



Accreditamento dei metodi di valutazione dello stato ecologico per la componente diatomica

Laura Mancini e Camilla Puccinelli

laura.mancini@iss.it; camilla.puccinelli@iss.it

Trento 21 marzo 2014



Workshop - LE DIATOMEES NEL BIOMONITORAGGIO DEI CORPI IDRICI FLUVIALI E LACUSTRI: STATO DELL'ARTE A TRE ANNI DALL'APPLICAZIONE DEL DM 260/2010 E PROSPETTIVE FUTURE

Prova accreditata

Denominazione della prova	Norma/metodo di prov
Valutazione dello stato ecologico: classificazione di campioni di diatomee bentoniche e calcolo dell'indice multimetrico di intercalibrazione	UNI EN 13946: 2005 + UNI EN 14407:2004 + ISTISAN 09/19

Che cosa è la certificazione?

- La certificazione di conformità è l'azione attestante che un prodotto o un servizio è conforme a norme particolari o a specifiche tecniche.
- La certificazione è “la procedura con cui una parte terza dà assicurazione scritta che un prodotto, processo o servizio è conforme ai requisiti specificati”.

Accreditamento?

- **Accreditamento:**
procedimento con cui un organismo riconosciuto attesta formalmente la **competenza** di un organismo o persona a svolgere **funzioni specifiche**
- **UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2005**
- Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e taratura (Settembre 2005)
- E' una norma per l'accreditamento, non per la certificazione ("competenza")

Requisiti per l'accreditamento di un metodo

- **REQUISITI GESTIONALI**
- **REQUISITI TECNICI**

Rapporto di prova

MO IOV-QA-01_02 Modulo Rapporto di Prova
Fac-simile - (Rev. 1).doc

Requisiti Gestionali

- Organizzazione
- Sistema di gestione
- Tenuta sotto controllo della documentazione
- Riesame delle richieste, delle offerte e dei contratti
- Subappalto delle prove
- Approvvigionamento di servizi e di forniture
- Servizi al cliente
- Reclami
- Tenuta sotto controllo delle attività di prova non conformi
- Miglioramento
- Azioni correttive
- Azioni preventive
- Tenuta sotto controllo delle registrazioni
- Audit interni
- Riesami da parte della direzione

UNI CEI EN ISO/IEC 17025, 2005. Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e taratura (paragrafo 4)

Requisiti Tecnici

- Personale
- Luogo di lavoro e condizioni ambientali
- Metodi di prova e validazione dei metodi
- Apparecchiature
- Manipolazione degli oggetti da sottoporre a prova
- Assicurazione della qualità dei risultati di prova
- Presentazione dei risultati

UNI CEI EN ISO/IEC 17025, 2005. Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e taratura (paragrafo 4)

Personale

- Direttore del Dipartimento
- Responsabile Assicuratore Qualità del Dipartimento
- Direttore di Reparto
- Responsabile Assicuratore Qualità del Reparto
- Addetto/i alla Prova

Requisiti dell' Addetto alla Prova

➤ **Scolarità**

➤ **Conoscenze**

Metodo e procedure standard (UNI EN 13946: 2005 + UNI EN 14407:2004) metodo di taratura e principio di funzionamento delle apparecchiature, concetti statistici fondamentali utilizzati per la valutazione della qualità delle misure, stima incertezza da associare ai risultati delle misurazioni, progettazione e sviluppo di metodi di prova.

➤ **Esperienza**

Campagne di indagine ambientale, identificazione delle specie diatomiche e analisi delle comunità diatomiche (Esperienza minima di un anno)

➤ **Abilità**

Condurre in modo autonomo la prova, ottenendo risultati con la qualità prevista (risultati rientranti nella ripetibilità ed accuratezza dichiarata).

Autorizzazione dell' addetto alla prova

«Al fine di garantire che le attività critiche siano effettuate esclusivamente da personale qualificato, cioè in possesso dei requisiti precedentemente descritti solo specifico personale è autorizzato all'esecuzione» (ISO 17025, 2005)

L' autorizzazione per la prova: Valutazione dello stato ecologico: classificazione di campioni di diatomee bentoniche e calcolo dell'indice multimetrico di intercalibrazione viene effettuata una volta l'anno ed è divisa in due parti:

- 1) Autorizzazione al campionamento
- 2) Autorizzazione alla valutazione dello stato ecologico

Autorizzazione al campionamento

La competenza dell' addetto è stata valutata sui seguenti aspetti:

- Preparazione attrezzatura da campo
- Scelta del sito di campionamento
- Prelievo diatomee
- Compilazione scheda di campo
- Etichettatura, Conservazione e trasporto campione

Scheda di valutazione

Preparazione attrezzatura da campo	Indicatore	Valutazione					Punteggio	
		5	4	3	2	1		
Stivali	10	5					0	
Provetta	10	5					0	
spazzolino	10	5					0	
vaschetta	1	5					0	
Matita	1	5					0	
Guanti	3	5					0	
Pennarello indelebile	1	5					0	
Gps	1	5					0	
Scelta del sito di campionamento								
Adeguate Distanza da scarichi	10	5					0	
Assenza o ridotta ombreggiatura	10	5					0	
Prelievo diatomee								
Selezionare substrato idoneo	10	5	4	3	2	1	0	
Prelevare le diatomee sui substrati procedendo da valle a monte	10	5	4	3	2	1	0	
Prelevare le diatomee sulla superficie dei substrati esposta alla luce	10	5	4	3	2	1	0	
Riempire la provetta con 10-20 mL di acqua di fiume	10	5	4	3	2	1	0	
Sciogliere correttamente lo spazzolino all'interno della provetta	10	5	4	3	2	1	0	
Compilazione scheda di campo								
Nome del sito	10	5					0	
Data e ora	10	5					0	
Altre informazioni	1	5	4	3	2	1	0	
Etichettatura, Conservazione e trasporto campione								
Etichettare campione	10	5					0	
Trasporto campione	2	5					0	
							totale	
							%	

Requisito : l' addetto deve ottenere un punteggio maggiore dell' 80 %

Autorizzazione alla valutazione dello stato ecologico

➤ Identificazione delle specie diatomiche presenti in un campione di riferimento:

Come campione di riferimento è stato scelto il campione di diatomee utilizzato nell'esercizio di Interconfronto tra gli operatori coinvolti nel monitoraggio dei corsi d'acqua Italiani «Diatomee dei corsi d'acqua italiani» (12-13 gennaio 2011)

Requisito : l' addetto deve identificare almeno l' 80 % delle specie

➤ Lettura in doppio del vetrino di riferimento, calcolo dell' ICMi e valutazione dello stato ecologico:

Deve essere preparato un rapporto di prova che riporti le specie, le abbondanze , i valori dell' Icmi delle due letture dello stesso vetrino.

Requisito: lo scostamento tra le due letture deve essere inferiore al limite di ripetibilità

Luogo di lavoro e condizioni ambientali

- Le condizioni ambientali che influenzano la qualità dei risultati, secondo quanto specificato dai singoli metodi di prova, dal costruttore delle apparecchiature, dal produttore dei materiali di riferimento e dei reattivi, vengono controllate e registrate. In particolare, allo stato attuale sono controllati e registrati:
 - temperatura degli apparecchi di conservazione dei campioni, dei materiali di riferimento e dei reattivi (frigo/ freezer);
 - temperatura del locale ove sono collocate le strumentazioni che richiedono particolari temperature durante il loro funzionamento (es. spettrometro di massa ad alta risoluzione, cromatografo liquido massa).
- Eventuali scostamenti dalle condizioni previste e impostate comportano il riesame documentato dell'eventuale effetto sui risultati delle prove ed è responsabilità del *Direttore di Reparto* far interrompere l'esecuzione delle prove qualora le condizioni ambientali siano tali da compromettere i risultati delle stesse.

Metodi di prova

validazione e verifica dei metodi

L'intercalibration Common Metrics Index (Mancini & Sollazzo, 2009) è un metodo normato, validato a livello Europeo dall' Processo di intercalibrazione* e definito dalla legislazione nazionale (Italia, 2010).

*AA.VV, 2011. WFD Intercalibration Phase 2: Milestone 5/Alpine GIG/Phytobenthos.

AA.VV, 2011. WFD Intercalibration Phase 2: Milestone 5/Central Baltic GIG / Phytobenthos

AA.VV, 2011. WFD Intercalibration Phase 2: Milestone 6 report. Rivers / Mediterranean GIG / Phytobenthos

Validazione:

Ripetibilità del metodo e stima dell'incertezza e

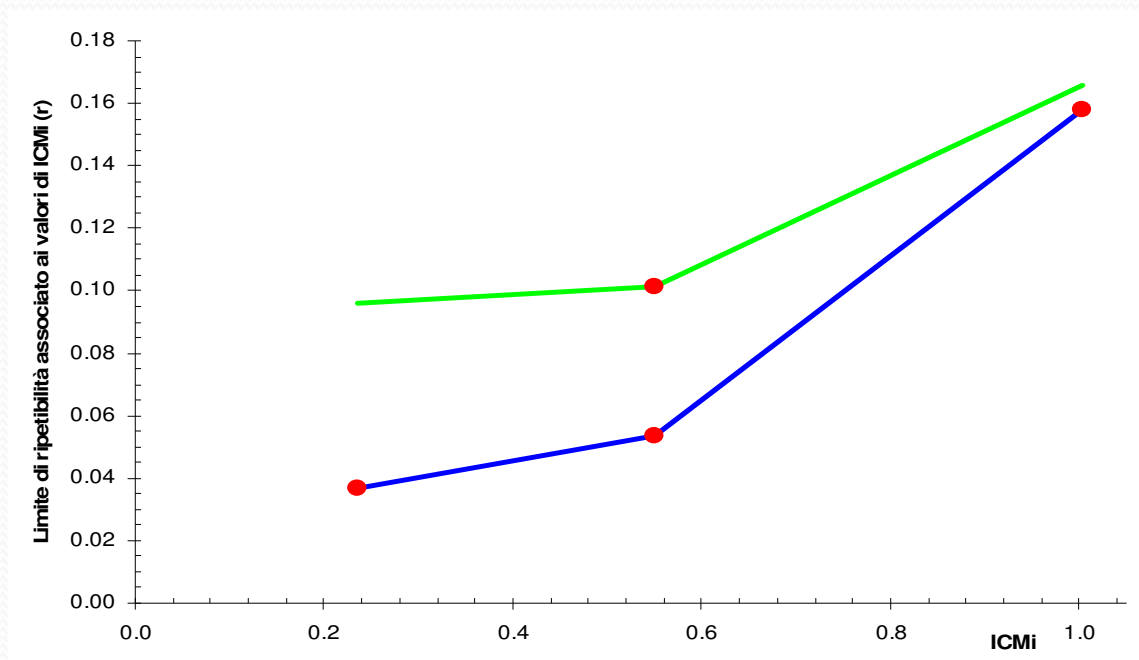
- La **ripetibilità** è stata stimata osservando il grado di concordanza dei risultati di prove ripetute (10) effettuate sullo stesso campione.
- Lo studio è stato effettuato su tre livelli di stato ecologico: elevato, sufficiente e cattivo
- Lo studio è stato progettato in modo tale da poter ricavare la variabilità del metodo, sia relativamente alla fase di campionamento che di laboratorio.
- Incertezza di misurazione
- [MO PG-09_03 Risultati ottenuti.doc](#)

Validazione: ripetibilità del metodo e stima dell'incertezza - risultati

	ICMi = 0.23	ICMi = 0.55	ICMi = 1.0
Campionamento escluso			
Scarto tipo (s)	0.012	0.017	0.050
Scarto tipo relativo (CV%)	5.0%	3.0%	5.0%
t-Student	2.23	2.26	2.23
Limite di ripetibilità (r)	0.037	0.054	0.16
Campionamento incluso			
Scarto tipo (s)	0.035	0.037	0.060
Scarto tipo relativo (CV%)	15%	6.6%	6.0%
t-Student	1.96	1.96	1.96
Limite di ripetibilità (r)	0.10	0.10	0.17

Validazione: Ripetibilità del metodo e stima dell'incertezza - risultati

Profilo del limite di ripetibilità (r)



In colore blu è riportato il grado di concordanza dei risultati quando il metodo viene applicato senza includere la fase di campionamento, in verde quando è inclusa anche la fase di campionamento. I punti in rosso si riferiscono ai valori ottenuti sperimentalmente.

Verifica del metodo

«Evidenza oggettiva che il laboratorio è competente ad eseguire la prova» (ISO, 17025:2005)

Viene effettuata annualmente e prevede:

1. Campionamento, analisi in doppio del campione: Deve essere preparato un rapporto di prova che riporti le specie, le abbondanze valori dell' ICMi delle due letture dello stesso vetrino

Requisito : lo scostamento tra le due letture deve essere inferiore al limite di ripetibilità

2. Analisi in doppio di tre campioni a diversi stati ecologici: cattivo, sufficiente ed elevato. Devono essere preparati rapporto di prova che riportino le specie, le abbondanze valori dell' Icmi delle due letture dello stesso vetrino.

Requisito: lo scostamento tra le due letture deve essere inferiore al limite di ripetibilità

Apparecchiature

L'utilizzo delle apparecchiature è regolamentato mediante autorizzazione rilasciata dal *Direttore di Reparto* e limitata al solo personale autorizzato ad eseguire le prove o avente familiarità con l'utilizzo della apparecchiatura.

La scheda di ogni strumento contiene:

- Codice dello strumento
- il nome del costruttore,
- l'identificazione del tipo, il numero di serie o altra identificazione univoca attribuita dal costruttore;
- la data di acquisto ed attivazione e lo stato al momento del ricevimento;
- la collocazione, ove appropriato;
- il nome della persona del Reparto a cui è stata affidata l'apparecchiatura;
- le istruzioni del costruttore (manuali d'uso) o i riferimenti della loro collocazione;
- le verifiche di conformità alle specifiche (verifiche preliminari e accettazione iniziale prima della messa in servizio);
- lo stato aggiornato delle manutenzioni.
- e date, i risultati e le copie dei rapporti e dei certificati di tutte le tarature, le regolazioni, i criteri di accettazione e la data di scadenza della prossima taratura.

Taratura del sistema di acquisizioni immagini del microscopio

- Materiale di riferimento: vetrino micrometrico certificato
- Il sistema viene tarato su diverse lunghezze
- Viene effettuata una volta l'anno
- Rapporto di taratura

Rapporto di taratura

ISS Dipartimento AMPP	MODULO RAPPORTO TARATURA ACQUISITORE IMMAGINI <i>Dipartimento Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria</i>	MO_IOT-QA-01_02
		Rev. 1
		Pag. 1/1

Rapporto n. _____ del _____

Strumento soggetto a taratura **Misuratore di lunghezza del software di acquisizione immagini** mat. **QA-02**

Procedura seguita: **IOT-QA-01** rev. **1**

Vetrino micrometrico: **C-14** tarata il: **///** certificato n. **C1120DD3B0** emesso da: **ACCREDIA N. 051**

Incertezza taratura vetrino (μm) **1,0**

		Obiettivo 40X		Obiettivo 100X	
		L _{ref.} (μm)	L _{ref.} (μm)	L _{ref.} (μm)	L _{ref.} (μm)
Risoluzione		50,0	100,0	30,0	50,0
		0,01	0,1	0,001	0,01
		50,26	100,8	30,000	48,92
		50,52	99,5	30,300	50,10
		50,78	100,5	30,870	49,90
		50,30	100,3	30,230	51,10
		50,20	101,0	30,500	50,90
Media	μm	50,41	100,42	30,380	50,18
Scarto tipo	μm	0,24	0,58	0,327	0,87
errore (E)	μm	0,41	0,42	0,380	0,18
errore relativo (E%)	%	0,8%	0,4%	1,3%	0,4%

INCERTEZZA DI TARATURA

u ripetibilità	μm	0,05	0,12	0,07	0,17
u risoluzione	μm	0,01	0,06	0,00	0,01
u riferimento	μm	0,50	0,50	0,50	0,50
u composta	μm	0,50	0,52	0,50	0,53
U taratura	μm	1,00	1,03	1,01	1,06

INCERTEZZA D'USO

μm	1,42	1,45	1,39	1,24
%	2,8%	1,5%	4,6%	2,5%

Limiti di accettazione: **INCERTEZZA D'USO MAX** % **3,0%** **3,0%** **5,0%** **3,0%**

Data esecuzione taratura _____ effettuata da _____

(spazio riservato al responsabile della taratura)

Esito del controllo di taratura _____ DIR-Rep _____

Manipolazione degli oggetti da sottoporre a prova

Le modalità di registrazione, identificazione, ispezione al ricevimento, i criteri per l'accettazione/rifiuto e le modalità di immagazzinamento, conservazione ed eliminazione/restituzione dei campioni, comprendendo tutte le disposizioni necessarie per proteggere la loro integrità così come gli interessi del cliente.

Assicurazione della qualità dei risultati di prova

Vengono realizzati controlli dei procedimenti di misurazione, sia mediante un programma di controllo qualità interno che mediante la partecipazione a confronti interlaboratorio (verifica esterna della qualità o controllo qualità esterno).

Presentazione dei risultati

I risultati di ogni prova effettuata su un campione sono comunicati al cliente mediante un documento identificato dalla scritta “*Rapporto di prova*” contenente tutte le informazioni necessarie per l’interpretazione corretta dei risultati.

Per le tarature effettuate internamente, i risultati vengono registrati in accordo alle specifiche procedure operative di taratura e, in questo caso il documento è designato come “*Rapporto di taratura*” e le informazioni riportate sono quelle richieste dal paragrafo

I rapporti di prova e di taratura sono emessi esclusivamente in forma cartacea.



Grazie per l'attenzione



**Workshop - LE DIATOMEI NEL BIOMONITORAGGIO DEI
CORPI IDRICI FLUVIALI E LACUSTRI: STATO DELL'ARTE A
TRE ANNI DALL'APPLICAZIONE DEL DM 260/2010 E
PROSPETTIVE FUTURE**

Trento 21 marzo 2014



PROVINCIA AUTONOMA DI TRENTO
Agenzia provinciale per la protezione dell'ambiente
Settore informazione e monitoraggio



CENTRO ITALIANO STUDI
DI BIOLOGIA AMBIENTALE



- International Scientific Symposium on “**SMALL SOLUTIONS FOR BIG WATER RELATED PROBLEMS -INNOVATIVE MICROARRAYS AND SMALL SENSORS TO COPE WITH WATER QUALITY AND FOOD SECURITY**”

- Istituto Superiore di Sanità (ISS), Rome, Italy on October 26th-28th, 2014.

- Detailed information and registration forms can be found on the website:

- <http://innovativeaquaticbiosensors.com>

- *Symposium topics*
- *Microchip technology applied to water quality evaluation*
- *Rapid and efficient methods to monitor the presence of emerging and re-emerging pathogens in aquatic ecosystems*
- *Aquatic biosensors*
- *Toxins detection in freshwater*
- *Detection of endocrine disrupting chemicals in water and liquids such as milk and fruit juices*
- *Cyanophages as a potential means to mitigate algal blooming*
- *Climatic change and aquatic ecosystems*
-

Roma 5-9 ottobre 2013