

**INAIL**  
Quaderni di ricerca

**Analisi della contaminazione  
microbiologica degli ambienti di lavoro.  
Valutazione della qualità del dato  
analitico nel conteggio microbico su  
piastra e nelle prestazioni dell'operatore**

Raffaella Giovinazzo, Elena Guerrera, Marina Mameli,  
Daniela Sarto, Massimiliano Veltroni

I *Quaderni di ricerca* dell'Inail sono lo strumento a disposizione dei ricercatori e dei ruoli professionali dell'Istituto per rendere pubblici i risultati più rilevanti delle loro attività; accolgono anche contributi di ricercatori esterni, che partecipano ai progetti dell'Inail.

Gli autori hanno la piena responsabilità delle opinioni espresse nei *Quaderni*, che non vanno intese come posizioni ufficiali dell'Inail.

I *Quaderni* sono disponibili online all'indirizzo [www.inail.it](http://www.inail.it).

Comitato di redazione: Paolo Bragatto, Massimo De Felice,  
Benedetta Persechino, Patrizio Rossi

Segreteria di redazione: Toni Saracino

Inail - Piazzale Giulio Pastore, 6 | 00144 Roma

ISBN 978-88-7484-561-3

Stampato presso la Tipografia Inail - Milano, giugno 2017

## **Analisi della contaminazione microbiologica degli ambienti di lavoro. Valutazione della qualità del dato analitico nel conteggio microbico su piastra e nelle prestazioni dell'operatore**

Raffaella Giovinazzo, Elena Guerrera, Marina Mameli, Daniela Sarto, Massimiliano Veltroni<sup>1</sup>

**Sommario** - L'esigenza di verificare il livello di qualità delle prestazioni di un laboratorio che effettua attività di prova, dal campionamento all'analisi ed emissione della relativa certificazione, è di primaria importanza per assicurare la qualità dei dati analitici. Nel campo dell'igiene del lavoro, in particolare, ciò consente di acquisire misure di esposizione agli agenti di rischio biologici, chimici e fisici affidabili e rappresentative. La norma internazionale di riferimento per i laboratori che intendano operare "in qualità" è la UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2005 "*Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura*". In accordo a tale norma, tutti i fattori che possono influire sul risultato di una prova debbono essere opportunamente individuati e sottoposti a costante controllo.

Questo Quaderno presenta la procedura statistico-operativa messa a punto, in ambito Inail, per valutare la qualità del dato analitico e le prestazioni del personale tecnico deputato all'effettuazione di indagini ambientali finalizzate all'accertamento dei livelli di esposizione dei lavoratori ad agenti biologici. Nel processo analitico microbiologico basato su metodi colturali la "lettura" dei campioni - ovvero l'osservazione macroscopica delle piastre Petri al termine dell'incubazione per il conteggio del numero di colonie cresciute - rappresenta un fattore critico, da sottoporre a controllo. La procedura si applica alla fase analitica del conteggio delle colonie batteriche e fungine su piastra Petri. Tale fase consente di quantificare i livelli di contaminazione microbica degli ambienti di lavoro in esame, per la stima indiretta dell'entità dell'esposizione dei lavoratori ad agenti biologici. La procedura documentata in questo Quaderno rappresenta il risultato ultimo di un'attività sperimentale pluriennale, condotta in collaborazione tra due Consulenze Tecniche dell'Istituto, finalizzata al miglioramento delle prestazioni di laboratorio e della qualità dei dati analitici prodotti nell'attività di accertamento del rischio biologico condotta dalle Unità operative della Contarp (Consulenza Tecnica Accertamento Rischi e Prevenzione).

Le diverse fasi cronologiche in cui si è sviluppata tale attività sono tracciate nel primo capitolo del Quaderno. Esse sono state, comunque, oggetto di pubblicazioni edite da Inail, riportate in bibliografia [Inail-005, 010, 011, 015; Gi-015] e consultabili anche on line, che testimoniano il percorso metodologico compiuto, la sua applicazione sul campo ed i risultati conseguiti nel tempo.

Dopo una preliminare presentazione dei fattori che concorrono in generale alla qualità del dato

---

<sup>1</sup> Gli autori svolgono la loro attività presso l'Inail: Raffaella Giovinazzo, Elena Guerrera, Marina Mameli, Daniela Sarto nella Consulenza tecnica accertamento rischi e prevenzione, Massimiliano Veltroni nella Consulenza statistico-attuariale.

Gli autori hanno la piena responsabilità delle opinioni espresse (che non rappresentano necessariamente la posizione ufficiale dell'Inail) e degli eventuali errori.

analitico nelle attività di un laboratorio di prova, oggetto dei primi due capitoli del Quaderno, si entra nel merito della struttura della procedura messa a punto. Essa prevede l'effettuazione di circuiti di laboratorio, con cadenza annuale, cui partecipa il personale tecnico interessato all'attività di prova in esame. Segue la descrizione degli elementi della procedura, sia per gli aspetti operativi (attività di laboratorio) che di analisi statistica dei risultati analitici e gestione delle non conformità riscontrabili.

*Parole chiave, frasi:* laboratorio, attività di prova, qualità del dato analitico, performance, conteggio delle colonie su piastra agar.

## Indice degli argomenti

|  |    |
|--|----|
| Premessa   | 7  |
| 1. L'esperienza Inail  | 7  |
| 2. La qualità del dato analitico                                     | 9  |
| 3. Verifica delle prestazioni del metodo                             | 9  |
| 4. Verifica della competenza del personale di laboratorio            | 10 |
| 5. Procedura operativa per la verifica della qualità del dato        | 10 |
| 6. Modalità operative  | 11 |
| 7. Valutazione statistica dei risultati della prova                  | 13 |
| 7.1 La verifica della qualità dei dati di campionamento              | 13 |
| 7.2 La verifica della competenza del personale. Il quadro di sintesi | 17 |
| 8. Criteri di valutazione della qualità dei dati dei conteggi        | 19 |
| 9. Criteri di valutazione della competenza all'attività di prova     | 20 |
| 10. Gestione delle non conformità                                    | 21 |
| Allegato 1   | 22 |
| Riferimenti bibliografici  | 23 |



**Premessa** - La norma tecnica UNI CEI EN ISO/IEC 17025 “*Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura*” [Uni-005] rappresenta lo standard internazionale di riferimento per i laboratori che intendano operare in “qualità”. L’esigenza di verificare il livello di qualità delle proprie prestazioni, dalla fase di campionamento a quella di analisi ed emissione della relativa certificazione, è di primaria importanza per ogni laboratorio che effettua attività di prova. La qualità delle misure effettuate rappresenta, infatti, un prerequisito essenziale affinché il risultato di una prova fornisca un valore aggiunto in termini di informazioni utili alle finalità per cui la misura è stata condotta. Nel campo dell’igiene del lavoro, in particolare, l’affidabilità dei risultati influisce sulla stima dell’esposizione ai fattori di rischio occupazionale e, di conseguenza, condiziona la scelta degli interventi preventivi da adottare, a tutela della salute dei lavoratori.

A un laboratorio che intenda sottoporre a controllo il livello delle proprie prestazioni per risultare conforme alla norma tecnica 17025 è richiesto di adeguare le proprie modalità operative e organizzative a due distinte e complementari tipologie di requisiti:

- Requisiti gestionali, attinenti all’organizzazione e alla struttura del laboratorio, alla gestione di documenti, fornitori, non conformità, agli audit interni etc.
- Requisiti tecnici.

Di questi ultimi si occupa specificamente il paragrafo 5 della norma. Lo svolgimento in “qualità” di attività di prova presuppone l’aver individuato e sottoposto a costante e documentato controllo tutti i fattori che possono influire sulla correttezza e affidabilità della prova stessa:

- fattori umani (personale che esegue l’attività di prova);
- postazione di lavoro e condizioni ambientali;
- metodi di prova adottati e validazione dei metodi;
- apparecchiature;
- riferibilità delle misure;
- campionamento;
- manipolazione dei dispositivi (campioni) da sottoporre a prova.

## **1 L’esperienza Inail**

Da diversi anni è attivo, all’interno dell’Inail, un filone operativo dedicato alla “qualità del dato” nel campo della microbiologia ambientale, per la valutazione del rischio biologico. Diverse sono state, nel tempo, le attività sperimentali condotte, i cui risultati sono stati oggetto di pubblicazioni edite dall’Istituto, presenti in bibliografia, alle quali si rimanda per gli eventuali approfondimenti.

Nell’ambito delle analisi microbiologiche alcuni tra i fattori influenti sulla qualità della misura elencati dalla norma possono essere agevolmente controllati nello svolgimento di specifiche prove. Ad esempio, le postazioni di lavoro e le condizioni ambientali, che non devono compromettere l’esecuzione corretta delle prove e la qualità della misura, e lo stato delle attrezzature di laboratorio, che deve essere verificato attraverso regolari programmi di manutenzione. Altri, invece, non sono facilmente controllabili: in particolare, nel caso dell’analisi del bioaerosol ovvero della contaminazione microbiologica dell’aria, le caratteristiche intrinseche della matrice manipolata (aria, non omogeneabile) e degli analiti in esame (microrganismi, disomogeneamente dispersi nella matrice

campionata) rendono difficoltoso il calcolo rigoroso dell'incertezza della misura e la validità dei metodi analitici in termini di ripetibilità. Ciò si riflette anche nell'analisi della contaminazione delle superfici di lavoro, sulle quali il bioaerosol si deposita per sedimentazione.

L'attenzione dell'Istituto si è focalizzata sull'analisi della contaminazione microbiologica (concentrazioni batteriche e fungine) dell'aria e delle superfici di lavoro - piani, arredi, utensili, indumenti, etc. (c.d. monitoraggio microbiologico ambientale). La misura dei livelli di concentrazione microbica consente, infatti, di valutare il rischio di esposizione ad agenti biologici per via inalatoria e per contatto, che può comportare per il lavoratore effetti di natura infettiva, tossica e allergenica. Inoltre, numerosi studi scientifici hanno dimostrato come – indipendentemente dalla presenza o meno di agenti patogeni – la contaminazione microbiologica aerodispersa possa determinare lo scadimento della qualità dell'aria degli ambienti di lavoro, con conseguente stato di malessere per la salute degli occupanti, in caso di lunghi tempi di permanenza (*Sick Building Syndrome, Building Related Illness*).

Nonostante le evidenze di cui sopra, il monitoraggio ambientale del bioaerosol è il tipo di indagine per la quale non esistono molte norme tecniche cui far riferimento per l'attività di campionamento e analisi. Ciò non favorisce l'uniformità operativa tra gli operatori che effettuano tale monitoraggio, né agevola la comparabilità dei dati con quelli di letteratura per evincere informazioni utili alla valutazione, in termini di rischio, dei risultati delle misure ambientali condotte. Da qui la necessità di mettere a punto un metodo per condurre indagini finalizzate all'accertamento del rischio biologico e, più in generale, della contaminazione microbiologica ambientale correlata all'attività di lavoro, in assenza di metodi ufficiali o normalizzati cui far riferimento. A ciò si è aggiunta l'ulteriore necessità di assicurare la comparabilità interna all'Istituto dei risultati delle indagini ambientali, considerata la pluralità di Unità operative di cui l'Inail si avvale per l'attività di campionamento e analisi degli agenti di rischio occupazionale.

*Definizione dello standard operativo interno* - In linea con quanto richiesto dalla norma tecnica 17025, è stata avviata un'attività sperimentale avente, come primo obiettivo, la definizione e validazione dello standard operativo da adottare in ambito Inail, ovvero delle procedure e dei criteri di campionamento e di analisi microbiologica da utilizzare, appropriati per gli scopi previsti, armonizzando le modalità di espressione dei risultati [Inail-005, -010]. Lo standard interno adottato prevede, per il campionamento, il prelievo di volumi d'aria adeguati e l'esame di superfici di lavoro significative ai fini del rischio di esposizione e, per l'analisi, l'utilizzo di tecniche colturali. Tramite tali tecniche è possibile catturare i microrganismi presenti su appositi terreni di coltura solidificati in piastre Petri, misurando i livelli di contaminazione attraverso il conteggio delle colonie batteriche e fungine visibili e numerabili cresciute sulla superficie del terreno, dopo opportuna incubazione in condizioni standard di laboratorio. Il risultato analitico è espresso in termini di Unità Formanti Colonie (UFC) per m<sup>3</sup> di aria prelevata o per 100 cm<sup>2</sup> di superficie esaminata.

*Validazione dello standard operativo e valutazione della competenza del personale tecnico all'esecuzione della prova analitica in conformità ad esso* - Lo standard operativo è stato divulgato e adottato uniformemente all'interno dell'Istituto e, nell'ottica di operare secondo i criteri di "qualità" indicati dalla norma tecnica 17025, sono stati progettati confronti interlaboratorio tra il personale



tecnico dell'Istituto deputato a tale tipo di indagini, al fine di validare lo standard e allineare ad esso la fase analitica dell'attività di prova di ogni operatore inerente il conteggio microbico su piastra [Inail-011; Gi-015].

*Mantenimento nel tempo della competenza del personale tecnico e addestramento di nuove risorse* - Successivamente, avvalendosi del medesimo schema di confronto interlaboratorio, è stato possibile validare una procedura statistica per valutare il mantenimento nel tempo della competenza del personale di laboratorio all'esecuzione della prova specifica. La procedura è valida anche per l'addestramento di operatori non competenti all'esecuzione della prova.

## **2 La qualità del dato analitico**

La "qualità" di una misura si fonda sull'utilizzo di metodi e procedure validati, cioè le cui prestazioni sono state valutate attraverso la stima della riproducibilità e ripetibilità del risultato e sul grado di definizione del risultato stesso, ovvero sulla conoscenza dell'incertezza associata al risultato della misura. I confronti interlaboratorio rappresentano uno strumento indicato dalla norma tecnica 17025 per valutare la validità di un metodo analitico. Tuttavia, per le analisi microbiologiche dell'aria e delle superfici, non è possibile disporre di campioni omogenei di riferimento (campioni di prova stabili e a concentrazione nota) da sottoporre sul territorio tra le Unità operative partecipanti all'intercalibrazione, come richiesto dai requisiti dei normali circuiti interlaboratorio, a causa delle caratteristiche intrinseche dell'aria (matrice non omogenabile), della deperibilità dei campioni di prova utilizzati (piastre agar contaminate) e della variabilità, in composizione e tipologia, della contaminazione microbiologica aerodispersa e sedimentata su superficie, che influenza sensibilmente la ripetibilità della misura. Inoltre, l'utilizzo di tecniche colturali, benché rappresenti una prassi operativa consolidata, introduce un ulteriore elemento di incertezza nella misura, che influisce sul risultato: infatti, le diverse situazioni di crescita microbica osservabili sulla superficie delle piastre, al termine dell'incubazione, possono generare modalità di conteggio delle colonie e di espressione del risultato disomogenee tra operatori diversi.

Per queste ragioni non è stato possibile avvalersi, a livello operativo, degli schemi standard di confronto interlaboratorio indicati dalla norma tecnica 17025 ed è stata sperimentata una modalità diversa, pubblicata in un volume dedicato [Inail-011]. Sono stati progettati e realizzati confronti interlaboratorio tra personale tecnico dell'Istituto deputato a tale tipo di indagini, al fine di verificare le prestazioni del metodo, in termini di verifica della accettabilità da un punto di vista statistico dei conteggi risultanti dall'attività di prova. Inoltre, per l'aspetto relativo al conteggio su piastra, avvalendosi del medesimo schema di confronto interlaboratorio, è stata predisposta una procedura per valutare la competenza del personale di laboratorio all'esecuzione della prova specifica in accordo allo standard operativo interno, e il suo mantenimento nel tempo.

## **3 Verifica delle prestazioni del metodo**

La norma tecnica 17025 richiede che ciascun laboratorio implementi procedure per la stima dell'incertezza dei propri risultati e dichiarare l'incertezza di misura nel rapporto di prova quando tale informazione può essere rilevante ai fini delle decisioni che devono essere prese in base al

risultato ottenuto. In particolare, l'incertezza di misura del risultato deve essere dichiarata quando influisce sulla validità o sull'applicazione dei risultati della prova, ha rilevanza sulla conformità ad un limite specificato (ad es. un limite di legge) o quando, in assenza di limite, il risultato - dissociato dall'incertezza di misura - condiziona comunque un iter decisionale.

La verifica delle prestazioni del metodo è richiesta dalla norma tecnica anche per la validazione dei metodi non normati.

#### **4 Verifica della competenza del personale di laboratorio**

Operare in "qualità" presuppone assicurare che il personale tecnico deputato all'esecuzione dell'attività di prova sia adeguatamente addestrato, avvalendosi di strumenti per la verifica costante delle sue prestazioni.

Il contributo alla variabilità della misura legato al fattore umano riveste, indubbiamente, un ruolo molto importante. Nella norma tecnica 17025 si evidenzia, al paragrafo 5.2, l'importanza di sottoporre il personale di laboratorio a programmi specifici e periodici di formazione, addestramento e qualifica, sotto la supervisione di personale esperto, in modo da acquisire la necessaria e documentata competenza all'esecuzione delle prove. Tale competenza deve, inoltre, essere monitorata nel tempo; quindi, vanno stabilite, in base alle attività svolte e ai risultati ottenuti, le tempistiche per l'aggiornamento della formazione e per l'esecuzione dei circuiti interlaboratorio di verifica.

#### **5 Procedura operativa per la verifica della qualità del dato**

*Scopo* – La norma tecnica 17025 richiede al laboratorio di verificare le prestazioni del metodo di prova e di assicurare la competenza di tutti coloro che eseguono la prova, anche attraverso obiettivi di formazione e addestramento definiti.

A tale scopo è stato elaborato il protocollo che segue, che descrive le modalità ed i criteri di valutazione della *performance* degli operatori.

*Campo di applicazione* – La verifica riguarda il personale Inail di laboratorio deputato all'effettuazione di analisi microbiologiche quantitative (conteggio colonie su piastra), sia in formazione che in fase di mantenimento dell'idoneità.

*Definizioni* – Operatore di laboratorio: tecnico che effettua l'attività di prova.

Operatore competente (OC): personale idoneo all'effettuazione della prova.

Operatore in formazione o addestramento (OA): personale non ancora idoneo all'effettuazione della prova (neo assunto o cambio mansione).

Operatore di laboratorio in fase di verifica della competenza (OV): tecnico già idoneo alle prove analitiche, che partecipa alla sessione di verifica della competenza.

Referente della Prova (RP): OC del laboratorio ove si svolge la prova per la sessione in corso.

## 6 Modalità operative

*Frequenza* – La procedura prevede lo svolgimento di sessioni periodiche di laboratorio (circuiti di intercalibrazione), la cui periodicità è stabilita in 1 volta l'anno (in accordo con le esigenze dei laboratori). In ogni sessione viene effettuato il conteggio delle colonie batteriche e fungine cresciute su campioni di prova (piastre agar, contenenti idoneo terreno di coltura) prelevati nel medesimo ambiente di lavoro.

Ogni operatore che effettua routinariamente analisi microbiologiche quantitative con tecniche colturali (conteggio di colonie batteriche e fungine su piastra) deve partecipare ad ogni sessione annuale di laboratorio; nel caso in cui, invece, l'effettuazione dell'analisi rivesta carattere di sporadicità, è richiesta la partecipazione ad almeno 3 sessioni nell'arco di 5 anni.

*Attività propedeutiche alla prova* – La prova si può svolgere in un laboratorio, compreso tra quelli presso cui operano i partecipanti al circuito, ove sia presente almeno un operatore competente all'attività di prova.

L'allestimento dei campioni viene effettuato dal RP in accordo al protocollo standard di monitoraggio microbiologico ambientale dell'Istituto [Inail-010]: a tal fine, RP campiona volumi d'aria e superfici rappresentativi, nelle condizioni operative normalmente adottate sul campo (volume d'aria prelevato compreso nel *range* 100 ÷ 500 litri; area della superficie esaminata pari a 24 cm<sup>2</sup>/piastra con tempo di contatto agar-superficie di 10 secondi).

La preparazione delle piastre-campione prevede l'utilizzo di:

- Campionatore attivo ad impatto ortogonale, per il prelievo dell'aria;
- Piastre a contatto montate su *RODAC-Weight Surface Sampler* per il campionamento su superficie;
- Terreni di coltura e temperature di incubazione idonee alla determinazione dei parametri microbiologici di base, routinariamente monitorati nelle indagini sul campo (carica batterica totale psicrofila e mesofila, carica fungina totale)<sup>2</sup>.

I campioni, in numero pari a 5, sono allestiti in triplo per un totale di n. 15 piastre.

Le caratteristiche dei campioni di prova sono riassunte nella Tabella 1.

---

<sup>2</sup> Carica psicrofila: concentrazione dei batteri di origine ambientale; carica mesofila: concentrazione dei batteri di origine umana (comprende gli eventuali patogeni e gli opportunisti); carica fungina: concentrazione di lieviti e funghi filamentosi o muffe.

Tabella 1 - Prospetto riepilogativo dei campioni di prova (piastre agar) allestiti in triplo

| Parametro microbiologico *  | Aria **                      | Superfici                           |
|---|------------------------------|-------------------------------------|
| Carica batterica totale psicrofila<br>( <i>Tryptic Soy Agar</i> ; 22°C/72h)   | 3 piastre,<br>d.i. 84 mm     | -                                   |
| Carica batterica totale mesofila<br>( <i>Tryptic Soy Agar</i> ; 37°C/48h)   | 3 + 3 piastre,<br>d.i. 55 mm | -                                   |
| Carica fungina totale<br>( <i>Sabouraud Dextrose Agar chloramphenicol</i> ; 25°C/72h)   | 3 piastre,<br>d.i. 84 mm     | 3 piastre a contatto,<br>d.i. 55 mm |
| <b>N. 5 Campioni di prova (n. 15 piastre)</b>   |                              |                                     |
| (*) Tra parentesi, in corsivo, il terreno di coltura impiegato, la temperatura e il tempo di incubazione delle piastre.<br>(**) Numero e dimensioni delle piastre allestite (d.i.: diametro interno). |                              |                                     |

Il campione, qualunque sia la crescita microbica ottenuta (da “assenza di crescita” a sviluppo di “patina” o “non numerabilità” delle colonie presenti), viene ritenuto idoneo alla prova.

Ogni piastra-campione è identificata con un codice univoco, consistente in successione nell’acronimo relativo al terreno di coltura utilizzato, nel numero identificativo del campione e nella lettera *a*, *b* o *c*, relativa al triplicato di piastre (ad es. per il campione di prova n. 1, in caso di utilizzo di *Trypticase Soy Agar*: TSA 1a, TSA 1b, TSA 1c).

Lo schema di circuito è valido anche nel caso di impiego di terreni di coltura differenti da quelli indicati in Tabella 1, utilizzati nella prassi di laboratorio.

Ciascun partecipante è identificato univocamente attraverso un codice numerico (*Id code*), che mantiene in ogni sessione; questo al fine di monitorare nel tempo il livello delle prestazioni di ogni singolo operatore.

*Esecuzione della prova* - Nella medesima giornata, gli operatori effettuano, in cieco ed in parallelo, il conteggio delle colonie cresciute nei campioni di prova, registrandone il numero su apposito modulo (allegato 1). La “lettura” dei campioni di prova deve essere eseguita in conformità ai criteri standard Inail [Inail-011, 51÷61], ai quali si rimanda per i dettagli.

Il modulo, una volta compilato, è consegnato a RP.

Al termine della sessione di conteggio gli operatori inseriscono i risultati della loro prova nella scheda di cui alla Figura 1 (n. 5 schede, una per ogni triplicato letto).

## 7 Valutazione statistica dei risultati della prova

A supporto del suddetto protocollo è stato progettato un sistema di analisi statistica che permette sia di verificare la rispondenza dei conteggi agli assunti metodologici sottostanti alle operazioni di campionamento (ed eventualmente intervenire secondo le rilevazioni di anomalia che esso fornisce) sia di mettere a confronto (e quindi in dibattito professionale) i risultati degli OC con quelli degli OA o degli OV.

La base metodologica delle analisi statistiche è mutuata dai lavori di Seppo I. Niemela [Se-003] con opportuni adattamenti alle caratteristiche del bioareosol.

L'impianto d'analisi statistica è suddiviso in tre sezioni concettuali:

1. La verifica della qualità dei dati di campionamento (in termini di rispetto delle ipotesi distributive, di individuazione di eventuali occorrenze anomale, di quantificazione e qualificazione della variabilità complessiva dei conteggi) per ognuno dei campionamenti (in triplicato) stabiliti dal protocollo di verifica della competenza.
2. Un quadro di sintesi e comparazione tramite cui avere una visione organica sui risultati (e le scelte) in relazione alla totalità dei campionamenti conseguiti dall'operatore oggetto di verifica e dagli OC, in modo da supportare un primo momento di confronto sulle distanze riscontrabili sia in termini qualitativi che quantitativi.
3. La misura della significatività statistica delle distanze tra i conteggi in modo da dare un peso alle differenze riscontrate nella sezione precedente.

### 7.1 La verifica della qualità dei dati di campionamento

Questa sezione (Figura 1) prevede le seguenti sottosezioni:

1. Test per l'individuazione dei valori anomali
2. Test per verificare l'accostamento della distribuzione dei conteggi alla distribuzione di Poisson
3. Qualificazione e quantificazione del grado di incertezza riscontrata.

La valutazione complessiva di quanto emerso da ognuna delle suddette sottosezioni permette di stabilire se il risultato di ogni singolo campionamento sia esprimibile in termini di media dei conteggi e se la variabilità complessiva ad essa associata sia convenientemente contenuta (ossia entro il limite convenzionale stabilito dalla procedura di abilitazione). Nei paragrafi successivi verranno esplicitati i contenuti statistici associati ad ognuna delle singole sottosezioni.

*Test per l'individuazione dei valori anomali* - Comunemente i metodi utilizzati per l'individuazione di valori anomali in un campione di dati sono due:

- un metodo di carattere parametrico, la *Extreme Studentized Deviate* (ESD) test, che utilizza la media e la deviazione standard del campione;
- un metodo non parametrico, la *Median Absolute Deviation* (MAD) test, che utilizza la mediana e la deviazione mediana assoluta.

Il primo dei due prevede l'assunzione di normalità sulla distribuzione delle osservazioni e non è

quindi utilizzabile in un contesto nel quale l'assunzione di base è che i conteggi si distribuiscono secondo una Poisson; in conseguenza di ciò è stato adottato il metodo basato sulla MAD [Hu-981; Sp-998].

In termini di caratteristiche statistiche la MAD è da ritenersi uno stimatore della variabilità meno efficiente (nel senso di meno potente) della deviazione standard ma rispetto ad essa più robusto.

Il calcolo della MAD, data una distribuzione campionaria dei dati, prevede i seguenti passaggi:

- calcolo della mediana dei dati campionari (M);
- calcolo delle differenze assolute tra ogni singolo dato campionario ( $x_i$ ) e la mediana M ( $|x_i - M|$ );
- calcolo della mediana delle differenze assolute (MAD).

L'individuazione dei dati anomali (*outliers*) viene effettuato con il ricorso al test di Huber basato sulla verifica della seguente relazione:

$$|D_i| \leq 4,5D_M$$

dove:

$$|D_i| = |x_i - M|$$

$D_M$  = mediana delle differenze assolute (MAD)

da cui si deduce che per ogni singola osservazione deve risultare che:

$$\frac{|D_i|}{D_M} \geq 4,5$$

per cui sono da considerarsi anomale tutte quelle osservazioni per cui tale condizione non risulta verificata.

*Test per verificare l'accostamento della distribuzione dei conteggi alla distribuzione di Poisson* - Come anticipato in precedenza il riferimento principale è la metodologia codificata da Seppo I. Niemela, la quale è basata su una statistica di log-verosimiglianza espressa dalla seguente formula:

$$G_{n-1}^2 = 2 \left[ \sum_{i=1}^n z_i \ln \left( \frac{z_i}{v_i} \right) - \left( \sum_{i=1}^n z_i \right) \ln \left( \frac{\sum z_i}{\sum v_i} \right) \right]$$

considerando che le somme del secondo termine dell'equazione sono il numero totale di colonie contate e il volume totale di aria raccolta, può anche essere scritta

$$G_{n-1}^2 = 2 \left[ \sum_{i=1}^n z_i \ln \left( \frac{z_i}{v_i} \right) - Z \ln \left( \frac{Z}{V} \right) \right]$$

dove:

$z_i$  è il conteggio effettuato sull'i-esima piastra

$v_i$  fattore di diluizione associato all'i-esima piastra

$n$  il numero delle piastre

$n-1$  i gradi di libertà

$Z$  il conteggio complessivo delle colonie effettuato sulle  $n$  piastre

$V$  la somma delle diluizioni

Assumendo il fattore di diluizione costantemente pari ad uno (in quanto i campionamenti d'aria non sono oggetto di diluizione), avremo che  $v_i=1$  per ogni i-esima piastra e quindi la statistica di log-verosimiglianza è espressa nel modo seguente:

$$G_{n-1}^2 = 2 \left[ \sum_{i=1}^n z_i \ln(z_i) - Z \ln \left( \frac{Z}{n} \right) \right]$$

L'accostamento alla Poisson della distribuzione campionaria dei conteggi è appunto basato su questa statistica (peraltro ben nota) la cui distribuzione è ben approssimata da quella del  $\chi^2$ .

Stabilito un certo limite di confidenza  $p$ , i risultati del test si leggono secondo la seguente Tabella:

Tabella 2 - Schema decisionale relativo al test G

|                                 |   |
|---------------------------------|---|
| $G_{n-1}^2 \leq \chi_{p;n-1}^2$ | I conteggi sono accettabili ed è possibile esprimere il risultato come media delle $n$ prove in parallelo                           |
| $G_{n-1}^2 \geq \chi_{p;n-1}^2$ | La compatibilità tra i conteggi deve essere considerata insufficiente e le prove in parallelo non possono essere considerate valide |

*Qualificazione e quantificazione del grado di incertezza riscontrata* - La variabilità connessa ad un campionamento è dovuta ad una molteplicità di fattori (taratura degli strumenti, natura del fenomeno oggetto di campionamento, etc.); un approccio rigorosamente metrologico prevede l'individuazione di tutte le sorgenti d'incertezza e la conseguente valutazione dell'apporto di tali sorgenti all'incertezza che complessivamente viene rilevata. In questo contesto si fa riferimento al processo semplificato di valutazione dell'incertezza composta (che Niemela definisce "A short-cut to the uncertainty of multiple-plate instruments") in cui la valutazione e la quantificazione del grado di incertezza composta vengono effettuate con riferimento al cosiddetto indice di Lexis (IL).

Tale indice è funzione della statistica presentata nel paragrafo precedente, nello specifico esso è individuato nel modo seguente:

$$IL = \frac{G_{n-1}^2}{n-1}$$

Come si è detto, in base a tale indice è possibile ricavare informazioni sulla natura dell'incertezza connessa al campione osservato; in particolare si ha che:

1. Se risulta  $IL \leq 1$  la variabilità è dovuta alla sola casualità
2. Se risulta  $1 < IL < 5$  la variabilità non è dovuta alla sola casualità ma non vi sono problemi analitici gravi
3. Se risulta  $IL \geq 5$  vi sono dei problemi analitici gravi (presenza di dati fortemente anomali o in-validazione del campionamento).

L'indice permette poi di quantificare il livello d'incertezza composta in quanto essa è sua funzione secondo la seguente relazione:

$$\sigma = \sqrt{\frac{G_{n-1}^2}{n-1} \frac{1}{Z}}$$

essendo  $Z$  la somma complessiva dei conteggi effettuati su ogni singola piastra associata al campionamento oggetto di verifica.

| SCHEDA CONTROLLO ED ELABORAZIONE DEI RISULTATI CAMPIONARI   |               |   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
|---|---------------|---|-------------|--|---|---|---|----------------------|-------------|-------------|---|--|----------------|------|-------------------|-------------------|---------------------|-------|------------------|--|------------------|-----------|------|------------------|------|------------------|------|
| ID OPERATORE:   | 11            | NOME DITTA  | INAIL       |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| TIPO PIASTRA  | 84 mm TSA     | CODICE CLIENTE  |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| APPARECCHIO   | SAS SUPER 180 | PAT   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| NUMERO REPLICHE   | 3             | DATA  |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| VOLUME  | 300 L         | AREA CAMPIONATA   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| <b>LETTURA DELLE PIASTRE</b>  |               | <b>RISULTATI</b>  |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="3">REPLICHE</th> </tr> <tr> <th>1</th> <th>2</th> <th>3</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>7</td> <td>7</td> <td>7</td> </tr> </tbody> </table>  |               | REPLICHE  |             |  | 1 | 2 | 3 | 7                    | 7           | 7           | <table border="1"> <tbody> <tr> <td>media conteggi</td> <td>7,00</td> </tr> <tr> <td>varianza relativa</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>incertezza composta</td> <td>0,00%</td> </tr> <tr> <td>limite inferiore</td> <td>7,00</td> </tr> <tr> <td>limite superiore</td> <td>7,00</td> </tr> </tbody> </table> |  | media conteggi | 7,00 | varianza relativa | 0                 | incertezza composta | 0,00% | limite inferiore | 7,00   | limite superiore | 7,00      |      |                  |      |                  |      |
| REPLICHE  |               |   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| 1   | 2             | 3   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| 7   | 7             | 7   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| media conteggi  | 7,00          |   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| varianza relativa   | 0             |   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| incertezza composta   | 0,00%         |   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| limite inferiore  | 7,00          |   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| limite superiore  | 7,00          |   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| CONTEGGIO   |               |   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| ESCLUSIONE REPLICA (S/N)  |               |   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| <b>INDIVIDUAZIONE DEI VALORI ANOMALI</b>  |               | <b>CALCOLO UFC</b>  |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="3">REPLICHE</th> </tr> <tr> <th>1</th> <th>2</th> <th>3</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>scarti dalla mediana</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>Indice di Huber</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>anomalia del dato</td> <td>no</td> <td>no</td> <td>no</td> </tr> </tbody> </table> |               | REPLICHE  |             |  | 1 | 2 | 3 | scarti dalla mediana | 0           | 0           | 0   | Indice di Huber  | 0              | 0    | 0                 | anomalia del dato | no                  | no    | no               | <table border="1"> <tbody> <tr> <td>stima UFC</td> <td>0,00</td> </tr> <tr> <td>limite inferiore</td> <td>0,00</td> </tr> <tr> <td>limite superiore</td> <td>0,00</td> </tr> </tbody> </table> |                  | stima UFC | 0,00 | limite inferiore | 0,00 | limite superiore | 0,00 |
| REPLICHE  |               |   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| 1   | 2             | 3   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| scarti dalla mediana  | 0             | 0   | 0           |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| Indice di Huber   | 0             | 0   | 0           |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| anomalia del dato   | no            | no  | no          |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| stima UFC   | 0,00          |   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| limite inferiore  | 0,00          |   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| limite superiore  | 0,00          |   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| <b>TEST DI ACCOSTAMENTO ALLA POISSON</b>  |               | <b>NOTE</b>   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="3">REPLICHE</th> </tr> <tr> <th>1</th> <th>2</th> <th>3</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>In dei conteggi</td> <td>1,945910149</td> <td>1,945910149</td> <td>1,945910149</td> </tr> </tbody> </table>   |               | REPLICHE  |             |  | 1 | 2 | 3 | In dei conteggi      | 1,945910149 | 1,945910149 | 1,945910149   | <div style="border: 1px solid black; height: 150px; width: 100%;"></div> |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| REPLICHE  |               |   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| 1   | 2             | 3   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| In dei conteggi   | 1,945910149   | 1,945910149   | 1,945910149 |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| <b>CALCOLO DI G<sup>2</sup> E RISULTATO DEL TEST</b>  |               |   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| $\Sigma$ conteggi*ln(conteggi)  | 40,86411313   | <b>ACCETTO AL LIVELLO DI FIDUCIA DEL 95%</b>                                  |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| media dei conteggi  | 7,00          |   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| ln della media dei conteggi   | 1,945910149   | <b>ACCETTO AL LIVELLO DI FIDUCIA DEL 99%</b>                                  |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| $\Sigma$ conteggi*ln(media)   | 40,86411313   |   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| G <sup>2</sup>  | 0             |   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| gradi di libertà  | 2             |   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| valore soglia al 95%  | 5,991464547   |   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| valore soglia al 99%  | 9,210340372   |   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| <b>ANALISI DELLA COMPOSIZIONE DELL'INCERTEZZA</b>   |               |   |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |
| Indice di Lexis   | 0             | la variabilità è dovuta unicamente alla distribuzione di Poisson dei conteggi |             |  |   |   |   |                      |             |             |   |  |                |      |                   |                   |                     |       |                  |  |                  |           |      |                  |      |                  |      |

Figura 1: Scheda di controllo ed elaborazione dei risultati campionari



## 7.2 La verifica della competenza del personale - Il quadro di sintesi

La seconda sezione (Figura 2) è costituita da tre (nell'ipotesi che il protocollo preveda due OC e un OA o un OV) prospetti di riepilogo (B, C1 e C2).

Il primo prospetto si riferisce all'OA o all'OV; in esso sono esposti i risultati in termini di individuazione (ed eventuale esclusione) di valori anomali, di accostamento alla Poisson della distribuzione campionaria, di quantificazione della media dei conteggi e del relativo intervallo di confidenza, di espressione sulla qualità ed il livello di incertezza composta ottenuti sul complesso dei campioni osservati.

I prospetti successivi evidenziano, tramite un processo di *checking* sui test compresi nel protocollo (individuazione di anomalie, esclusione di anomalie, accostamento alla Poisson, qualità e livello dell'incertezza), le differenze che si riscontrano tra OA/OV e OC e, rispettivamente, il primo ed il secondo OC.

L'analisi di questi prospetti permette di individuare i campionamenti per i quali le rilevazioni dell'OA/OV si discostano da quelle degli OC, ma soprattutto favorisce la focalizzazione del confronto professionale per la formulazione della valutazione.

Gli OC inseriscono i loro conteggi nella Scheda di "Controllo ed elaborazione dei risultati campionari", collegata al programma informatico (Figura 1). In automatico, il sistema effettuerà la valutazione statistica dei conteggi, in base alla quale sarà possibile, per ogni operatore, valutare la qualità dei propri risultati campionari al livello di fiducia del 95 e del 99%, operando l'esclusione dei valori anomali eventualmente presenti.

Il prospetto B "Quadro sintetico dei conteggi e dei rilievi statistici", collegato automaticamente alla procedura, visualizza in un prospetto unico i risultati dell'analisi campionaria, consentendo agli OC anche il confronto tra loro dei risultati, per l'omogeneità della valutazione.

*La misura della significatività statistica delle distanze tra i conteggi* - Gli OA o gli OV dispongono di una scheda di valutazione ulteriore (Figura 2), il prospetto C ("Confronto con operatore competente", un prospetto per ogni OC che partecipa alla sessione), collegata in automatico alla procedura, attraverso la quale confrontare i conteggi con quelli degli OC, verificandone l'omogeneità dell'analisi campionaria e il prospetto A (Figura 3, "Omogeneità dei conteggi", una per ogni OC) che attesta, nello svolgimento della prova, il livello di compatibilità con gli OC, già idonei all'esecuzione della prova.

| Prospetto B: quadro sintetico dei conteggi e dei rilievi statistici |           |      |   |           |      |   |           |    |   |                    |      |                 | ID                        | 20         |           |                     |         |
|---|-----------|------|---|-----------|------|---|-----------|----|---|--------------------|------|-----------------|---------------------------|------------|-----------|---------------------|---------|
|   | replica 1 |      |   | replica 2 |      |   | replica 3 |    |   | Test sulla Poisson |      | Indice di Lexis | Media                     | Intervallo |           | Incertezza composta | Check   |
|   | C         | A    | E | C         | A    | E | C         | A  | E | 0,95               | 0,99 |                 |                           | Lim. Inf.  | Lim. Sup. |                     |         |
| Camp. 1   | 7         | no   |   | 6         | no   |   | 5         | no |   | ok                 | ok   | normale         | 6,00                      | 4,84       | 7,16      | 9,65%               | normale |
| Camp. 2   | 9         | no   |   | 7         | no   |   | 11        | no |   | ok                 | ok   | normale         | 9,00                      | 6,68       | 11,32     | 12,83%              | normale |
| Camp. 3   | 4         | no   |   | 6         | no   |   | 8         | no |   | ok                 | ok   | normale         | 6,00                      | 3,67       | 8,33      | 19,43%              | normale |
| Camp. 4   | 3         | no   |   | 3         | no   |   | 1         | no |   | ok                 | ok   | normale         | 2,33                      | 0,89       | 3,77      | 30,95%              | alta    |
| Camp. 5   | 9         | no   |   | 3         | n.d. | S | 8         | no |   | ok                 | ok   | normale         | 8,50                      | 7,50       | 9,50      | 5,83%               | normale |
| Camp. 6   | 2         | no   |   | 5         | no   |   | 2         | no |   | ok                 | ok   | normale         | 3,00                      | 1,07       | 4,93      | 32,13%              | alta    |
| Camp. 7   | 21        | no   |   | 34        | si   |   | 22        | no |   | ok                 | ok   | critico         | 25,67                     | 17,51      | 33,83     | 15,89%              | normale |
| Camp. 8   | 33        | no   |   | 44        | si   |   | 33        | no |   | ok                 | ok   | critico         | 36,67                     | 29,48      | 43,86     | 9,81%               | normale |
| Camp. 9   | 27        | no   |   | 26        | no   |   | 36        | si |   | ok                 | ok   | normale         | 29,67                     | 23,43      | 35,91     | 10,51%              | normale |
| Camp. 10  | 6         | no   |   | 9         | no   |   | 5         | no |   | ok                 | ok   | normale         | 6,67                      | 4,32       | 9,02      | 17,61%              | normale |
| Camp. 11  | 9         | n.d. | S | 21        | no   |   | 20        | no |   | ok                 | ok   | normale         | 20,50                     | 19,50      | 21,50     | 2,44%               | normale |
| Camp. 12  | 6         | no   |   | 6         | no   |   | 5         | no |   | ok                 | ok   | normale         | 5,67                      | 5,05       | 6,29      | 5,43%               | normale |
|   |           |      |   |           |      |   |           |    |   |                    |      |                 | Incertezza composta media | 11,61%     | normale   |                     |         |

  

| Prospetto C1: confronto con il 1° operatore competente |           |   |   |           |     |   |           |   |   |                    |      |                 | ID    | 11         |           |                     |       |
|--|-----------|---|---|-----------|-----|---|-----------|---|---|--------------------|------|-----------------|-------|------------|-----------|---------------------|-------|
|  | replica 1 |   |   | replica 2 |     |   | replica 3 |   |   | Test sulla Poisson |      | Indice di Lexis | Media | Intervallo |           | Incertezza composta | Check |
|  | C         | A | E | C         | A   | E | C         | A | E | 0,95               | 0,99 |                 |       | Lim. Inf.  | Lim. Sup. |                     |       |
| Camp. 1  |           |   |   |           |     |   |           |   |   |                    |      |                 |       |            |           |                     |       |
| Camp. 2  |           |   |   |           |     |   |           |   |   |                    |      |                 |       |            |           |                     |       |
| Camp. 3  |           |   |   |           |     |   |           |   |   |                    |      |                 |       |            |           |                     |       |
| Camp. 4  |           |   |   |           |     |   |           |   |   |                    |      |                 |       |            |           |                     |       |
| Camp. 5  |           |   |   | chk       | chk |   |           |   |   |                    |      |                 |       |            |           |                     |       |
| Camp. 6  |           |   |   |           |     |   |           |   |   |                    |      | chk             |       |            |           |                     |       |
| Camp. 7  |           |   |   | chk       |     |   |           |   |   |                    |      | chk             |       |            |           |                     |       |
| Camp. 8  |           |   |   | chk       |     |   |           |   |   |                    |      |                 |       |            |           |                     |       |
| Camp. 9  |           |   |   |           |     |   |           |   |   |                    |      | chk             |       |            |           |                     |       |
| Camp. 10   |           |   |   |           |     |   |           |   |   |                    |      |                 |       |            |           |                     |       |
| Camp. 11   |           |   |   |           |     |   |           |   |   |                    |      |                 |       |            |           |                     |       |
| Camp. 12   |           |   |   |           |     |   |           |   |   |                    |      |                 |       |            |           |                     |       |

  

| Prospetto C2: confronto con il 2° operatore competente |           |     |   |           |     |   |           |     |   |                    |      |                 | ID    | 10         |           |                     |       |
|--|-----------|-----|---|-----------|-----|---|-----------|-----|---|--------------------|------|-----------------|-------|------------|-----------|---------------------|-------|
|  | replica 1 |     |   | replica 2 |     |   | replica 3 |     |   | Test sulla Poisson |      | Indice di Lexis | Media | Intervallo |           | Incertezza composta | Check |
|  | C         | A   | E | C         | A   | E | C         | A   | E | 0,95               | 0,99 |                 |       | Lim. Inf.  | Lim. Sup. |                     |       |
| Camp. 1  |           |     |   |           |     |   |           |     |   |                    |      |                 |       |            |           |                     |       |
| Camp. 2  |           |     |   |           |     |   |           |     |   |                    |      |                 |       |            |           |                     |       |
| Camp. 3  |           |     |   |           |     |   |           |     |   |                    |      |                 |       |            |           |                     |       |
| Camp. 4  |           |     |   |           |     |   |           |     |   |                    |      |                 |       |            |           |                     |       |
| Camp. 5  |           |     |   | chk       | chk |   |           |     |   |                    |      | chk             |       |            |           |                     |       |
| Camp. 6  |           |     |   |           |     |   |           |     |   |                    |      | chk             |       |            |           |                     |       |
| Camp. 7  |           |     |   |           |     |   |           |     |   |                    |      | chk             |       |            |           |                     |       |
| Camp. 8  |           |     |   |           |     |   |           |     |   |                    |      |                 |       |            |           |                     |       |
| Camp. 9  |           |     |   |           |     |   |           | chk |   |                    |      |                 |       |            |           |                     |       |
| Camp. 10   |           |     |   |           |     |   |           |     |   |                    |      |                 |       |            |           |                     |       |
| Camp. 11   | chk       | chk |   |           |     |   |           |     |   |                    |      | chk             |       |            |           |                     | chk   |
| Camp. 12   |           |     |   |           |     |   |           |     |   |                    |      |                 |       |            |           |                     |       |

  

|                        |                             |                             |
|------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| <b>Abilitazione</b>    | <input type="checkbox"/> SI | <input type="checkbox"/> No |
| Firma 1° operatore     | _____                       |                             |
| Firma 2° operatore     | _____                       |                             |
| <b>Note e commenti</b> | _____                       |                             |

**Legenda**  
 Check "chk" = conteggi non allineati tra loro; necessaria l'analisi delle fonti della variabilità.  
 A = anomalia.  
 E = conteggio escluso per assicurare la consistenza statistica delle letture delle piaste.

Figura 2: Prospetto B "Quadro sintetico dei conteggi e dei rilievi statistici" e prospetto C "Confronto con operatore competente"

| Prospetto A1: check omogeneità vs 1° operatore |                |                |     | Prospetto A2: check omogeneità vs 2° operatore |    |  |  |
|--|----------------|----------------|-----|--|----|--|--|
|  | id             |                |     | Test di omogeneità                             |    |  |  |
|  | 20             | 11             |     | 20   | 10 |  |  |
| Sample 1                                       | 7<br>6<br>5    | 7<br>7<br>7    | 0,5 | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |
| Sample 2                                       | 9<br>7<br>11   | 7<br>7<br>11   | 2,2 | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |
| Sample 3                                       | 4<br>6<br>8    | 5<br>8<br>7    | 2,1 | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |
| Sample 4                                       | 3<br>3<br>1    | 2<br>1<br>1    | 2,6 | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |
| Sample 5                                       | 9<br>3<br>8    | 6<br>6<br>10   | 4,6 | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |
| Sample 6                                       | 2<br>5<br>2    | 3<br>6<br>2    | 4,6 | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |
| Sample 7                                       | 21<br>34<br>22 | 26<br>36<br>29 | 6,8 | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |
| Sample 8                                       | 33<br>44<br>33 | 32<br>53<br>39 | 8,8 | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |
| Sample 9                                       | 27<br>26<br>36 | 41<br>41<br>53 | 14  | Compatibilità critica                          |    |  |  |
| Sample 10                                      | 6<br>9<br>5    | 7<br>9<br>5    | 2,5 | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |
| Sample 11                                      | 9<br>21<br>20  | 10<br>22<br>20 | 10  | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |
| Sample 12                                      | 6<br>6<br>5    | 8<br>8<br>7    | 1,1 | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |
| Sample 1                                       | 7<br>6<br>5    | 8<br>7<br>8    | 1   | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |
| Sample 2                                       | 9<br>7<br>11   | 14<br>9<br>12  | 3   | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |
| Sample 3                                       | 4<br>6<br>8    | 7<br>9<br>9    | 2,6 | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |
| Sample 4                                       | 3<br>3<br>1    | 2<br>2<br>1    | 2   | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |
| Sample 5                                       | 9<br>3<br>8    | 12<br>6<br>10  | 6,3 | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |
| Sample 6                                       | 2<br>5<br>2    | 3<br>9<br>5    | 8,2 | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |
| Sample 7                                       | 21<br>34<br>22 | 25<br>33<br>25 | 5,8 | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |
| Sample 8                                       | 33<br>44<br>33 | 34<br>52<br>35 | 7,9 | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |
| Sample 9                                       | 27<br>26<br>36 | 40<br>35<br>42 | 6,3 | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |
| Sample 10                                      | 6<br>9<br>5    | 7<br>8<br>5    | 2   | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |
| Sample 11                                      | 9<br>21<br>20  | 9<br>22<br>18  | 11  | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |
| Sample 12                                      | 6<br>6<br>5    | 8<br>6<br>6    | 0,8 | Compatibilità accettabile                      |    |  |  |

Figura 3: Prospetto A “Check omogeneità”

## 8 Criteri di valutazione della qualità dei dati dei conteggi

Il controllo su base statistica viene condotto su ogni campione, rappresentato dal set di 3 piastre.

Per ogni triplicato la procedura prevede, come risultato, il calcolo della media dei conteggi, del limite inferiore e superiore e dell'incertezza composta. L'accettabilità dei conteggi al fine del calcolo dei risultati viene valutata attraverso l'indice di Huber, il  $G^2$  test e il calcolo dell'incertezza composta (che, nelle prove microbiologiche, normalmente si attesta su valori  $\leq 20\%$ ). L'indice di Lexis fornisce, invece, informazioni sulle cause della variabilità del dato osservata: se essa non è imputabile alla sola distribuzione di Poisson possono sussistere problemi analitici, che andranno opportunamente discussi tra i partecipanti alla sessione.

Spetta ad ogni singolo operatore escludere o meno dal calcolo dei risultati del conteggio i valori che risultano anomali in base ai criteri della Tabella 3.

Tabella3 - Criteri di accettabilità dei risultati e gestione delle non conformità

| Casistica | Indice di HUBER (H) | Test G <sup>2</sup> livello di fiducia 95% | Test G <sup>2</sup> livello di fiducia 99% | Indice di LEXIS (L) | Gestione delle non conformità  |
|-----------|---------------------|--|--|---------------------|--|
| 1         | $H \leq 4,5$        | accettato                                  | accettato                                  | $L \leq 1$          | Risultato Accettabile  |
| 2         | $H \leq 4,5$        | rifiutato                                  | rifiutato                                  | $L \geq 5$          | Risultato NON accettabile*   |
| 3         | $H > 4,5$           | rifiutato                                  | accettato                                  | $1 < L < 5$         | Risultato Accettabile  |
| 4         | $H \leq 4,5$        | accettato                                  | accettato                                  | $1 < L < 5$         | Risultato Accettabile  |
| 5         | $H \leq 4,5$        | rifiutato                                  | accettato                                  | $1 < L < 5$         | Risultato Accettabile  |
| 6         | $H > 4,5$           | rifiutato                                  | rifiutato                                  | $L \geq 5$          | Escludere il valore anomalo evidenziato da H e ripetere l'analisi statistica |
| 6a        | $H \leq 4,5$        | accettato                                  | accettato                                  | $L \leq 1$          | Risultato della ripetizione dell'analisi Accettabile                         |
| 6b        | $H \leq 4,5$        | rifiutato                                  | rifiutato                                  | $L \geq 5$          | Risultato della ripetizione dell'analisi NON Accettabile*                    |

*Legenda*  
I colori esprimono visivamente la condizione di accettabilità o meno del risultato relativo al parametro statistico in esame.

(\*) In questo caso, il triplicato non è valido ai fini della valutazione della qualità del conteggio (i valori dei risultati del conteggio non possono essere considerati validi ai fini della misura del livello di contaminazione microbiologica ambientale). La prova andrà ripetuta effettuando l'analisi con un triplicato valido.

Nel caso in cui una piastra del triplicato avesse risultato qualitativo (assenza di crescita, patina etc.), questo va escluso dall'analisi statistica. Nel caso in cui due piastre su tre abbiano risultati qualitativi, il triplicato non può essere sottoposto ad analisi statistica. In ogni caso, le piastre con risultati qualitativi sono valide ai fini del test della competenza dell'operatore (adozione della corretta terminologia di espressione del risultato, rispetto allo standard).

## 9 Criteri di valutazione della competenza all'attività di prova

Per verificare se l'operatore in fase di addestramento o in fase di verifica effettua il conteggio delle colonie in modo equivalente a OC si utilizzano i prospetti C ed A. Essi consentono di evidenziare differenze statistiche nel conteggio delle colonie di ogni singola piastra, segnalate dalla presenza di "chk" (check), tra i due operatori.

I Check costituiscono le non conformità per la cui gestione si rimanda al paragrafo successivo.

## 10 Gestione delle non conformità

Un eventuale esito negativo della sessione di verifica del mantenimento dell' idoneità si configura come non conformità. La gestione delle non conformità prevede quanto segue.

*Operatore in addestramento* - Per l'operatore in formazione, le non conformità riscontrate durante l'esecuzione della sessione per 2 campioni di prova su 5 portano ad una *non idoneità* all'esecuzione del conteggio e comportano la necessità di un nuovo addestramento.

L'operatore in formazione, quindi, deve esercitare le sue competenze nel conteggio affiancando gli operatori competenti durante l'attività di laboratorio routinaria e, nel più breve periodo di tempo possibile, ripetere le prove specifiche.

*Operatore in fase di verifica del mantenimento dell' idoneità* - Per l'operatore in fase di verifica, le non conformità per 2 campioni di prova su 5 portano ad una *provvisoria non idoneità*. A fine sessione, dopo il confronto tra i partecipanti sui risultati della prova, si procede ad una ripetizione dei conteggi da parte dell'operatore temporaneamente non idoneo sui medesimi campioni di prova il cui codice identificativo è stato modificato da RP. Se permane la non conformità dovranno essere previste sessioni integrative di conteggio nel più breve tempo possibile, effettuate su campioni di prova letti in cieco e in affiancamento con un operatore idoneo.

Se dall'elaborazione dei risultati di queste prove si evince una non accettabilità dei risultati ottenuti, si sottopone l'operatore all'addestramento specifico utilizzato per gli operatori in formazione. In caso di accettabilità dei risultati ottenuti, invece, l'operatore mantiene la competenza all'esecuzione del conteggio.

**Allegato 1****INAIL**CONSULENZA TECNICA  
ACCERTAMENTO RISCHI  
E PREVENZIONE CENTRALE**Laboratorio di Igiene Industriale****VALUTAZIONE DELLE PRESTAZIONI DEL PERSONALE TECNICO NELL'ANALISI MICROBIOLOGICA QUANTITATIVA CON TECNICHE COLTURALI**

Codice ID operatore: .....

Data e luogo....

| ID piastra | N. colonie/piastra | Note dell'operatore |
|------------|--------------------|---------------------|
| TSA 1a     |                    |                     |
| TSA 1b     |                    |                     |
| TSA 1c     |                    |                     |
| SABc 1a    |                    |                     |
| SABc 1b    |                    |                     |
| SABc 1c    |                    |                     |
| .....      |                    |                     |

## Riferimenti bibliografici e normativi

[Inail-005] Inail, Il monitoraggio microbiologico negli ambienti di lavoro. Campionamento e analisi. Linee guida, Milano, 2005 e 2010 [online].

[Inail-015] Inail, Il rischio biologico negli ambulatori “Prime Cure” INAIL Proposta di valutazione attraverso una metodologia integrata. Risultati, Milano, 2015 [online].

[Inail-011] Inail, La qualità del dato analitico nel monitoraggio ambientale del bioaerosol. L'esperienza INAIL di intercalibrazione dei conteggi microbici su piastra, Milano, 2011 [online].

[Gi-015] Giovinazzo, R., Calabrese P., Guerrera E., Mameli M., Marena G., Mastromartino T., Sarto D., Veltroni M., *Laboratory competence for bioaerosol measurement: development of a protocol for data quality control, Italian Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, Vol. 6, Issue n.1-2015, pages 47-53.

[Se-003] Seppo I. Niemelä. *Uncertainty of quantitative determinations derived by cultivation of microorganisms, Advisory Commission for Metrology. Chemistry Section, Expert Group for Microbiology*. In: METROLOGIA, MIKES Publication J4/2003, Helsinki, Finland, 2003 [online].

[Sp-998] Sprent P., *Data Driven Statistical Methods*. Chapman and Hall, London, 1998.

[Uni-005] UNI CEI EN ISO/IEC 17025, Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura, 2005.

[Hu-981] Huber, P. J., *Robust statistics*. New York: John Wiley, 1981.

## I Quaderni di ricerca

- 1 - G. Ciriello, M. De Felice, R. Mosca, M. Veltroni, *Infortuni sul lavoro. Un modello di lettura (della numerosità) su "open data" dell'Inail.*
- 2 - L. Cortis, F. M. Fabiani, C. Ratti, L. Rossi, D. G. Svampa, C. Vitale, *Analisi e valutazione del comportamento dell'assorbitore di energia nei sistemi di arresto caduta con differenti masse di prova.*
- 3 - P. Rossi, *Danno biologico: monitoraggio, criticità e prospettive d'interesse medico-legale a dieci anni dall'introduzione della nuova disciplina.*
- 4 - M. De Felice, A. Goggiamani, R. Mosca, M. Veltroni, *Malattie professionali. Un modello di lettura (della numerosità) su "open data" dell'Inail.*
- 5 - L. Cortis, F. M. Fabiani, L. Rossi, D. G. Svampa, *Nuovi strumenti per la valutazione dello scivolamento e ribaltamento delle scale portatili.*
- 6 - L. Cortis, F. M. Fabiani, L. Rossi, D. G. Svampa, *Determinazione della resistenza caratteristica dei dispositivi di collegamento montante-traverso nei ponteggi metallici fissi di facciata.*
- 7 - S. Carruba, R. Grimaldi, M. Sparro, S. Tomasini, *Vendor Rating: il modello di valutazione delle forniture IT dell'INAIL*
- 8 - P. Agnello, S. M. Ansaldi, *Una proposta di ontologia per gli Open Data Inail sugli infortuni: dalla numerosità dei dati alla gestione della conoscenza*
- 9 - A. Alvino, A. Antonini, C. Delle Site, A. Di Loreto, F. Giacobbe, D. Lega, E. Pichini, M.A. Pierdominici, L. Ricciardi, A. Tonti, *Analisi delle cause di rottura di materiali metallici: esempi di applicazione.*
- 10 - L. Cortis, F. M. Fabiani, L. Rossi, D. G. Svampa, *Light workers e criticità dell'assorbitore di energia nei sistemi di arresto caduta.*
- 11 - S. Carruba, R. Grimaldi, M. Sparro, S. Tomasini, *Vendor Rating: la valutazione delle forniture IT dell'Inail per il 2015.*
- 12 - L. Cortis, F. M. Fabiani, L. Rossi, D. G. Svampa, *Metodologia per prove di rigidità e resistenza per i dispositivi di collegamento montante-traverso nei ponteggi metallici fissi di facciata.*