

## GESTIONE E REGISTRAZIONE DEI DATI ANALITICI E DEI DOCUMENTI DI LABORATORIO.

Maura Balestrieri<sup>1</sup>, Dario De Medici<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Divisione Pubblica Amministrazione Centrale, Unità Organizzativa Sanità - Finsiel*

<sup>2</sup> *Laboratorio Alimenti - Istituto Superiore di Sanità.*

### Introduzione.

La registrazione dei dati analitici e la stesura dei rapporti di prova rappresentano fasi necessarie e fondamentali per la definizione di un piano globale di assicurazione della qualità del laboratorio. Infatti, solo l'esatta definizione delle procedure da adottare può assicurare la corretta elaborazione del certificato finale d'analisi e quindi rendere il più sicuro e trasparente possibile l'esito dell'accertamento analitico.

Dovranno confluire in questa procedura, tutte quelle informazioni, relative al campione in esame, testimoniando l'iter compiuto dal momento della ricezione da parte del laboratorio di prova, fino alla definizione dei dati analitici e dell'eventuale giudizio.

Nella gestione dell'intero processo, ci si può avvalere sia di supporti cartacei, sia di una gestione di tipo computerizzato, che presenta vantaggi in termini di rapidità di accesso ai dati e di potenzialità nella gestione complessiva delle procedure analitiche.

Infatti essa permette la raccolta di tutte le informazioni necessarie riguardanti i campioni pervenuti, evitando di inserire più volte gli stessi dati, garantisce l'esatto flusso delle informazioni tra i diversi settori del laboratorio, consente un monitoraggio in tempo reale dello stato di avanzamento dei lavori, produce segnalazioni e denunce, effettua elaborazioni statistiche sia ai fini amministrativi che sanitari, offre maggiori garanzie per la sicurezza dei dati.

Inoltre, la creazione di una banca dati, permette l'estrazione delle informazioni per rispondere in tempi rapidi alle esigenze di trasmissione agli organi competenti, quali Regione, Ministero, etc..

### Gestione e registrazione dei dati analitici.

*Accettazione campioni.*- Non si può parlare di un PAQ, se non si garantisce una corretta procedura di identificazione dei campioni che pervengono.

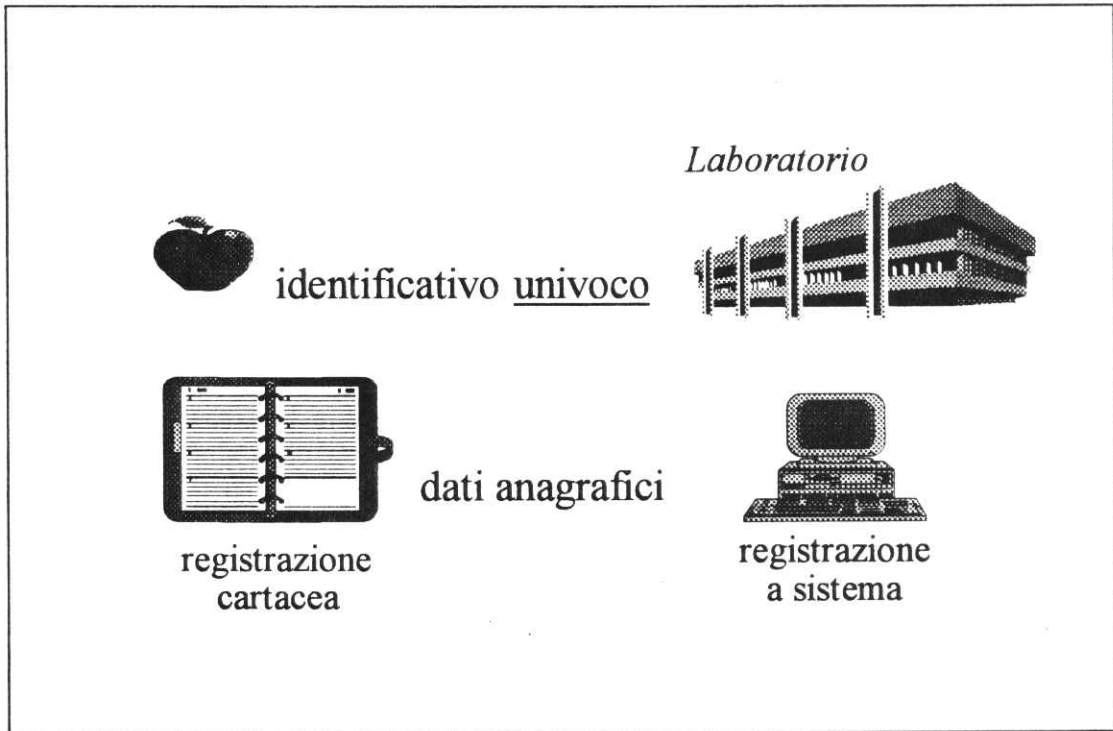
È fondamentale che ogni campione venga univocamente identificato nell'ambito del Laboratorio, affinché sia individuato con facilità e senza ambiguità.

L'accettazione deve essere prevista presso un archivio centrale deputato alla ricezione, codifica, registrazione e conservazione dei materiali da saggio. Ogni campione riceve, all'atto dell'ingresso in Laboratorio, un identificativo unico che lo seguirà in tutte le fasi del processo (Fig. 1).

La registrazione può essere effettuata su supporto cartaceo o tramite un sistema informatizzato.

Nel caso di registrazione cartacea, il registro deve essere del tipo a fogli numerati e non sostituibili. Nel caso di registrazione informatizzata, il sistema deve garantire

l'integrità dei dati, con sistemi di sicurezza di accesso alle funzioni, per eventuali modifiche e cancellazioni di dati già acquisiti.

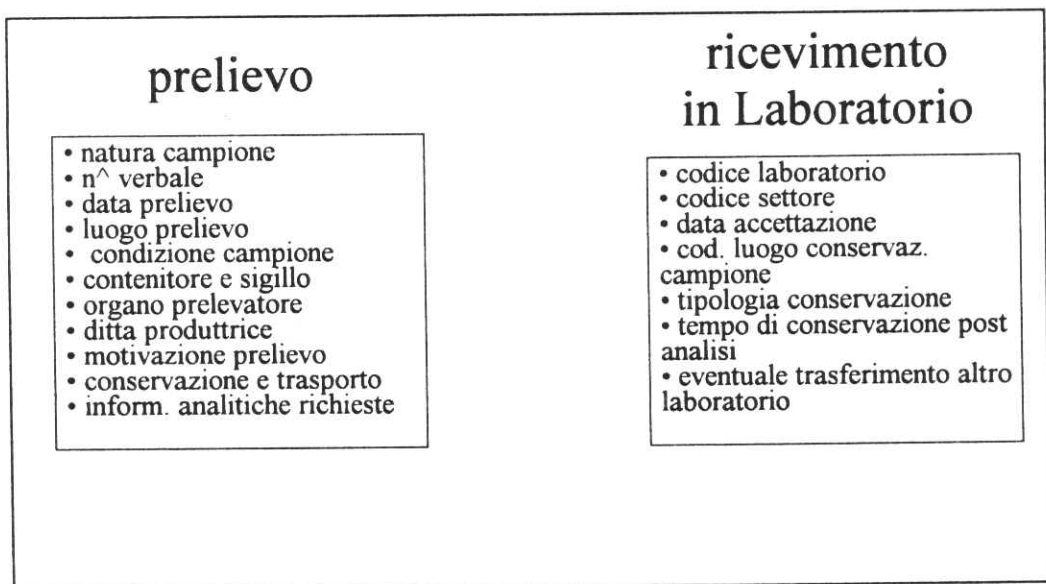


**Figura 1 - Accettazione campioni.**

Oltre l'identificativo, in fase di accettazione, vanno registrati tutti i dati propri del campione (Fig. 2):

- codice laboratorio
- codice settore
- data accettazione
- natura del campione
- numero di verbale prelievo
- data del prelievo
- luogo di prelevamento
- condizione del campione al momento del prelievo
- contenitore e sigillo al momento della ricezione
- dati identificativi della ditta produttrice
- organismo prelevatore
- motivazione del prelievo (routine, sorveglianza speciale, ecc)

- condizioni di conservazione cui il campione è stato sottoposto e modalità di trasporto
- informazioni analitiche richieste
- codice luogo conservazione campione
- tipologia di conservazione per il campione
  - √ a T ambiente
  - √ refrigerato
  - √ congelato
- tempo di conservazione post-analisi
- eventuale trasferimento ad altro Laboratorio.



**Figura 2 - Registrazione dati.**

Ogni spostamento del materiale da saggio, dall'archivio centrale, deve essere documentato registrando la data, la destinazione e le motivazioni dello spostamento, nonché le generalità della persona incaricata dell'operazione.

*Produzione etichette.* - Ogni materiale da saggio pervenuto va contrassegnato con etichette, di materiale inattaccabile, che riportino almeno il codice identificativo.

Nel caso di una gestione informatizzata, le etichette possono essere prodotte automaticamente all'atto dell'accettazione.

*Documenti di accompagnamento dei materiali da saggio.* - Tutti i documenti che accompagnano il materiale da saggio vanno conservati in fascicolo protocollato. Il n° di protocollo va associato all'identificativo del materiale da saggio

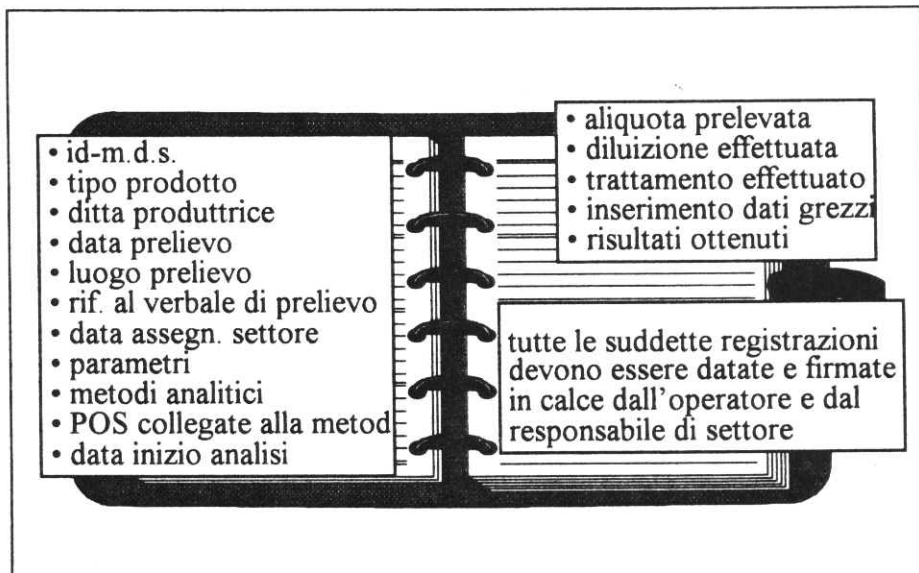
*Registrazione delle prove.* - Il settore di competenza cui viene affidata l'effettuazione delle prove sui vari materiali da saggio, dovrà disporre di un registro di prova relativo alle analisi da effettuare (Fig. 3).

In tale registro dovranno essere riportati, per ogni materiale da saggio, il numero di registrazione del campione e tutti i dati identificativi associati già citati. Si dovrà inoltre riportare la data di assegnazione al settore di competenza e la data di inizio analisi. In questa sede verranno individuati, qualora non siano già chiaramente indicati nel registro dei materiali da saggio (fascicolo trasmesso), i parametri da ricercare e indicati i nomi degli analisti cui viene affidata l'esecuzione delle singole prove o dell'intero procedimento analitico.

Tali parametri (eventualmente individuati da un numero di codice), dovranno essere riportati nel registro di prova accompagnati dai codici relativi ai metodi analitici adottati e alle POS direttamente collegate alla metodologia analitica.

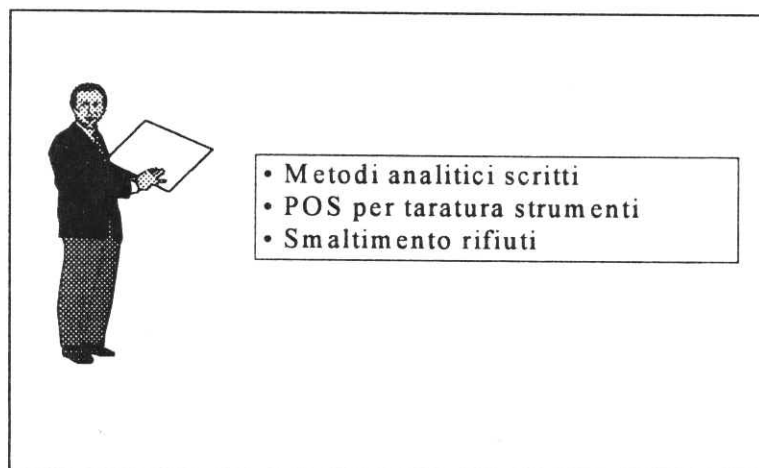
Inoltre, durante l'analisi, l'operatore registra l'aliquota prelevata, le diluizioni effettuate, il trattamento cui è sottoposta l'aliquota da saggio, nonché i dati grezzi ed i risultati ottenuti.

Tutte le suddette registrazioni devono essere datate e firmate in calce dall'operatore e dal responsabile di settore.



**Figura 3 - Registrazione delle prove.**

Nell'eseguire la determinazione analitica l'analista avrà a disposizione tutta la documentazione necessaria prevista dal piano di assicurazione della qualità, (metodi analitici scritti, POS relative alla taratura degli strumenti, all'utilizzo dei materiali di riferimento, allo smaltimento dei rifiuti ecc.) (Fig. 4).



**Figura 4** - Documentazione necessaria per l'esecuzione dell'analisi.

*Controlli preliminari.* - L'operatore prima di prelevare un'aliquota da saggio, deve effettuare e registrare i seguenti controlli:

- accertamento integrità materiale da saggio (sia del contenitore che dell'eventuale sigillo).
- tipologia di conservazione a cui il campione è stato sottoposto.
- verifica della corretta documentazione allegata.

*Inserimento dei dati grezzi.* - L'operatore dovrà, al momento dell'inizio dell'analisi, registrare la data apertura del materiale da saggio e riportare, sull'apposito registro, tutte le informazioni che sono necessarie per poter definire il risultato finale. L'inserimento dei dati nel registro di prova, per quanto riguarda i principali procedimenti analitici, può essere semplificato utilizzando schede predefinite o, una gestione computerizzata.

Generalmente, le analisi che vengono effettuate per il controllo ufficiale degli alimenti, possono essere riconducibili principalmente a tre tipi di metodiche:

*Metodi quantitativi* - In questi test viene contato il numero di microrganismi presenti in un volume noto di una data diluizione del materiale da saggio seminandola, secondo una delle tecniche sotto descritte, in un terreno colturale.

*Tecnica di inclusione nella massa (Pour plate)* - Un aliquota dell'alimento o delle sue diluizioni è addizionata con del terreno di coltura fuso in una piastra di Petri (Ø 90-100 mm). Dopo completa solidificazione dell'agar le piastre sono incubate a idonea

temperatura.

*\* Tecnica della semina in superficie (Spread technique)*

Un'aliquota dell'alimento, o delle sue diluizioni (0,1-0,2 ml, max 0,5 ml), viene distribuita uniformemente, mediante uno strumento atto allo spatolamento, sulla superficie di un terreno precedentemente versato e fatto solidificare nelle piastre. Le piastre sono incubate alla temperatura idonea.

*\* Tecnica di filtrazione su membrana*

Questa tecnica è utilizzata principalmente nelle analisi per le acque. Un'aliquota della sostanza viene filtrata su idonea membrana. La membrana viene quindi posta sulla superficie di un terreno precedentemente fatto solidificare nelle piastre. Le piastre vengono poi incubate alla temperatura idonea.

*Metodi semiquantitativi* - In questo test vengono numerati i microrganismi presenti in un volume noto, sulla base del risultato di presenza/assenza in tre o più diluizioni contigue del materiale da saggio, seminando tre o più repliche in un terreno liquido (metodo MPN). Il sistema più comunemente usato, è quello cosiddetto "simmetrico", che impiega lo stesso numero di provette per ogni diluizione, con un rapporto tra due diluizioni successive generalmente di 1:10. La positività viene riconosciuta in base al terreno impiegato ed alla reazione provocata in esso dallo sviluppo microbico.

La combinazione tra tubi positivi e negativi, assegnando il valore 1 ad ogni provetta risultata positiva ed il valore 0 ad ogni provetta risultata negativa, darà la definizione del numero caratteristico a tre cifre che individua il corrispondente valore MPN/g (o ml) nella tabella di Mac Crady.

*Metodi qualitativi (Test di presenza-assenza.)* - Una quantità nota di alimento viene inoculata, generalmente, in un terreno di arricchimento elettivo/selettivo. La presenza del microrganismo ricercato viene determinata utilizzando tecniche come l'isolamento delle colonie tipiche su terreni selettivi e confermata utilizzando opportuni test biochimici.

*Immissione dei dati.* - Questa breve introduzione sulle tecniche analitiche è stata necessaria per poter definire un schema di flusso delle informazioni, in modo da poter elaborare schede cartacee o informatizzate dove riportare i dati analitici.

*Metodo quantitativo(Fig.5): Pour plate e spread plate*

In questo caso devono essere inserite le seguenti informazioni:

- Aliquota pesata
- Diluizione effettuata
- Quantità di diluente utilizzato per la 1<sup>a</sup> Diluizione effettuata.
- Numero di colonie contate nelle piastre 1 e 2 della prima diluizione considerata.
- Numero di colonie contate nelle piastre 1 e 2 della seconda diluizione considerata
- Volume utilizzato per l'inoculo delle piastre considerate.
- Eventuali test biologici o sierologici aggiuntivi effettuati

- Eventuale percentuale di colonie confermate (rapporto tra il numero delle colonie confermate e il numero complessivo di colonie sospette ottenuto nel conteggio presuntivo).

#### *Determinazione del risultato finale*

Si può facilmente calcolare il numero di microrganismi presenti per grammo di prodotto utilizzando la seguente formula:

$$N = \frac{\sum C}{V(n_1 + 0,1n_2)d} \quad (\% \text{ colonie confermate})$$

ove:

$\sum c$  = somma delle colonie nelle piastre considerate

$V$  = volume dell'inoculo in ml seminato in ogni piastra (in genere 1 nella tecnica *pour plate*; 0,1 o 0,2 nella tecnica *spread*)

$n_1$  = numero delle piastre considerate per la prima diluizione

$n_2$  = numero delle piastre considerate per la seconda diluizione

$d$  = fattore di diluizione corrispondente alla prima diluizione (in genere 0,1 o 0,01)

- *Pour Plate e spread plate*

- Aliquota pesata
- Q. diluente per 1<sup>a</sup> diluiz.
- N<sup>o</sup> colonie contate piastre 1 e 2 (1<sup>o</sup> diluiz.)
- N<sup>o</sup> colonie contate piastre 1 e 2 (2<sup>o</sup> diluiz.)
- Vol. utilizzato per l'inoculo
- Eventuali test biol. o sierol. aggiuntivi effettuati
- Event. % di conferme

$$N = \frac{\sum C}{V(n_1 + 0,1n_2)d} \quad (\% \text{ colonie confermate})$$

**Figura 5** - Inserimento dati grezzi: metodo quantitativo.

*Metodo di filtrazione* - Utilizzando metodi per filtrazione verranno inseriti i seguenti dati grezzi:

- Volume filtrato
- Numero di colonie contate sulla prima e seconda aliquota filtrata
- Eventuale percentuale di colonie confermate.

*Determinazione del risultato finale*

In questo caso si dovrà solo elaborare la media delle colonie contate ed esprimerla sul volume totale filtrato.

*Metodo semiquantitativo (Fig. 6) - Numerazione dei microrganismi in terreno liquido (metodo MPN).*- In questo caso nei dati grezzi che devono essere riportati sono i seguenti:

- Aliquota pesata
- Diluizione effettuata
- Prima diluizione della serie considerata
- Volume utilizzato nella prima diluizione considerata..
- Definire su quante repliche è effettuata la determinazione, (tipicamente 3 o 5 repliche)
- Eventuali test biologici o sierologici aggiuntivi effettuati

*Determinazione dei risultati:* Ricostruire il numero caratteristico a tre cifre assegnando il valore 1 ad ogni provetta risultata positiva ed il valore 0 ad ogni provetta risultata negativa, sommando quindi tra loro i valori ottenuti in ciascun gruppo di tre (o cinque) provette inoculate con la stessa diluizione. Leggere poi il corrispondente valore MPN/g (o ml) nella tabella di Mac Crady e moltiplicare tale valore per l'inverso del fattore di diluizione della prima serie di provette considerata per ricostruire il numero caratteristico.

*Espressione dei risultati*

Dal valore MPN rilevato dalla tabella, determinare il Numero Più Probabile di microrganismi in una data quantità di campione, per mezzo della formula:

$$C_s = N \frac{F}{V} V_s$$

$C_s$  = concentrazione più probabile di microrganismi nella quantità di riferimento  $V_s$ ;

$N$  = valore MPN letto sulla tabella

$F$  = fattore di diluizione (decimale, centesimale, ecc.) corrispondente alla diluizione base della serie prescelta (ad es.  $F=10, 100$ , ecc.)

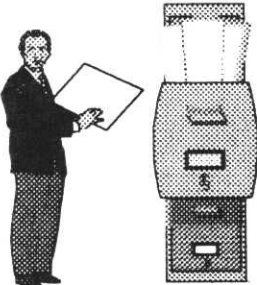
$V$  = fattore di diluizione base della tabella (nel caso specifico=1);

$V_s$  = quantità di riferimento scelta per esprimere la concentrazione di microrganismi (generalmente 1 g o ml).



- *M.P.N.*

- Prima diluizione della serie considerata
- Vol. utilizzato nella 1° diluizione considerata
- Su quante repliche e' stata effettuata la determinazione
- Eventuali test biol. o sierol. aggiuntivi effettuati



**Determinare  
l'M.P.N. utilizzando  
l'apposita tabella**

$$C_s = N \frac{F}{V} V_s$$

**Figura 6 - Inserimento dati grezzi metodo semiquantitativo.**

### *Metodo qualitativo*

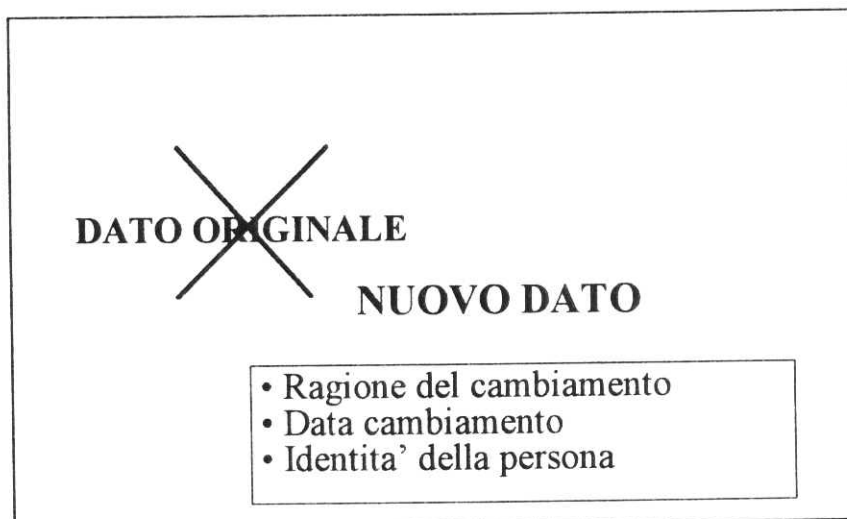
In questo caso devono essere riportate le seguenti informazioni:

- Aliquota pesata.
- Quantità di diluente utilizzato.
- Eventuali test biologici o sierologici aggiuntivi effettuati

Si potrà prevedere in questo caso la stesura di schede eventualmente computerizzate specifiche per la ricerca dei germi più frequentemente indagati. (p.e. *Salmonella*).

### *Correzione dei dati. (Fig. 7).*

Se si rende necessario apportare modifiche a dati già registrati, la correzione va effettuata in modo tale da non celare i dati già inseriti, specificando la ragione del cambiamento, la data e l'identità della persona che ha apportato la modifica.



**Figura 7 -** *Correzione dei dati.*

### **Emissione dei rapporti di prova (RPF).**

Ogni rapporto di prova (Fig.8) dovrà riportare:  
i dati identificativi del Laboratorio che ha eseguito le analisi, una descrizione del prodotto, il relativo numero di registrazione e i dati identificativi citati;

- le date di ricevimento, di analisi e di emissione dell'RPF;
- i parametri ricercati con una breve descrizione dei metodi analitici e delle procedure adottate che li caratterizzi con chiarezza;
- i risultati ottenuti.
- la chiara indicazione del metodo analitico adottato (questa risulta di notevole importanza soprattutto nei casi in cui sullo stesso materiale debbano essere effettuati successivi controlli da parte di un altro organismo, come ad esempio nel caso delle revisioni di analisi. In questo modo si fornisce al revisore un utile strumento per la valutazione dei dati analitici riportati ed di eventuali discrepanze con i risultati di secondo grado).
- un giudizio di merito sull'idoneità del campione con riferimento alla relativa normativa vigente.
- le firme del direttore di laboratorio, del direttore di settore e del tecnico laureato cui è stata affidata la prova.
- il n° di pagina e il n° di pagine totali.
- Per i rapporti di prova finali dovranno inoltre essere previsti dei fascicoli debitamente protocollati in cui vengono conservati tutti i documenti che accompagnano il materiale da saggio ed i rapporti di prova finali.

<b>Dati identificativi del laboratorio</b>			cod.
<b>id-mds</b>	<b>descrizione mds</b>	<b>dati identificativi</b>	
<b>data ricevimento</b>	<b>data analisi</b>	<b>data emissione</b>	
<b>parametri</b>	<b>metodo</b>	<b>POS</b>	<b>risultati</b>
<b>Giudizio</b>	<b>con eventuale rifer. alla normativa</b>		
n. pag./n.tot.			FIRME

**Figura 8 - Rapporto di prova finale.**

Nel caso di un sistema computerizzato si potrà costruire un R.P.F. integrato, completo cioè, di tutte le informazioni provenienti dai diversi settori che hanno analizzato quel materiale da saggio

*Archiviazione e registrazione dei documenti* - Le registrazioni dei risultati analitici del Laboratorio devono essere archiviate nel rispetto del segreto professionale e, comunque, secondo quanto previsto dalla normativa vigente, e conservate per un periodo di almeno dieci anni.

### **Trasmissione dei dati**

Ogni laboratorio del controllo pubblico è tenuto alla trasmissione dei dati, via rete informatica messa a disposizione del Ministero della Sanità, dei dati relativi al materiale da saggio e dei relativi risultati analitici in base ai seguenti decreti che stabiliscono tempi e modalità di trasmissione.

1. Art. 8 della legge 7/8/86 n. 462 (G.U. n. 192 del 2078/86) recante misure urgenti in materia di prevenzione e repressione delle sofisticazioni alimentari.

L'articolo istituisce presso il SIS del Ministero della Sanità un centro di raccolta informatizzata dei risultati delle analisi effettuate dai Laboratori dei P.M.P., I.Z.S., e dai Laboratori di seconda istanza per le revisioni di analisi.

I dati così raccolti saranno messi a disposizione delle Regioni, ed annualmente trasmessi al Parlamento.

Decreto del 22/4/1991 (G.U. n.139 del 15/6/1991).

Decreto in materia di trasmissione periodica dei risultati delle analisi in attuazione del decreto del 20/5/1988.

Il decreto stabilisce classificazioni e codifiche per:

- alimenti e bevande;
- determinazioni analitiche;
- tecniche;
- materiali a contatto;
- modalità di conservazione;
- valori limite;
- organismi prelevatori;
- laboratori di seconda istanza.

L'articolo 2. di tale decreto stabilisce che:

La disciplina tecnica per l'acquisizione, in forma standardizzata, dei risultati delle analisi consiste:

- a) nel conformarsi a quanto previsto nell'allegato 9;
- b) nel trasmettere le informazioni entro e non oltre 30 gg. dalla data di effettuazione delle analisi, utilizzando il sistema di collegamento al SIS fra le ore 8.00 e 13.30 di tutti i giorni lavorativi.

### **Registrazione di documenti di laboratorio**

Ogni laboratorio dovrà tenere archivi dove registrare la documentazione relativa a:

*Il personale* - Deve fare parte integrante del Manuale della Qualità la documentazione relativa a:

- organigramma del personale;
- per ciascuna qualifica descrizione dei requisiti richiesti;
- elenco del personale con indicazione della collocazione delle relative schede di registrazione

La scheda di registrazione dovrà contenere:

- nome
- cognome
- data nascita
- titolo studio
- formazione
- esperienza
- settore e/o sezione di appartenenza
- qualifica ed attività specifica
- curriculum studiorum

Naturalmente le informazioni devono essere aggiornate relativamente al percorso professionale del personale.

*Il Laboratorio* - Deve fare parte integrante del Manuale della Qualità la documentazione relativa a:

- schema del Laboratorio e di ogni singolo settore
- planimetria del Lab. con l'identificazione delle diverse attività
- elenco codificato delle procedure per la tutela della salute e per la sicurezza dei lavoratori
- elenco codificato delle procedure di sanificazione

Per il PAQ quindi necessita:

- programma e procedure di sanificazione con specifica degli interventi e della loro frequenza
- registrazione interventi effettuati
- procedure per la tutela della salute e la sicurezza dei lavoratori

*I materiali da Laboratorio* - Va annotato su apposito registro:

- n° e tipo delle confezioni arrivate
- data di arrivo
- n° di lotto
- data di scadenza
- riferimento alla scheda di sicurezza fornita dalla ditta.
- data di apertura di ogni singola confezione.
- localizzazione (armadi, frigoriferi, ecc)
- risultati dei test di controllo sul lotto.

ed eventualmente

- tipo di materiale
- fornitore
- n. codice del materiale.

Farà parte integrante del MQ

- elenco dei documenti codificati e loro locazione
- procedure generali di acquisto

Dovrà essere quindi tenuto un registro dei materiali, nonché identificare procedure su tempi e modalità di conservazione, rispondenza alle procedure effettuate.

*Le apparecchiature.*

- elenco codificato delle apparecchiature E loro collocazione
- elenco delle POS per manutenzione e taratura
- schede di registrazione contenente tutte le caratteristiche dell'apparecchiatura
- schede mensili di manutenzione e taratura

*Metodi di analisi e procedure.*

## Documentazione per il MQ

- procedura di codifica, messa a punto, stesura e collocazione dei metodi di analisi.
- elenco dei metodi
- elenco delle POS relative alle operazioni analitiche.

*Controllo di qualità.*

- documentazione per il MQ
- procedure generali per il CQ

ossia documentazione su:

- carte di controllo
- registrazione dei dati delle prove intra ed inter Laboratorio.
- doc. inviata dall'ente organizzatore delle prove.

*Verifiche ispettive*

Moduli per la registrazione delle visite.

**Vantaggi di un sistema computerizzato.**

Una gestione computerizzata rappresenta un importante supporto a tutte le attività del ciclo produttivo.

Un sistema informativo non solo consente l'automazione di tutte le fasi connesse all'iter analitico, ma offre una serie di servizi tra i quali:

*Visualizzazione stato avanzamento* - Permette la visualizzazione in ogni momento dello stato di avanzamento di una richiesta di analisi.

*Livelli di sicurezza.*- Garantisce l'integrità della Base Informativa e la sicurezza dei dati con sistemi di autorizzazione di accesso.

*Elaborazione statistica dei dati* - Consente aggregazioni e l'elaborazione dei dati acquisiti.

*Archiviazione e Smaltimento campioni.* - Consente l'istituzione di un sistema di allerta per l'interrogazione dello stato dei magazzini di stoccaggio dei campioni con segnali d'allarme per lo smaltimento dei rifiuti.

*Trasferimento dati agli organi competenti.* - La registrazione dei dati da inviare agli organi competenti avviene senza ulteriore carico di lavoro al personale di laboratorio.

**Bibliografia:**

Coni E, Croci L., Draisci R., Gianfranceschi M, Pasolini B., Sanzini E. e Stacchini A. *Linee guida per l'assicurazione della qualità nei laboratori preposti al controllo ufficiale dei prodotti alimentari* Rapporti Istisan 96/1

D.De Medici, L.Fenicia, L.Orefice e A.Stacchini *Metodi di analisi per il controllo microbiologico degli alimenti* Rapporti Istisan 96/35.