

# parametri di verifica per i metodi QUANTITATIVI

Verifica di implementazione

Scarto tipo di riproducibilità intralaboratorio

$s_{IR}$

Verifica matrici (alimentari)

Errore sistematico stimato

eBIAS

$s_{IR}$

U tech

$$s_{IR} = \sqrt{\frac{1}{2n} \sum_{i=1}^n (y_{iA} - y_{iB})^2}$$

ISO 19036 5.5.2

# Quali parametri dobbiamo verificare

Scarto tipo di riproducibilità  
intralaboratorio

$S_{IR}$

$U_{tech}$

ISO 19036 5.5.2

La definizione di riproducibilità implica tutti i possibili contributi all'incertezza: effetti dovuti a differenti operatori, apparecchi, materiali di riferimento, etc. • Lo scarto tipo di riproducibilità, quindi, può fornire una stima della incertezza tipo composta. • Se un metodo contiene i parametri statistici di validazione, e il laboratorio verifica di rispondere ai requisiti di ripetibilità, può utilizzare lo scarto tipo di riproducibilità come stima dell'incertezza di misura. • Si devono comunque verificare quei contributi (es. dai materiali di riferimento) che possono essere differenti da quelli dell'esercizio di validazione del metodo

## 6.1 Determinazione dello Scarto tipo di Riproducibilità intralaboratorio

### 6.1.1 generalità

la **Verifica dell'implementazione** è eseguita in un singolo laboratorio



la verifica dell'implementazione è valutata con la **Riproducibilità ( R )**

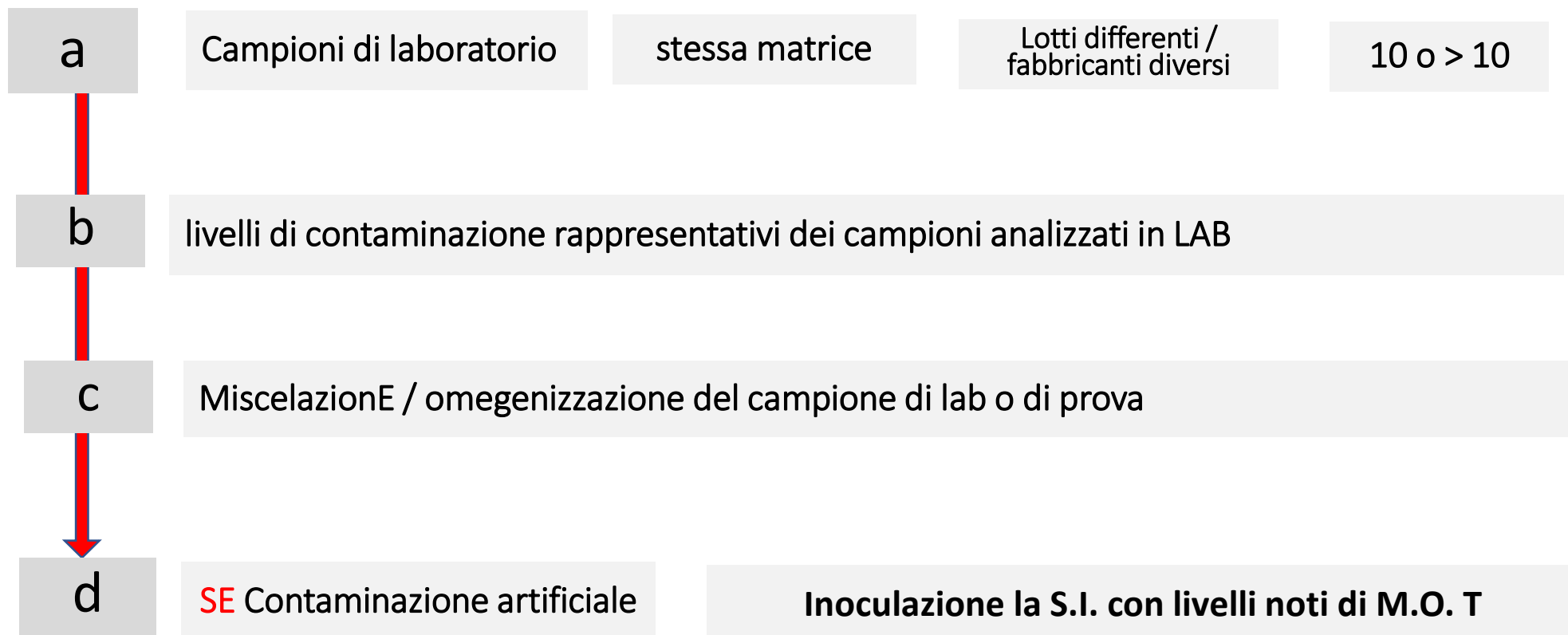


la Riproducibilità è espresso come **S<sub>IR</sub>**

**Scarto tipo di Riproducibilità intralaboratorio**

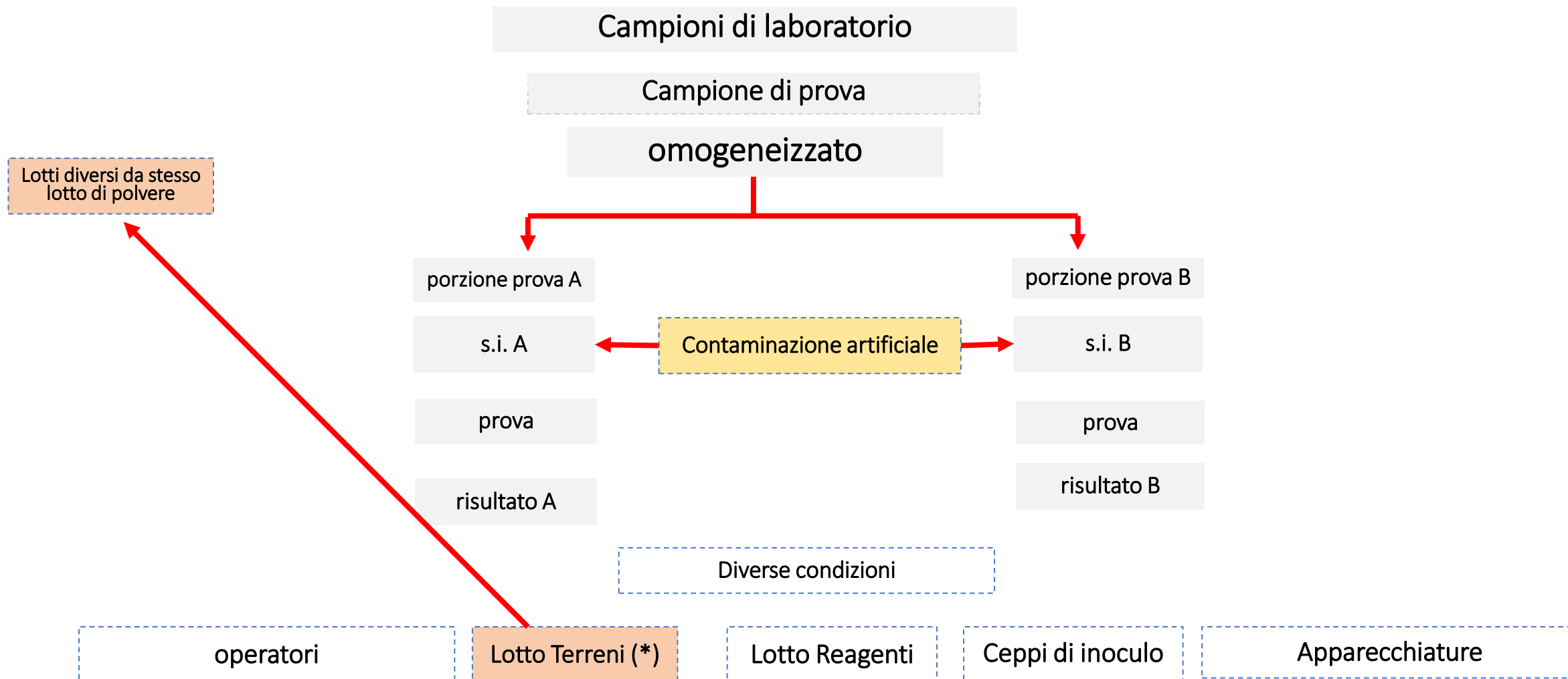
## 6.1 Determinazione dello Scarto tipo di Riproducibilità intralaboratorio

## 6.1.2 progetto sperimentale



## 6.1 Determinazione dello Scarto tipo di Riproducibilità intralaboratorio

## 6.1.2 progetto sperimentale fig 7



6.1 Determinazione dello Scarto tipo di Riproducibilità intralaboratorio

6.1.3 Selezione delle matrici

1 matrice (alimentare)

**Qualsiasi nel campo di applicazione del laboratorio**

delle validazione??

**esperimento progettato per escludere l'influenza della matrice**

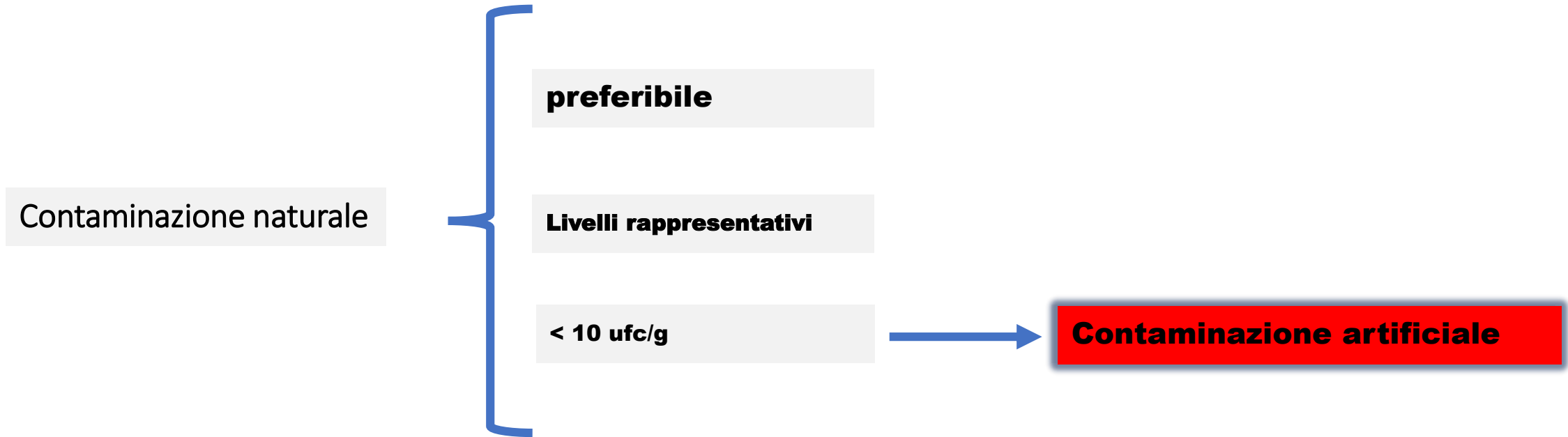
Figura 7

**Matrice ben omogeneizzabile**

**non problematica**

6.1 Determinazione dello Scarto tipo di Riproducibilità intralaboratorio

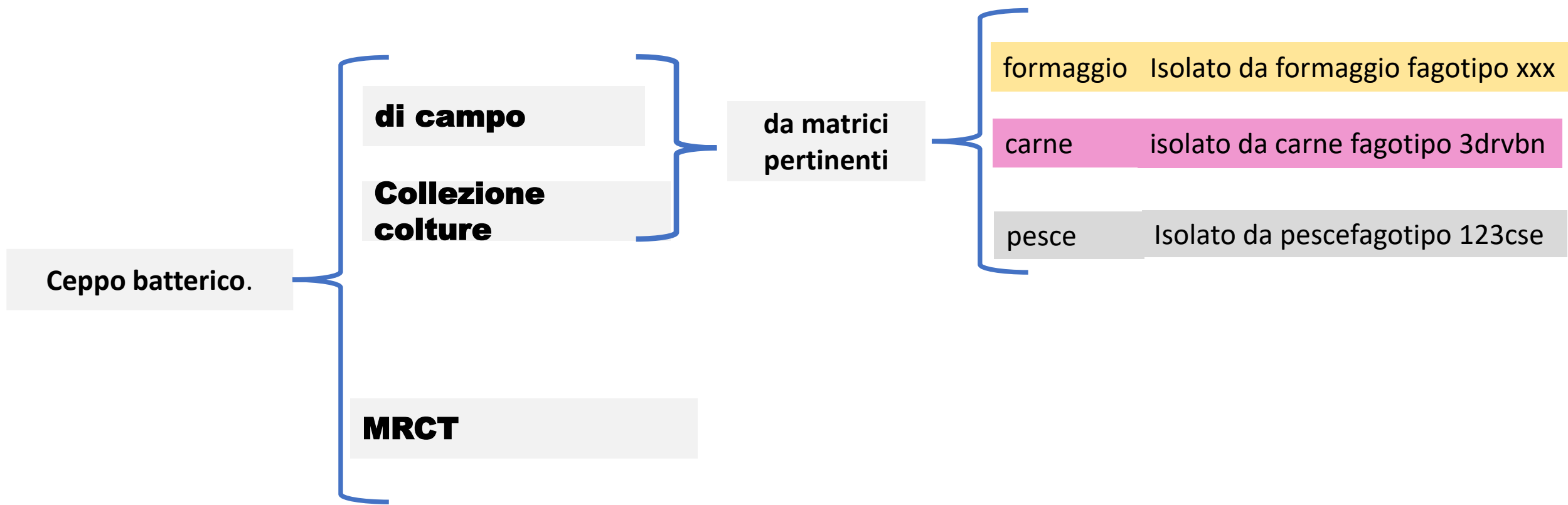
6.1.4 Contaminazione naturale



## 6.1 Determinazione dello Scarto tipo di Riproducibilità intralaboratorio

6.1.5 Contaminazione **artificiale**

## 6.1.5.1 Selezione del ceppo





## 6.1 Determinazione dello Scarto tipo di Riproducibilità intralaboratorio

6.1.5 Contaminazione **artificiale**

## 6.1.5.2 inoculazione della PP

collezione di  
colture o  
ceppi di campo

1 **Livelli di contaminazione rappresentativi**2 **Semina** in terreno colturale in condizioni di crescita ottimale **16-24 h**

ISO 11133:2014 5.4

3 **Conteggio preliminare** su terreni non selettivi e determinazione concentrazione in UFC/ml  
condizione =stessa coltura \* si assume che stesse4 **Ripetizione della coltura** e calcolo per ricoprire l'intervallo di contaminazione naturale rappresentativo5 **Inoculazione delle S.I. dellePP**6 **miscelazione**

2-3-4- Non da eseguire

**MRCT**

## 6.1 Determinazione dello Scarto tipo di Riproducibilità intralaboratorio

6.1.5 Contaminazione **artificiale** 6.1.5.2 inoculazione della PP

collezione di  
colture o  
ceppi di campo

1 **Livelli di contaminazione rappresentativi**2 **Semina** in terreno colturale in condizioni di crescita ottimale **16-24 h**

ISO 11133:2014 5.4

3 **Conteggio preliminare** su terreni non selettivi e determinazione concentrazione in UFC/ml  
condizione = stessa coltura \* si assume che stesse4 **Ripetizione della coltura** e calcolo per ricoprire l'intervallo di contaminazione naturale rappresentativo5 **Inoculazione delle S.I. delle PP**6 **miscelazione**

2-3-4- Non da eseguire

**MRCT**

## 6.1.5.2 inoculazione della PP

6.1.5 Contaminazione **artificiale****esempio**

Verifica di

ISO 21528-2 Enterobacteriaceae

Campo appl. METODO

Vasta Gamma + AA CAT.

Campo appl. Della  
VALIDAZIONE

Latte e PR LC TERMIZZATI

Pr. A base LATTE PAST.

LATTE PAST.

CARNE cruda e derivati

Carni fresche NON TRASF.

Macinato maiale

Uova o ovoprodotti

Ovoprodotti termizzati

Uova inter LIQUIDE

Cioccolato e pr dolciari

Pasticceria

Tiramisù

ALIMENTI PER ANIMALI

Ingredienti di O.A.

Farine carne e ossa

## ISO 16140-3 § 6

### Metodi QUANTITATIVI tipizzazione validati – Protocollo tecnico per la verifica

#### 6.1.5.2 inoculazione della PP

#### 6.1.5 Contaminazione **artificiale**

### **esempio**

Verifica di

ISO 21528-2 Enterobacteriaceae

Verifica del LAB UTILIZZATORE

Cioccolato e pr dolciari

Pasticceria

Tiramisù

Livello di contaminazione rappresentativo

**da** 30 ufc/g

**a** 30.000 ufc/g

**da** 1,5 log<sub>10</sub> ufc/g

**a** 4,5 log<sub>10</sub> ufc/g

Campioni da preparare

n°10

Marchi diversi

Lotti diversi

Porzioni di prova

A e B per ogni campione

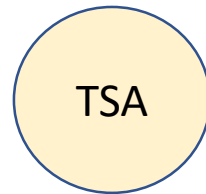
## 6.1.5.2. contaminazione artificiale

## inoculazione delle PP

### Preparazione dei MO per le prove di performance

ISO 11333:2018 par.5

Preparazione della  
coltura stock

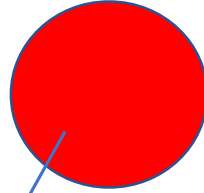
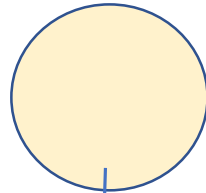


M.O. Aerobio termofilo

37 °C x 18-24 h

ISO 11333:2018 5.4.2.1

Lettura per purezza  
delle colonie



Colonie isolate

1- 2 colonie con ansa di  
1  $\mu$ l

Brodo non selettivo

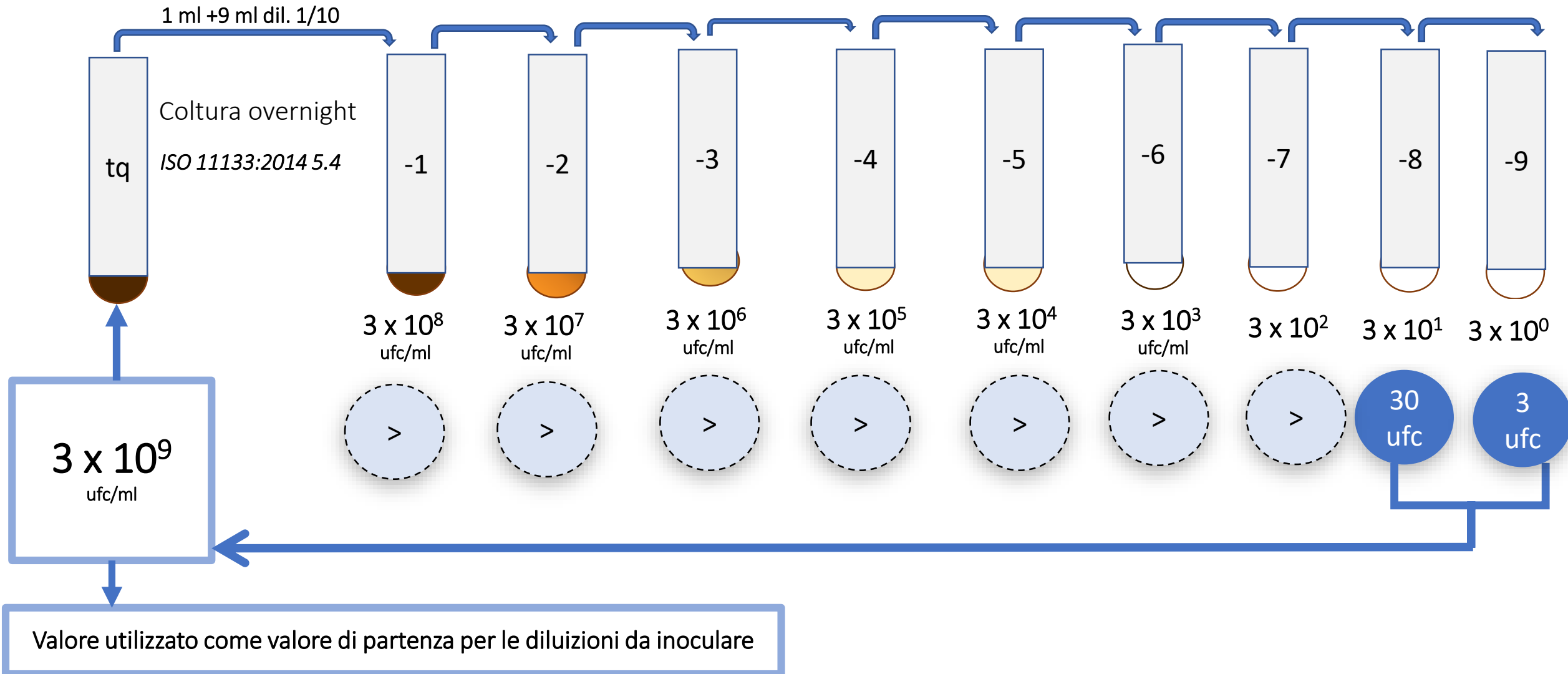
37 °C x 18-24 h



Coltura in fase di crescita stazionaria

ISO 11333:2018 5.4.2.2

## 6.1.5.2 inoculazione della PP

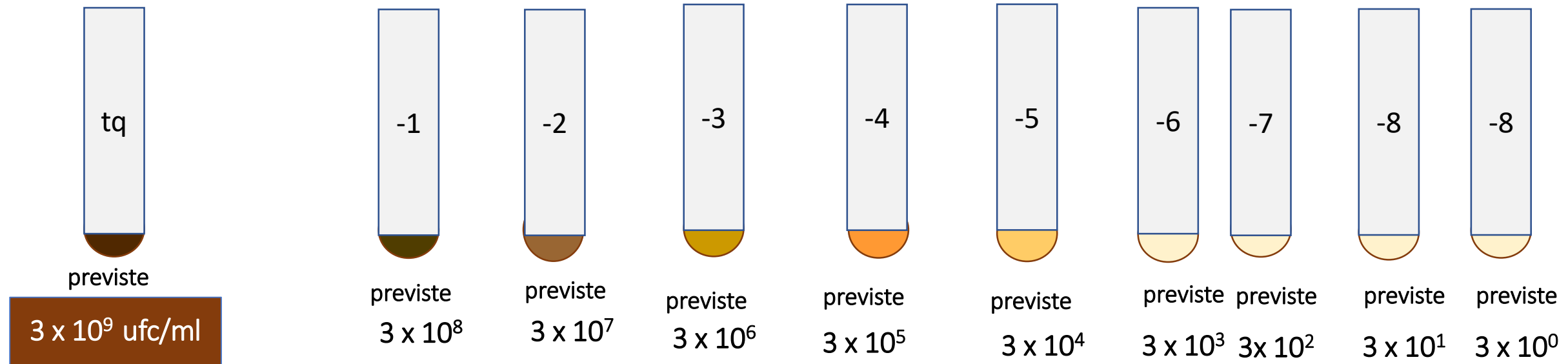
6.1.5 Contaminazione **artificiale**Conteggio **PRELIMINARE** del livello di inoculo

## D.2 Determinazione dell' errore sistematico stimato

da 16140-3:2016 figura D4

### D2.2 verifica e figura D4

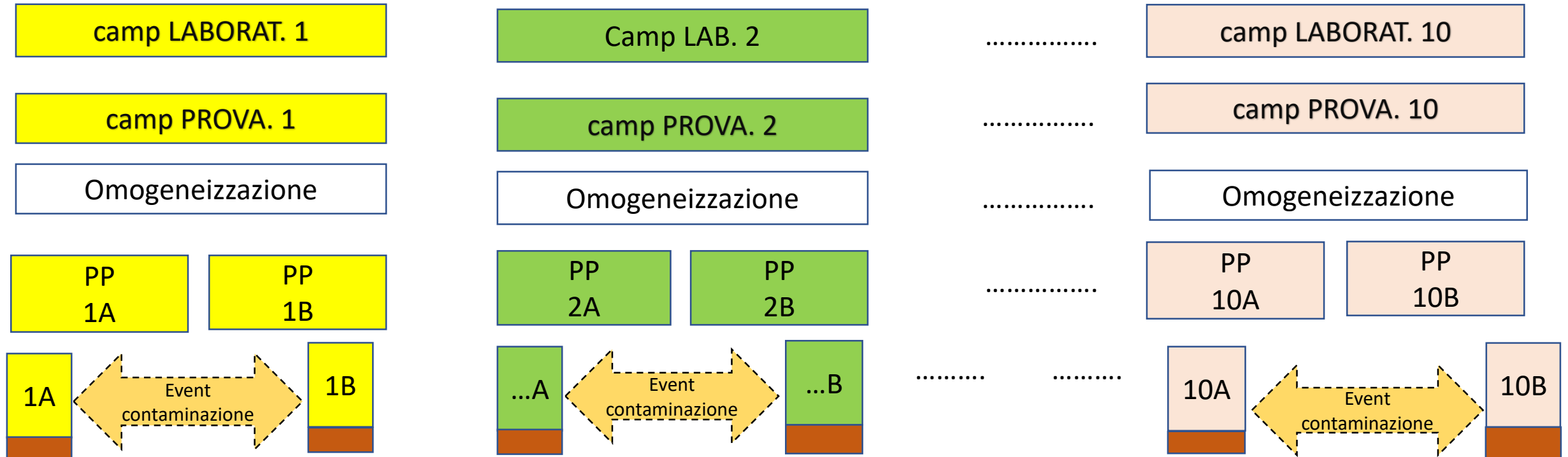
#### Allestimento delle sospensioni per contaminare



Livelli di concentrazione del M-O- target supposti in base al conteggio preliminare

# Determinazione Scarto tipo di Riproducibilità Intralaboratorio **S<sub>IR</sub>**

## Appendice D





## 6.1.5.2 inoculazione della PP

6.1.5 Contaminazione **artificiale****esempio**

campioni

12

Livello di contaminazione rappresentativo

da 30 ufc/g

a 30.000 ufc/g

da  $1,5 \log_{10} \text{ufc/g}$ a  $4,5 \log_{10} \text{ufc/g}$ 

Livello di contaminazione da scegliere

 $3 \times 10^1$  $3 \times 10^2$  $6 \times 10^2$  $6 \times 10^3$  $3 \times 10^4$ 

Campioni da contaminare per livelli di inoculazione

1

2

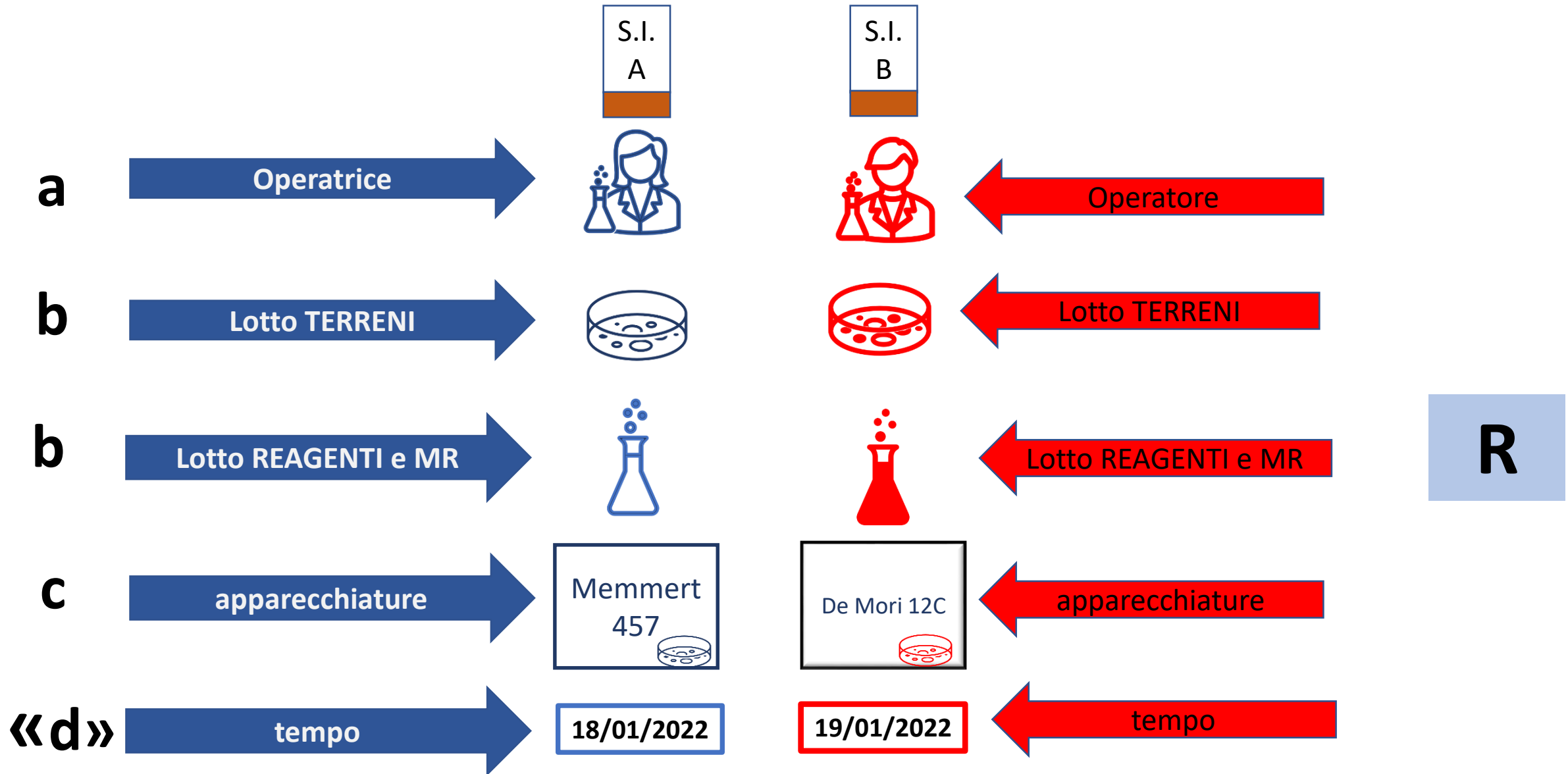
5

2

2

Tot.12

# Suggerimenti per le **variazioni** per la **determinazione del $S_{IR}$**



6.17 Risultati delle prove e Calcolo SIR -								prospetto 11 e 11
Campioni e data		contaminazion e ATTESA UFC/g	Risultato A (X <sub>iA</sub> )	Risultato B (X <sub>iB</sub> )	Log 10 Risultato A Y <sub>iA</sub> =log <sub>10</sub> (X <sub>iA</sub> )	Log 10 Risultato B Y <sub>iB</sub> =log <sub>10</sub> (X <sub>iB</sub> )	Differenza assoluta  (Y <sub>iA</sub> -Y <sub>iB</sub> )	Differenza assoluta al quadrato  (Y <sub>iA</sub> -Y <sub>iB</sub> )  <sup>2</sup>
1	01/2022	30	< 40 (10)	< 40 (30)	< 01,60 (*)	< 01,60 (*)	Non utilizzata	Non utilizzata
2	01/2022	300	100	182	2,04	2,26	0,218 7	0,047 8
3	02/ 2022	300	410	620	2,61	2,79	0,179 6	0,032 3
4	03/ 2022	600	640	330	2,81	2,52	0,287 7	0,082 8
5	04/ 2022	600	690	570	2,84	2,76	0,083 0	0,006 9
6	04/ 2022	600	780	640	2,89	2,81	0,085 9	0,007 4
7	05/ 2022	600	620	1.300	2,79	3,11	0,321 6	0,103 4
8	06/ 2022	600	870	1.500	2,94	3,18	0,236 6	0,056 0
9	06/2022	6.000	8.600	6.400	3,93	3,81	0,128 3	0,016 5
10	08/ 2022	6.000	16.000	5.000	4,20	3,70	0,505 1	0,255 2
11	09/ 2022	30.000	>15.000	13.400	> 4,18 (*)	4,13	Non utilizzata	Non utilizzata
12	12/ 2022	30.000	20.000	32.000	4,30	4,51	0,204 1	0,041 7
$S_{IR} = \sqrt{\frac{1}{2n} \sum_{i=1}^n (y_{iA} - y_{iB})^2}$							SOMMA	0,650 0
							Somma/ (2*10)	0,032 5
							S <sub>IR</sub> =√(0,032 5)	0,18

## 9.17 riepilogo valori $S_R$ dello STUDIO VALIDAZIONE

### 1- studio di validazione con differenti valori di $S_R$

**Criterio di accettabilità :  $2 \times S_R$  medio più basso  $\geq S_{IR}$**

MATRICE (alimentare)	Valori di $S_R$ dello studio di validazione <b>ISO 21528-2</b>			
	Livello inoculazione <b>BASSO</b>	Livello inoculazione <b>MEDIO</b>	Livello inoculazione <b>ALTO</b>	Valor medi dei tre livelli di inoculazione
Prodotto a base di uova	0,32	0,50	0,48	<b>0,43</b>
Carne cruda	0,28	0,36	0,57	<b>0,40</b>
Mangimi per animali	0,18	0,17	0,20	<b>0,18</b>
Latte pastorizzato	0,24	0,18	0,19	<b>0,20</b>
Tiramisù	0,22	0,28	0,13	<b>0,21</b>

**$S_R$  medio più basso = 0,18**     $S_{IR} = 0,18$      $2 \times 0,18 = 0,36 \leq 0,18$

scostamento ottenuto: **accettabile**

### 2- studio di validazione con 1 solo valore di $S_R$

**Criterio di accettabilità di accettabilità :  $2 \times S_R \geq S_{IR}$**