



Linea Guida IC ARP AE 2025
Batteria di test ecotossicologici

INDICE

1. INTRODUZIONE.....	3
2. RISERVATEZZA.....	3
3. CAMPIONI PER PT BATTERIA DI TEST ECOTOSSICOLOGICI.....	3
4. COMUNICAZIONI.....	4
5. SUBAPPALTI.....	5
6. VALORE ASSEGNATO, DEVIATIONE STANDARD RELATIVA ROBUSTA E VALUTAZIONE DELLE PERFORMANCES.....	5
7. PASSAGGI DA SEGUIRE.....	7
8. QUANTITA' DI CAMPIONE.....	7
9. SPEDIZIONE DEI CAMPIONI.....	8
10. AVVERTENZE SULLA MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI.....	8
11. RISULTATI.....	8
12. APPELLI E RECLAMI.....	9
13. OGGETTI RESIDUI.....	9
14. ARCHIVIAZIONE.....	9

1. INTRODUZIONE

Lo scopo dell'Interconfronto (IC) è la verifica della performance dei partecipanti in conformità ai metodi ufficiali utilizzati.

ARPAE LM di RA ha avviato il processo di accreditamento per il 2025 come provider di Proficiency test (PTP) che terminerà con la visita ispettiva pianificata nel mese di Ottobre 2025. Gli schemi proposti quest'anno saranno oggetto di accreditamento e verranno svolti in conformità alla norma UNI CEI EN ISO/IEC 17043:2023.

La presente linea guida e tutta la documentazione inviata ai partecipanti, sono parte integrante dei documenti del SGQ, stilati nel rispetto della norma UNI CEI EN ISO/IEC 17043:2023.

Gli Interconfronti sono organizzati da ARPAE LM di RA per la determinazione dei parametri descrittivi della ecotossicità di sostanze chimiche in soluzione acquosa.

L'organizzazione dell'IC ha lo scopo di migliorare la qualità e l'accuratezza dei risultati dei principali test ecotossicologici, così come di valutare la capacità di ogni laboratorio di ottenere dei risultati confrontabili a livello nazionale ed europeo.

La determinazione dei parametri chimici riguardanti i campioni oggetto del PT sono eseguite da un laboratorio ARPAE accreditato secondo la norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2018.

2. RISERVATEZZA

I laboratori vengono identificati solo ed esclusivamente tramite un codice numerico (Lab. id.); il codice identificativo viene attribuito al momento dell'iscrizione alle prove ed è mantenuto per i successivi IC.

Nel caso in cui i risultati di un partecipante debbano essere comunicati a terzi, ciò avviene solo previa conoscenza e autorizzazione scritta del partecipante stesso.

Detta autorizzazione non è prevista nei casi in cui la richiesta provenga da organismi preposti dalla legge, tuttavia l'organizzatore è tenuto a darne comunicazione scritta al partecipante.

3. CAMPIONI PER PT BATTERIA DI TEST ECOTOSSICOLOGICI

La preparazione del proficiency test prevede:

- **la scelta della matrice**
- acqua MilliQ, acqua di grado 1 con conducibilità $<10 \mu\text{S}/\text{cm}^2$, per la determinazione della EC50 con D. magna, Aliivibrio fischeri, P. subcapitata
- acqua ISO (ISO 6341 – 6.3 Dilution and culturing water; LG OECD 202 - *Annex 3 ISO Test Water*) per il saggio di determinazione della % di immobilizzazione con D. Magna e per il Fish Embryo Test (FET)

- **la scelta della sostanza attiva:** la sostanza da utilizzare come tossico nella prova è stata scelta sulla base delle seguenti caratteristiche:
 - presenza di dati di letteratura
 - bassa tossicità per l'operatore
 - facile reperibilità e disponibilità
 - basso costo
 - facile smaltimento al termine della prova

La quantità definita di sostanza attiva viene omogeneizzata con un adeguato volume di matrice; successivamente viene effettuata una suddivisione in contenitori. Se ritenuto necessario, dieci di tali contenitori scelti a caso, vengono analizzati in doppio per valutare l'omogeneità. Nel caso si utilizzino sostanze tossiche di riferimento utilizzate in precedenti sessioni, il PTP può ritenere non necessario effettuare la verifica dell'omogeneità.

I campioni sono mantenuti a temperatura refrigerata prima della spedizione ai partecipanti e spediti a temperatura ambiente.

Al fine di valutare la stabilità, tre contenitori scelti a caso vengono analizzati in doppio al momento della spedizione dei campioni, 48 ore dopo la spedizione e allo scadere del termine per la consegna del risultato.

4. COMUNICAZIONI

Le comunicazioni fra ARPAE RA ed i partecipanti all' IC avvengono con l'utilizzo dei seguenti Allegati:

- Allegato 1: Programma IC anno 2025 - inviato da ARPAE via e-mail con la lettera di presentazione.
- Allegato 2: COSTI IC 2025 - inviato da ARPAE via e-mail con la lettera di presentazione.
- Allegato 3: scheda di adesione IC anno 2025 - inviato da ARPAE via e-mail con la lettera di presentazione, e che deve essere restituito compilato nei tempi indicati
- Allegato 4: elenco delle sostanze utilizzate
- Foglio di restituzione dati: un foglio Excel per ogni test cui il laboratorio partecipante aderisce, sarà inviato per l'inserimento dei risultati e delle informazioni utili al PTP

Se nel corso dell'anno si dovessero evidenziare modifiche inerenti a ragioni sociali, indirizzo di spedizione, dati di fatturazione, indirizzi email e personale di riferimento, è cura del laboratorio partecipante darne tempestiva comunicazione al coordinatore tramite la compilazione di un nuovo Allegato 3: scheda di adesione IC anno 2025.

5. SUBAPPALTI

Non applicabile

6. VALORE ASSEGNATO, DEVIAZIONE STANDARD RELATIVA ROBUSTA E VALUTAZIONE DELLE PERFORMANCES

Prima di procedere al calcolo del valore assegnato e della deviazione standard dell'interconfronto, viene valutata la presenza di errori grossolani tra i risultati dei partecipanti. In questo contesto definiamo errori grossolani (detti anche *blunders*) i risultati che si discostano di un'unità di grandezza e più dalla mediana. Tali risultati verranno esclusi dai successivi calcoli del valore assegnato e della deviazione standard dell'interconfronto ma verranno evidenziati nel report finale/tabelle delle statistiche dei dati, indicando il/i partecipante/i che hanno restituito tali dati.

La distribuzione dei risultati dei partecipanti viene descritta attraverso l'utilizzo di strumenti grafici quali il "*Kernel density plot*" ed istogramma per evidenziare eventuali andamenti bimodali e asimmetrici.

La presenza di dati anomali (outliers) viene inoltre valutata tramite l'applicazione del box-plot.

Gli outliers non sono esclusi a priori dal calcolo delle statistiche descrittive e prestazionali in quanto l'influenza dei risultati anomali sulla valutazione statistica, è minimizzata applicando la statistica robusta, come descritto nell'Annex C della ISO 13528:2022 attraverso l'algoritmo A. Come stabilito al p.to 6.5.2 della Norma ISO 13528:2022, l'algoritmo A è però in grado di compensare la presenza di dati anomali fino ad una percentuale non superiore del 20% dell'intera popolazione di dati. Nel caso la percentuale degli outliers sia maggiore del 20%, l'algoritmo A non può essere applicato, gli outliers vengono quindi rimossi e si procede al calcolo delle medie e deviazioni standard.

Il valore assegnato è calcolato come media robusta applicando l'algoritmo A come descritto nell'Annex C della ISO13528:2022 o come media se l'algoritmo A non è applicabile. L'incertezza del valore assegnato è sempre calcolata ed inserita nel report.

Il valore della deviazione standard dell'interconfronto (σ_{pt}) è in genere fissato pari al 30% del valore assegnato/di consenso. E' possibile anche scegliere come σ_{pt} la deviazione standard o la deviazione standard robusta calcolata dai risultati dei partecipanti anche se in genere il PTP non privilegia questa scelta.

Per la valutazione delle prestazioni dei partecipanti viene calcolato il parametro z-score attraverso la relazione matematica:

$$z = \frac{(x_i - x_{pt})}{\sigma_{pt}}$$

dove:

- x_i : rappresenta il valore riscontrato dal laboratorio
- x_{pt} : rappresenta il valore riscontrato dall'elaborazione statistica robusta per il PT
- σ_{pt} : rappresenta la deviazione standard dell'interconfronto

Nelle prove in cui l'incertezza del valore assegnato, $u(x_{pt})$, risulti non trascurabile rispetto alla deviazione standard dell'interconfronto, σ_{pt} , cioè $u(x_{pt}) > 0.3\sigma_{pt}$, si procede al calcolo del z'-score come riportato nella ISO 13528 par 9.5.1:

$$z' = \frac{(x - x_{pt})}{\sqrt{u^2(x_{pt}) + \sigma_{pt}^2}}$$

Il significato da attribuire a “z - score” e “z’ - score” è riportato nella seguente tabella:

valore di z	valutazione
$ z \leq 2$	soddisfacente
$2 < z < 3$	discutibile
$ z \geq 3$	insoddisfacente

E' utilizzato solo un dato per ogni laboratorio partecipante; in caso di invio di un numero maggiore di risultati, è necessario da parte del laboratorio partecipante nominare un risultato tra quelli inviati, che sarà utilizzato per la valutazione della performance. Gli altri risultati eventualmente inviati sono valutati sulla base dei dati statistici ottenuti nel PT e comunicati via mail al laboratorio partecipante. I risultati forniti dai partecipanti non vengono mai arrotondati e sono utilizzati nei calcoli così come restituiti dai partecipanti, le statistiche descrittive e prestazionali sono calcolate e riportate nel report con 4 cifre significative. Lo z-score è riportato con tre cifre significative.

Poiché il valore assegnato del PT viene calcolato come valore di consenso tra i partecipanti, in caso di distribuzione bimodale, lo z-score non verrà calcolato dando evidenza di ciò nel report finale e fornendo comunque ai partecipanti il massimo di informazioni possibili come statistiche descrittive e analisi grafiche

Nel caso in cui il numero di partecipanti fosse piccolo, il PTP può decidere di non calcolare la performance quantitativa dei partecipanti o di calcolarla comunque come z-score (o z'-score) avendo cura di chiarire nel report finale il significato da attribuire a tali valori. L'incertezza del valore assegnato andrà sempre calcolata e riportata sul Report finale dove andrà altresì riportato l'approccio scelto per la gestione di questi dati.

L'analisi dei risultati relativi alla determinazione della % di immobilizzazione con *Daphnia magna* può in alcuni casi risultare complessa a causa di forte asimmetria della distribuzione dei dati. In questi casi il PTP può valutare di non fornire una performance quantitativa tramite il calcolo dello z-score ma di restituire un giudizio qualitativo sulla base del risultato atteso dal PTP, nel quale l'idoneità del risultato viene espressa prendendo come riferimento il limite di accettabilità di uno scarico (Dlgs.152/06).

7. PASSAGGI DA SEGUIRE

Per l'anno 2025 la partecipazione al proficiency test prevede 4 passaggi essenziali:

1. Ogni laboratorio deve compilare ed inviare ad ARPAE l'Allegato 3, scheda di adesione, ricevuto via e-mail, entro la data indicata nella comunicazione; deve altresì indicare chiaramente i test di interesse. L'indirizzo e-mail che viene comunicato attraverso la scheda di adesione è l'unico ad essere utilizzato per le comunicazioni. Eventuali variazioni devono essere formalizzate.
2. I laboratori partecipanti devono rispettare per ogni sessione i tempi indicati per l'invio dei risultati, utilizzando esclusivamente i Fogli di restituzione dati.
3. ARPAE valuta i risultati una volta superata la data finale per il ricevimento, ed invia ai partecipanti, in formato .pdf, un elaborato che include informazioni sulla preparazione del test, la valutazione statistica che compendia una rappresentazione grafica dei risultati dei laboratori partecipanti ed ogni altra informazione rilevante.
4. I laboratori partecipanti ricevono entro il 31/12/2025 la fattura relativa ai costi per l'anno in corso, comprendente le spese per i campioni e per le spedizioni; i laboratori partecipanti devono corrispondere quanto dovuto e riportato. I costi sono quelli riportati nell'Allegato 2 - *Costi PT 2025*.

8. QUANTITA' DI CAMPIONE

I laboratori partecipanti, a seconda delle prove scelte, potranno ricevere:

1 Per la sessione 1S-E25 PT FET:

- una bottiglia in PET contenente 1000 ml di campione per l'esecuzione del Fish Embryo Test (FET) con determinazione della LC50;

2 Per la sessione 2S-E25 PT ECOTOX :

- una bottiglia in PET contenente 500 ml di campione per la determinazione della % di immobilizzazione con *Daphnia magna*
- una bottiglia in PET contenente 1000 ml di campione per i test di determinazione della EC50 con *Daphnia magna*, *Pseudokirchneriella subcapitata* e *Aliivibrio fischeri*.

9. SPEDIZIONE DEI CAMPIONI

Tutti i campioni del test sono conservati a temperatura di refrigerazione fino alla spedizione.

Le date previste per la spedizione sono quelle indicate nell' Allegato 1 - *Programma PT anno 2025*.

In caso di danno o perdita dei campioni, il laboratorio partecipante potrà richiedere una seconda spedizione senza titolo oneroso.

10. AVVERTENZE SULLA MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

Una volta ricevuti i campioni del test, devono essere mantenuti in condizioni di temperatura di refrigerazione fino all'analisi per evitare ogni deterioramento.

Tutti i partecipanti possono utilizzare le proprie procedure analitiche abituali ed i propri materiali di riferimento per l'esecuzione delle prove.

Il campione va gestito come un normale campione di routine.

11. RISULTATI

I risultati vengono restituiti tramite un Foglio Excel (Foglio di restituzione dei dati) per ognuna delle determinazioni scelte.

Fino alla dead-line è possibile effettuare un numero illimitato di modifiche e/o integrazioni, tramite invio di un nuovo Foglio Excel (Foglio di restituzione dei dati) in sostituzione di quanto precedentemente inviato.

Allo scadere della dead-line non è più possibile modificare i risultati inviati.

I campioni ricevuti vanno considerati alla concentrazione del 100% e ogni diluizione deve essere riferita a tale concentrazione.

I risultati vanno espressi in % rispetto al campione iniziale, digitando il punto come separatore decimale; non occorre utilizzare nessun separatore per identificare le migliaia.

12. APPELLI E RECLAMI

In accordo con il SGQ di ARP AE, i partecipanti al PT hanno la possibilità di presentare appelli o reclami all'ente organizzatore, inviando comunicazione scritta via email all'indirizzo di posta elettronica *interconfronto.arpae@gmail.it*.

La natura del reclamo è in funzione dell'erogazione del servizio: ritardi sulle tempistiche programmate, campioni danneggiati.

L'appello può essere presentato dopo l'emissione del report finale. Il partecipante può contestare la valutazione delle proprie prestazioni presentando documentazione oggettiva delle proprie motivazioni. Una volta ricevuto appello o reclamo, ARP AE comunica l'avvenuta ricezione al partecipante e ha tempo 30 giorni solari per rispondere via mail ed eventualmente emendare il report finale.

13. OGGETTI RESIDUI

A conclusione di ogni schema di PT gli oggetti eccedenti vengono conservati a temperatura di congelamento controllata secondo quanto riportato nel SGQ di ARP AE, per un periodo di 30 giorni solari dalla data di emissione della revisione 0 del report finale. Gli oggetti rimangono a disposizione dei partecipanti che hanno facoltà di richiederne un'ulteriore aliquota qualora volessero utilizzare il materiale per proprie finalità.

Si specifica che la stabilità del materiale è garantita fino alla data della dead-line della trasmissione dei risultati, comunicata nella mail che viene inviata alla consegna dei campioni.

La logistica e gli oneri del solo trasporto degli oggetti sono a carico del partecipante.

14. ARCHIVIAZIONE

Tutte le registrazioni relative agli schemi PT (es. risultati trasmessi dai partecipanti, elaborazioni statistiche, rapporti, documenti ed ogni comunicazione di rilievo) sono conservate su supporto informatico a cura del PTP, per almeno 5 anni. Il supporto informatico di archiviazione è gestito in conformità a I71101/LM e a specifiche istruzioni di nodo (backup).