
	Dipartimento della prevenzione <b>Laboratorio di Sanità Pubblica</b>	<b>Procedura Operativa di sistema</b> delle acque di balneazione		
Sigla di identificazione PO - 01 Acqua balneazione	Rev. nr.: 01	Data: 20.06.2020	Pag.: 01 di 11	All. gen. 02

## INDICE

<b>Punto</b>	<b>Titolo</b>	<b>Pag.</b>
1	Scopo e campo di applicazione	2
2	Documenti di riferimento	2
3	Definizione	2
4	Abbreviazioni	2
5	Responsabilità	2
6	Descrizione delle attività	3
6. 1	<i>Campionamento</i>	3
6. 2	<i>Trasporto</i>	3
6. 3	<i>Accettazione</i>	3
6. 4	<i>Avvio procedure analitiche</i>	6
6. 5	<i>Rapporto di prova</i>	7
6. 6	<i>Trasmissione esito ed archiviazione</i>	9

Annotazioni:					
Copia controllata n. 01			Consegnata a :		

	Dipartimento della prevenzione <b>Laboratorio di Sanità Pubblica</b>		<b>Procedura Operativa di sistema</b> delle acque di balneazione	
Sigla di identificazione PO - 01 Acqua balneazione	Rev. nr.: 01	Data: 20.06.2020	Pag.: 02 di 11	All. gen. 02

## 1. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Scopo della presente procedura è definire le responsabilità e le modalità operative che il Laboratorio di Sanità Pubblica segue per garantire la qualità dei propri risultati di prova. La presente procedura si applica a tutti i campioni che giungono in Laboratorio.

## 2. DOCUMENTI DI RIFERIMENTO

**UNI CEI EN ISO/IEC 17025 : 2005;**

**UNI EN ISO 7899-2; ISO 12780; ISO 9308-1;**

**Decreto Legislativo 30 maggio 2008, n. 116 (Attuazione della direttiva 2006/7/CE relativa alla gestione della qualità delle acque di balneazione e abrogazione della direttiva 76/160/CEE).**

**Decreto interministeriale 30 marzo 2010 (Definizione dei criteri per determinare il divieto di balneazione, nonché modalità e specifiche tecniche per l'attuazione del decreto legislativo 30 maggio 2008, n. 116, di recepimento della direttiva 2006/7/CE, relativa alla gestione della qualità delle acque di balneazione).**

**Direttiva 2006/7/CE, relativa alla gestione della qualità delle acque di balneazione**

**PG-01:** Emissione dei documenti del sistema qualità

**PG-05:** Gestione del reagentario e materiali di riferimento

**PG-06:** Gestione delle non conformità

**PG-08:** Accettazione e gestione dei campioni da sottoporre a prova

**PG-12:** Formazione addestramento ed aggiornamento del personale

## 3. DEFINIZIONE

**Richiedente:** la persona firmataria della richiesta

**Committente:** fruitore dei servizi analitici forniti dal laboratorio che può identificarsi con il richiedente

**Fornitore:** tecnici di prevenzione dell'Asp di Messina.

	Dipartimento della prevenzione <b>Laboratorio di Sanità Pubblica</b>		<b>Procedura Operativa di sistema</b> delle acque di balneazione	
Sigla di identificazione PO - 01 Acqua balneazione	Rev. nr.: 01	Data: 20.06.2020	Pag.: 03 di 11	Alleg. gen.: 02

#### 4. ABBREVIAZIONI

MdQ: Manuale della qualità

PG: Procedura gestionale

POS: Procedura operativa standard

ALL.: Allegato

DL.: Direttore del laboratorio

Dir. Sez.: Dirigente sezione

Sost. Dir. Sez.: Sostituto dirigente sezione

#### 5. RESPONSABILITÀ

Il DL coordina la gestione della presente procedura e gestisce il flusso informativo dei dati.

#### 6. DESCRIZIONE DELLE ATTIVITÀ

##### 6.1 *Campionamento:*

Il prelievo dei campioni per l'esame microbiologico deve essere effettuato in contenitori di vetro o di polietilene puliti, sterili e monouso. Per i prelievi da effettuare con tecnica ad immersione della bottiglia si devono usare bottiglie sterili incartate prima della sterilizzazione e dotate di dispositivi adatti all'apertura a comando del tappo, in mancanza di tale dispositivo le bottiglie vanno trattate con guanti sterili. Le bottiglie devono essere aperte avendo cura di non toccare la parte del tappo che viene a contatto con il campione e la parte interna del collo della bottiglia, subito dopo la raccolta del campione la bottiglia deve essere richiusa. La bottiglia non deve essere mai completamente piena al fine di consentire una buona agitazione del campione in laboratorio. UNI EN ISO 19458:2006 (E) ed ISO 5667-1,2,3

##### 6.2 *Trasporto:*

I campioni giungono al L.S.P. subito dopo il prelievo, comunque nel più breve tempo e sono trasportati in idonei contenitori frigoriferi a temperatura controllata ( $6\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 4$ ) ed al riparo dalla luce.

Preparata da: dott. E. Scuderi	Verificata da: R.Q. dott. G. Zisa	Approvata dal Direttore dott. F. Arena
--------------------------------	-----------------------------------	--

	Dipartimento della prevenzione <b>Laboratorio di Sanità Pubblica</b>		<b>Procedura Operativa di sistema</b> delle acque di balneazione	
Sigla di identificazione PO - 01 Acqua balneazione	Rev. nr.: 01	Data: 20.06.2020	Pag.: 04 di 11	Alleg. gen.: 02

### 6.3 Accettazione:

Nella stanza destinata all'accettazione viene verificata la temperatura dei campioni per mezzo di termometri che vengono inseriti in contenitori "civetta" (contenuti all'interno dei contenitori frigo);

l'esame di preferenza va iniziato immediatamente appena il campione arriva in laboratorio (subito dopo il prelievo). E' ammesso mantenere il campione a  $6\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 4$  fino a 24 h prima dell'esame. Se supera tale range i campioni vengono accettati solo in casi di particolare gravità e nell'esclusivo interesse della salute pubblica, sul rapporto di prova (vedi oltre) viene annotato "valori riscontrati a temperatura di ...°C", altrimenti vengono respinti.

Sui contenitori devono essere indicati il comune di provenienza ed il punto di prelievo. Il volume totale del campione dovrà essere sufficiente all'esecuzione dei parametri richiesti. Se sono necessarie diluizioni del campione si procede in accordo con la norma ISO 8199:2002

Acqua (condottata) destinata a consumo umano:

Parametro	Campione richiesto	Valore di parametro	
		Valori Guida	C.M.A.*
<i>Escherichia coli</i>	100ml	0/100ml	- /
Enterococchi	100ml	0/100ml	- /

	Dipartimento della prevenzione <b>Laboratorio di Sanità Pubblica</b>		<b>Procedura Operativa di sistema</b> delle acque di balneazione	
Sigla di identificazione PO - 01 Acqua balneazione	Rev. nr.: 01	Data: 20.06.2020	Pag.: 05 di 11	Alleg. gen.: 02

I campioni sono accompagnati da un verbale di prelievo in cui sono indicati:

- ❖ Il Richiedente/Committente
- ❖ il comune di provenienza
- ❖ l'identità dei prelevatori
- ❖ il punto di campionamento
- ❖ il tipo di controllo (routine o altro)
- ❖ la descrizione delle procedure di prelevamento
- ❖ eventuali notizie utili per le valutazioni analitiche

Nel caso di controllo fiscale il verbale di prelievo dovrà contenere le garanzie di difesa trattandosi di analisi non ripetibili. (Data, luogo, orario in cui saranno effettuate le operazioni analitiche). – Sent. Corte Costituzionale 139/93 -

Una volta accettati i campioni vengono registrati sul “Registro Generale Accettazione Campioni (RGAC)”, quindi viene predisposto il “foglio di lavoro” per ognuno di essi.

Sul foglio di lavoro sono riportati:

- ❖ il n. di accettazione che identifica il campione in modo univoco (n. RGAC);
- ❖ l'operatore (generalmente si tratta di un tecnico di laboratorio);
- ❖ la data di accettazione;
- ❖ la data inizio prova;
- ❖ la data fine prova;
- ❖ l'identità del dirigente medico responsabile delle procedure analitiche.

Il foglio di lavoro, accompagnato al verbale di prelievo, segue il campione durante l'intero percorso in laboratorio.

	Dipartimento della prevenzione <b>Laboratorio di Sanità Pubblica</b>		<b>Procedura Operativa di sistema</b> delle acque di balneazione	
Sigla di identificazione PO - 01 Acqua balneazione	Rev. nr.: 01	Data: 20.06.2020	Pag.: 06 di 11	Alleg. gen.: 02

#### 6.4 *Avvio procedure analitiche:*

I campioni saranno analizzati nel più breve tempo possibile, comunque non oltre le 24 ore dal momento del campionamento. Qualora i campioni non vengano analizzati subito dovranno essere riposti nel frigo basso che si trova nel laboratorio microbiologico delle acque (stanza in cui viene filtrato il campione) ed è individuato con il n° 29.

Per le procedure analitiche - All. n°1

Nel caso di controllo fiscale le procedure analitiche saranno avviate come da comunicazione riportata nel verbale di prelievo anche in assenza del perito o del rappresentante legale di parte; l'inizio delle procedure analitiche può essere concordato con la parte interessata e comunque non può essere ritardata oltre le 24 ore dal campionamento. Verrà compilato un verbale di apertura che dovrà essere sottoscritto dal dirigente responsabile o dal dirigente vice responsabile delle procedure analitiche del L.S.P. e della parte interessata.

Il campione prima di essere analizzato viene riportato a temperatura ambiente.

I terreni in piastra vengono custoditi in un frigo ubicato nel laboratorio microbiologico delle acque ed individuato con il n° 28.

Le piastre, seminate, sono identificate sul bordo laterale:

- ❖ con il numero di protocollo assegnato al momento dell'accettazione e riportato sul foglio di lavoro;
- ❖ la data di inizio prova;


quindi vengono incubate in termostati a temperatura controllata.

Il termostato n° 9 è regolato alla temperatura di  $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ ,

Il termostato n° 10 è regolato alla temperatura di  $44\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ,

I campioni saranno custoditi sino a fine prova in un frigorifero identificato con il n° 29 (Materiali di saggio in corso di prova), allocato nella stanza dei termostati.

Si procede alla lettura delle piastre secondo le procedure indicate dalle norme .

	Dipartimento della prevenzione <b>Laboratorio di Sanità Pubblica</b>		<b>Procedura Operativa di sistema</b> delle acque di balneazione	
Sigla di identificazione PO - 01 Acqua balneazione	Rev. nr.: 01	Data: 20.06.2020	Pag.: 07 di 11	Alleg. gen.: 02

Tutti i risultati vengono riportati sul foglio di lavoro dove viene anche annotata la data di fine prova.

### 6.5 *Rapporto di prova:*

Il foglio di lavoro ed il verbale di prelievo, ultimato il percorso in laboratorio, vengono trasferiti al personale amministrativo che provvede alla predisposizione del

### **Rapporto di Prova.**

Il rapporto di prova (RP) rispetta nella forma, la norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2005 “Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e taratura” e contiene:

- ❖ titolo
- ❖ nome ed indirizzo del laboratorio
- ❖ il numero di RP (..... /anno emissione), che lo individua in modo univoco ed una identificazione su ogni pagina (pag. 1 di...)
- ❖ la storia del campione, dal ricevimento alla consegna dei risultati con il nome e l'indirizzo del cliente
- ❖ i risultati di prova con le relative unità di misure
- ❖ dichiarazione circa l'incertezza di misura stimata che viene espressa nelle stesse unità di misura del risultato di prova. Per calcolare i limiti dell'intervallo di confidenza, a livello di probabilità del 95% e per bassi conteggi (Max 15 colonie) si utilizzano due tabelle (allegate): una per il conteggio effettuato su una capsula di Petri, l'altra per conteggio effettuato su due capsule di Petri. I dati riportati sulle tabelle sono ripresi dalla norma ISO 7218:1996/2007. Se il numero di colonie supera le 15 unità per calcolare l'intervallo di confidenza: Su una piastra  $I = C \pm 1,4 \cdot \sqrt{C}$ ; Su due piastre  $I = C_m \pm 1,4 \cdot \sqrt{C_m}$  (I= intervallo di confidenza; C= colonie; C<sub>m</sub>= media delle 2 piastre;)
- ❖ l'identificazione del metodo utilizzato comprendente sigla, numero ed anno di edizione (per i metodi interni deve essere riportato l'indice di revisione)
- ❖ i limiti di legge o di specifica – se esistenti ed applicabili – e relative fonti

	Dipartimento della prevenzione <b>Laboratorio di Sanità Pubblica</b>		<b>Procedura Operativa di sistema</b> delle acque di balneazione	
Sigla di identificazione 08 – PO – 02 Acqua d. c. u.	Rev. nr.: 01	Data: 20.06.2020	Pag.: 08 di 11	Alleg. gen.: 02

- ❖ le annotazioni; l’annotazione “prova non accreditata” è d’obbligo quando il rapporto elenca, tra le prove effettuate anche le prove che non lo sono. E’ opportuno segnalare che in generale i laboratori di prova tra le centinaia di prove effettuabili ne accreditano un numero limitato di solito scegliendo tra quelle più significative per la loro attività: questo per motivi di natura gestionale ed economica.
- ❖ se appropriato e necessario pareri, interpretazioni, giudizi.
- ❖ il rapporto di prova deve essere convalidato dalla firma del responsabile delle procedure analitiche in assenza da chi ha condotto a termine l’esame e dal responsabile del laboratorio
- ❖ una dichiarazione attestante l’effetto che i risultati si riferiscono solo agli oggetti provati
- ❖ una dichiarazione che il RP non deve essere riprodotto anche parzialmente senza l’approvazione scritta del laboratorio

## 6.6 *Trasmissione esito ed archiviazione:*

Il RP viene emesso in forma cartacea e soddisfa le prescrizioni della norma ISO/IEC 17025:2005

- ❖ In caso di esito non conforme, la cui richiesta giunge dal SIAN, si da immediata comunicazione, via Fax al Sindaco del Comune interessato ed al responsabile dell’U.O. Periferica del SIAN; nel caso di esito conforme, copia del RP viene settimanalmente spedita, via posta interna, al SIAN, Viale Giostra, ex Ospedale Psichiatrico - Messina -
- ❖ Nel caso in cui la richiesta pervenga da altro Ente o da privato si consegna il RP al termine dell’esame.



	Dipartimento della prevenzione <b>Laboratorio di Sanità Pubblica</b>		<b>Procedura Operativa di sistema</b> delle acque di balneazione	
Sigla di identificazione PO - 01 Acqua balneazione	Rev. nr.: 01	Data: 20.06.2020	Pag.: 9 di 11	Alleg. gen.: 06

Il rapporto di prova, unico ed in originale, viene custodito per un anno in segreteria quindi trasferito ed archiviato in un deposito sistemato per lo scopo nel riconoscimento del diritto del singolo sui dati personali e, nella disciplina delle diverse operazioni di gestione “trattamento” dei dati riguardanti la raccolta, l’elaborazione, il raffronto, la cancellazione, le modificazioni o la diffusione degli stessi in ottemperanza al D. L.vo 30 giugno 2003 n° 196.

In segreteria i RP vengono custoditi in carpettoni ordinati per mese e per numero progressivo di emissione.

- ❖ Sui carpettoni vengono indicati il mese e l’anno in cui i RP sono stati emessi
- ❖ I carpettoni vengono custoditi in un armadio con chiusura a chiave a cui accede il responsabile dell’amministrazione ed il personale che si occupa della sezione “acqua di balneazione”.
- ❖ Copia conforme all’originale può essere emessa previa autorizzazione della direzione.

	Dipartimento della prevenzione <b>Laboratorio di Sanità Pubblica</b>		<b>Procedura Operativa di sistema</b> delle acque di balneazione	
Sigla di identificazione PO - 01 Acqua balneazione	Rev. nr.: 01	Data: 20.06.2020	Pag.: 10 di 11	Alleg. gen.: 02

ALL. I

### Procedure analitiche (esami batteriologici)

#### Parametro

#### Metodo di Riferimento

- ❖ ***Escherichia coli*** ----- **UNI EN ISO 9308-1:2002**: la norma descrive un metodo di riferimento per la ricerca e l'enumerazione di escherichia-coli e batteri coliformi nell'acqua destinata a c.u. il metodo è basato sulla filtrazione su membrana e consiste di due parti: 1) la prova normalizzata di riferimento; 2) la prova rapida opzionale (da noi utilizzata).
- ❖ **Enterococchi** ----- **UNI EN ISO 7899-2:2003**: la norma specifica un metodo per la ricerca e l'enumerazione degli enterococchi intestinali in acqua mediante la tecnica di filtrazione su membrana.



	Dipartimento della prevenzione <b>Laboratorio di Sanità Pubblica</b>		<b>Procedura Operativa di sistema</b> delle acque di balneazione	
Sigla di identificazione PO - 01 Acqua balneazione	Rev. nr.: 01	Data: 20.06.2020	Pag.: 11 di 11	Alleg. gen.: 02

ALL. II

### **Parametri da analizzare**

❖ *Controllo di routine (Batteriologico)*

- *Escherichia coli (E. coli)*
- Enterococchi