviluppati dal laboratorio

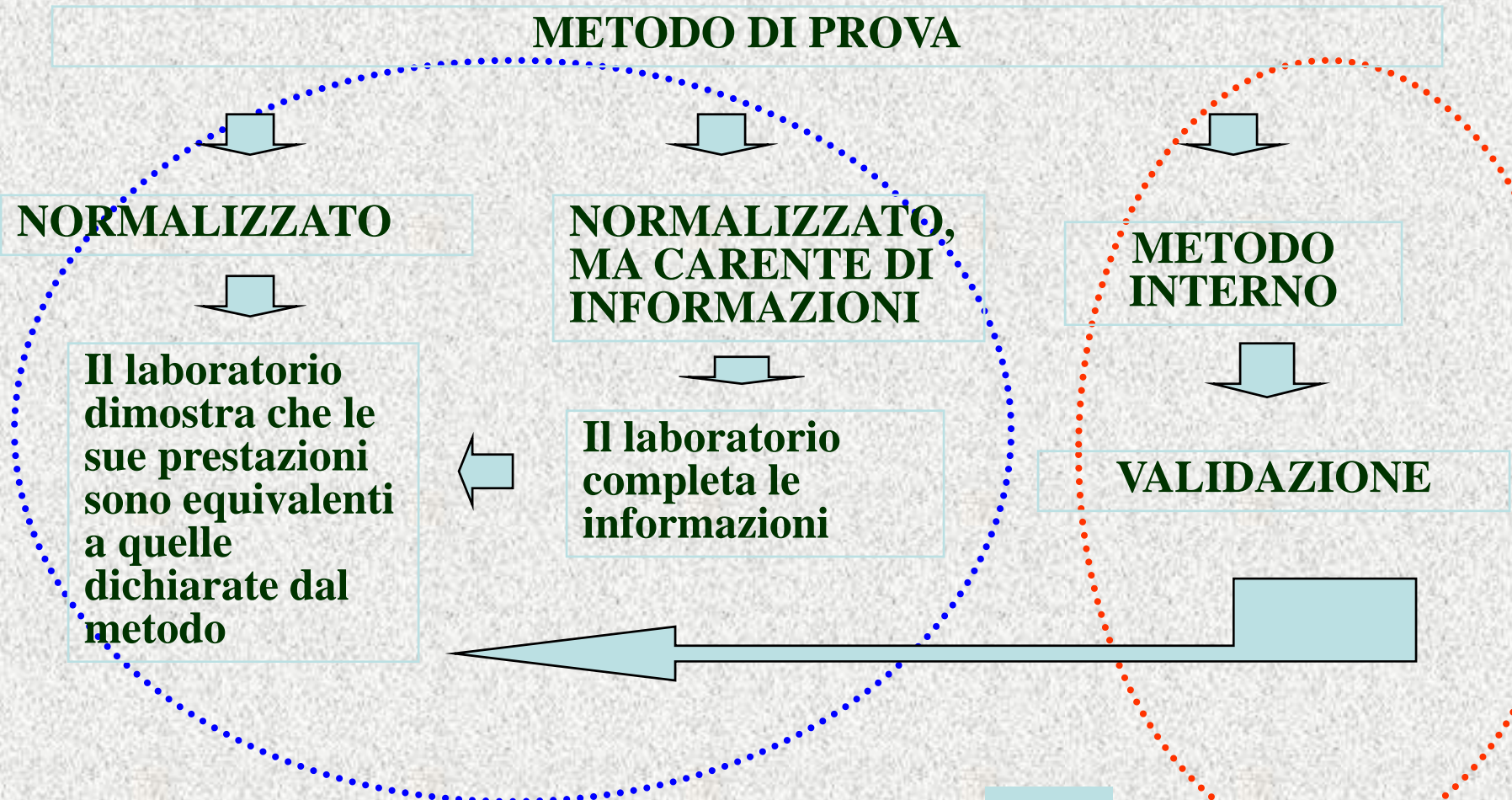
VALIDAZIONE

La validazione è la conferma attraverso esame e l'apporto di evidenza oggettiva che i requisiti particolari per l'utilizzazione prevista siano soddisfatti ISO 17025 5.4.5.1

Il laboratorio deve validare:

- 1) i metodi non normalizzati
- 2) i metodi sviluppati dal laboratorio
- 3) i metodi normalizzati utilizzati fuori dal proprio scopo e campo di applicazione

ISO 17025 5.4.5.1



I laboratori di prova devono avere e devono applicare procedure per stimare l'incertezza delle misure

In certi casi la natura dei metodi di prova può escludere il calcolo dell'incertezza di misura rigoroso e valido dal punto di vista metrologico e statistico.....

UNI EN ISO/IEC 17025/2005 punto 5.4.6.2

Il rapporto di prova deve includere, se necessario per l'interpretazione dei risultati, il dato dell'incertezza.Il dato deve essere riportato a richiesta del cliente e quando il valore dell'incertezza di misura ha influenza sulla conformità con un limite specificato (UNI EN ISO/IEC 17025/2005 punto 5.10.3.1.)

Apparecchiature termoregolabili:

Termostati, Frigoriferi e congelatori

Devono mantenere nel tempo le temperature di esercizio in relazione alla criticità del parametro t e di questo ne deve essere data evidenza.

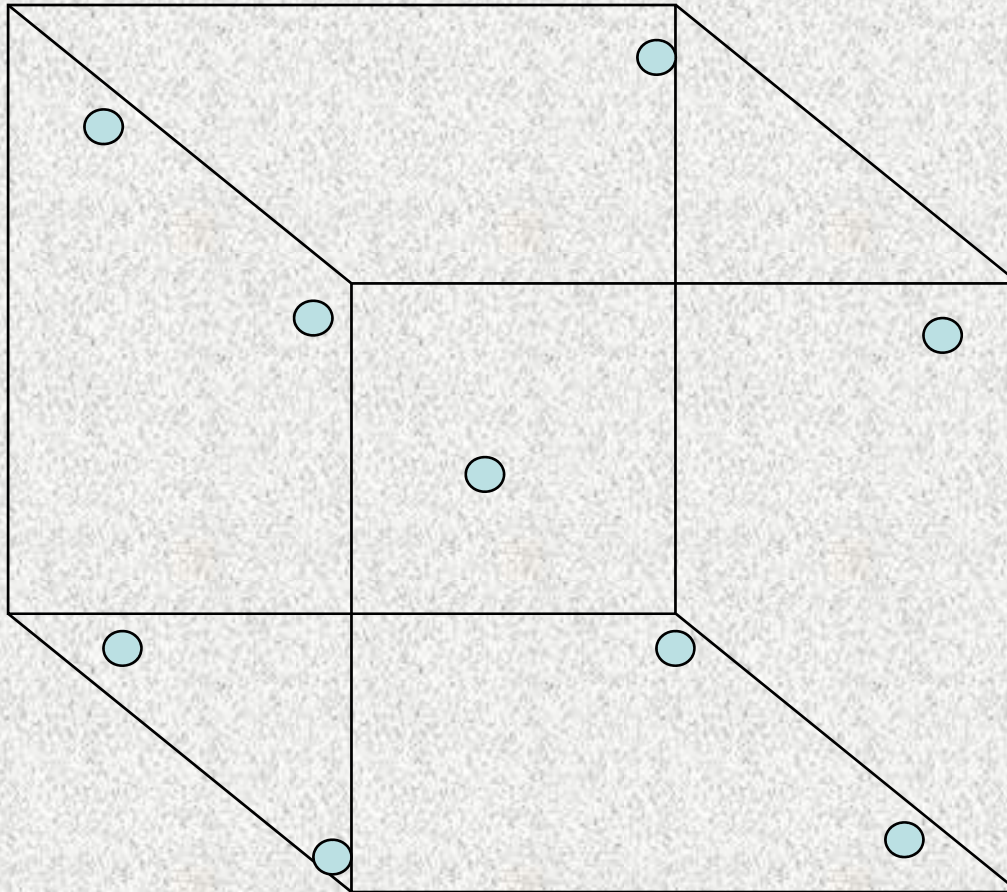
Il termometro deve essere idoneo allo scopo (la sua incertezza composta deve essere compatibile con le tolleranze di esercizio ammesse del sistema a temperatura controllata.)

↓ Taratura: riguarda le apparecchiature utilizzate per misurare una grandezza (in questo caso il termometro)

↓ Requisiti richiesti ad un termostato:

- Raggiungere un certo valore di temperatura
- Limitare le oscillazioni del valore della temperatura entro un range prefissato

Mappatura del termostato



Taratura e verifica delle autoclavi

Le autoclavi sono utilizzate nei laboratori di microbiologia per la sterilizzazione dei terreni di coltura e dei rifiuti; è importante che ne sia verificata la taratura perchè una temperatura inferiore a quella impostata non garantisce la sterilizzazione, mentre una più elevata può ridurre la fertilità o selettività del mezzo di coltura.

La taratura con termocoppie o termoresistenze certificate è complicata ed onerosa, tenendo conto che i recipienti a pressione non possono essere modificati.

E' quindi accettabile la taratura effettuata dalla casa costruttrice durante le visite di manutenzione.

Il manometro non richiede taratura: deve essere verificato che indichi la pressione corretta ad una data temperatura.

Il laboratorio deve effettuare le verifiche e registrazioni relative a:

- tempo, temperatura e pressione (ad ogni ciclo);
- raggiungimento della temperatura di sterilizzazione mediante indicatori chimici disposti in vari punti sugli oggetti da sterilizzare;
- verifica dell'efficacia con spore di *Bacillus stearothermophilus* (almeno una volta al mese);
- verifica di fertilità del terreno (ogni lotto

(SINAL)

La gestione dei materiali di riferimento deve essere:

- **gestione esclusiva**
- **referibilità al SI di misure (quando possibile)**
- **uso esclusivo e proceduralizzato**
- **ceppi batterici derivanti da collezioni gestite da organismi internazionali (ATCC, NCTC ...)**

Il laboratorio deve avere un piano e procedure di campionamento **quando esegue il campionamento** di sostanze, di materiali o prodotti destinati alle prove o alle tarature.

Il piano di campionamento come pure la procedura di campionamento deve essere disponibile nei luoghi dove sono effettuati i campionamenti.

I piani di campionamento devono, quando ciò sia ragionevole, essere basati su appropriati metodi statistici.

Il processo di campionamento deve tenere conto di fattori che devono essere controllati per assicurare la validità dei risultati di prova e taratura

Esistenza di registrazioni relative alle modalità di campionamento (registri, apposita modulistica).

Ove il laboratorio effettui attività di campionamento, delegando il campionamento a terzi (cliente incluso) definizione delle responsabilità, delle modalità di campionamento, conservazione e consegna del campione.

N.C. frequente: il laboratorio non effettua campionamento e di conseguenza non ha documentazione.

Il laboratorio deve definire:

per il **trasporto** → **durata e t°**

la ricezione → **criteri di accettazione**

la manipolazione, la protezione, l'immagazzinamento → **locali ed armadi**

la conservazione → **durata e t°**

l'eliminazione degli oggetti da sottoporre a prova

Esistenza di una procedura di **identificazione univoca** degli oggetti per tutto il loro periodo di vita all'interno del laboratorio.

- ➡ Esistenza d'istruzioni per l'ispezione all'atto del ricevimento dei campioni e criteri per l'accettazione
- ➡ caso di dubbio sull'idoneità del campione esiste una procedura di consultazione del cliente e le relative registrazioni
- ➡ Esistenza di mezzi o aree di segregazione per impedire la circolazione di campioni non accettati e/o in attesa delle decisioni del Cliente
- ➡ Regolamentazione della conservazione dei campioni in attesa, nel corso e alla fine delle prove
- ➡ Comunicazione al Cliente del tempo di conservazione del campione dopo la fine delle prove e la sua eventuale restituzione alla scadenza del termine

Criticità emerse in sede di visita ispettiva:

- Mancanza di aree di segregazione
- mancanza di criteri di accettazione del campione.
- tempi di conservazione del campione non definiti
- Mancato controllo e/o registrazione della t° in ingresso

Esistenza di procedure di controllo della qualità per monitorare la validità delle prove.

Registrazione dei dati risultanti in modo che le tendenze siano rilevabili e applicazione, ove fattibile, di tecniche statistiche per riesaminare i risultati

I dati del controllo della qualità devono essere analizzati e, dove si rilevano essere al di fuori di criteri predefiniti, devono essere intraprese le azioni definite per correggere il problema e per impedire che siano prodotto dati errati

Il monitoraggio deve essere pianificato e valutato e può includere, non limitandosi ad essi, quanto segue:

- a) l'utilizzo regolare di materiali di riferimento certificati e/o controllo della qualità interno che utilizza materiali di riferimento secondari;
- b) la partecipazione a programmi di prove interlaboratorio o di prove di valutazione (proficiency testing);
- c) la ripetizione di prove o di tarature utilizzando metodi identici o differenti;
- d) l'effettuazione di nuove prove o le tarature sugli oggetti conservati;

Criticità emerse in sede di visita ispettiva:

- Controllo qualità definito da una sola prova interlaboratorio
- Gestione dei risultati dei circuiti. (N.C. mancanti)
- Gestione delle registrazioni dei risultati dei circuiti
- Carte di controllo

La norma dettaglia in modo puntuale cosa richiede:

- titolo
- nome e indirizzo del laboratorio
- identificazione univoca (numero)
- nome e indirizzo del cliente
- identificazione del/dei metodo/i
- identificazione dell'oggetto
- data di ricevimento, date di esecuzione delle prove
- piani e procedure di campionamento
- risultati delle prove con indicazione dell'unità di misura
- nomi, funzioni e firme per approvazione
- dichiarazione che i risultati si riferiscono ai soli oggetti provati
- dichiarazione che il rapporto non può essere riprodotto parzialmente senza autorizzazione
- numero di pagina e totale di pagine.

Inserimento, ove necessario per l'interpretazione dei risultati, di quanto segue:

- scostamenti aggiunte o esclusione rispetto ai metodi di prova e informazioni su specifiche condizioni di prova
- quando pertinente, dichiarazione della conformità /non conformità a specifiche, garanzia dal laboratorio circa l'aggiornamento dei documenti di specifica (es. limiti di legge).
- Quando applicabile, una dichiarazione circa l'incertezza di misura nei casi previsti (quando influisce sulla validità o applicazione dei risultati di prova, quando le istruzioni del cliente lo richiedono, quando l'incertezza ha influenza sulla conformità con un limite specificato.
- Quando necessario e appropriato opinioni e interpretazioni
- Informazioni aggiuntive che possono essere richieste da metodi specifici, clienti, o gruppi di clienti.

N.C. Rilevate:

- **diversa identificazione del metodo rispetto ai documenti di sistema**
- **errato uso del logo ISS**
- **mancanza dei riferimenti normativi in presenza di limiti**