



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI TRIESTE

**CORSO DI ECOTOSSICOLOGIA
CDL ECOLOGIA DEI CAMBIAMENTI GLOBALI
A.A. 2020/2021**



**SAGGI ECOTOSSICOLOGICI: TECNICHE, METODI,
CONTROLLO QUALITÀ, ACCREDITAMENTO E CRITICITÀ
PRINCIPALI DELLE PROVE DI LABORATORIO.**

SAGGIO ECOTOSSICOLOGICO

Esperimento biologico atto a verificare se un composto potenzialmente tossico, o un campione ambientale, causa una risposta biologica rilevante negli organismi utilizzati per il test.

➔ Il parametro osservato è chiamato **ENDPOINT**.

Esempi di endpoint: mobilità, sopravvivenza, dimensione o crescita, numero di uova o figli, oppure qualsiasi variabile biochimica o fisiologica che può essere attendibilmente quantificata.

SAGGI ECOTOSSICOLOGICI

Possono essere eseguiti su:

- Microrganismi (batteri, alghe, protozoi)
- Invertebrati (crostacei, rotiferi)
- Piante superiori (test di germinazione, allungamento radicale)
- Vertebrati (pesci, piccoli mammiferi)

SAGGI ECOTOSSICOLOGICI

Si distinguono tre tipi di saggi



ACUTI

Stimano gli effetti avversi che si manifestano in un breve tempo durante il quale l'organismo può essere mantenuto in buone condizioni in assenza di alimentazione dopo la somministrazione di una singola dose di una sostanza.

SUBACUTI

Stimano gli effetti avversi che si manifestano dopo l'esposizione ad una sostanza per un periodo relativamente lungo ($\leq 10\%$ della vita dell'organismo) e durante il quale gli organismi vengono alimentati.

CRONICI

Stimano gli effetti avversi che si manifestano dopo l'esposizione ad una sostanza per un periodo lungo ($>50\%$ della vita dell'organismo) e durante il quale gli organismi vengono alimentati.

SAGGI ECOTOSSICOLOGICI

→ VANTAGGI

- Valutazioni globali dell'impatto di tutti gli agenti inquinanti sull'ambiente naturale.
- Quantificano gli effetti tossici sugli organismi viventi, utilizzando specie indicatrici sensibili.
- Sono semplici, poco costosi e danno risposte facilmente comprensibili.
- Sono condotti in laboratorio in condizioni controllate e standardizzate.



→ SVANTAGGI



- Valutano l'effetto inquinante, ma non identificano la causa.
- Non permettono di testare tutte le specie ambientali esposte, né tutte le possibili vie di esposizione.
- Le condizioni di campo possono essere differenti da quelle di laboratorio.

SAGGI ECOTOSSICOLOGICI

MARTICI DI APPLICAZIONE

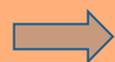
- Matrice liquida: acque superficiali (dolci, marine o salmastre), acque sotterranee, scarichi civili e industriali, etc.
- Elutriati o eluati: estratti acquosi ottenuti da matrice solida, quali rifiuti o sedimenti.
- Matrice solida: sedimenti tal quali (marini, fluviali, etc.).
- Soluzioni o composti chimici tal quali.



SAGGI ECOTOSSICOLOGICI

Per studiare l'effetto di sostanze tossiche nell'ambiente si scelgono alcune specie come indicatrici dello stato dell'ambiente, in grado di riassumere le caratteristiche generali del fenomeno ambientale.

Non esiste una singola specie adatta ad esprimere gli effetti di tutti i possibili tossici → BATTERIA DI ORGANISMI TEST con sensibilità differente alle sostanze tossiche.



BATTERIA Selezionata in base alla rappresentatività ecologica ed in relazione alla catena trofica → individui appartenenti a 3 livelli diversi della catena alimentare:

- organismo unicellulare produttore: alga;
- organismo unicellulare decompositore: batterio;
- organismo pluricellulare consumatore: invertebrato.



SAGGI ECOTOSSICOLOGICI



Durante lo svolgimento di un saggio ecotossicologico è indispensabile la preparazione di un **CONTROLLO NEGATIVO**: organismi esposti ad una matrice di controllo non contenente la sostanza tossica.

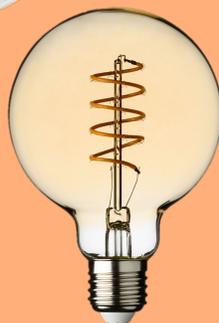
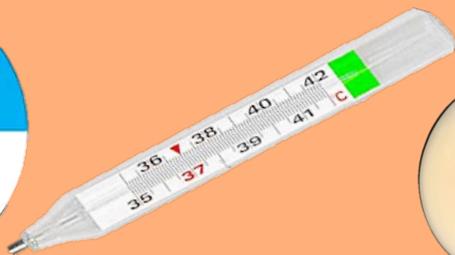
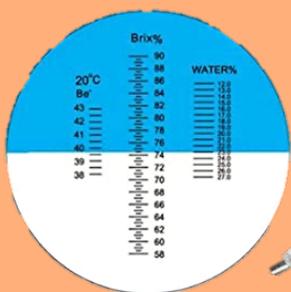
Periodicamente, devono essere condotti anche **CONTROLLI POSITIVI**: organismi esposti ad una matrice di cui si conosce già l'effetto tossico.

➔ Controlli positivi e negativi servono per tenere sotto controllo il processo e per verificare che gli organismi forniscano una risposta idonea.

SAGGI ECOTOSSICOLOGICI

I saggi devono essere condotti sempre almeno in doppia replica: almeno due repliche per ogni campione/controllo, preferibilmente in 3 o 4 repliche.

Durante il corso dei saggi biologici devono essere tenuti sotto controllo parametri ambientali che possono interferire con l'attività biologica. Specifici per ogni saggio.

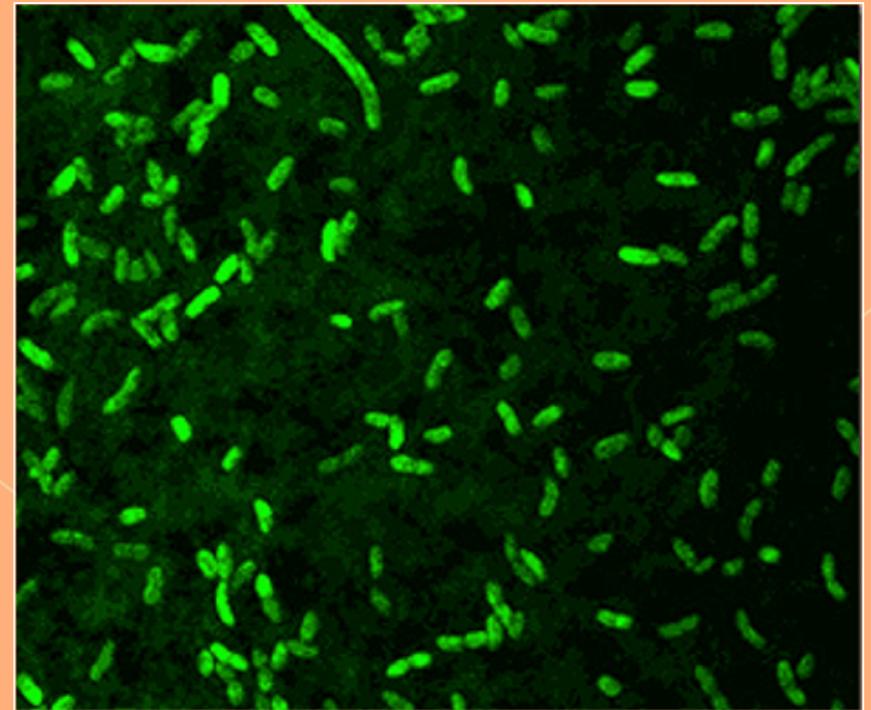


- Temperatura
- Luce/Fotoperiodo
- pH
- Salinità
- Ossigeno disciolto

SAGGI DI TOSSICITÀ ACUTO CON BATTERI

Batterio bioluminescente marino: *Vibrio fischeri*.
Opera ad una salinità >20.

- ❖ Acqua dolce
- ❖ Acqua salmastra
- ❖ Acqua marina
- ❖ Eluati ed elutriati
- ❖ Sostanze chimiche
- ❖ Sedimenti



SAGGI DI TOSSICITÀ ACUTO CON BATTERI _ FASE LIQUIDA

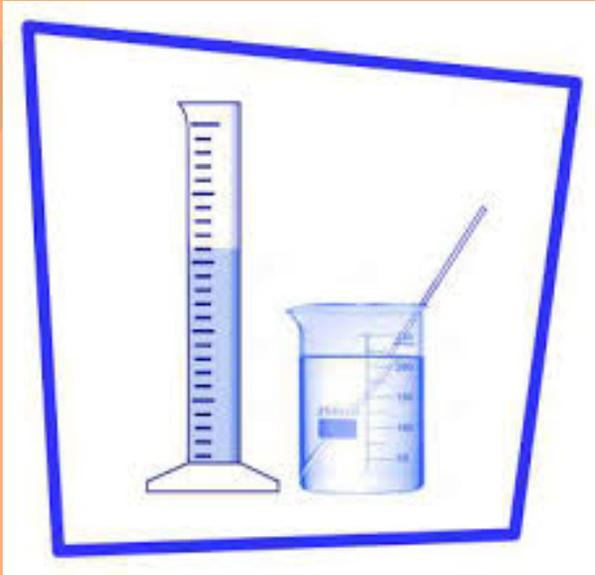
METODO: • UNI EN ISO 11348-3 (2019). Water quality - Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) - Part 3: Method using freeze-dried bacteria.

• APAT CNR IRSA 8030 Man 23 2009. Metodo di valutazione della tossicità acuta con batteri bioluminescenti.

- Condizioni test: 15 °C
- Tempo di esposizione: 5, 15, 30 minuti
- Lettura: luminometro 490 nm
- Controllo negativo: ASW - NaCl 20 g/L
- Controllo positivo: 3,5-diclorofenolo
- End-point misurato: % inibizione bioluminescenza



SAGGI DI TOSSICITÀ ACUTO CON BATTERI _ FASE SOLIDA



METODO: • UNI EN ISO 11348-3 (2019). Water quality - Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) - Part 3: Method using freeze-dried bacteria + Manuali ICRAM Metodologie analitiche di riferimento (2001) Scheda 11, App 2

- Condizioni test: 15 °C
- Tempo di esposizione: 30 minuti
- Lettura: luminometro 490 nm
- Controllo negativo: ASW
- Controllo positivo: 3,5-diclorofenolo
- End-point misurato: % inibizione bioluminescenza

SAGGIO DI TOSSICITÀ CRONICA CON ALGHE UNICELLULARI

ACQUE DOLCI _ *Pseudokirchneriella subcapitata*

Alghe unicellulari di acqua dolce.

- ❖ Acqua dolce
- ❖ Elutriati ed eluati di acqua dolce
- ❖ Sostanze chimiche



SAGGIO DI TOSSICITÀ CRONICA CON ALGHE UNICELLULARI

ACQUE DOLCI _ *Pseudokirchneriella subcapitata*



METODO: • UNI EN ISO 8692 (2012).
Water quality - Freshwater algal growth inhibition test with unicellular green algae.

- Condizioni test: 20-22 °C, 6000 lux continua
- Tempo di esposizione: 72 ore
- Lettura: spettrofotometrica o visiva
- Controllo negativo: mezzo di coltura algale
- Controllo positivo: dicromato di potassio
- End-point misurato: % inibizione della crescita e tasso di crescita algale

SAGGIO DI TOSSICITÀ CRONICA CON ALGHE UNICELLULARI

ACQUE SALATE _ *Phaeodactylum tricornutum*

Alghe unicellulari di acqua salata.

- ❖ Acqua salata
- ❖ Acqua salmastra
- ❖ Elutriati ed eluati di acqua salata
- ❖ Sostanze chimiche



SAGGIO DI TOSSICITÀ CRONICA CON ALGHE UNICELLULARI

ACQUE SALATE _ *Phaeodactylum tricornutum*



METODO: UNI EN ISO 10253 (2016).
Water quality - Marine algal growth inhibition test with *Skeletonema costatum* and *Phaeodactylum tricornutum*.

- Condizioni test: 20-22 °C, 6000 lux continua
- Tempo di esposizione: 72 ore
- Lettura: spettrofotometrica o visiva
- Controllo negativo: mezzo di coltura algale
- Controllo positivo: dicromato di potassio
- End-point misurato: % inibizione della crescita e tasso di crescita algale

SAGGIO DI TOSSICITÀ CON CROSTACEI

ACQUA DOLCE _ *Daphnia magna*

Crostaceo cladocero partenogenetico.
Saggio cronico ed acuto.

- ❖ Acqua dolce
- ❖ Elutriati ed eluati di acqua dolce
- ❖ Sostanze chimiche.



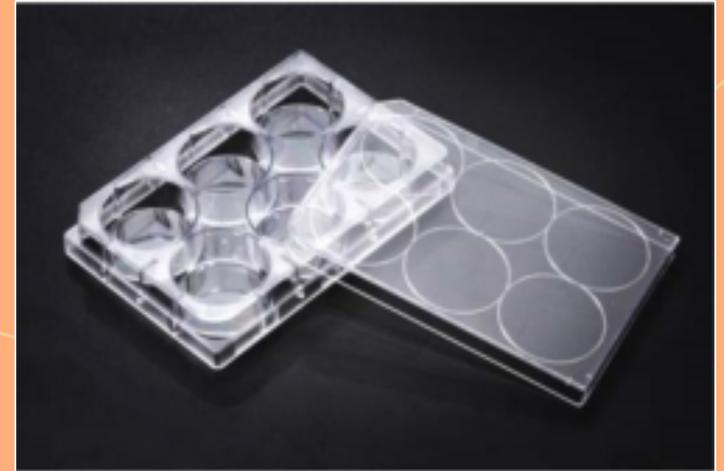
SAGGIO DI TOSSICITÀ CON CROSTACEI

ACQUA DOLCE _ *Daphnia magna*

TEST ACUTO

METODO: • UNI EN ISO 6341:2012 Water quality – Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea)
• APAT CNR IRSA 8020 Man 23 2009. Metodi di valutazione della tossicità con *Daphnia*.

- Condizioni test: 20-22 °C, buio
- Tempo di esposizione: 24-48 ore
- Lettura: visiva
- Controllo negativo: acqua dolce con sali
- Controllo positivo: dicromato di potassio
- End-point misurato: immobilità



SAGGIO DI TOSSICITÀ CON CROSTACEI

ACQUA DOLCE _ *Daphnia magna*

TEST CRONICO

METODO: • APAT CNR IRSA 8020 Man 23 2009. Metodi di valutazione della tossicità con *Daphnia*.

- Condizioni test: 20-22 °C, 16h luce/8h buio, semistatico
- Tempo di esposizione: 21 giorni
- Lettura: visiva
- Controllo negativo: acqua dolce con sali
- End-point misurato: mortalità e numero di piccoli nati



SAGGIO DI TOSSICITÀ CON ANFIPODI

SEDIMENTO _ *Corophium spp.*

Anfipodi

Saggio acuto.

- ❖ Sedimento tal quale
- ❖ Sedimento *spiked*



SAGGIO DI TOSSICITÀ CON ANFIPODI

SEDIMENTO_ *Corophium spp.*

METODO: • ISO 16712:2005 - Water quality –
Determination of acute toxicity of marine or estuarine
sediment to amphipods



- Condizioni test: 16-18 °C, luce continua
- Tempo di esposizione: 10 giorni
- Lettura: visiva
- Controllo negativo: sedimento controllato + f-NSW
- Controllo positivo: CdCl
- End-point misurato: mortalità

SAGGIO DI BIOACCUMULO CON INVERTEBRATI

SEDIMENTO *Hediste diversicolor*

Anellide polichete che vive nel sedimento e nel fango.

❖ Sedimento



SAGGIO DI BIOACCUMULO CON INVERTEBRATI

SEDIMENTO *Hediste diversicolor*

METODO: • ASTM E1688-19 - Standard Guide for Determination of the Bioaccumulation of Sediment-Associated Contaminants by Benthic Invertebrates



- Condizioni test: luce continua, ossigeno, 14-18 °C
- Tempo di esposizione: 28 giorni
- Lettura: visiva e chimica
- Controllo negativo: sedimento controllato
- End-point misurato: concentrazione metalli nel tessuto

SAGGIO DI TOSSICITÀ CON CROSTACEI

ACQUA SALATA _ *Artemia franciscana*

Crostaceo anostraco di acqua salata.
Saggio acuto e cronico.

- ❖ Acqua marina
- ❖ Acqua salmastra
- ❖ Elutriati ed eluati di acqua salata
- ❖ Sostanze chimiche



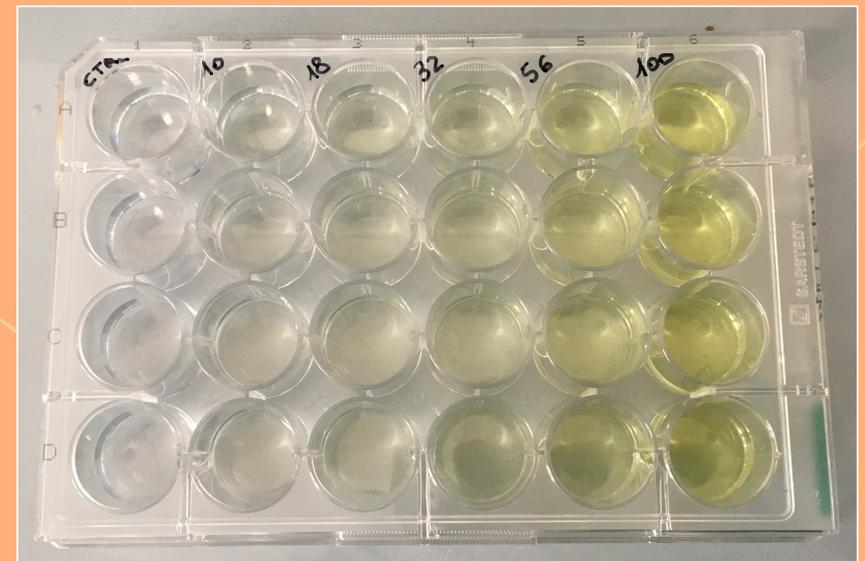
SAGGIO DI TOSSICITÀ CON CROSTACEI

ACQUA SALATA _ *Artemia franciscana*

TEST ACUTO

METODO: • APAT CNR IRSA 8060 Man 23 2009. Metodo di valutazione della tossicità acuta con *Artemia sp.*

- Condizioni test: 24-26 °C, buio
- Tempo di esposizione: 24 ore
- Lettura: visiva
- Controllo negativo: ASW o NSW
- End-point misurato: mortalità



SAGGIO DI TOSSICITÀ CON CROSTACEI

ACQUA SALATA _ *Artemia franciscana*

TEST CRONICO

METODO: • UNICHIM (2012). Qualità dell'acqua - 2244: Determinazione della tossicità letale a 14 giorni con *Artemia franciscana* (Crustacea: Anostraca).

- Condizioni test: 24-26 °C, 14h luce (800-1000 lux)/10h buio, semistatico
- Tempo di esposizione: 14 giorni
- Lettura: visiva
- Controllo negativo: ASW o NSW
- End-point misurato: mortalità



SAGGIO DI TOSSICITÀ CON ROTIFERI

ACQUA DOLCE *Brachionus caliciflorus*

Rotifero planctonico di acqua dolce.

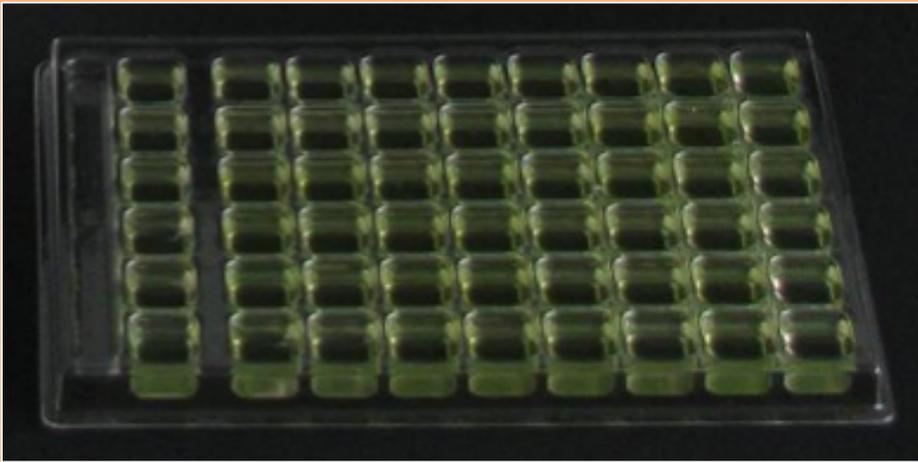


- ❖ Acqua dolce
- ❖ Elutriati ed eluati di acqua dolce
- ❖ Sostanze chimiche

SAGGIO DI TOSSICITÀ CON ROTIFERI

ACQUA DOLCE *Brachionus caliciflorus*

METODO: • ASTM E1440-91 (2012) - Standard Guide for acute Toxicity Test with the Rotifer *Brachionus*.



- Condizioni test: 25 °C, buio
- Tempo di esposizione: 24 ore
- Lettura: visiva
- Controllo negativo: acqua dolce con sali
- Controllo positivo: dicromato di potassio
- End-point misurato: mortalità

SAGGIO DI TOSSICITÀ SU SPERMI ED EMBRIONI

ACQUA SALATA _ *Paracentrotus lividus*



Riccio di mare. Ermafrodita sequenziale. Si può testare tossicità su spermatozoi e su embrioni.

- ❖ Acqua marina
- ❖ Acqua salmastra
- ❖ Elutriati ed eluati di acqua salata
- ❖ Sostanze chimiche

SAGGIO DI TOSSICITÀ SU SPERMI ED EMBRIONI

ACQUA SALATA _ *Paracentrotus lividus*

SPERMIOTOSSICITA'

METODO: • EPA/600/R-95-136/Sezione 16 + ISPRA
Quaderni Ricerca Marina 11/2017

- Condizioni test: 18°C, buio
- Tempo di esposizione: 20 minuti
- Lettura: visiva
- Controllo negativo: ASW o NSW
- Controllo positivo: nitrato di rame
- End-point misurato: % uova fecondate



SAGGIO DI TOSSICITÀ SU SPERMI ED EMBRIONI

ACQUA SALATA _ *Paracentrotus lividus*

EMBRIOTOSSICITA'

METODO: • EPA/600/R-95-136/Sezione 15 + ISPRA
Quaderni Ricerca Marina 11/2017



- Condizioni test: 18 °C, buio
- Tempo di esposizione: 72 ore
- Lettura: visiva
- Controllo negativo: ASW o NSW
- Controllo positivo: nitrato di rame
- End-point misurato: % plutei normoformati

SAGGIO DI TOSSICITÀ CON PESCI

ACQUA DOLCE *_Danio rerio*

Pesce Ciprinide, noto come *Zebrafish*.

Vertebrato: utilizzo vincolato da legislazione.



- ❖ Acqua dolce
- ❖ Elutriati ed eluati di acqua dolce
- ❖ Sostanze chimiche

SAGGIO DI TOSSICITÀ CON PESCI

ACQUA DOLCE *Danio rerio*

- Condizioni test: 23-25°C; 12h/12h fotoperiodo
- Tempo di esposizione: 96 ore (acuto)
- Lettura: visiva
- Controllo negativo: acqua dolce con sali
- End-point misurato: mortalità - eventuali anomalie



METODO: • OECD 203 - OECD guideline for testing of chemicals: Fisch Acute Toxicity Test.

SAGGIO DI TOSSICITÀ SU PIANTE SUPERIORI

ACQUA DOLCE _ *Lepidium sativum* (crescione) - *Sorgum* - *Cucumis sativus* (cetrolo)

Piante superiori.



- ❖ Acqua dolce
- ❖ Elutriati ed eluati di acqua dolce
- ❖ Sedimenti

SAGGIO DI TOSSICITÀ SU PIANTE SUPERIORI

ACQUA DOLCE _ *Lepidium sativum* (crescione) - *Sorghum* - *Cucumis sativus* (cetrolo)



METODO: • UNI 11357:2010 Qualità dell'acqua - Determinazione dell'inibizione della germinazione e allungamento radicale in *Cucumis sativus* L. (Cetriolo), *Lepidium sativum* L. (Crescione), *Sorghum saccharatum* Moench (Sorgo) - Saggio di tossicità cronica breve

- Condizioni test: buio, 22-24°C
- Tempo di esposizione: 96 ore
- Lettura: visiva - misurazione
- Controllo negativo: acqua distillata
- Controllo positivo: acido bórico
- End-point misurato: allungamento radicale e indice di germinazione

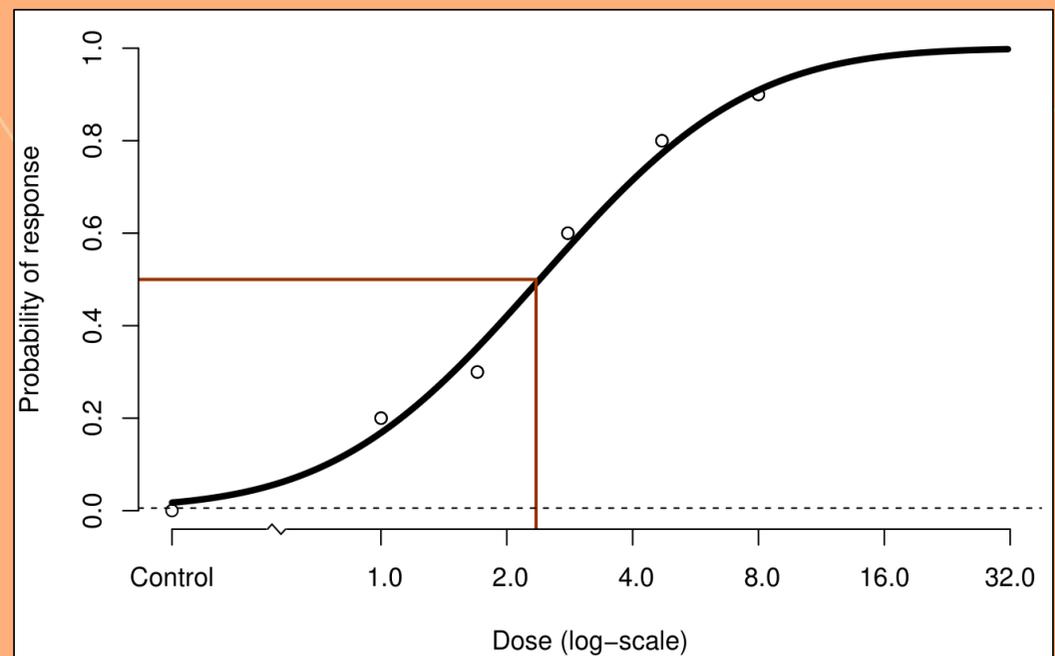
SCREENING TEST E TEST DEFINITIVI

I test vengono condotti generalmente alla concentrazione massima, possibilmente con il campione tal quale → **SCREENING TEST**.

100%

Se effetto >20% → Diluizioni
→ **CALCOLO EC_x/LC_x** .

EC_{10} EC_{50} **NOEC/
LOEC**



QUALITA'

I laboratori di analisi, per assicurare la **QUALITA'** del processo e la competenza, agiscono secondo normative definite da enti di normazione (internazionali e nazionali) e si sottopongono a periodiche verifiche da parte di enti preposti.

Il laboratorio, operando in un Sistema di Qualità e sottoponendosi alle opportune verifiche, può ottenere delle certificazioni (specifiche) e/o l'accreditamento.

"Qualità è l'insieme delle proprietà e delle caratteristiche di un prodotto o di un servizio che conferiscono ad esso la capacità di soddisfare esigenze espresse o implicite" (UNI EN ISO 8402:1995)

"Qualità è il grado in cui un insieme di caratteristiche intrinseche soddisfa i requisiti" (UNI EN ISO 9000:2005)



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI TRIESTE

ORGANISMI DI NORMAZIONE

OBIETTIVI PRINCIPALI:

- 1) trovare soluzioni a problemi che si ripetono in diversi settori di attività;
- 2) identificare i requisiti e indicarli negli standard di riferimento sviluppati, diffondendoli mediante pubblicazione;
- 3) offrire un riferimento per quanto riguarda l'unificazione dei prodotti, la terminologia e la simbologia utilizzate, le metodologie di misurazione e monitoraggio, ecc.;
- 4) costituire un supporto continuo per migliorare l'efficacia e l'efficienza del lavoro;
- 5) salvaguardare gli interessi delle parti interessate.

ORGANISMI DI NORMAZIONE



INTERNAZIONALI

ISO: International Organization for Standardization

IEC: International Electric Commission



EUROPEI

CEN: Commissione Europea di Normalizzazione

CENELEC: Commissione Europea di Normalizzazione per Elettronica



ITALIANI

UNI: Ente di Unificazione Italiano

CEI: Commissione Elettrotecnica Italiana

ORGANISMI DI NORMAZIONE...NEL DETTAGLIO



UNI

Associazione privata che elabora e pubblica norme tecniche per tutti i settori industriali, commerciali e del terziario. Rappresenta l'Italia presso le organizzazioni di normazione europea (CEN) e mondiale (ISO). Caratterizza tutte le norme nazionali italiane e, se è l'unica sigla a precedere il numero della norma, significa che è stata elaborata dalle Commissioni UNI, o dagli Enti Federati.



ORGANISMI DI NORMAZIONE...NEL DETTAGLIO



EN

Identifica le norme elaborate dal CEN. I Paesi membri CEN devono obbligatoriamente recepire le norme EN (nel caso dell'Italia esse diventano UNI EN). Queste norme servono ad uniformare la normativa tecnica in tutta Europa, quindi non è consentita l'esistenza a livello nazionale di norme che non siano in armonia con il loro contenuto.



ORGANISMI DI NORMAZIONE...NEL DETTAGLIO



ISO

Identifica le norme elaborate dall'ISO. Queste norme sono quindi applicabili in tutto il mondo. Ogni Paese può decidere se adottarle come norme nazionali: in Italia, ad esempio, la sigla diventa UNI ISO (o UNI EN ISO se la norma è stata adottata anche a livello europeo).



International
Organization for
Standardization

ACCREDITAMENTO E CERTIFICAZIONE

«La **certificazione** è la procedura con cui una parte terza dà assicurazione scritta che un prodotto, processo o servizio è conforme ai requisiti specificati.»

«L'**accreditamento** è il procedimento con cui un organismo riconosciuto attesta formalmente la competenza di un organismo o persona a svolgere funzioni specifiche”

ACCREDITAMENTO E CERTIFICAZIONE

ACCREDITAMENTO: conferma e riconoscimento delle competenze tecniche.

→ Assicura che gli organismi di certificazione, ispezione e verifica, e i laboratori di prova e taratura, abbiano tutti i requisiti richiesti dalle norme per svolgere attività di valutazione della conformità.

→ Conferisce ai certificati di conformità e di taratura, e ai rapporti di prova e di ispezione rilasciati sul mercato, un alto grado di affidabilità in termini di qualità e sicurezza dei beni e dei servizi sottoposti a verifica, e ne garantisce il riconoscimento sui mercati internazionali.

→ Nel caso dei laboratori, dimostra che il soggetto soddisfa sia i requisiti tecnici che quelli relativi al sistema di gestione, necessari per offrire dati e risultati accurati e tecnicamente validi per specifiche attività di prova, di analisi e di taratura.

ACCREDITAMENTO E CERTIFICAZIONE

ACCREDITAMENTO: conferma e riconoscimento delle competenze tecniche.

→ L'accREDITAMENTO è l'attestazione, da parte di un Ente che agisce quale garante *super partes*, della competenza, indipendenza e imparzialità degli organismi di certificazione, ispezione e verifica, e dei laboratori di prova e taratura.

→ Gli organismi e i laboratori accreditati sono sottoposti a verifiche periodiche pianificate, anche successivamente al rilascio del certificato, per assicurare che i requisiti di conformità attestati con l'accREDITAMENTO continuino ad essere rispettati.

→ In Italia l'Ente Unico di accREDITAMENTO designato dal governo è **ACCREDIA**.



ACCREDITAMENTO E CERTIFICAZIONE

CERTIFICAZIONE

- Procedura secondo la quale una terza parte conferma per iscritto che prodotti, processi, sistemi o persone sono conformi a ben determinati requisiti. La certificazione è uno dei vari tipi di valutazione della conformità.
- Assicura la qualità di prodotti, servizi e sistemi di gestione, attestandone la conformità a requisiti fissati da norme tecniche specifiche (per es. ISO 9001 per la qualità o ISO 14001 per l'ambiente) ed eventuali prescrizioni obbligatorie. A differenza dell'accREDITAMENTO, si limita ad attestare la conformità alle norme, senza garantire il rispetto di principi etici.

ACCREDITAMENTO E CERTIFICAZIONE ... Which is the difference?

MA

Apparentemente simili...

CERTIFICAZIONE

accerta la conformità a una norma o a un quadro normativo. Convalida il rispetto di determinate esigenze.

ACCREDITAMENTO si pone in primo piano il riconoscimento formale delle competenze. Richieste conoscenze tecniche approfondite e l'eventuale ricorso a esperti della disciplina specialistica interessata dal settore da accreditare. Serve a riconoscere la competenza tecnica e organizzativa di un organismo di valutazione della conformità.

UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2018

I laboratori di prova e taratura, per ottenere l'accreditamento, devono soddisfare i requisiti della norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2018: è una norma che esprime i *"Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura"*. Si basa sulla norma ISO 9001:2015.

La norma **UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2018** è strutturata nelle seguenti sezioni:

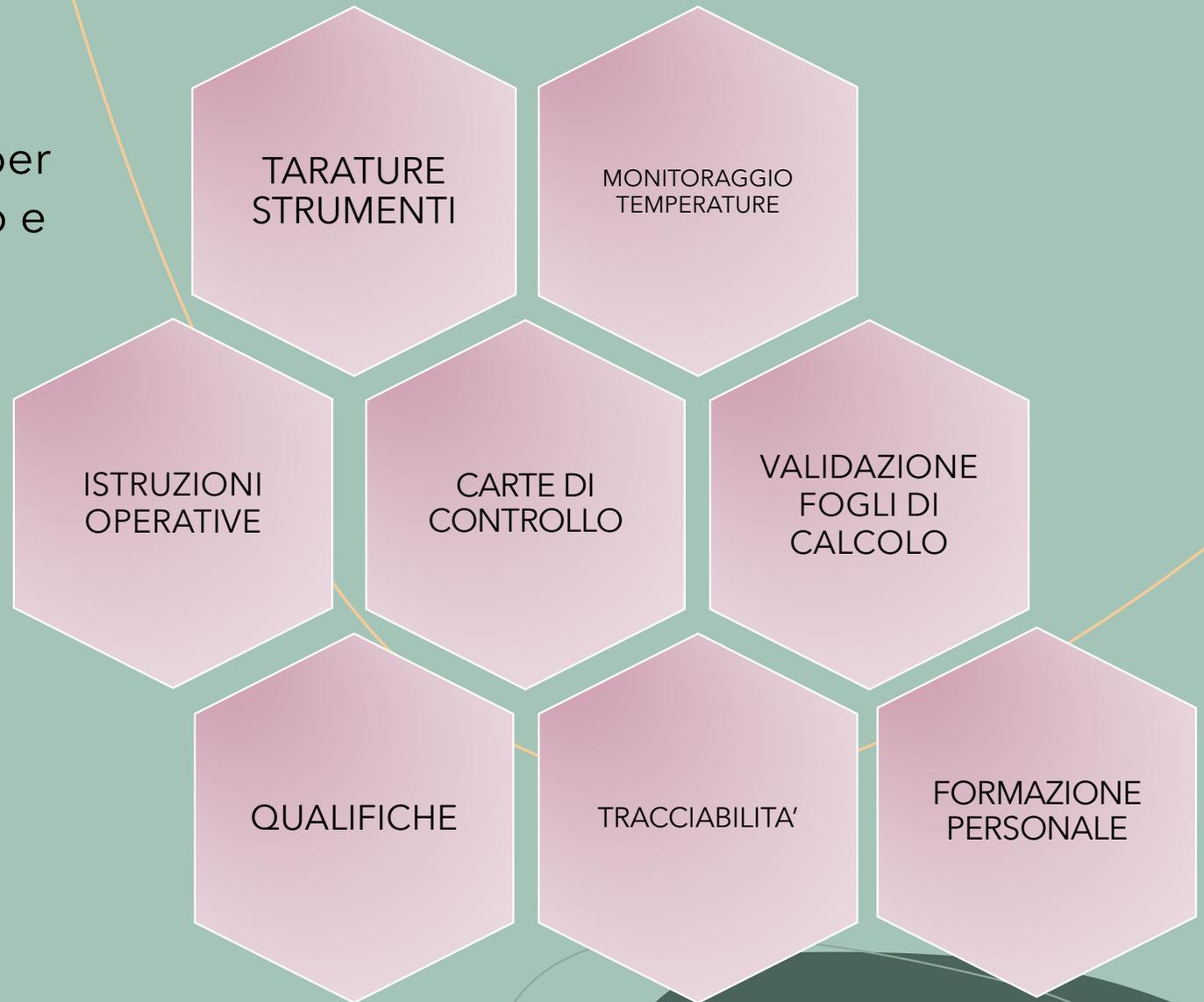
- Introduzione
- Scopo
- Riferimenti normativi
- Termini e definizioni
- Requisiti gestionali
- Requisiti tecnici

UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2018

→ Soddisfare i requisiti ISO/IEC 17025 significa soddisfare automaticamente i requisiti ISO 9001. Viceversa, la conformità ai requisiti ISO 9001 dimostra unicamente la conformità del sistema qualità, non la competenza e l'affidabilità nello svolgere le prove o le tarature. ⇒ Un laboratorio accreditato ISO 17025 è automaticamente conforme alla normativa ISO 9001, MA non è vero automaticamente il contrario.

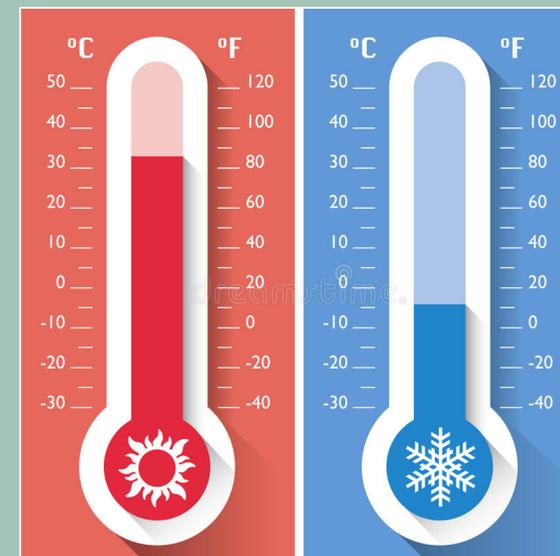
→ I requisiti gestionali prescrivono il riesame periodico degli obiettivi del sistema di gestione e l'impegno evidente nel miglioramento continuo del sistema di gestione.

I laboratori accreditati sono quindi tenuti a tenere sotto controllo l'intero processo, per assicurare la qualità del dato e la conformità alla norma.



MONITORAGGIO TEMPERATURE

I requisiti tecnici richiedono che l'area di lavoro sia idonea a ospitare le apparecchiature utilizzate e allo svolgimento delle attività. Devono essere tenute sotto controllo le condizioni ambientali (temperatura, umidità ed eventualmente altre) che possono influenzare l'esito dell'attività stessa.



- ✓ Controllo T e umidità delle stanze;
- ✓ Controllo T di frigoriferi e congelatori → registrazioni continue (data logger);
- ✓ Se analisi in corso, controllo T degli incubatori.

MONITORAGGIO GIORNALIERO STRUMENTI

Ogni giorno è necessario monitorare alcuni parametri.

- ✓ Controllo T delle stanze;
- ✓ Controllo T di frigoriferi e congelatori;
- ✓ Se analisi in corso, controllo T degli incubatori;
- ✓ Se presenti allevamenti o organismi in coltura, controllo dei parametri dell'allevamento (ossigeno, pH, etc.);
- ✓ Controllo pesate bilance.



TARATURA PERIODICA STRUMENTI

Le apparecchiature utilizzate devono essere conformi alle specifiche richieste dalla prova in oggetto e sottoposte a un programma di taratura periodica.

Ogni elemento delle apparecchiature e il relativo software deve essere identificato univocamente, inoltre devono essere conservate le relative registrazioni (uso, tarature, manutenzioni, non conformità, ecc.).

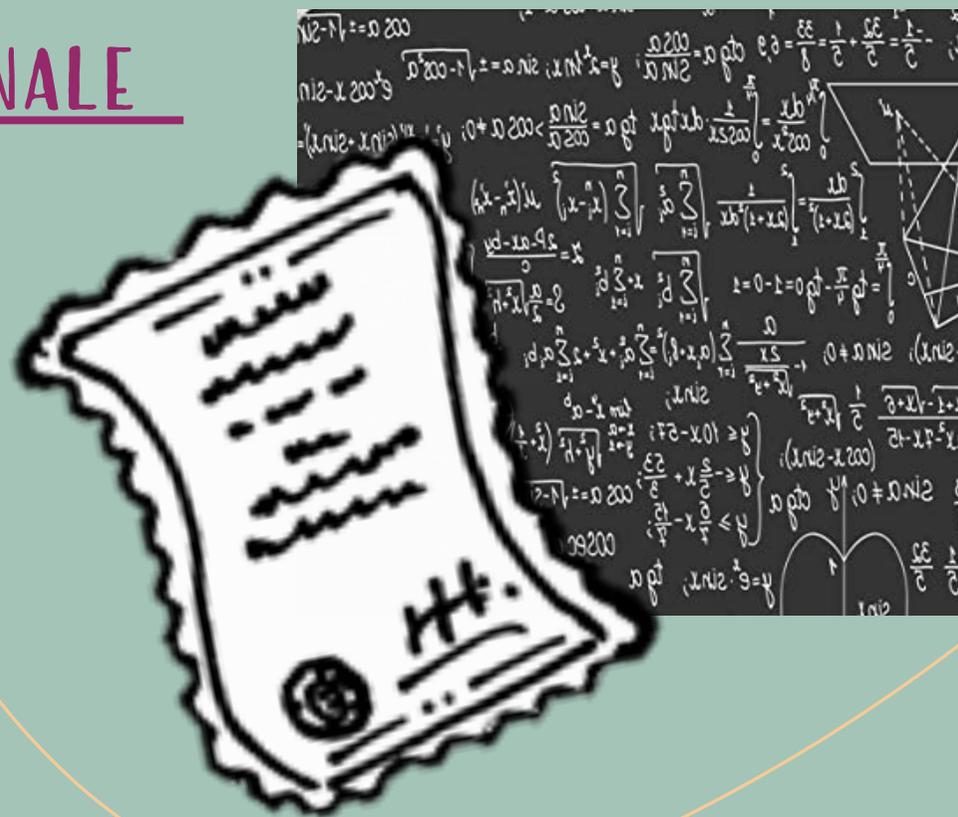
**TARATURE
INTERNE E/O
ESTERNE!!**

- ✓ Frigoriferi e congelatori;
- ✓ Bilance;
- ✓ Incubatori;
- ✓ Pipette;
- ✓ Strumenti quali spettrofotometro, luminometro, lettore di micropiastre;
- ✓ Termometri, pHmetri, luminometri, salinometri;
- ✓ Controllo delle cappe;
- ✓ Stufe.



FORMAZIONE E QUALIFICA PERSONALE

Il personale addetto deve possedere la preparazione necessaria all'attività svolta e all'utilizzo di una data apparecchiatura, inoltre deve impegnarsi all'aggiornamento continuo (qualifica). Il personale deve anche essere imparziale e non soggetto a pressioni da parte terzi.



- ✓ Formazione;
- ✓ Affiancamento;
- ✓ Qualifica;
- ✓ Verifica periodica;
- ✓ Aggiornamento.

TRACCIABILITÀ

L'acquisto, ricezione e immagazzinamento di materiale di consumo e reagenti è soggetto a specifiche procedure; particolare attenzione deve essere posta alla conservazione, tracciatura interna e riferibilità dei materiali di riferimento.

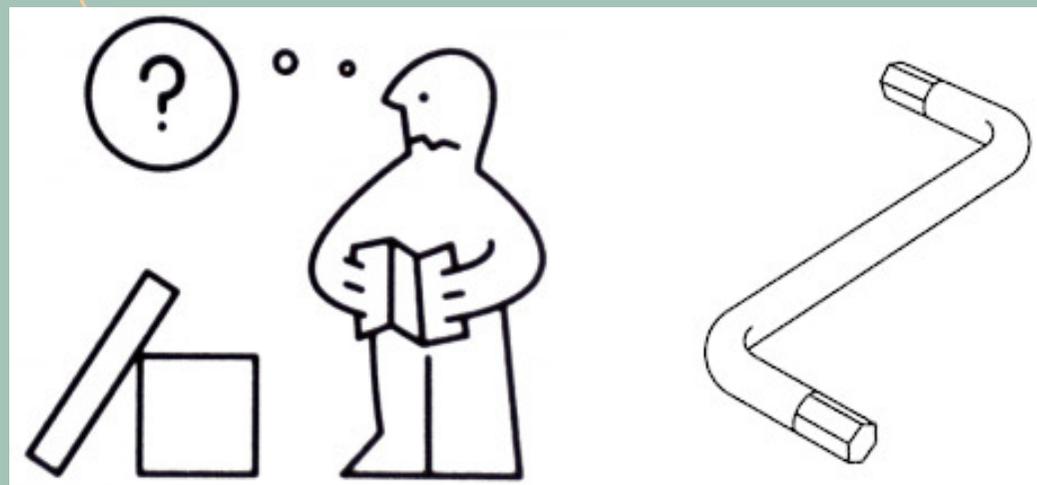


- ✓ Ricezione merci;
- ✓ Spedizione merci;
- ✓ Apertura e smaltimento reagenti;
- ✓ Arrivo campioni;
- ✓ Archiviazione documenti;
- ✓ Modifica procedure e allegati;
- ✓ Tarature e controlli giornalieri;
- ✓ Malfunzionamenti;
- ✓ Manutenzione strumenti e ambiente.

PROCEDURE E ISTRUZIONI OPERATIVE



Il Manuale della Qualità emesso deve specificare competenze e responsabilità, oltre a procedure gestionali ed istruzioni operative.



VALIDAZIONE FOGLI DI CALCOLO

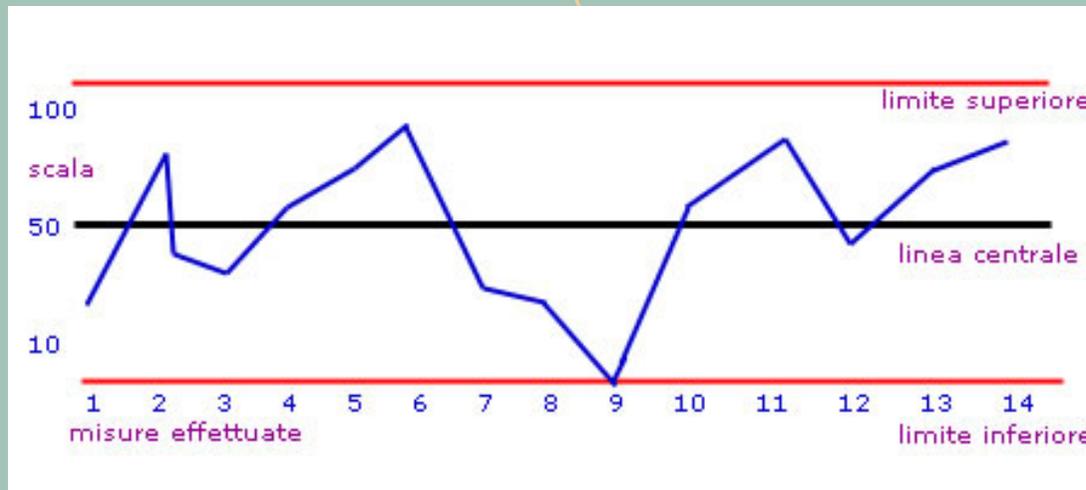
Il metodo analitico utilizzato deve essere validato e deve essere nota l'incertezza associata alla misura, assicurando in questo modo che i requisiti richiesti per l'utilizzazione del metodo siano soddisfatti.



- ✓ Costruzione fogli di calcolo secondo le prescrizioni richieste dalle norme;
- ✓ Validazione dei fogli di calcolo;
- ✓ Blocco celle dei fogli di calcolo;
- ✓ Controllo del dato in uscita.

CARTE DI CONTROLLO

I risultati delle analisi devono essere tenuti sotto controllo. Il modo migliore è la costruzione di una carta di controllo.



➔ Il limite superiore e inferiore può essere determinato dalla norma di riferimento oppure, in mancanza di tale dato, viene fissato a $\pm 3DS$.

INTERCONFRONTI



Una delle indicazioni fornite dalla norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2018 è quella della partecipazione ad interconfronti: sono necessari per verificare l'andamento dei propri risultati rispetto a quelli di altri laboratori.

Vengono confrontate le varie analisi e i vari software utilizzati per l'analisi dei dati.

- ✓ Analisi di uno stesso campione;
- ✓ Calcolo di un valore di EC_x ;
- ✓ Analisi di dati con differenti software.

Sono molti per la chimica, sono pochi per l'ecotossicologia!



EMISSIONE RAPPORTI DI PROVA

I risultati delle analisi o delle tarature effettuate dal laboratorio sono presentati su "Rapporti di prova" o "Certificati di taratura"



Un rapporto di prova (**RDP**) contiene:

- ✓ Nome e indirizzo del committente;
- ✓ Informazioni sul campione (arrivo, campionamento, etc.);
- ✓ Data di inizio e fine analisi;
- ✓ Nome e metodo della prova;
- ✓ Risultati;
- ✓ Riferimento ad Accredia tramite logo, se l'analisi in oggetto è accreditata;
- ✓ Note;
- ✓ Firma del Responsabile di laboratorio e altre eventuali firme (ad esempio, controllo qualità);
- ✓ Formula riguardante la privacy e la non riproducibilità del RDP senza autorizzazione.

CRITICITÀ ACCREDITAMENTO SAGGI ECOTOSSICOLOGICI

- I saggi ecotossicologici sono basati su organismi biologici.
- Mentre per le analisi chimiche esistono standard ben precisi e le procedure sono ben definite, così non è per i saggi ecotossicologici.
- Le condizioni vitali degli organismi utilizzati devono essere chiare e certificate (ad esempio, classificazione tassonomica).
- Il saggio può venire influenzato anche dalla stagionalità degli organismi o dal loro stato (età, sesso, etc.).
- Laboratori diversi usano ceppi diversi; inoltre, alcuni laboratori utilizzano ceppi acquistati e altri allevati.
 - Problematiche legate al calcolo dell'incertezza.





UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI TRIESTE



Grazie per
l'attenzione

Dr.ssa Francesca Provenza
francesca.provenza@phd.units.it
francesca.provenza@bsrc.it