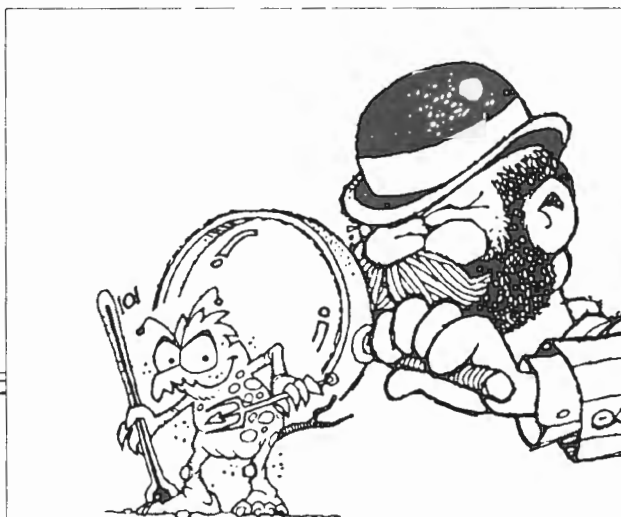


PAGINE APERTE



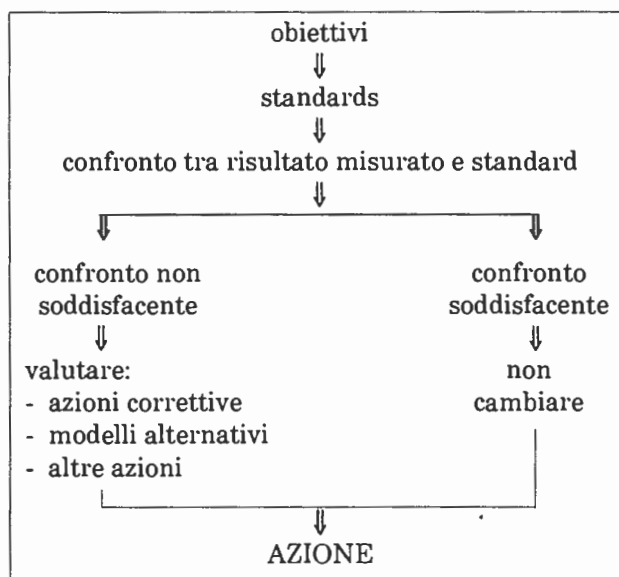
GESTIONE DEL CONTROLLO DI QUALITA' MICROBIOLOGICO INTRALABORATORIALE

Nadia Fontani* e Manuela Algeri*

INTRODUZIONE

Il controllo di qualità è l'insieme di tecniche e di attività che vengono espletate per ottenere un'elevata conformità tra i risultati ed i programmi, gli obiettivi e le politiche prescelte. Viene considerato una vera e propria disciplina cui fanno capo numerose componenti con regole proprie e tecniche specifiche, nonché una relativa cultura e letteratura. Il controllo di qualità è, infatti, un processo di sorveglianza sulla qualità del prodotto e dei risultati: è la valutazione continua dello stato delle procedure, dei metodi e dei dati prodotti, con l'obiettivo di ridurre al minimo gli effetti dell'irrazionalità e dell'imponderabilità dell'azione umana.

Si esplica cioè prevalentemente in un confronto tra i risultati effettivi già manifestatisi (controllo di accettazione) o di prevedibile manifestazione futura (controllo "in line") con i risultati "obiettivo". Il confronto porterà ad appropriate valutazioni ed alle rispettive azioni correttive, secondo il meccanismo indicato nel seguente riquadro.



Il controllo di qualità consta infatti di quattro momenti principali:

- PLAN (programmare e pianificare): in questa fase si stabiliscono gli obiettivi intermedi e finali, si forma e addestra il personale;

* - Laboratorio Biologico, Azienda Gas Acqua Consorziale, Reggio Emilia.

- DO (fare):
significa svolgere operativamente il lavoro, riducendo gli errori e le complicazioni;
- CHECK (controllare):
in questa fase occorre individuare le cause di non qualità mettendo in atto le azioni correttive;
- ACTION (agire operativamente):
significa svolgere l'azione definitiva dopo aver standardizzato le procedure mediante la creazione di un manuale di qualità.

Il risultato di questo processo deve essere un costante miglioramento della qualità: è solo prevedendo una situazione dinamica, in costante evoluzione, che si può ottenere un continuo miglioramento della produzione.

Le cause che portano alla variabilità del dato si possono far risalire a tre categorie:

- 1) errori casuali: sono eventi non prevedibili, ma sempre presenti, impossibili da eliminare completamente e sono imputabili sia all'analista che al metodo di analisi e all'ambiente in cui si opera. Sono piccoli errori che non comportano gravi inesattezze, ma fanno sì che esista un limite alla perfetta riproducibilità di un risultato: la stessa analisi effettuata dallo stesso analista sul medesimo campione, porterà a risultati leggermente diversi, dispersi attorno ad un valore medio. L'imprecisione è tanto maggiore quanto più grande è la dispersione dei risultati;
- 2- errori sistematici: sono eventi con cause ben precise e identificabili, dovute a cattive abitudini degli analisti, all'uso di vetreria lavata in modo scorretto, di reattivi alterati, ecc. Rimuovendo le cause di errore sistematico si giunge alla concordanza del valore misurato con quello reale, cioè migliora l'accuratezza dell'analisi;
- 3- errori grossolani: eventi che non riguardano direttamente l'esecuzione analitica, ma dovuti, ad esempio, allo scambio di campioni, alla conservazione inadeguata, ad errori di negligenza o distrazione nella lettura e trascrizione dei risultati, ecc. Compiono spesso sotto forma di dati aberranti, visibilmente più alti o più bassi degli altri della serie.

IL CONTROLLO DI QUALITÀ IN MICROBIOLOGIA

Il concetto di "produzione" può essere esteso anche ai laboratori di analisi microbiologiche dove l'analisi effettuata rappresenta il processo produttivo mentre i risultati ottenuti sono assimilabili ai prodotti.

Scopo del controllo di qualità in questo ambito è fare in modo che i risultati degli esami effettuati siano attendibili grazie al continuo controllo di tutte le variabili che possono influenzare il risultato medesimo.

Molti laboratori effettuano alcune pratiche di controllo qualità che si sviluppano dal comune buonsenso degli operatori e dai principi generali assunti tramite l'esperienza. Tuttavia tali norme comportamentali non sono sufficienti a garantire una conformità alle procedure delle metodologie, delle condizioni d'analisi, degli strumenti del laboratorio stesso.

L'applicazione di procedure di controllo della qualità risulta imprescindibile dalla riproducibilità, precisione ed accuratezza del dato prodotto, in quanto conduce alla identificazione, riduzione o completa eliminazione dei tre tipi di errore sopra citati.

Il controllo di qualità può essere di tipo intralaboratorio o interlaboratorio. Quest'ultimo prevede la definizione di un protocollo d'applicazione delle procedure d'analisi e la misurazione di standard in laboratori diversi operanti sullo stesso tipo di matrice.

Se tale iter può essere seguito nel campo delle analisi chimico-fisiche, un "ring test" non è facilmente applicabile nell'ambito dell'analisi microbiologica, dove non è sempre attendibile od identificabile lo "standard primario" necessario per la calibrazione del metodo d'analisi.

Nel settore microbiologico risulta quindi più opportuno definire un manuale di controllo di qualità intralaboratorio per standardizzare le procedure all'interno del proprio laboratorio, applicando azioni correttive alle cause che inducono fenomeni di variabilità dei risultati. Per ottenere dati microbiologici affidabili è perciò necessario intraprendere un controllo di qualità intralaboratorio che operi "in line", cioè attraverso una continua valutazione delle seguenti condizioni organizzative e procedurali:

- buona formazione professionale degli analisti;
- adeguata rappresentatività del campione da analizzare;
- corretta conservazione del campione stesso prima dell'analisi;
- selettività e validità dei metodi di determinazione utilizzati;
- elevata qualità del materiale, delle infrastrutture e dell'ambiente impiegato per l'analisi;
- organizzazione e carico di lavoro non eccessivo;
- corretta esecuzione delle operazioni analitiche.

Per quanto riguarda la garanzia dell'adeguata esecuzione del metodo di analisi, è necessario che sia

il personale analista ad essere convenientemente istruito e dotato dei mezzi necessari per applicare le procedure del controllo di qualità, in quanto conosce meglio di altri le caratteristiche della propria attività e diventa quindi responsabile della garanzia del risultato, attraverso un sistema di autocontrollo della qualità.

Il contributo di consulenti esterni può risultare utile supporto solo se volto a realizzare una forma di integrazione del controllo di qualità intralaboratoriale. Una volta realizzata tale necessaria integrazione, i risultati ottenibili possono essere interessanti anche in termini di motivazione del personale, che viene a trovarsi partecipe del miglioramento dei processi analitici promuovendo la correzione delle carenze e favorendo l'innovazione.

MANUALE D'APPLICAZIONE DEL CONTROLLO DI QUALITÀ MICROBIOLOGICO

Di seguito viene riportato il programma di massima del controllo di qualità applicato presso il laboratorio di microbiologia delle acque potabili dell'Azienda Gas Acqua Consorziale di Reggio Emilia.

Locali

ventilazione: il laboratorio deve essere ventilato con almeno 6 ricambi/ora senza provocare correnti d'aria; **utilizzo dello spazio:** il laboratorio deve essere dotato di almeno 2 metri lineari di banco per ogni analista, oltre le aree di preparazione e di attività di supporto. I piani devono essere di materiale anticorrosione, col minor numero di finiture e disinfettabili; **controllo dell'aria:** il monitoraggio batteriologico dell'ambiente viene effettuato giornalmente o ad ogni semina tramite prelievi con S.A.S. (Surface Air System) oppure mediante l'esposizione all'aria per 10 minuti di capsule Petri contenenti Plate Count Agar, poi incubate a 36 °C e 22 °C.

Equipaggiamento e strumentazione

bilance: controllo mensile della taratura con pesi certificati; stipulare un contratto di controllo annuale; **deionizzatore:** controllo in continuo o giornaliero della conducibilità; ricerca dei metalli in tracce nell'acqua distillata con frequenza minima annuale; test della qualità batteriologica dell'acqua di diluizione; **stufa a secco:** controllo bimestrale della temperatura raggiunta con sospensione di spore o simili; **autoclave:** controllo della temperatura, pressione e tempo ad ogni utilizzo; controllo mensile con spore; **lampade UV:** pulire mensilmente con un panno soffi-

ce ed etanolo; sostituirle quando emettono meno del 70% della potenza iniziale o, in alternativa, quando piastre di agar con 200-250 batteri, esposte ai raggi per 2 minuti, mostrano una riduzione inferiore al 99%; **incubatori e bagnimaria:** verificare la temperatura ogni giorno nel caso in cui non siano dotati di registratore e sistema d'allarme.

Materiale da laboratorio

vetreria: scartare quella con bordi incrinati o con superficie interna segnata. Sulla vetreria pulita controllare il pH con un indicatore per rilevare residui di detergenti alcalini o acidi ed eseguire il test dei residui inibenti, battericidi o batteriostatici;

terreni e membrane: ad ogni fornitura confrontare il materiale in uso (lotto di riferimento) con il nuovo lotto;

reagenti: usare soltanto prodotti ACS od equivalenti perché le impurità possono inibire la crescita batterica, fornire nutrienti o far fallire le reazioni saggiate; **membrane e pads:** ispezionare ogni lotto prima dell'uso e durante le analisi per assicurarsi che siano rotonde e flessibili, senza imperfezioni e che le eventuali colonie possano crescere distribuite su tutta la superficie.

Procedure del controllo di qualità analitico

controllo di qualità generale:

- controllare la sterilità dei terreni, le membrane filtranti, l'acqua di diluizione, seminando in asepsi 100 ml di acqua di diluizione;
- verificare la sterilità di bottiglie ed altra vetreria scegliendone alcune in modo randomizzato, aggiungervi 25 ml di brodo sterile non selettivo, incubare e verificare la crescita;
- per ogni lotto di terreno controllare le procedure analitiche seminando colture positive e negative come mostrato in tabella:

Gruppo	Coltura di controllo	
	Positivo	Negativo
Coliformi totali	<i>E. coli</i>	<i>Stafilococcus aureus</i>
Coliformi fecali	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas spp.</i>
Streptococchi fecali	<i>Streptococcus faecalis</i>	<i>Stafilococcus aureus</i> <i>E. coli</i>

- effettuare analisi in doppio sul 10% dei campioni ed almeno 1 campione per ogni semina;
- in laboratori con più di un analista, effettuare

analisi in parallelo su campione positivo con cadenza mensile.

Controlli di qualità su tubi multipli

Effettuare un test completo di identificazione sul 10% dei campioni risultati positivi alle prove preliminari.

Controllo di qualità delle procedure con membrane filtranti

- **coliformi totali:** in acque potabili verificare tutte le colonie lucide e splendenti se il loro numero è minore di 10/100 ml; in caso contrario identificare almeno 10 scelte a caso;
- **coliformi fecali:** isolare almeno 10 colonie di colore blu tipico e confermare in Lauryl brodo e successivamente in blu verde brillante;
- **streptococchi fecali:** trasferire almeno 10 colonie rosa-rosso in BHI agar; le colture catalasi negative vengono trasferite in BHI brodo al 40% di bile e se ne verifica la crescita; ulteriori prove di conferma in Esculina Azide agar.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Le procedure del controllo di qualità intralaboratoriale messo in pratica presso il laboratorio di analisi microbiologiche dell'AGAC non sono che un primo approccio verso la stesura e l'applicazione di un manuale di qualità che possa poi sfociare nella certificazione dei processi, dei prodotti e del servizio e nell'accreditamento del laboratorio stesso da parte degli Enti nazionali preposti.

E' comunque auspicabile che tali iniziative, ancora basate solo sul buonsenso di singoli operatori, siano al più presto supportate e governate da una adeguata normativa nazionale.

BIBLIOGRAFIA

Brenner K.P., Rankin C.C. - 1990. New screening test to determine the acceptability of 0,45 lm membrane filters for analysis of water. *Applied and Environmental Microbiology*, 56: 54-64.

Cosentino S., Pisani P.L., Palmas F. - 1990. Comparison of indoor climate and microbial contamination in two office buildings with different ventilation system. *L'Igiene Moderna*, 93: 749-763.

Dessi S., Trincas F., Pintus L., Fiori C., Lauro M.G. - 1987. Controllo microbiologico dell'aria confinata in alcune sale operatorie. *L'Igiene Moderna*, 88: 224-228.

Min Chen - 1990. Simple Medium that preserves low concentrations of *Escherichia coli* for use in the water bacteriology proficiency test. *Applied and Environmental Microbiology*, 56: 146-149.

Orpianesi C., Cresci A., La Rosa F., Saltamacchia G., Tarsi R. - 1983. Valutazione dell'inquinamento microbico in un ambiente ospedaliero; confronto tra il sistema S.A.S. (Surface Air System) e il metodo tradizionale. *Nuovi Annali di Igiene e Microbiologia*, XXXIV: 171-185.

Pollicino G. - 1991. Analisi microbiologica dell'aria e degli aerosoli. *Biologi Italiani*, XXI: 10-12.

Standard Methods - 1985. Intralaboratory Quality Control guidelines. 831-848.

Volterra L. - 1991. Metodi per il controllo dei parametri microbiologici. *Seminario Unichim*, Milano.

Zerbini M. - 1991. Controllo statistico di qualità. *CUSL A. Rublev*, Parma.

