

Circuito per l'abilitazione di *Expert Panel* in macroinvertebrati bentonici

Alessandra Agostini^{*}, Stefania Balzamo², Cristina Martone²,
Sabrina Barbizzi², Paolo De Zorzi², Daniela Lucchini¹

¹ Arpae Sezione di Bologna, Via Francesco Rocchi, 19, 40138, Bologna

² ISPRA - Servizio di Metrologia Ambientale - Via di Castel Romano, 100, 00128 Roma

* Referente per la corrispondenza: aagostini@arpae.it

Pervenuto il 24.2.2017; accettato il 10.5.2017

Riassunto

Nel quadriennio 2012-2015 è stata organizzata una serie di confronti interlaboratorio sull'analisi dei macroinvertebrati bentonici negli ecosistemi fluviali, finalizzati alla valutazione della prestazione degli operatori nella fase di analisi degli organismi e basati sull'utilizzo di *Expert Panel* – EP come redattori di liste di riferimento da confrontare con i risultati dei singoli partecipanti. Dopo quattro anni è stata stilata una linea guida e successiva applicazione pratica finalizzata all'abilitazione della qualifica di *Expert Panel* con la definizione di compiti specifici e regole di comportamento nell'ambito dei Circuiti di Interlaboratorio, il tutto allo scopo di assicurare una ulteriore omogeneità nella conduzione degli esercizi di interconfronto sui macroinvertebrati bentonici. La prova si prefigge di realizzare un interconfronto tra EP, costituiti da due membri, allo scopo di verificarne l'idoneità al ruolo di redattori di liste di riferimento dei materiali sottoposti ad identificazione/conta. Il lavoro mostra l'organizzazione della prova nelle due fasi di campo e di laboratorio. La procedura di valutazione, basata sul calcolo di indici che permettono di confrontare dati costituiti da elenchi tassonomici e relative abbondanze, è stata applicata alle liste faunistiche redatte a livello di famiglia e di famiglia/genere. La soglia di idoneità utilizzata per la valutazione della prestazione è stata stabilita in base alla distribuzione dei risultati ottenuti nei Confronti Interlaboratorio svolti negli anni 2014 e 2015. Applicata ai punteggi finali ha permesso di stabilire l'idoneità a due livelli di approfondimento: famiglia e genere (*sensu* metodo IBE). Si conta di replicare negli anni l'organizzazione della prova.

PAROLE CHIAVE: Expert Panel / Interconfronto/ Macroinvertebrati

Intercomparison exercise for the qualification the Expert Panel on benthic macroinvertebrates

In the four-year period 2012-2015, a series of interlaboratory comparisons have been organized on the analysis of benthic macroinvertebrates in river ecosystems, aimed at presenting operators in the analysis of organisms and based on the use of Expert Panel – EP as reference list editors to be compared with the results of individual participants. After four years a guideline and subsequent practical application for the qualification of the Expert Panel was established with the definition of specific tasks and rules of conduct within the interlaboratory circuits, all in order to ensure a homogeneity in the Conducting interrelated exercises on benthic macroinvertebrates. The test aims to relate an interrelationship between EP, consisting of the two members, in order to verify the suitability for the role of reference list editors of the materials identified/counted. The work shows the organization of the test in the two phases of field and laboratory. The evaluation procedure, based on the calculation of statistical indices that allow to compare taxonomic lists and relative abundances, has been applied to the family and family / genus. The eligibility threshold used for the evaluation of the benefit was determined on the basis of the distribution of the results obtained in relation to the interlaboratory works carried out in the years 2014 and 2015. Applied to the final score made it possible to establish fitness for two levels of deepening: family and gender (IBE method *sensu*). It is important to replicate the organization of the test over the years.

KEY WORDS: Expert Panel / Intercomparison / Macroinvertebrates

INTRODUZIONE

CISBA e ISPRA, nell'ambito delle finalità del protocollo d'intesa volto alla promozione di formazione ed aggiornamento nel campo della biologia ambientale, hanno organizzato dal 2012 al 2015, in collaborazione con ARPA Emilia-Romagna, un confronto interlaboratorio sull'analisi dei macroinvertebrati

bentonici negli ecosistemi fluviali.

Il percorso intrapreso, nella predisposizione di Circuiti Interlaboratorio sul benthos ha come finalità quella di assicurare la maggiore omogeneità nella fase di determinazione e conta (analisi) da parte di operatori esperti che operano in questo ambito del monitoraggio biologico. L'esercizio è finalizzato alla valutazione della prestazione degli operatori in relazione alla sola fase di analisi degli organismi. L'organizzazione del circuito interlaboratorio si basa sull'utilizzo di un gruppo indipendente (*Expert Panel*), che redige una lista di riferimento da confrontare con il risultato dei singoli partecipanti. Oltre a rappresentare il metodo più idoneo e oggettivo nelle valutazioni finali, tale approccio è anche proposto dalle norme europee UNI EN 14996:2006, UNI EN 16101:2012 e UNI CEI EN ISO/IEC 17043:2010. Dopo quattro anni di lavoro si è giunti alla fase in cui era necessario organizzare un Confronto Interlaboratorio per *Expert Panel* finalizzato all'abilitazione della qualifica di EP, sulla base di una linea guida redatta per l'occasione. Il circuito per *Expert Panel* ha lo scopo di assicurare una ulteriore omogeneità nella conduzione degli esercizi di interconfronto e la definizione di compiti specifici e regole di comportamento nell'ambito dei circuiti interlaboratorio nei quali gli EP vengono impiegati come esperti.

Il lavoro mostra l'organizzazione del circuito per l'abilitazione di EP nelle due fasi –di campo e di laboratorio– e l'approccio statistico che è stato scelto per la valutazione della prestazione degli *Expert Panel*.

MATERIALI E METODI

Prova

L'interconfronto EP ha coinvolto sette EP (costituiti da due

membri) che sono stati sottoposti ad una prova di identificazione/ conta di macroinvertebrati bentonici a livello tassonomico di famiglia o genere (*sensu* Indice Biotico Esteso: APAT e CNR-IRSA, 2003).

La prova è pianificata in due fasi:

- Fase di campo: identificazione tassonomica e conteggio delle abbondanze dei taxa del campione consegnato.
- Fase di laboratorio: identificazione tassonomica degli individui raccolti e redazione della lista faunistica finale.

Fase di campo: l'allestimento di campo prevede l'utilizzo di tavoli di lettura sui quali vengono collocate delle vaschette contenenti porzioni di campione da analizzare.

La fase di campo è organizzata in sessioni durante le quali gli EP hanno il compito di identificare e contare il materiale contenuto in almeno quattro vaschette presenti sui tavoli di lettura in un tempo assegnato di venti minuti per vaschetta. Per un totale giornaliero di otto vaschette.

Il materiale da esaminare è costituito da un campione di macroinvertebrati bentonici catturati al momento, omogeneizzato e distribuito all'interno di vaschette predisposte per l'esercizio di identificazione e conta. La distribuzione del campione durante il circuito è eseguita da 1-2 persone esterne alla prova per garantire l'omogeneità della quantità versata in tutte le vaschette presenti sui tavoli di lettura.

La modalità di lettura degli EP è tale per cui la lista faunistica finale (lista faunistica concordata) è frutto di una mediazione delle letture individuali dei due membri che vengono annotate su schede comuni e che successivamente serviranno per la redazione della lista faunistica totale che verrà elaborata per la valutazione della prestazione dell'EP.

Tutte le fasi della prova sono state guidate da un coordinatore degli spostamenti che ha il compito di:

- assegnare le postazioni di identificazione e conteggio di tutti gli EP presenti alla prova dalla prima assegnazione alle successive sulla base di un piano di collocazione di partenza, che viene di volta in volta aggiornato in funzione delle assegnazioni di lettura successive;
- monitorare i tempi di identificazione e conteggio degli EP;
- raccogliere su apposite schede le indicazioni sugli individui da approfondire in laboratorio da parte degli EP e su appositi registri i tempi di identificazione/conta.

Tutti gli individui contenuti nei sottocampioni predisposti per la prova in campo sono opportunamente raccolti per vaschetta per la successiva fase di laboratorio raccogliendoli in due contenitori, uno contenente tutti taxa presenti in ogni singola vaschetta e il secondo i taxa indicati dagli EP per i quali viene richiesto un approfondimento di identificazione/conferma in laboratorio.

La fase di laboratorio permette di identificare e/o confermare i taxa individuati in campo e di redigere le liste faunistiche finali relative alle vaschette sottoposte alla lettura.

In laboratorio i campioni vengono collocati accanto alla 'postazione di lettura', stereomicroscopio, in modo tale da riprodurre una distribuzione simile a quella di campo, con lo spostamento degli EP e postazioni fisse dei campioni. Non sono ammesse correzioni di nessun tipo, abbondanza o identificazione, al di fuori di quelle precedentemente segnalate in campo che fanno riferimento esclusivamente a dubbi di identificazione e non di abbondanza. Il tempo massimo di permanenza al microscopio

pio è di venti minuti per coppia di contenitori.

Al termine della prova i partecipanti consegnano tutte le schede in loro possesso, scheda di campo, scheda di laboratorio e scheda elettronica dove sono state trascritte le liste faunistiche totali dopo le letture effettuate al termine delle due fasi: campo e laboratorio.

Metodo di elaborazione statistica dei dati e criteri di valutazione dei risultati

Il risultato dell'analisi di un campione di macroinvertebrati è rappresentato da un elenco di taxa e dal loro valore di abbondanza.

Per la valutazione delle liste faunistiche concordate si procede al calcolo della somma delle quattro liste faunistiche prodotte per sessione e all'applicazione di due tipologie di approccio:

- **(1) Confronto a coppie:** confronto di ciascuna lista redatta da un EP con le liste redatte dagli altri EP che hanno letto le medesime vaschette (confronto per ogni possibile coppia) e successiva valutazione dei valori ottenuti;
- **(2) Consenso:** confronto del risultato di ciascuna lista rispetto ad un risultato di riferimento ottenuto per consenso (elenco tassonomico di riferimento in cui le abbondanze sono state ottenute come valore mediano delle abbondanze riscontrate da ciascun EP) dai risultati degli EP che hanno letto le stesse vaschette.

L'idoneità è stabilita valutando la media degli indici calcolati applicando gli approcci (1) e (2).

La procedura di valutazione è applicata alle liste faunistiche redatte a livello di famiglia e a livello di famiglia/genere.

Per l'esame dei dati si procede al calcolo di quattro indici/parametri idonei per l'analisi di elenchi tassonomici e relative ab-

bondanze per ognuna delle sessioni e per entrambi gli approcci:

- **AT Accordo tassonomico (1-PTD/100)** Range: 0-1. Permette di confrontare l'accordo tassonomico tra due operatori che analizzano indipendentemente il medesimo campione di macroinvertebrati.

Ricavato da PTD - Percentuale di disaccordo tassonomico (percent taxonomic disagreement) (Stribling *et al.* 2003; Stribling 2011). Range: 0-100%. $PTD = (1 - [a/N]) \times 100$ (a: numero totale di individui per i quali c'è accordo tassonomico tra i due campioni; N: numero totale di individui presenti nel più abbondante tra i due campioni)

- **AC Accordo nel conteggio (1-PDE/100)** Range: 0-1. Permette di misurare le congruenze tra due operatori nel conteggio degli individui complessivamente presenti in uno stesso campione.

Ricavato dal PDE - Percentuale di differenza nel conteggio (*percent difference in enumeration*) (Stribling *et al.* 2003; Stribling 2011). Range: 0-100% $PDE = (|n_1 - n_2| / n_1 + n_2) \times 100$ (n_1 : numero totale di individui presenti nel primo campione; n_2 : numero totale di individui presenti nel secondo campione)

- **Indice di Bray-Curtis** (Kelly, 2001; Lorenz e Clarke, 2006) Range: 0-1. L'indice di Bray-Curtis permette, sulla base dei dati di composizione e abbondanza dei taxa, di misurare il livello di similarità di due liste di macroinvertebrati ottenute indipendentemente da due operatori a partire dallo stesso campione. Esso può assumere valori da 0 (comunità completamente differenti) a 1 (comunità identiche).

- **Indice di Jaccard** (Cao *et*

al., 2003; Lorenz *et al.*, 2006) Range: 0-1. L'indice di Jaccard misura il livello di similarità di due liste di macroinvertebrati ottenute indipendentemente da due operatori a partire dallo stesso campione e si basa sui dati di sola presenza-assenza dei taxa, non considerando la loro abbondanza.

La media dei risultati degli indici dei due approcci per ogni EP costituisce il Punteggio finale sulla base del quale si procede alla valutazione del risultato della prestazione degli EP.

Avendo valutato due tipologie di liste a livello di identificazione tassonomica diversa per ogni EP, la valutazione della prestazione viene eseguita su due punteggi finali: Punteggio Finale Famiglia e Punteggio Finale Genere.

La soglia di idoneità utilizzata per la valutazione della prestazione è stabilita in base alla distribuzione dei risultati ottenuti nei Confronti Interlaboratorio svolti negli anni 2014 e 2015, mediante il calcolo della media del 25° percentile dei quattro indici: AT = 1- PTD/100, AC = 1- PDE/100, Indice di Bray-Curtis, Indice di Jaccard relativi a 60 operatori che hanno partecipato alle due edizioni (Tab. I).

Applicata al Punteggio Finale Famiglia e al Punteggio Finale Genere permette di stabilire l'idoneità ai due livelli di approfondimento: famiglia e genere (sensu metodo IBE).

Laddove il Punteggio Finale ottenuto dall'EP sia minore della soglia di idoneità, l'EP è da considerarsi non idoneo al ruolo.

Tab. I. Soglie Punteggio Finale per valutazione prestazione EP

Giudizio	Punteggio Finale
Idoneo	$\geq 0,81$
Non idoneo	$< 0,81$

RISULTATI**Risultati punteggio finale Famiglia EP**

Nelle tabelle II e III sono riportate le medie delle 2 sessioni per i 4 indici dopo l'applicazione dei due approcci: (1) *Confronto a coppie* e (2) *Consenso* su liste faunistiche valutate a livello di famiglia per tutti i taxa utili per il calcolo delle 'Media 4 Indici Famiglie

(1) *Confronto a coppie* e 'Media 4 Indici Famiglie (2) *Consenso*'.

Procedendo al calcolo della media dei risultati 'Media 4 Indici Famiglie (1) *Confronto a coppie* e 'Media 4 Indici Famiglie (2) *Consenso*' si ottiene il Punteggio finale Famiglie per ogni singolo EP, che permette di stabilire l'esito della prestazione degli EP in base alle soglie di idoneità elencate in tabella I per l'identificazione a livello di Famiglia (Tab. IV).

Risultati punteggio finale Generi EP

Nelle tabelle V e VI sono riportate le medie delle 2 sessioni per i 4 indici dopo l'applicazione dei due approcci: (1) *Confronto a coppie* e (2) *Consenso* su liste faunistiche a livello di famiglia/genere utili per il calcolo delle 'Media 4 Indici Generi (1) *Confronto a coppie* e 'Media 4 Indici Generi (2) *Consenso*'.

Tab. II. EP – Approccio tipo (1) *Confronto a coppie* su liste faunistiche redatte a livello di famiglia. Medie dei singoli indici e Media dei 4 indici Famiglie (1).

(1) Confronto a coppie							
EP	X	Y	W	Z	J	K	H
Media AT	0,79	0,73	0,79	0,81	0,9	0,88	1
Media AC	0,93	0,86	0,91	0,93	0,98	0,97	1
Media Bray-Curtis	0,84	0,83	0,85	0,86	0,92	0,92	0,91
Media Jaccard	0,84	0,87	0,87	0,9	0,88	0,88	0,87
Media 4 Indici Famiglie (1)	0,85	0,83	0,86	0,87	0,92	0,91	0,95

Tab. III. EP - Approccio tipo (2) *Consenso* su liste faunistiche redatte a livello di famiglia. Medie dei singoli indici e Media dei 4 indici Famiglie (2).

(2) Consenso							
EP	X	Y	W	Z	J	K	H
Media AT	0,89	0,79	0,88	0,9	0,94	0,93	1,00
Media AC	0,99	0,89	0,94	0,96	0,98	0,99	1,00
Media Bray-Curtis	0,9	0,88	0,93	0,94	0,96	0,97	0,95
Media Jaccard	0,88	0,9	0,98	0,85	0,97	0,93	0,94
Media 4 Indici Famiglie (2)	0,92	0,87	0,93	0,91	0,96	0,95	0,97

Tab. IV. Punteggio finale famiglie - Risultati prestazione EP a livello di Famiglie.

EP	X	Y	W	Z	J	K	H
Media 4 Indici Famiglie (1) Confronto a coppie	0,85	0,83	0,86	0,87	0,92	0,91	0,95
Media 4 Indici Famiglie (2) Consenso	0,92	0,87	0,93	0,91	0,96	0,95	0,97
Punteggio finale Famiglie	0,88	0,85	0,89	0,89	0,94	0,93	0,96

Tab. V. EP - Approccio tipo (1) *Confronto a coppie* su liste faunistiche redatte a livello di famiglia/genere. Medie dei singoli indici e Media dei 4 indici Generi (1).

(1) Confronto a coppie

EP	X	Y	W	Z	J	K	H
Media AT	0,77	0,71	0,75	0,79	0,89	0,88	1,00
Media AC	0,93	0,86	0,91	0,93	0,98	0,97	1,00
Media Bray-Curtis	0,82	0,81	0,81	0,84	0,91	0,91	0,90
Media Jaccard	0,88	0,91	0,9	0,92	0,88	0,88	0,87
Media 4 Indici Generi (1)	0,82	0,81	0,82	0,85	0,92	0,91	0,94

Tab. VI. EP - Approccio tipo (2) Consenso su liste faunistiche redatte a livello di famiglia/genere. Medie dei singoli indici e Media dei 4 indici Generi (2).

(2) Consenso							
EP	X	Y	W	Z	J	K	H
Media AT	0,89	0,78	0,84	0,89	0,94	0,93	1,00
Media AC	0,99	0,88	0,95	0,96	0,98	0,99	1,00
Media Bray-Curtis	0,89	0,87	0,88	0,93	0,96	0,96	0,95
Media Jaccard	0,87	0,87	0,91	0,79	0,98	0,92	0,95
Media 4 Indici Generi (2)	0,91	0,85	0,90	0,89	0,96	0,95	0,97

Tab. VII. Punteggio finale Generi - Risultati prestazione EP a livello di Famiglie/Genere.

EP	X	Y	W	Z	J	K	H
Media 4 Indici Generi (1) Confronto a coppie	0,82	0,81	0,82	0,85	0,92	0,91	0,94
Media 4 Indici Generi (2) Consenso	0,91	0,85	0,9	0,89	0,96	0,95	0,97
Punteggio finale Generi	0,87	0,83	0,86	0,87	0,94	0,93	0,96

Procedendo al calcolo della media dei risultati 'Media 4 Indici Generi (1) Confronto a coppie' e 'Media 4 Indici Generi (2) Consenso' si ottiene il Punteggio finale Generi per ogni singolo EP, che permette di stabilire l'esito della prestazione dell'EP in base alle soglie di idoneità elencate in tabella I per l'identificazione a livello di Genere (Tab. VII).

CONCLUSIONI

La prima esperienza di un interconfronto tra EP, svolto a Porretta Terme (Bo) ha dato risultati positivi sia in ambito di prestazione dei partecipanti che in ambito di uniformazione delle procedure di comportamento da tenere all'interno dei circuiti interconfronto sui macroinvertebrati bentonici. Si prevede di replicare ogni due anni l'organizzazione per mantenere l'abilitazione

alla qualifica di EP e formarne di nuovi. Le soglie dei futuri circuiti saranno revisionate prima di ogni edizione integrando i dati del biennio 2014-2015 con i risultati delle prestazioni degli operatori che parteciperanno alle nuove edizioni dei Confronti Interlaboratorio. Le linee guida del Circuito per abilitazione di *Expert Panel* sono in fase di completamento e prossima pubblicazione (Agostini *et al.*, 2017).

BIBLIOGRAFIA

- Agostini A., Lucchini D., Genoni P., Martone C., Barbizzi S., 2017. *Qualità del dato del Monitoraggio Biologico: Macroinvertebrati delle Acque Superficiali Interne*. ISPRA, ARPAE, CISBA, Manuali e Linee Guida (in stampa).
- APAT, CNR-IRSA, 2003. *Metodo 9010 - Indice Biotico Esteso I.B.E.* Manuali e Linee Guida 29/2003: 1115-1136.
- Cao Y., Hawkins C.P., Vinson M.R., 2003. Measuring and controlling data quality in biological assemblage surveys with special reference to stream benthic macroinvertebrates. *Freshwater Biology*, **48**: 1898-1911.
- Kelly M.G., 2001. Use of similarity measures for quality control of benthic diatom samples. *Water Research*, **35**: 2784-2788.
- Lorenz A., Clarke R.T., 2006. Sample coherence – a field study approach to assess similarity of macroinvertebrate samples. *Hydrobiologia*, **566**: 461-476.
- Stribling J.B., Moulton II S.R., Lester G.T., 2003. Determining the quality of taxonomic data. *Journal of the North American Benthological Society*, **22**: 621-631.
- Stribling J.B., 2011. Partitioning error sources for quality control and comparability analysis in biological monitoring and assessment. *In: Eldin A.B. (Ed.) Modern approaches to quality control*. ISBN: 978-953-307-971-4. InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/>
- UNI EN 14996:2006. Qualità dell'acqua. Linea guida per assicurare la qualità delle valutazioni biologiche ed ecologiche nell'ambiente acquatico.
- UNI CEI EN ISO/IEC 17043:2010. Valutazione della conformità. Requisiti generali per prove valutative interlaboratorio.
- UNI EN 16101:2012. Qualità dell'acqua. Norma guida sugli studi di confronto interlaboratorio per le valutazioni ecologiche.