

**ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ**

**Requisiti organizzativi e tecnici  
dei laboratori di verifica della conformità  
della qualità delle acque**

Massimo Ottaviani, Lucia Bonadonna, Luca Lucentini, Paola Pettine  
*Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria*

ISSN 1123-3117  
**Rapporti ISTISAN**  
**08/18**

Istituto Superiore di Sanità

**Requisiti organizzativi e tecnici dei laboratori di verifica della conformità della qualità delle acque.**

Massimo Ottaviani, Lucia Bonadonna, Luca Lucentini, Paola Pettine

2008, vi, 20 p. Rapporti ISTISAN 08/18

Il rapporto integra la serie di volumi dedicata ai metodi microbiologici (*Rapporti ISTISAN 07/5*) e ai metodi chimici (*Rapporti ISTISAN 07/31*) per il controllo delle acque destinate al consumo umano ai sensi del DL.vo 31/2001 (recepimento della Direttiva Europea 98/83/CE) e successive modifiche e integrazioni. Nel volume sono presentate le linee guida sui requisiti gestionali e tecnici dei laboratori che eseguono i controlli interni ed esterni per la determinazione dei parametri microbiologici e chimici previsti dal decreto anche tenendo conto dei criteri della norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025.

*Parole chiave:* Acque destinate al consumo umano, Laboratori, Metodi

Istituto Superiore di Sanità

**Management and technical requirements for laboratories in charge of water monitoring.**

Massimo Ottaviani, Lucia Bonadonna, Luca Lucentini, Paola Pettine

2008, vi, 20 p. Rapporti ISTISAN 08/18 (in Italian)

This report completes the series of volumes focused on microbiological (*Rapporti ISTISAN 07/5*) and chemical methods (*Rapporti ISTISAN 07/31*) for the monitoring of water intended for human consumption according to the Italian Legislative Decree 31/2001 (transposition of European Directive 98/83/EC) and its integrations. The guidelines here presented concern management and technical requirements for laboratories in charge of testing parameters required by the Decree also taking into account the criteria stated by the standard UNI CEI EN ISO/IEC 17025.

*Key words:* Laboratories, Methods, Water intended for human consumption

Per informazioni su questo documento rivolgersi a: massimo.ottaviani@iss.it.

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: [www.iss.it](http://www.iss.it).

Citare questo documento come segue:

Ottaviani M, Bonadonna L, Lucentini L, Pettine P. *Requisiti organizzativi e tecnici dei laboratori di verifica della conformità della qualità delle acque*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2008. (Rapporti ISTISAN 08/18)

---

Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità e Direttore responsabile: *Enrico Garaci*  
Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Redazione: *Paola De Castro, Sara Modigliani e Sandra Salinetti*  
La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.

© Istituto Superiore di Sanità 2008

# INDICE

<b>Lista degli acronimi</b> .....	iii
<b>Introduzione</b> .....	v
<b>1. Requisiti di carattere generale</b> .....	1
1.1. Organizzazione e personale del laboratorio.....	1
1.2. Sezioni analitiche.....	1
1.3. Metodi.....	2
1.4. Rapporti di prova.....	3
1.5. RegISTRAZIONI.....	3
<b>2. Requisiti per analisi microbiologiche</b> .....	4
2.1. Personale.....	5
2.2. Sicurezza.....	6
2.3. Documenti del laboratorio.....	7
2.4. Metodi utilizzati dal laboratorio.....	8
2.5. Caratteristiche dei metodi microbiologici.....	9
2.6. Controllo di qualità.....	11
<b>3. Requisiti per analisi chimico-fisiche e chimiche</b> .....	13
3.1. Personale.....	13
3.2. Sicurezza.....	14
3.3. Gestione ed utilizzo delle apparecchiature.....	15
3.4. Test sensoriali e metodi analitici classici.....	16
3.4.1. Determinazione dell'odore.....	16
3.4.2. Determinazione della temperatura.....	16
3.4.3. Determinazione del pH.....	16
3.4.4. Metodi conduttimetrici.....	16
3.4.5. Metodi titrimetrici.....	17
3.4.6. Metodi gravimetrici.....	17
3.4.7. Metodi immunoenzimatici.....	17
3.4.8. Metodi spettrofotometrici UV/VIS.....	17
3.4.9. Determinazione del TOC.....	17
3.5. Tecniche cromatografiche.....	17
3.5.1. Metodi GC e GC-MS.....	18
3.5.2. Metodi HPLC e HPLC-MS.....	18
3.6. Tecniche spettrofotometriche.....	18
3.6.1. Metodi AAS.....	18
3.6.2. Metodi ICP.....	19
<b>Bibliografia di riferimento</b> .....	20



## LISTA DEGLI ACRONIMI

<b>AA</b>	Assorbimento Atomico
<b>CQ</b>	Controllo della Qualità analitica
<b>GC</b>	<i>Gas Chromatography</i> (gascromatografia)
<b>HPLC</b>	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> (cromatografia liquida ad alte prestazioni)
<b>IC</b>	<i>Ion Chromatography</i> (cromatografia ionica)
<b>ICP</b>	<i>Inductively Coupled Plasma</i> (induzione con sorgente al plasma)
<b>IPA</b>	Idrocarburi Policiclici Aromatici
<b>MPN</b>	<i>Most Probable Number</i> (numero più probabile)
<b>MR</b>	Materiali di Riferimento
<b>MRC</b>	Materiali di Riferimento Certificati
<b>MS</b>	<i>Mass Spectrometry</i> (spettrometria di massa)
<b>TOC</b>	<i>Total Organic Carbon</i> (carbonio organico totale)
<b>UPS</b>	<i>Uninterruptible Power Supply</i>



## PREMESSA

La Direttiva 98/83/CE, recepita in Italia con il DL.vo 2 febbraio 2001 n. 31 e successive modifiche e integrazioni (DL.vo 2 febbraio 2002 n. 27), stabilisce le caratteristiche di qualità essenziali per tutte le acque, trattate o non trattate, destinate a uso potabile o per la preparazione di alimenti in ambito domestico e tutte le acque utilizzate in imprese alimentari per la fabbricazione, il trattamento, la conservazione o l'immissione sul mercato di prodotti o sostanze destinate al consumo umano.

Il decreto ha introdotto alcuni aspetti di sostanziale innovazione nel quadro della protezione della salute umana dagli effetti negativi derivanti dalla contaminazione delle acque fissando, come criterio base per il controllo, l'osservanza di una serie di parametri di rilevanza sanitaria (allegato I parte A e B) e di altri parametri "indicatori" di variazioni anomale della qualità dell'acqua (allegato I parte C).

Tra gli elementi salienti dell'attuale quadro normativo figurano, in primo luogo, l'adozione di un sistema di prevenzione dei rischi basato su procedure standardizzate, l'esecuzione dei controlli analitici anche al punto d'uso (rubinetto di utenza), l'introduzione del giudizio di deroga per i parametri chimici ed il riconoscimento del diritto del consumatore ad essere informato in modo adeguato e tempestivo sulla qualità dell'acqua. Nello stesso quadro, al fine di garantire l'idoneità dei dati analitici alle finalità del monitoraggio e alla stima dell'esposizione, e per assicurare l'affidabilità e la comparabilità dei risultati nell'ambito dei controlli interni ed esterni, sono previsti l'utilizzo di metodi analitici di riferimento e l'adozione di procedure di controllo analitico della qualità.

In tale contesto, e in linea di continuità con i lavori intrapresi nell'ambito dell'ex Comitato Permanente di Studio sulle acque presso il Ministero della Salute (ex art 9, DM 26 marzo 1991) e della 2a Sottocommissione di Studio "Metodi analitici", questo Istituto ha predisposto, ai sensi dell'art. 11, comma 1, lettera d) del DL.vo 31 del 2001, i metodi di analisi di riferimento da impiegare per i controlli sulla qualità delle acque destinate al consumo umano ai sensi della vigente normativa. Nell'ambito di tale mandato sono stati realizzati due volumi che raccolgono le procedure e i metodi microbiologici e chimici di riferimento, rispettivamente nei Rapporti ISTISAN 07/5 e 07/31, per l'attuazione delle attività analitiche di controllo della qualità delle acque destinate al consumo umano.

In linea con quanto sinora realizzato, le indicazioni contenute nel presente rapporto si riferiscono ai laboratori che effettuano controlli analitici microbiologici e chimici di carattere interno ed esterno, per verificare la conformità della qualità delle acque ai sensi del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31, definendone i requisiti minimi strutturali, organizzativi e tecnici al fine di armonizzare i criteri di controllo e garantire un livello di competenza ed affidabilità adeguato alle finalità delle attività analitiche ed alla tutela della salute pubblica.

Il presente rapporto si basa sul documento predisposto dall'Istituto Superiore di Sanità, esaminato dal gruppo di lavoro istituito in seno al Consiglio Superiore di Sanità ed approvato dal Consiglio Superiore di Sanità nella seduta del 20 aprile 2005.

L'adeguatezza dei laboratori ai requisiti indicati in questo documento deve essere pertanto dimostrata ai fini dell'idoneità del laboratorio ad operare i controlli previsti dal DL.vo 31/2001.

La prima sezione riporta i requisiti minimi di carattere generale applicabili a tutti i laboratori che eseguono analisi chimiche e microbiologiche dell'acqua destinata al consumo umano utilizzando i metodi di riferimento, ai sensi del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31. Le sezioni seguenti riportano i requisiti specifici per le differenti tipologie di controlli microbiologici e chimici.

È opportuno precisare che, sebbene ai laboratori che effettuano analisi delle acque destinate al consumo umano non venga, allo stato attuale, esplicitamente richiesta dalla Direttiva 98/83/CE, e dal decreto nazionale di recepimento, la conformità alla norma europea UNI CEI EN ISO/IEC 17025: 2005, le indicazioni contenute nel presente documento, che si riferiscono ad alcuni requisiti organizzativi e tecnici minimali per i laboratori, possono considerarsi propedeutiche all'adeguamento di un laboratorio che si prefigga la conformità alla norma, obiettivo in ogni caso auspicabile.

L'introduzione dell'obbligo di conformità alla norma europea UNI CEI EN ISO/IEC 17025: 2005 è, d'altra parte, contenuto in una direttiva di prossima emanazione – attualmente allo stato di bozza finalizzata – che stabilisce le specifiche tecniche per i laboratori che effettuano analisi chimiche e monitoraggio dello stato delle acque nell'ambito della direttiva 2000/60/CE del 23 ottobre 2000 che istituisce un quadro per l'azione comunitaria in materia di acque.

Alla elaborazione del presente rapporto hanno collaborato, per le parti di propria competenza, i seguenti esperti, del *Reparto Igiene delle Acque Interne, Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria*, di questo Istituto: L. Achene, R. Briancesco, G. Citti, S. Della Libera, G. Donati, E. Ferretti, D. Maresca, M. Semproni, E. Veschetti. Si ringraziano inoltre per il contributo apportato M. Chirico, S. De Angelis, C. Lucia, S. Moretti dello stesso reparto.

Massimo Ottaviani  
*Coordinatore della II Sottocommissione  
di Studio "Metodi analitici"  
del Comitato Permanente di Studio*

# 1. REQUISITI DI CARATTERE GENERALE

## 1.1. Organizzazione e personale del laboratorio

Dal punto di vista generale, indipendentemente dalla struttura e dalle dimensioni del laboratorio, devono essere definite l'identità giuridica ed il responsabile del laboratorio e deve essere assicurata l'imparzialità e la competenza della direzione e del personale coinvolto nei controlli.

Il personale amministrativo e tecnico deve essere adeguato alla tipologia e al volume dei controlli effettuati.

Oltre alla Direzione del laboratorio, all'interno del laboratorio devono essere definite almeno le funzioni e responsabilità relative agli aspetti seguenti:

- *Settore tecnico-amministrativo*  
gestione dei campioni, dei materiali e delle procedure amministrative relative alle analisi fino alla redazione dei rapporti di prova.
- *Settore/i analitico/i*  
conduzione degli accertamenti analitici ed attività correlate.

Le funzioni e responsabilità devono essere definite al fine di garantire la rintracciabilità di ogni elemento significativo sulla qualità del dato prodotto, considerando un flusso di lavoro all'interno del laboratorio delineato secondo il seguente schema:

### 1. *Campionamento:*

- prelievo e trasporto del campione fino al laboratorio;
- registrazione delle operazioni di campionamento e gestione della documentazione.

### 2. *Gestione del campione e della relativa documentazione:*

- ricezione del campione e documentazione con verifica della congruità;
- identificazione del campione ed eventuale suddivisione in aliquote;
- conservazione del campione/aliquote e trasferimento ai reparti analitici del laboratorio e ove applicabile, ad altri laboratori.

### 3. *Accertamenti analitici:*

- gestione del campione e della documentazione all'interno del reparto analitico;
- accertamenti analitici sui campioni ed attività correlate alle analisi, compresi la taratura, la validazione dei metodi ed il controllo di qualità.

### 4. *Gestione dei rapporti di prova, pareri ed attività correlate alle analisi:*

- redazione del rapporto di prova e, ove applicabile, emissione di parere di conformità;
- archiviazione e alienazione di campioni e documentazione;
- contatti con altri enti anche per la risoluzione di non conformità di campioni, documentazioni, o trasmissione di atti.

## 1.2. Sezioni analitiche

Nell'ambito delle sezioni analitiche, più o meno complesse a secondo del campo di attività del laboratorio, vengono svolte le funzioni relative alla gestione dei campioni oggetto di

indagine, degli accertamenti analitici su di essi e delle attività a questi strettamente correlate, compresa la gestione dei materiali di laboratorio (standard, reagenti, ecc.) ed i controlli di qualità.

I laboratori che svolgono attività analitiche relative anche a matrici differenti dalle acque destinate a consumo umano devono garantire una adeguata separazione tra le aree di lavoro e nella gestione dei campioni per l'intero iter analitico, tale da escludere possibilità di commistioni o contaminazioni.

Le condizioni ambientali all'interno delle sezioni analitiche devono risultare adeguate alla corretta conservazione e preparazione dei campioni ed allo svolgimento delle determinazioni analitiche, assicurando la regolare funzionalità delle strumentazioni nonché la sicurezza ed il comfort degli operatori.

A tal fine, fatti salvi requisiti specifici per le differenti tipologie di controlli all'interno delle sezioni analitiche deve essere assicurata l'esistenza di aree, adeguatamente separate, sottoposte ad accesso controllato e disposte secondo un razionale flusso di lavoro, relative alle seguenti attività:

- conservazione dei campioni, con dotazione di frigoriferi, congelatori e locali a temperatura ambiente, in condizioni di sicurezza;
- pesata su bilance in ambiente controllato;
- preparazione campioni;
- gestione dei reagenti e dei materiali;
- trattamento e condizionamento della vetreria;
- sterilizzazione;
- determinazioni analitiche e strumentali;
- gestione di rifiuti e reflui;

Gli ambienti per lo svolgimento delle attività tecnico-analitiche devono essere provvisti di:

- banchi di lavoro resistenti ad agenti aggressivi e solventi;
- cappe di aspirazione di idonea portata, dimensionate in funzione dei volumi di attività;
- armadi per il contenimento dei reattivi infiammabili e nocivi;
- armadi per lo stoccaggio della vetreria e dei reagenti;
- armadi idonei a garantire lo stoccaggio in sicurezza del materiale cartaceo relativo a: dati grezzi, metodi di analisi, manuali d'uso e di gestione delle apparecchiature, manuali della sicurezza, documenti relativi al controllo qualità;
- ambienti spogliatoio, dotati di armadi in numero adeguato.

## 1.3. Metodi

Per i controlli analitici relativi alle attività di controllo previsti dal DL.vo 31/2001 sono da utilizzare i metodi analitici di riferimento emanati dal Reparto di Igiene delle Acque Interne del Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria.

Si raccomanda l'adozione da parte del laboratorio dell'ultima revisione dei metodi. L'edizione delle procedure e metodi microbiologici e chimici di riferimento, rispettivamente nei *Rapporti ISTISAN 07/5* e *07/31* costituisce, l'ultima versione valida per i controlli interni ed esterni disposti dal DL.vo 31/2001 (art. 11, comma d) e successive modifiche e integrazioni, e secondo quanto previsto al punto 5.4.2 della norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025: 2005. La revisione di alcuni metodi, anticipata con la pubblicazione sul sito web dell'Istituto Superiore di Sanità - come è comune prassi a livello internazionale - è prevista su base periodica mediante il lavoro dei gruppi della 2a Sottocommissione di Studio "Metodi analitici".

L'adozione da parte dei laboratori di tecniche analitiche o metodi diversi dai metodi di riferimento è comunque possibile rispettando quanto previsto in allegato III, punto 2.1 del DL.vo 31/2001. La verifica dei metodi alternativi, effettuata da questo Istituto, è basata, in particolare, sul rispetto delle caratteristiche di prestazione specificate nello stesso allegato.

Per l'individuazione di metodi microbiologici alternativi è necessario fare riferimento a quanto riportato al punto 2.4 del presente documento.

## 1.4. Rapporti di prova

Devono includere almeno le seguenti indicazioni:

- intestazione con dati identificativi del Laboratorio;
- identificazione univoca del rapporto;
- identificazione del committente, del metodo e del campione;
- data di ricevimento del campione e data di emissione del rapporto di prova;
- risultati delle determinazioni analitiche che, indipendentemente dalla sensibilità del metodo di analisi utilizzato devono essere espressi secondo le unità di misura indicate nel DL.vo 31/2001 ed indicando lo stesso numero di decimali usato per il valore di parametro di cui all'Allegato I, parti B e C dello stesso decreto;
- eventuali pareri di conformità del campione;
- firma del responsabile dell'emissione del rapporto di prova.

## 1.5. RegISTRAZIONI

Devono essere mantenute registrazioni (almeno 5 anni) su supporto informatico e/o cartaceo con duplicati di sicurezza, inerenti almeno:

- registrazione dei campioni in ingresso e trasmissione dei dati;
- registrazioni complete dell'iter analitico per i diversi campioni oggetto di indagine;
- registrazione dei dati grezzi relativi all'iter analitico e al controllo di qualità interno e/o esterno;
- gestione dei materiali;
- conferimento rifiuti;
- manuali d'uso e manutenzione delle apparecchiature, registri della apparecchiature corredate dalle relative schede di manutenzione ordinaria e straordinaria;
- raccolta metodi e procedure.

Il laboratorio deve dimostrare la riferibilità delle misure anche attraverso l'utilizzo di Materiali di Riferimento Certificati (MRC) e di Materiali di Riferimento (MR).

## 2. REQUISITI PER ANALISI MICROBIOLOGICHE

Lo svolgimento di analisi microbiologiche mirate alla determinazione di entità microbiche è soggetto a condizioni di variabilità che possono derivare da fattori interni, vale a dire, attribuibili al processo di sviluppo e crescita dei microrganismi e al modello di calcolo utilizzato per stimare la dispersione “possibile ed accettabile” dei microrganismi nel campione sottoposto ad esame, ed a fattori esterni, dovuti a condizioni contingenti, quali l’ambiente di lavoro, le attrezzature e i materiali, la tecnica analitica, il personale, ecc. Ogni tipo di fattore, singolarmente, in sinergia o in antagonismo, può concorrere alla variabilità complessiva del risultato sperimentale e la sua influenza deve essere tenuta sotto controllo con modalità definite dal laboratorio valutando il livello del suo contributo all’incertezza generale del risultato di prova rispetto al livello di probabilità ritenuto accettabile.

La complessità del processo analitico microbiologico è schematizzata in Figura 1.

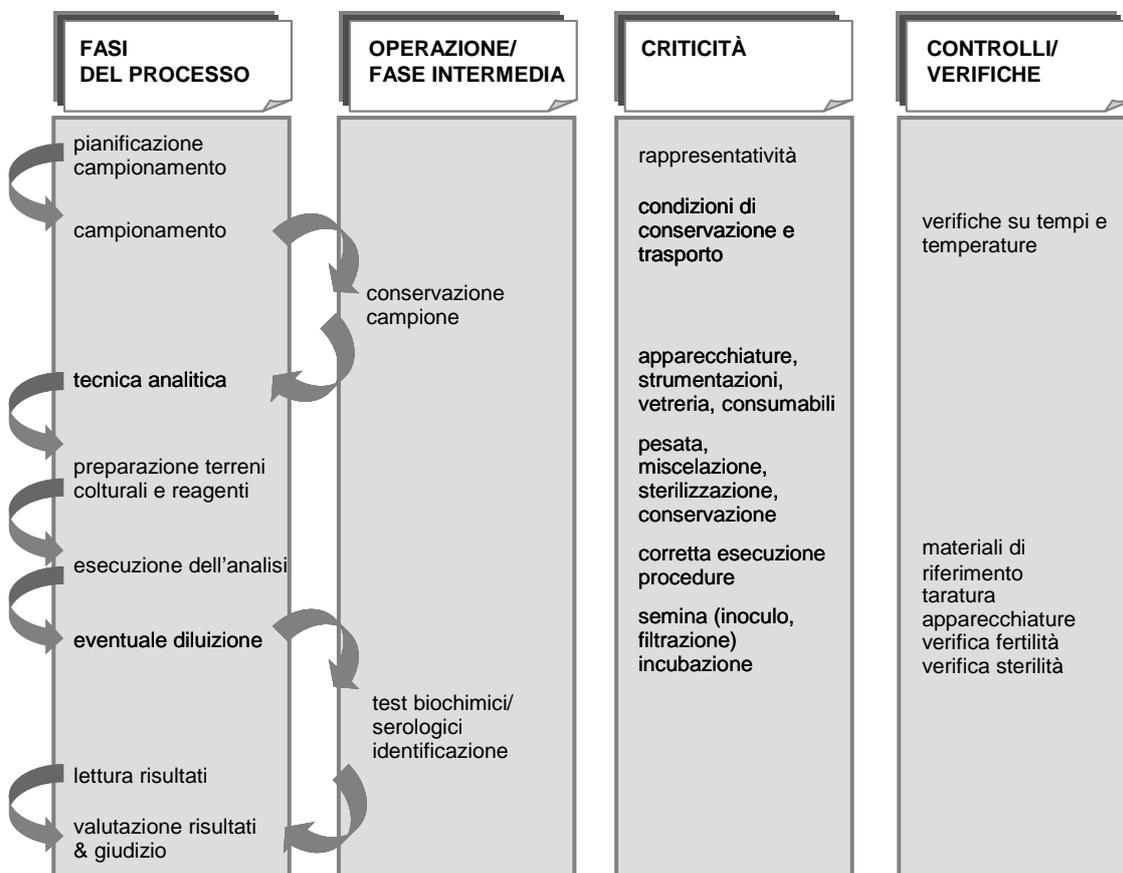


Figura 1. Descrizione delle diverse fasi di un processo microbiologico

Alle attività specifiche che si svolgono nel corso del processo vanno aggiunte le funzioni esercitate dal personale addestrato ed abilitato all’esecuzione delle analisi e tutte le attività di supporto.

I requisiti di seguito richiamati devono integrare gli altri aspetti di carattere funzionale ed organizzativo di tipo generale indicati nella sezione precedente e tutti gli altri requisiti previsti nei metodi analitici specifici.

Per un laboratorio che esegue controlli analitici sulla base di disposizioni di legge, l'obiettivo fondamentale deve essere quello di fornire risultati affidabili. È quindi necessario predisporre procedure che assicurino:

- la determinazione degli obiettivi, a lungo e breve termine;
- la definizione di misure per garantire la qualità dei risultati;
- l'organizzazione e la gestione del personale;
- la supervisione della prestazione tecnica;
- la possibilità di valutare le procedure e il personale;
- la possibilità di risoluzione nel caso di difformità e deviazioni dalla norma.

## 2.1. Personale

Nelle prove microbiologiche l'attività dell'operatore è sicuramente uno dei principali fattori critici da tenere sotto controllo in quanto fattore unificante dell'intero processo analitico. L'operatore tecnico riassume in sé due fasi importanti del processo di indagine, quella preparativa e quella strumentale-esecutiva ed è colui che svolge diversi compiti ed esegue varie fasi di prova:

- campionamento;
- conservazione del campione;
- preparazione e manipolazione dei terreni colturali;
- conservazione, preparazione delle eventuali diluizioni, inoculo del campione e
- incubazione.

Il laboratorio, in relazione al personale al quale è affidato il compito di eseguire le prove deve, quindi, sia fornire evidenza oggettiva della capacità operativa dell'analista mediante predisposizione di una opportuna documentazione che comprovi l'addestramento fornito, sia garantire, nel tempo, il mantenimento della capacità operativa conseguita.

Il personale facente parte del laboratorio deve quindi essere inserito in un organigramma dove deve essere specificato, per ognuno, il ruolo e i compiti nell'attività lavorativa quotidiana; inoltre, è opportuno vengano definiti i criteri di gestione e di responsabilità e le relazioni esistenti con altre unità o settori del laboratorio. È importante che tutto il personale conosca i limiti delle proprie responsabilità e della propria competenza e che sappia a chi poterle delegare.

Viene proposto di seguito un prospetto per il raggruppamento dei compiti in relazione al livello di competenze e di formazione del personale del laboratorio:

- personale per attività di pulizia e disinfezione delle attrezzature e della vetreria, igiene del laboratorio;
- personale per la preparazione dei terreni colturali e il trattamento dei campioni che dovrebbe aver seguito almeno una formazione sul posto di lavoro;
- personale con esperienza, formazione sufficiente e conoscenza dei requisiti di sicurezza che può anche essere incaricato di semplici operazioni analitiche;
- personale con qualificazioni tecniche di base e con addestramento specifico per esami di routine conformi alle procedure standardizzate;
- personale per lo svolgimento di esami più complessi con qualifiche di tecnico di laboratorio o qualifiche tecniche complete.

Tra i componenti del personale devono essere individuati coloro che sono autorizzati ad eseguire prove specifiche e ad utilizzare particolari tipi di attrezzature. Dovrebbe quindi essere mantenuto sempre aggiornato un documento con l'indicazione della competenza, delle qualifiche accademiche e professionali, della formazione e dell'esperienza pertinenti per tutti i dipendenti incaricati degli esami microbiologici.

Attività di formazione svolte nel laboratorio possono permettere di acquisire competenza e conoscenza delle procedure interne. Quando opportuno, deve essere favorita la rotazione del personale nei diversi settori del laboratorio in modo da fare acquisire conoscenza ed esperienza su tutte le procedure relative allo specifico livello di competenza e di formazione. Seguendo questa pratica potrà essere assicurata la sostituzione del personale assente o l'intervento di personale aggiuntivo in caso di un imprevisto incremento del lavoro.

La valutazione continua delle prestazioni del personale è un elemento essenziale per mantenere un livello di qualità adeguato nelle attività di laboratorio. L'obiettivo principale è di migliorare la prestazione del lavoro, ma la valutazione può anche servire a motivare il personale e a riconoscere il momento in cui è necessario organizzare corsi di formazione e aggiornamento per il personale anche per favorire il miglioramento delle capacità operative e dell'efficienza dei singoli membri dell'organico.

Alla fine del periodo di formazione, la competenza acquisita dovrebbe essere verificata dal responsabile del laboratorio anche nell'ottica di una eventuale revisione del programma di formazione.

## 2.2. Sicurezza

Per garantire la sicurezza dell'ambiente di lavoro in un laboratorio di microbiologia è necessario sia attivare un sistema di vigilanza preventiva per evitare la diffusione di infezioni, sia ridurre al minimo il rischio di incidenti ed eliminare la possibilità la contaminazione dei campioni che devono essere sottoposti ad esame.

Le procedure di sicurezza dovranno essere ben definite e documentate e dovrà essere nominato un responsabile della sicurezza. Tutto il personale dovrà conoscere le procedure da mettere in atto in caso di incidente, sapere a chi rivolgersi e come operare in condizioni di emergenza. È necessario stilare protocolli operativi da adottare in caso di incidenti di diversa gravità e in diverse condizioni di rischio ed occorre poter disporre di materiali, attrezzature, indumenti protettivi (camici, guanti, maschere facciali, occhiali), e di prodotti chimici disinfettanti e neutralizzanti (kit di soccorso) da usare in caso di dispersione di liquidi di natura sia microbiologica, sia chimica.

Il personale dovrebbe essere a conoscenza della necessità di avere mezzi di contenimento per gruppi particolari di organismi in base al rischio biologico e dovrebbe apprendere le procedure da rispettare nell'uso di tali mezzi e dei limiti di accesso. Dovrebbero essere quindi definiti protocolli scritti per ogni livello di contenimento in relazione alla classificazione del rischio biologico del gruppo particolare di agenti patogeni a cui si potrebbe essere potenzialmente esposti. È d'uopo ricordare che la maggior parte degli esami microbiologici di routine per l'acqua vengono svolti con microrganismi del Gruppo di Rischio 2 (rischio individuale moderato, basso rischio per la comunità), salvo che l'esame non miri a isolare organismi di una classe più alta di rischio biologico (es. Gruppo di Rischio 3, rischio individuale alto, basso rischio per la comunità, o addirittura Gruppo di Rischio 4).

A intervalli stabiliti, dovrebbero essere eseguiti controlli sulla sicurezza, interni ed esterni e a tutto il personale dovrebbe essere chiara l'importanza del rispetto del codice di sicurezza del laboratorio. Gli obiettivi principali di un programma di protezione riguardano la protezione e la

sicurezza del personale, ma anche la protezione del prodotto per garantire la produzione di risultati analitici validi e affidabili.

Ogni laboratorio dovrebbe inoltre avere piani di intervento scritti per quanto riguarda l'eventualità di sviluppo di incendio e per tutto il personale dovrebbe essere previsto un addestramento antincendio annuale. I dispositivi di sicurezza che includono estintori e manichette antincendio, devono comunque essere verificati regolarmente per garantirne il buon funzionamento e il corretto posizionamento.

Gli obblighi principali relativi alla sicurezza nei laboratorio sono quelli relativi a:

- accesso al laboratorio esclusivamente riservato alle persone autorizzate;
- uso di camici da laboratorio all'interno dell'area di lavoro;
- uso di camici da laboratorio e di altri indumenti protettivi esclusivamente nell'area del laboratorio, evitando soprattutto di indossarli in zone pubbliche o dove si consumano pasti;
- uso di dispositivi di protezione supplementari individuali (guanti, occhiali, maschere, ecc.) ove richiesti da attività specifica;
- chiusura di finestre e porte durante il lavoro;
- uso di dispositivi appositi per pipettare, evitando di svolgere l'operazione con la bocca;
- divieto di mangiare, bere o fumare all'interno dell'area del laboratorio;
- uso di disinfettanti per la pulizia dei banconi, pulendo almeno una volta al giorno e secondo le specifiche circostanze;
- divieto di produzione di aerosol durante la manipolazione di microrganismi;
- uso di procedure di disinfezione/sterilizzazione efficiente dei rifiuti e della vetreria del laboratorio prima della pulizia, riutilizzo o eliminazione;
- uso di precise procedure per il trasporto dei materiali contaminati (colture, terreni di coltura, rifiuti) in contenitori stagni sigillati;
- divieto di produrre correnti d'aria nell'area del laboratorio;
- uso corretto di cappe chimiche, aree per gli inoculi e cappe a flusso laminare;
- uso di armadi di sicurezza per conservare prodotti chimici, reattivi e substrati per microbiologia;
- uso di procedure di manutenzione periodica programmata di apparecchiature quali cappe chimiche, cappe a flusso laminare, autoclavi;
- uso di contenitori specifici per lo smaltimento dei rifiuti infetti; uso di contenitori separati per gettare vetri rotti, aghi di laboratorio (siringhe, ecc.), solventi e altri rifiuti pericolosi.

## 2.3. Documenti del laboratorio

Ogni laboratorio deve elaborare manuali in cui vengono descritte le procedure analitiche da eseguire per l'esame dei diversi campioni. Inoltre, dovranno anche essere predisposte le procedure per l'attività di accettazione dei campioni in laboratorio, per l'uso delle attrezzature quotidiane e speciali, per la cura, la pulizia e la manutenzione di tali attrezzature e per le misure da adottare in caso di modifiche dalle normali operazioni di lavoro. Tutte le procedure operative dovranno essere facilmente accessibili al personale interessato.

I criteri per l'accettazione dei campioni da analizzare devono essere stabiliti dal laboratorio e, in linea di massima, possono seguire una procedura che descriva le varie fasi che si svolgono dal momento del ricevimento dei campioni in laboratorio.

Il contenitore in cui è stato raccolto il campione, e a cui è applicata l'etichetta riportante le informazioni previste nella procedura operativa di campionamento, deve essere consegnato,

all'arrivo in laboratorio, al personale amministrativo incaricato o direttamente all'ufficio accettazione dei campioni, corredato di verbale di prelievo. La consegna del campione deve essere formalizzata mediante la compilazione di un modulo di accettazione e i campioni consegnati al personale incaricato devono essere conservati immediatamente in condizioni refrigerate. Dopo avere conservato i campioni, il personale amministrativo incaricato dovrà compilare il foglio di lavoro in base alla tipologia di campione ed alle analisi che il laboratorio dovrà effettuare.

Successivamente, il foglio di lavoro e il campione devono essere consegnati al personale tecnico del laboratorio incaricato di eseguire le analisi in base alle informazioni riportate sul foglio di lavoro e secondo le tempistiche previste dai metodi utilizzati dal laboratorio.

## 2.4. Metodi utilizzati dal laboratorio

In linea di continuità con i lavori intrapresi nell'ambito dell'ex Comitato Permanente di Studio sulle acque presso il Ministero della Salute (ex art 9, DM 26 marzo 1991) e della 2a Sottocommissione di Studio "Metodi analitici", l'Istituto Superiore di Sanità ha predisposto, ai sensi dell'art. 11 del DL.vo 31 del 2001, i metodi di analisi di riferimento da impiegare per i controlli sulla qualità delle acque destinate al consumo umano ai sensi della vigente normativa. Nell'ambito di tale mandato, per i parametri microbiologici previsti dal decreto, è stato realizzato un volume (*Rapporti ISTISAN 07/5*) che raccoglie le procedure e i metodi microbiologici di riferimento per l'attuazione delle attività analitiche di controllo della qualità delle acque destinate al consumo umano. Il volume riporta i metodi analitici che si riferiscono a tutti i controlli previsti nell'Allegato I parte A e C e nell'Avvertenza e alcuni metodi utilizzabili per il monitoraggio di parametri addizionali ad oggi non regolamentati ma che possono rivestire un carattere di particolare interesse sanitario ed emergenza.

In considerazione dell'evoluzione tecnologica nel campo delle metodologie analitiche, accanto a metodiche basate su tecniche analitiche convenzionali, il volume include anche metodi che prevedono l'impiego di tecniche strumentali avanzate, quali metodi di immunofluorescenza e molecolari e metodi rapidi di nuova concezione, vantaggiosi in termini di produttività, precisione e riduzione dei tempi di risposta, criterio di particolare rilievo quando si tratti di acque destinate al consumo umano. In questo ambito sono stati inseriti come metodi di riferimento, anche metodi alternativi rispetto a quelli definiti nel DL.vo 31 del 2001 che sono stati selezionati sulla base di procedure di valutazione del confronto dell'equivalenza.

Infatti, l'art. 7 della Direttiva 98/83/CE stabilisce che possono essere utilizzati metodi microbiologici diversi da quelli specificati nell'Allegato III, Parte 1 (riportati nell'Allegato III, Parte 1 anche nel DL.vo 31/2001) se i valori, ottenuti confrontando in parallelo il metodo alternativo selezionato rispetto a quello di riferimento, forniscono risultati almeno equivalenti a quelli prodotti dal metodo di riferimento stabilito. Gli Stati Membri che decidono di ricorrere a metodi alternativi devono svolgere prove di comparazione e fornire alla Commissione Europea il protocollo di esame, la procedura, i dati ottenuti e la valutazione statistica eseguita per il calcolo dell'equivalenza tra i due metodi messi a confronto. La procedura e i calcoli da effettuare per valutare l'equivalenza tra metodi sono stabiliti nella norma UNI EN ISO 17994 del 2004.

I requisiti di base per procedere allo svolgimento di tale verifica sono quelli stabiliti dal gruppo tecnico che affianca la Commissione Europea e prevedono:

- selezione di un numero (minimo 6) significativo di laboratori distribuiti in un'ampia area territoriale e ripartiti in diverse zone geografiche;

- analisi di un numero congruo di campioni, inizialmente non meno di 50, ma comunque un numero che deve essere funzione delle tecniche utilizzate (es. MPN, metodi quantitativi o qualitativi) e della differenza media relativa ottenuta procedendo nella valutazione statistica;
- conferma di tutti i microrganismi bersaglio presuntivi ottenuti e di un numero congruo di organismi interferenti;
- calcolo statistico dei valori ottenuti, così come dettato dalla norma UNI EN ISO 17994, effettuato da un esperto di statistica.

Per la selezione e l'adozione di metodi microbiologici alternativi rispetto a quelli definiti dalla Direttiva 98/83/CE e dalla normativa nazionale di recepimento, dati ottenuti con procedure non conformi a quanto richiesto dalla direttiva stessa e non allineati a quanto previsto dalla norma del 2004, non rispettano i requisiti richiesti e quindi non sono utilizzabili per le analisi ufficiali richieste per valutare la qualità delle acque destinate al consumo umano.

## 2.5. Caratteristiche dei metodi microbiologici

I controlli analitici relativi alle attività di controllo previsti dal DL.vo 31/2001 devono essere eseguiti con i metodi analitici di riferimento emanati dal Reparto di Igiene delle Acque Interne del Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria. In questo ambito si raccomanda l'adozione da parte del laboratorio dell'ultima revisione delle procedure e dei metodi microbiologici di riferimento (Rapporti ISTISAN 07/5) che costituisce l'ultima versione valida per i controlli interni ed esterni disposti dal DL.vo 31/2001 e successive modifiche e integrazioni, e secondo quanto previsto al punto 5.4.2 della norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025: 2005.

In alcune specifiche circostanze, ai laboratori, al di fuori dell'uso e dell'applicazione di metodi di riferimento quali quelli previsti nei *Rapporti ISTISAN*, viene richiesta la caratterizzazione del metodo che deve essere quindi validato. Infatti, quando i laboratori fanno ricorso a metodi adottati/sviluppati dal laboratorio stesso, a metodi normalizzati ma utilizzati al di fuori dello specifico scopo e campo di applicazione o a metodi contenenti estensioni e modifiche di metodi normalizzati è considerabile indispensabile valutare che il metodo sia appropriato all'uso. Il processo di validazione ha l'obiettivo di dimostrare l'idoneità di utilizzo del metodo mediante la valutazione di tutti i parametri utili che ne caratterizzano le caratteristiche tecniche, l'applicabilità, le prestazioni analitiche, ecc. ed è una procedura che permette di confermare, attraverso l'esame e l'apporto di evidenza oggettiva, che, per l'utilizzazione prevista, i requisiti individuali del metodo siano soddisfatti.

Le caratteristiche di un metodo, in questo caso, devono essere definite in base a parametri tecnici (campo di applicazione, accuratezza, precisione, ecc.), ma anche in termini economici (disponibilità di adeguate risorse umane e strumentali, costi, tempi, ecc.). Quindi la validazione diventa una fase nella quale, a monte dell'applicazione del metodo, sono selezionati i requisiti a cui il metodo deve rispondere.

La definizione delle caratteristiche delle prestazioni di un metodo dovrebbe essere preceduta, a monte, dalla definizione di un intervallo operativo entro il quale esse risultino significative.

La validazione di un metodo microbiologico in ragione degli obiettivi a cui intende essere conforme può essere applicata in base a due livelli: i) validazione primaria, ii) validazione secondaria.

La validazione primaria è una procedura esplorativa per stabilire i limiti e le possibilità caratteristiche di un metodo nuovo, modificato, o non sufficientemente caratterizzato. I risultati numerici della sperimentazione, le modifiche apportate alla procedura di prova, ecc., che possono

influenzare le prestazioni del metodo, devono essere descritti e dettagliati in modo non ambiguo in un apposito documento al termine della validazione.

A un laboratorio che sviluppa internamente un metodo (metodo interno) o modifica un metodo normalizzato esistente è richiesto di validare la procedura analitica seguendo gli stessi passaggi previsti nella validazione primaria.

La validazione secondaria, o verifica, viene richiesta quando un laboratorio procede ad implementare un metodo già sviluppato e validato. La validazione secondaria consiste quindi nel dare evidenza che il laboratorio, applicando un metodo validato, è capace di corrispondere alle specifiche stabilite nella validazione primaria. La validazione secondaria in genere seleziona e usa, semplificandole, le procedure utilizzate nella validazione primaria, ad esempio, predisponendo apposite carte di controllo.

Al momento, molti metodi normalizzati non riportano le specifiche richieste dalla validazione primaria o ne riportano alcune; in questo caso, la partecipazione, con altri laboratori, a circuiti esterni potrebbe essere un primo passo per il completamento della validazione secondaria.

La validazione si avvale quindi di parametri che definiscono le singole caratteristiche operative di un metodo da utilizzare per uno scopo specifico.

Per la definizione delle prestazioni di un metodo analitico dovrebbero essere almeno caratterizzate la ripetibilità (“r”) e la riproducibilità (“R”).

Sono di seguito riportati i parametri del metodo con le relative definizioni.

– *Ripetibilità*

È la concordanza dei valori ottenuti da più misure ripetute quando il metodo è applicato da un singolo operatore, con la medesima attrezzatura, in un breve periodo di tempo. Questa grandezza può essere espressa in termini di ripetibilità stretta o di ripetibilità intermedia. La prima è significativa, ad esempio, nelle stime relative alle analisi in duplicato. Dallo scarto tipo calcolato in queste condizioni, si ricava il limite di ripetibilità “r”, che permette all’operatore di decidere se la differenza tra misure ripetute in doppio sullo stesso campione, sia o meno significativa. Per valutare la concordanza dei dati in un lungo periodo di tempo, si utilizza la ripetibilità intermedia, effettuando la misura sempre con lo stesso analista, la stessa attrezzatura nello stesso laboratorio, mentre l’unico parametro diverso è il fattore tempo.

– *Riproducibilità*

Nel caso la misura venga effettuata da più laboratori, utilizzando lo stesso metodo analitico, il risultato ottenuto esprime la riproducibilità che tiene conto di tutte le possibili variabilità nei laboratori. Questa è una misura più significativa della ripetibilità e viene utilizzata per calcolare l’incertezza associata ad una misura, nel caso si utilizzi un metodo normalizzato o non normalizzato che contenga questo tipo di informazione. Dallo scarto tipo di riproducibilità è utile ricavare il limite di riproducibilità “R”, che permette all’analista di decidere se la differenza tra analisi in doppio di un campione, in condizioni di riproducibilità, sia o meno significativa.

– *Sensibilità*

Frazione del numero totale di colture positive o di colonie correttamente assegnate nell’esame presunto. Quindi, il parametro è la probabilità, espressa come percentuale, che un risultato positivo sia effettivamente tale.

– *Selettività*

Viene valutata generalmente verificando la sua capacità di misurare il microrganismo bersaglio durante tutte le fasi della metodica e si riconduce ad una valutazione della risposta del metodo alla presenza di microrganismi interferenti. Quando la tecnica che si

sta validando è già intrinsecamente specifica /selettiva, può essere trascurata la sua valutazione, ricorrendo ad altre tecniche di conferma.

– *Robustezza*

È in relazione alla stabilità dei risultati nei confronti di cambiamenti avvenuti nell'ambiente (inclusi fattori fisici, chimici e umani). È quindi la capacità posseduta da un metodo di non essere influenzato significativamente da variazioni deliberate, introdotte nelle sue fasi di realizzazione.

– *Esattezza*

Il parametro misura quantitativamente quanto vicino al valore vero si posiziona la media di una serie di misure ed è normalmente espresso in termini di deviazione. Per effettuare la valutazione dell'esattezza si può procedere in due modi: uno è quello di valutarla tramite dei materiali di riferimento certificati, l'altro è quello di determinare i valori di una matrice incognita, utilizzando un metodo di riferimento. In ogni caso, il laboratorio deve considerare i valori di precisione, stabiliti a priori in termini di ripetibilità e di riproducibilità.

– *Recupero*

Permette di verificare l'efficienza del metodo nel determinare la concentrazione del microrganismo bersaglio presente. Il miglior modo di procedere alla sperimentazione per la valutazione del recupero, anche se ciò non è sempre possibile, è quello di operare utilizzando materiali di riferimento certificati. L'alternativa è quella di procedere con aggiunte note dei microrganismi di interesse o di aliquote di campioni contenenti i microrganismi.

– *Incertezza*

Parametro, associato al risultato di una misura, che caratterizza la dispersione dei valori che potrebbero ragionevolmente essere attribuiti al misurando.

## 2.6. Controllo di qualità

Il Controllo della Qualità Analitica (CQA) è parte del programma complessivo che rientra nell'attività del laboratorio e che deve essere introdotto e valutato in modo integrato.

È responsabilità della direzione del laboratorio scegliere e motivare un idoneo livello di controllo di qualità basato sulla valutazione dei risultati e dei possibili rischi, tenendo presente la criticità del lavoro, la fattibilità, l'affidabilità del metodo e la possibilità di ripetere l'analisi. La validazione di un metodo analitico, oltre a determinare le sue prestazioni, fornisce i parametri da utilizzare per impostare il controllo di qualità durante l'applicazione routinaria del metodo.

Il controllo di qualità può essere effettuato a livelli diversi, come controllo di qualità interno e come controllo di qualità esterno. Il tipo di controllo di qualità da realizzare dipende dalla natura, dalla criticità e dalla frequenza dell'analisi, dal numero di campioni da analizzare nella giornata, dall'eventuale automazione, dalla difficoltà dell'analisi e, comunque, dal giudizio dell'operatore, fondato sull'esperienza acquisita nell'esecuzione del metodo specifico.

Un esempio di controllo adeguato, è basato sulla verifica del rispetto del limite di ripetibilità del metodo. In questo caso, si eseguono determinazioni in duplicato e si verifica se la differenza tra i valori supera il limite di ripetibilità ottenuto in fase di validazione del metodo. Nel caso questo si verifichi significa che non sono rispettate le applicabilità dei parametri di validazione. L'operatore dovrà quindi individuare le cause dello scostamento ed adottare le procedure più

opportune per far rientrare il metodo nell'ambito dei requisiti prestabiliti. In caso ciò non si verifichi, dovrà essere eseguito uno studio più approfondito ed, eventualmente, un nuovo studio di validazione.

Un'altra strategia di controllo adeguata può essere effettuata misurando sistematicamente un campione a contenuto noto e confrontando i dati ottenuti con quelli attesi secondo un criterio di accettabilità predefinito (in funzione dei requisiti del metodo), o controllando se sono state osservate, nel corso dell'analisi, variazioni inattese delle prestazioni del metodo.

Il controllo di qualità esterno viene generalmente realizzato attraverso la partecipazione a circuiti interlaboratorio per la valutazione dello stato di avanzamento. Questi processi permettono al laboratorio di individuare la riproducibilità e l'accuratezza e di evidenziare i possibili errori sistematici e costituiscono mezzi di monitoraggio dell'affidabilità del metodo.

### **3. REQUISITI PER ANALISI CHIMICO-FISICHE E CHIMICHE**

I requisiti di seguito richiamati sono riferiti a laboratori che effettuino analisi di tipo chimico-fisico e chimico nell'ambito dei controlli previsti dal DL.vo 31/01 e devono integrare gli altri aspetti di carattere funzionale ed organizzativo di tipo generale indicati nella prima sezione del rapporto e tutti gli altri requisiti previsti nei metodi analitici specifici.

I laboratori dovranno dimostrare di operare in condizioni ambientali idonee e di utilizzare attrezzature e materiali adeguate allo scopo dei controlli, avvalendosi di risorse umane e strumentali adeguate al volume delle attività analitiche condotte, alla tipologia di prova da effettuare ed alle attività connesse alla prova, inclusa la validazione dei metodi ed il controllo di qualità, l'elaborazione dei dati e la valutazione dei risultati delle prove ai fini dell'emissione del giudizio di conformità.

Le condizioni ambientali dei locali dove vengono effettuate le analisi chimiche, in particolare per quanto riguarda climatizzazione, grado di umidità e luminosità, devono essere tali da non inficiare i risultati delle misure e garantire la sicurezza degli operatori. A tal fine è in primo luogo necessario che esista un'adeguata separazione delle sezioni dove avviene la determinazione analitica dagli ambienti di conservazione e preparazione del campione e degli standard analitici.

#### **3.1. Personale**

L'affidabilità di un giudizio di conformità della qualità delle acque ai sensi del DL.vo 2 febbraio 2001 è determinata da una adeguata progettazione ed esecuzione delle diverse attività integrate ai fini della produzione del risultato analitico. Queste comprendono operazioni di campionamento e conservazione dei campioni, scelta del metodo, trattamento del campione, taratura delle apparecchiature, esecuzione della determinazione analitica/strumentale, elaborazione del dato e sua valutazione, validazione del metodo e controllo di qualità, effettuate secondo procedure validate e standardizzate e specificamente documentate.

Il quadro dei controlli chimici per un giudizio di conformità al suddetto decreto è notevolmente articolato, comprendendo più di 40 parametri o gruppi di parametri notevolmente eterogenei per quanto riguarda la natura chimica e per i livelli di interesse richiesti dalla normativa. Ciò rende necessario il ricorso ad approcci analitici decisamente diversificati che possono basarsi su tecniche sensoriali o strumentali semplici con preparazione rapida del campione o possono richiedere complesse fasi di isolamento, pre-concentrazione e/o derivatizzazione degli analiti e utilizzo di tecniche avanzate cromatografiche e/o spettroscopiche per analisi in traccia. I requisiti del personale addetto alle determinazioni analitiche non sono pertanto definibili con modalità univoca ma devono necessariamente essere correlati alla tipologia di prove da effettuare, alla posizione professionale all'interno della struttura/laboratorio ed al livello di responsabilità assunto nell'ambito del processo decisionale che porta al giudizio di conformità.

In linea generale deve essere assicurato che il personale operante sia in possesso dell'istruzione, della formazione, dell'esperienza e delle conoscenze chimico-fisiche e tecnico analitiche specifiche, adeguate alla tipologia di controlli. Il laboratorio deve in ogni caso garantire costanti aggiornamenti della formazione del personale, mirando alla specializzazione e all'interazione tra le diverse competenze.

Le risorse umane necessarie al corretto funzionamento della struttura saranno stabilite tenendo conto del volume di analisi da effettuare, dalla suddivisione tra le attività svolte dal personale laureato e quelle svolte dal personale tecnico non laureato, ivi incluso il personale amministrativo, tenendo conto non solo del coinvolgimento nella determinazione analitica in senso stretto ma anche di tutte le mansioni condotte dal personale nell'ambito del funzionamento del laboratorio.

Data la complessità e la diversificazione delle attività, può essere necessario che nel laboratorio siano presenti reparti operativi differenti in termini di volume ed organizzazione delle risorse umane, strumentali e strutturali. In ogni caso è necessaria una definizione trasparente delle mansioni e responsabilità dei membri del personale nonché della posizione rivestita nell'ambito della struttura.

## 3.2. Sicurezza

La sicurezza è fattore imprescindibile all'interno del laboratorio ed è garantita dal rispetto delle normative specifiche in materia (D.Lvo 626/94 e s.m.i.) inclusa l'adozione di condizioni ambientali, procedure, dotazioni ed attrezzature adeguate a prevenire al minimo il rischio di qualsiasi forma di contaminazione per gli operatori e del verificarsi di incidenti di natura meccanica, chimica, fisica o biologica in laboratorio, nonché di adeguate dotazioni e procedure di intervento nel caso di infortuni.

Nei locali di laboratorio di analisi chimiche si svolgono cicli lavorativi e si trovano attrezzature che configurano rischi di tipo meccanico, biologico, chimico, fisico ed elettrico.

L'accesso ai locali della struttura deve essere pertanto rigorosamente controllato, con un livello di controllo adeguato alla tipologia di locale e rischi ad esso connesso (stanze ad uso laboratori, stanze ad uso ufficio, stanze ad uso promiscuo, locali magazzino, utilizzo radioattivo, mensa, ecc.).

È pertinenza del responsabile del laboratorio, o del responsabile della sicurezza da questi delegato, operare affinché la struttura risulti conforme alla vigente normativa in materia di sicurezza sul lavoro ed idonea al tipo di attività cui è destinata, garantendo agli operatori un idoneo standard di sicurezza e confort e provvedendo con periodicità alla verifica del livello di sicurezza di locali, attrezzature e dispositivi.

Alcuni requisiti essenziali di sicurezza nel laboratorio comprendono uscite di sicurezza, docce di emergenza, lava-occhi, segnalatori di allarme acustici, dispositivi di protezione collettivi (cappe chimiche, armadi di sicurezza, schermi, ecc.), dispositivi di protezione individuale (occhiali, guanti, maschere, ecc.), estintori (acqua, polvere, schiuma, ecc.), cassetta di pronto soccorso.

Le strutture adibite al contenimento delle sostanze chimiche devono essere scelte in base alle caratteristiche chimico-fisiche delle sostanze stesse e alla loro pericolosità. Ogni sostanza dovrà essere corredata della propria scheda di sicurezza, facilmente visionabile da tutti gli operatori del laboratorio

La presenza di contenitori di gas compressi all'interno del laboratorio costituisce una fonte di rischio, l'eliminazione o la riduzione delle bombole di gas compresso riduce il rischio. Laddove non sia possibile disporre di un'apposita collocazione esterna è consigliabile: detenere una sola bombola per tipo di gas utilizzato, utilizzare bombole di capacità ridotta, tenere montato il cappello di protezione, tenerle fissate in modo idoneo, lontane da fonti di calore e chiuderle quando non utilizzate.

Tutti gli operatori dovranno essere adeguatamente istruiti, informati ed aggiornati sui rischi specifici connessi con la propria attività al fine di adottare comportamenti idonei a prevenire i pericoli e mitigarne gli effetti.

### 3.3. Gestione ed utilizzo delle apparecchiature

La qualità di un'acqua destinata al consumo umano è la risultante di una serie di azioni pianificate in base ad una strategia a carattere preventivo fondata sull'analisi del rischio ed estese all'intera filiera idrica, dalla captazione ai trattamenti, alla distribuzione fino alla fase di utenza. Elementi fondanti del sistema sono l'attuazione di un programma di vigilanza sanitaria e la realizzazione di un sistema dei controlli sull'intero sistema idrico; questi ultimi sono principalmente indirizzati alla verifica su differenti parametri stabiliti anche in sede normativa, sulla base delle conoscenze scientifiche disponibili, per controllare i rischi per la salute umana correlati al consumo delle acque.

Sono in particolare oggetto di misura parametri chimici di diretto impatto sulla salute del consumatore come nel caso di contaminanti nelle acque alla captazione – quali l'arsenico o i nitrati –, di sostanze presenti per effetto dei trattamenti – ad esempio cloriti come sottoprodotti della disinfezione o acrilamide come residuo della fase di chiariflocculazione –, o, infine, di composti derivanti da cessioni di materiali a contatto con le acque alla distribuzione, come nel caso del piombo e del nichel. Altri parametri oggetto di controllo possono rivestire importanza sulle caratteristiche organolettiche dell'acqua o perché presiedono a processi importanti dal punto di vista funzionale, come nel caso del pH che può influenzare direttamente l'efficacia delle procedure di diversi trattamenti, inclusa la disinfezione.

Si comprende pertanto come gli aspetti del controllo analitico siano direttamente correlabili alla sicurezza chimica delle acque al consumo e, di conseguenza, quale ruolo cruciale rivesta la corretta gestione e taratura delle apparecchiature e degli strumenti di misura mediante i quali gran parte dei controlli sono attualmente eseguiti. Sebbene la gamma dei controlli da effettuare sia notevolmente ampia e richieda approcci analitici tra i più diversi, dalla semplice misura potenziometrica all'analisi in tracce, la determinazione delle grandezze, in linea o su campioni, è sempre più indissolubilmente legata all'impiego di strumentazioni portatili o da laboratorio che, nell'evoluzione tecnologica attuale, presentano un crescente livello di automazione e miniaturizzazione e l'utilizzo di sistemi di acquisizione ed elaborazione dati in remoto, via calcolatore. I requisiti specifici per garantire l'idoneità di utilizzo e la produzione di risultati affidabili per i diversi sistemi di misura sono riportati nei successivi paragrafi mentre, di seguito, sono riportate alcune indicazioni generali sull'installazione e l'uso delle apparecchiature di misura.

Per un corretto funzionamento delle apparecchiature è in primo luogo necessario che all'interno del laboratorio ogni strumentazione sia collocata in un ambiente idoneo sia a garantire l'operatività ottimale che la tutela e sicurezza degli operatori; i requisiti ambientali per l'installazione dell'apparecchiatura dovranno in particolare considerare:

- dimensioni ed esigenze di alimentazione dell'apparecchiatura, quali tra le altre, tensione di alimentazione di rete, potenza elettrica assorbita, alimentazione da rete idrica, connessione a rete di gas;
- altre esigenze operative in fase di installazione: assorbimento elettrico di spunto, calore disperso, limiti di temperatura ed umidità ambientale per il funzionamento, rumorosità, infrastrutture particolari.

In particolare, le strumentazioni per tutte le tecniche cromatografiche devono essere collocate in locali in cui siano previsti sistemi di eliminazione di prodotti volatili e appositi contenitori per la

raccolta differenziata dei solventi. I locali adibiti alle analisi spettroscopiche riguardanti la determinazione di metalli ed elementi in tracce è necessario che rispettino i requisiti strutturali ed ambientali previsti dal USA *Federal Standard* 209/D (1992) e dalla ISO 209. Tutti i locali destinati ad ospitare apparecchiature devono essere provvisti di un impianto di climatizzazione e là dove si renda necessario, di impianti di purificazione dell'aria e di aspirazione. La strumentazione destinata alle tecniche cromatografiche e spettroscopiche deve essere collegata ad un impianto elettrico dotato di stabilizzatore di tensione ed eventualmente da un gruppo di continuità UPS. Tutte le apparecchiature devono essere posizionate in modo tale da essere facilmente ispezionabili, devono inoltre essere corredate del proprio manuale d'uso e di schede di manutenzione e taratura aggiornate, contenenti le registrazioni delle revisioni periodiche.

La gestione e l'utilizzo delle apparecchiature e dispositivi portatili deve essere affidato a personale competente e adeguatamente formato, in grado di provvedere anche alla manutenzione ordinaria.

### **3.4. Test sensoriali e metodi analitici classici**

A tale gruppo appartengono i metodi per la determinazione dell'odore, della temperatura, la determinazione del pH (ISS.BCA.023.revXX), i metodi conduttimetrici, (es. ISS.BDA.022.revXX) titrimetrici (es. durezza totale ISS.BEC.031.revXX), gravimetrici (es. solidi indisciolti ISS.BFA.042.revXX), immunoenzimatici (es. microcistine ISS.BGA.044.revXX), spettrofotometrici UV/VIS (es. cianuri totali ISS.BHC.010.revXX) e i metodi di determinazione del TOC (ISS.BIA.029.revXX).

Oltre ai requisiti ambientali generali in precedenza descritti è necessario che i laboratori che effettuino determinazioni dell'odore garantiscano che la conservazione, la preparazione e l'analisi dei campioni avvenga in un ambiente privo di odori.

Di seguito vengono riportate le dotazioni di laboratorio necessarie e specifiche per ogni metodo.

#### **3.4.1. Determinazione dell'odore**

Vetreteria esente da odori; termometro; bagno termostatico.

#### **3.4.2. Determinazione della temperatura**

Termometro come da specifiche del metodo

#### **3.4.3. Determinazione del pH**

Agitatore magnetico; pipette mono e/o multicanali manuali o elettroniche; pH-metro come da specifiche del metodo.

#### **3.4.4. Metodi conduttimetrici**

Bilancia tecnica; bilancia analitica; stufa termostata; agitatore elettromagnetico; conduttimetro come da specifiche del metodo.

### **3.4.5. Metodi titrimetrici**

Cappa chimica; bilancia tecnica; bilancia analitica, agitatore elettromagnetico; piastra termostata; pipette mono e/o multicanali manuali o elettroniche; pH-metro; burette graduate come da specifiche del metodo.

### **3.4.6. Metodi gravimetrici**

Bilancia tecnica, bilancia analitica; apparecchio per filtrazione; stufa termostata; centrifuga; pipette mono e/o multicanali manuali o elettroniche.

### **3.4.7. Metodi immunoenzimatici**

Cappa chimica; bilancia tecnica; bilancia analitica; bagno termostatico; centrifuga, agitatore elettromagnetico; piastra termostata; dispositivi per purificazione SPE; pipette mono e/o multicanali manuali o elettroniche; lettori per micropiastre, pH-metro come da specifiche del metodo.

### **3.4.8. Metodi spettrofotometrici UV/VIS**

Stufe termostatiche; spettrofotometro con le specifiche definite dal metodo.

### **3.4.9. Determinazione del TOC**

Stufe termostatiche; spettrofotometro con le specifiche definite dal metodo.

## **3.5. Tecniche cromatografiche**

Appartengono a questo gruppo i metodi GC, GC-MS, HPLC, HPLC-MS, ampiamente utilizzati per la determinazione di molteplici classi di composti organici contaminanti delle acque quali ad esempio: microcistine (ISS.CBA.044.revXX), benzene (ISS.CAD.004.revXX), IPA (ISS.CAB.039.revXX).

La struttura del laboratorio in cui vengono utilizzati tali metodi deve prevedere rigorose misure di prevenzione della contaminazione e di sanificazione ambientale. Le aree in cui si effettuano le analisi devono essere dotate di sistema di eliminazione di prodotti volatili e appositi contenitori per la raccolta differenziata dei solventi. Tutte le strumentazioni devono essere ispezionabili, corredate di manuali d'uso e schede di manutenzione/manutenzione aggiornate, nell'ambiente in cui sono collocate deve essere garantita una climatizzazione adeguata alle loro caratteristiche funzionali, devono inoltre, essere collegate ad un impianto elettrico di potenza adeguata, meglio se sovradimensionata, dotato di stabilizzatore di tensione ed eventualmente gruppo di continuità UPS.

Per ciascuna tipologia di metodi vengono successivamente riassunte le dotazioni di laboratorio minimali necessarie.

### 3.5.1. Metodi GC e GC-MS

I metodi GC e GC-MS sono:

- rete di distribuzione dei gas;
- cappa chimica;
- bilancia tecnica;
- bilancia analitica;
- evaporatore rotante e/o sistema di estrazione in fase solida;
- agitatore magnetico;
- attrezzature per la preparazione del campione;
- sistema gas-cromatografico o GC-MS completo di accessori (es. spazio di testa statico o dinamico) secondo le specifiche previste dal metodo.

### 3.5.2. Metodi HPLC e HPLC-MS

I metodi HPLC e HPLC-MS sono:

- rete di distribuzione dei gas;
- cappa chimica;
- bilancia tecnica;
- bilancia analitica;
- evaporatore rotante e/o sistema di estrazione in fase solida;
- agitatore magnetico;
- sistemi di filtraggio e pressurizzazione eluenti;
- attrezzature per la preparazione del campione;
- sistema HPLC o HPLC-MS completo di accessori (es. sorgente *ionspray*) con le specifiche previste dal metodo.

## 3.6. Tecniche spettrofotometriche

Le tecniche spettroscopiche utilizzate nell'analisi dei contaminanti inorganici delle acque sono l'ICP (es. ISS.DBA.035. revXX) e l'AAS (es. ISS.DAA.012. revXX).

Per l'utilizzo di tali tecniche i requisiti strutturali ed ambientali per i locali devono essere adeguati a quanto previsto da USA Federal Standard 209/D (1992) ed ISO 209. Tutte le apparecchiature devono essere ispezionabili e corredate di manuali d'uso e schede di manutenzione/taratura aggiornate. Di seguito vengono riportate le dotazioni di laboratorio necessarie e specifiche per ogni metodo.

### 3.6.1. Metodi AAS

I metodi AAS sono:

- rete di distribuzione dei gas;
- cappa chimica;
- bilancia tecnica;
- bilancia analitica;
- agitatore magnetico;
- attrezzature per la preparazione del campione;

- spettrofotometro AAS completo di accessori (es. fornello di grafite con sistema di correzione del fondo, sistema per la generazione di idruri, sistema a vapori freddi per la determinazione del Hg) secondo le specifiche previste dal metodo;
- sistemi di filtraggio.

### **3.6.2. Metodi ICP**

I metodi ICP sono:

- rete di distribuzione dei gas;
- cappa chimica;
- bilancia tecnica;
- bilancia analitica;
- attrezzature per la preparazione del campione;
- spettrometro ICP completo di nebulizzatore ad ultrasuoni ed ogni altra specifica prevista dal metodo.

## BIBLIOGRAFIA DI RIFERIMENTO

- Bonadonna L, Ottaviani M (Ed.). *Metodi analitici di riferimento per le acque destinate al consumo umano ai sensi del DL.vo 31/2001. Metodi microbiologici*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2007. (Rapporti ISTISAN 07/5).
- Bonadonna L, Ottaviani M (Ed.). *Metodi analitici di riferimento per le acque destinate al consumo umano ai sensi del DL.vo 31/2001. Metodi chimici*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2007. (Rapporti ISTISAN 07/31).
- Europa. Unione Europea 1998. Direttiva 98/83/CE del Consiglio del 3 novembre 1998 concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano. *Gazzetta Ufficiale Comunità Europea*, 5 dicembre 1998, L330.
- Europa. Unione Europea 2000. Direttiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 23 ottobre 2000 che istituisce un quadro per l'azione comunitaria in materia di acque. *Gazzetta Ufficiale Comunità Europea*, 22 dicembre 2000, L327/1.
- Italia. Decreto Legislativo 2 febbraio 2001, n. 31. Attuazione della direttiva 98/83/CE relativa alla qualità delle acque destinate al consumo umano. *Gazzetta Ufficiale - Serie Generale* n. 52, 3 marzo 2001.
- Italia. Decreto Legislativo 2 febbraio 2002, n. 27. Modifiche e integrazioni al decreto legislativo 2 febbraio 2001, n. 31, recante attuazione della direttiva 98/83/CE relativa alla qualità delle acque destinate al consumo umano. *Gazzetta Ufficiale - Serie Generale* n. 58, 9 marzo 2002.
- UNI EN ISO 17994. *Qualità dell'acqua - Criteri per definire una equivalenza tra metodi microbiologici*. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2004.
- UNI CEI EN ISO/IEC 17025. *Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura*. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2005.

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN  
deve essere preventivamente autorizzata.  
Le richieste possono essere inviate a: [pubblicazioni@iss.it](mailto:pubblicazioni@iss.it).*

*Stampato da Tipografia Facciotti srl  
Vicolo Pian Due Torri 74, 00146 Roma*

*Roma, luglio-settembre 2008 (n. 3) 1° Suppl.*