



## QUALITA' DEI RISULTATI DI PROVA

Paola Marconi

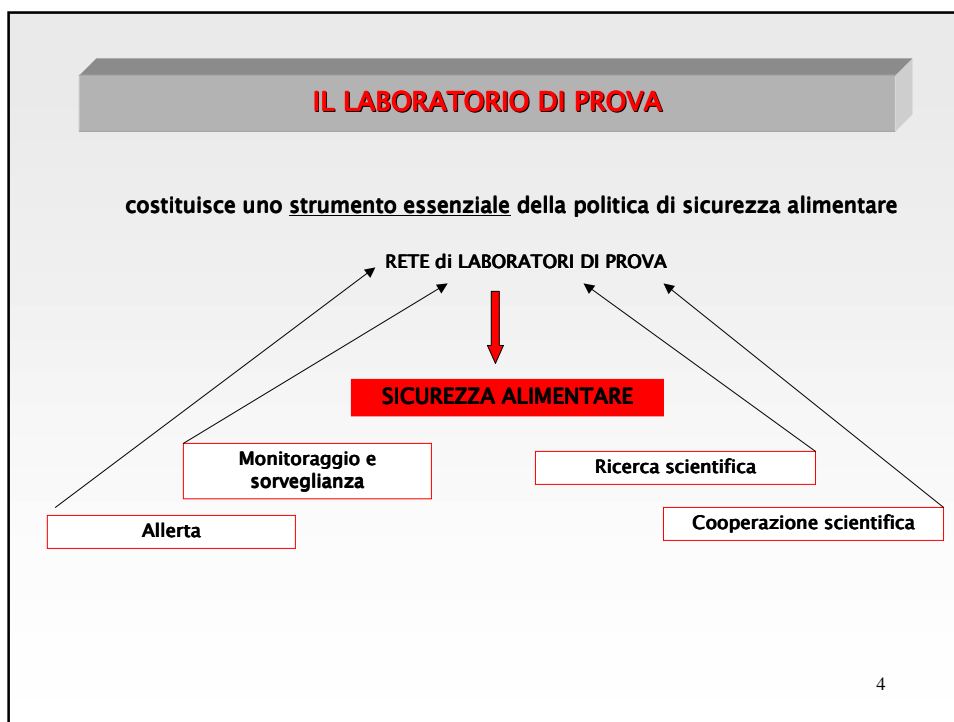
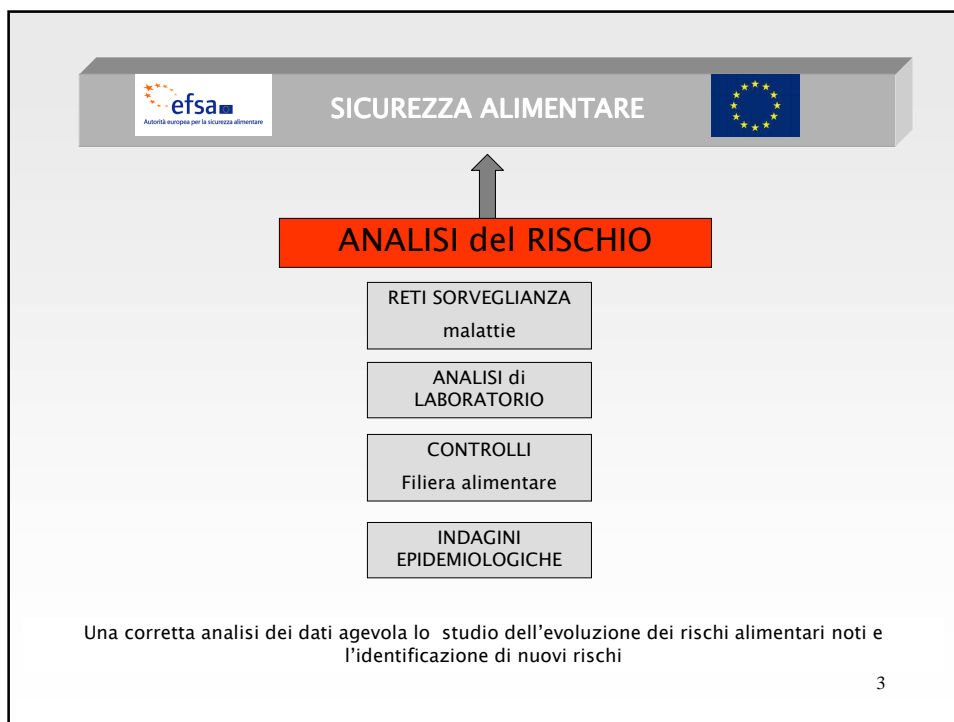
**VALUTAZIONE CRITICA DEI RISULTATI DELLE ANALISI MICROBIOLOGICHE SUGLI ALIMENTI:**  
interazione tra laboratori di analisi, produttori e autorità sanitaria  
Roma, 29 febbraio 1 marzo 2012

1

### **1. IL DATO DI LABORATORIO**

Ruolo strategico nella Sicurezza Alimentare

2



## Contributo analitico

- E' l'informazione scientifica a supportare la politica di sicurezza alimentare
- Il parere scientifico sulla sicurezza degli alimenti deve essere della massima **qualità**
- Esso deve essere erogato in **modo tempestivo** e **affidabile** a coloro che hanno la responsabilità di prendere decisioni a tutela della salute dei consumatori

5

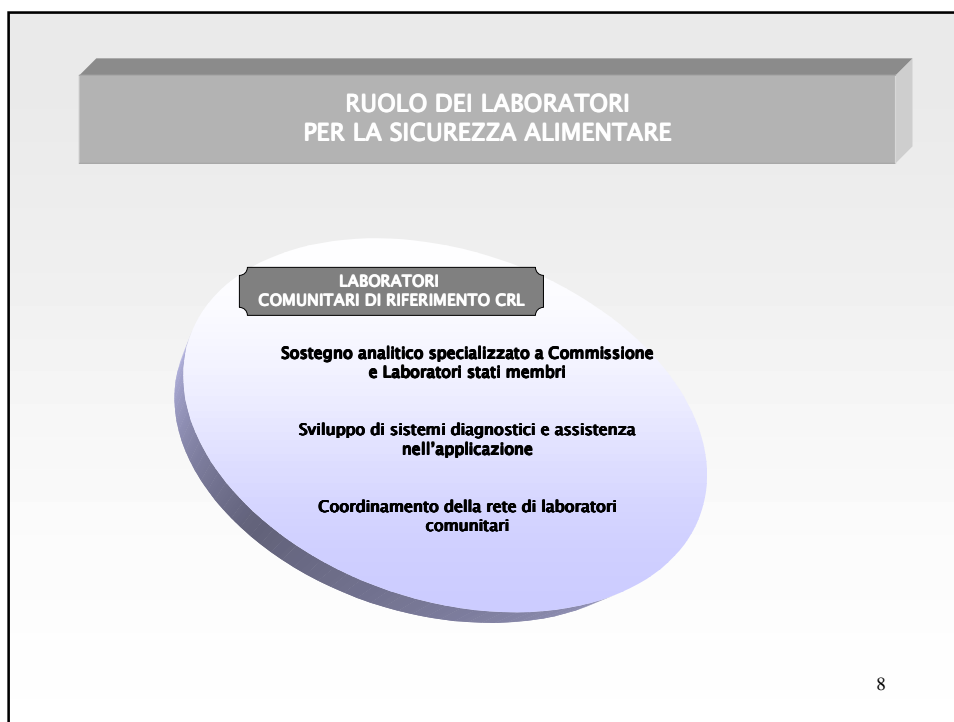
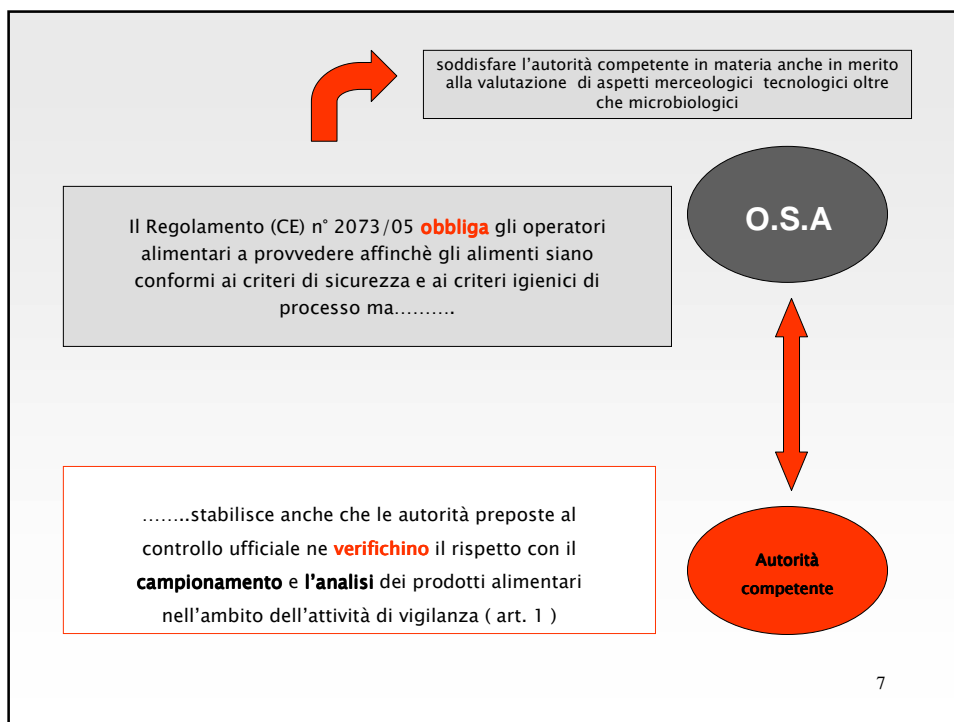
## REGOLAMENTO (CE) n. 2073/2005 DELLA COMMISSIONE

Al fine di contribuire alla protezione della salute pubblica ed evitare interpretazioni divergenti è opportuno

**fissare criteri armonizzati di sicurezza relativi all'accettabilità dei prodotti alimentari, in particolare per quanto riguarda la presenza di determinati microrganismi patogeni**

Categoria alimentare	Microorganismi/tossine, metaboliti	Piano di campionamento (%)		Limiti (%)		Metodo d'analisi di riferimento (%)
		n	c	m	M	
9.9 Prodotti a base di carne di pollame destinati ad essere consumati cotti	Salmonella	5	0	Dall'1.1.2006 Assente in 10 g Dall'1.1.2010 Assente in 25 g		EN/ISO 6579

6



## RUOLO DEI LABORATORI PER LA SICUREZZA ALIMENTARE

### UFFICIALI

- Sorveglianza
- Valutazione dei rischi
- Ricerca e sviluppo
- Autocontrollo
- Controllo Ufficiale
  - Allerta

### PRIVATI

- Autocontrollo
- Certificazione
- Ricerca e sviluppo
  - Allerta

9

- Un laboratorio che intenda dimostrare di essere tecnicamente competente e di fornire risultati affidabili ed accurati deve attuare un **sistema qualità**
- 
- Nell'Unione Europea (EU) i laboratori che effettuano il controllo ufficiale su alimenti e mangimi devono essere accreditati secondo la **ISO/IEC 17025 (Reg. 882/2004)**

10

## In ambito nazionale....

Accordo ai sensi dell'articolo 40, comma 3, della legge 7 luglio 2009 n. 88.

## In ambito regionale....

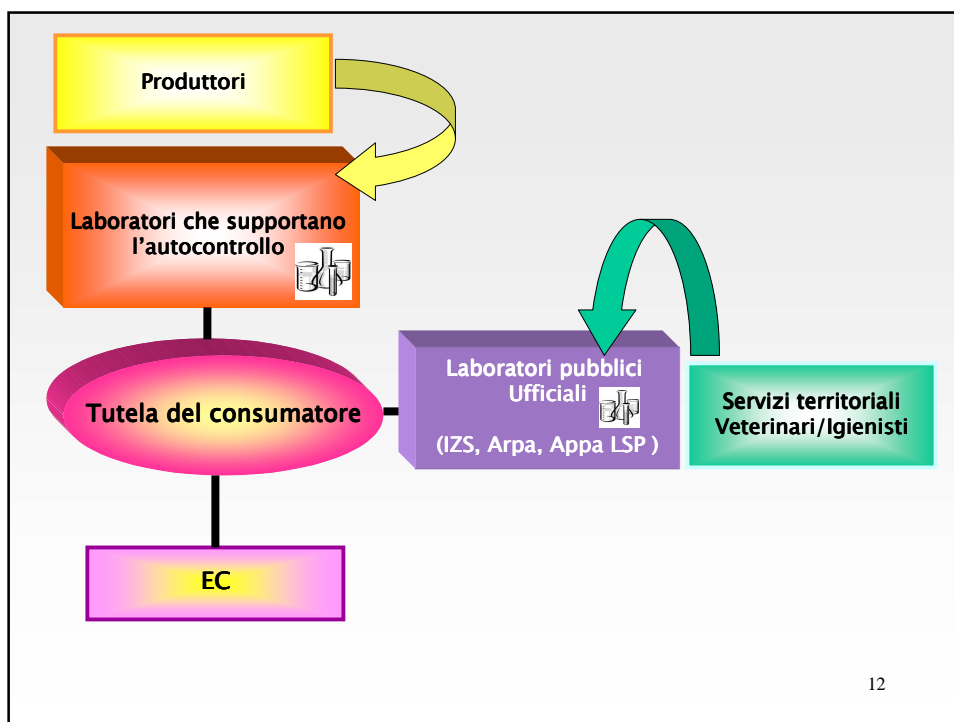
L.R. 9 marzo 2006, n. 9 – DP GRT 25 ottobre 2006, n. 49/R e DP GRT 18 ottobre 2011, n. 51/R

Conformità di lab. Pubblici e privati  
alla norma **UNI/CEI EN ISO/IEC 17025** e BPL

Riconoscimento formale di:

- Idoneità di un laboratorio ad effettuare specifiche prove o gruppi
- Adozione di un sistema interno appropriato al tipo, al livello ed al volume dell'attività di prova eseguita

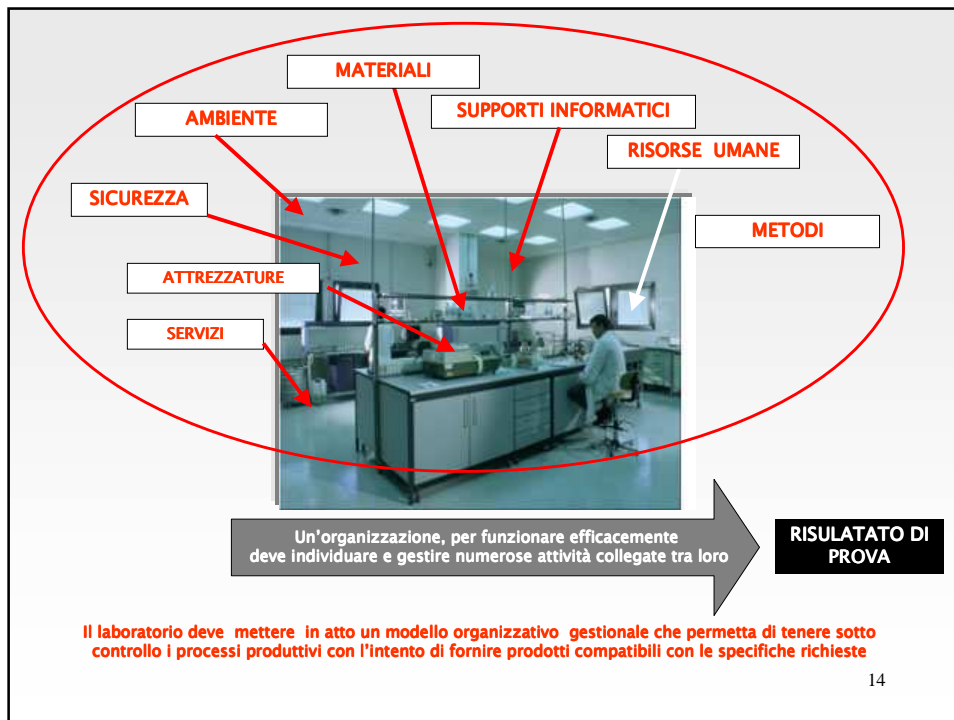
11



12

## 2. QUALITA' DEI RISULTATI DI PROVA

13





The six VAM principles enable organisations to implement best practice and make valid measurements

1. Le misure analitiche dovrebbero essere eseguite per soddisfare un requisito concordato
2. Le misure analitiche dovrebbero essere eseguite utilizzando metodi ed apparecchiature di cui sia stato provato che sono idonee allo scopo
3. Il personale che esegue le misure analitiche dovrebbe essere sia qualificato che competente per eseguirle
4. Dovrebbe esserci una continua ed indipendente valutazione delle prestazioni tecniche del laboratorio
5. **Le misure analitiche eseguite in un luogo dovrebbero essere conformi a quelle eseguite altrove**
6. Le organizzazioni che eseguono misure analitiche dovrebbero avere ben definite procedure per il controllo e l'assicurazione della qualità

By LGC under contract with the UK Department of Trade and Industry (DTI)

15

## 2.1 SCELTA DEI METODI di PROVA

16



## Settore Cogente e metodi di prova

Modalità, tipo e limiti di un metodo possono variare in ragione all'applicazione, al settore o a quanto specificato

in ambito regolamentato volontario (metodi normati)

o

cogente (metodi ufficiali)

Nell'ambito delle attività di controllo ufficiale degli alimenti, la individuazione della procedura analitica non può prescindere dagli eventuali vincoli e prescrizioni presenti nella normativa in vigore.

17

## SCELTA DEI METODI DI PROVA

utilizzare preferibilmente "metodi normalizzati", ovvero pubblicati :

- nelle norme internazionali (ISO),
- nelle norme europee (EN),
- nelle norme nazionali (UNI),
- metodi pubblicati da enti riconosciuti

I metodi interni ( p.to 5.4.2) , "metodi non normalizzati" , sviluppati dal laboratorio possono essere utilizzati se sono **appropriati** all'uso e se sono **validati**

*L'utilizzo di procedure di analisi diverse rispetto a quelle di riferimento devono essere supportate da una dimostrazione di equivalenza in base alla norma EN/ISO 16140 e approvate dall'Autorità competente*

*(Reg. 2073/05 art.5 paragr. 5)*

18



metodi pubblicati da organizzazioni tecniche rinomate



Categoria alimentare	Microorganismi/loro tossine, metaboliti	Piano di campionamento (*)		Limiti (*)		Metodo d'analisi di riferimento (*)
		n	c	m	M	
1.9 Prodotti a base di carne di pollame destinati ad essere consumati cotti	Salmonella	5	0	Dall'1.1.2006 Assente in 10 g Dall'1.1.2010 Assente in 25 g		EN/ISO 6579
1.10 Gelatina e collagene	Salmonella	5	0	Assente in 25 g		EN/ISO 6579
1.11 Formaggi, burro e panna ottenuti da latte crudo o da latte sottoposto a trattamento termico a temperatura più bassa della pastorizzazione <sup>(10)</sup>	Salmonella	5	0	Assente in 25 g		EN/ISO 6579
1.12 Latte in polvere e siero di latte in polvere <sup>(10)</sup>	Salmonella	5	0	Assente in 25 g		EN/ISO 6579

metodi ufficiali descritti o richiamati in documenti normativi cogenti pubblicati su GU



REGOLAMENTO (CE) n. 2073/2005



19

## 2.2 VALIDAZIONE

• La validazione di metodo è un processo pianificato e eseguito “praticamente” per accertare che una metodologia analitica sia ad esempio **sensibile, specifica, riproducibile e robusta** in relazione al tipo di determinazione/i che con un determinato metodo si intendono effettuare

20

## VALIDAZIONE dei METODI

**rappresenta una fase operativa fondamentale per garantire l'attendibilità dei risultati**

### La validazione di un metodo microbiologico

in ragione degli obiettivi a cui intende corrispondere può essere classificata in

- 1) **PRIMARIA**
- 2) **SECONDARIA**

21

## VALIDAZIONE METODI MICROBIOLOGICI

### NORMALIZZATO

Metodo Normato



Il laboratorio deve dimostrare che le sue prestazioni sono equivalenti a quelle riportate e descritte dal metodo e che tali prestazioni sono mantenute nella routine

### SVILUPPATO IN LABORATORIO

Metodo Interno



Validazione primaria e secondaria

22

## VALIDAZIONE PRIMARIA

### ASSICURA

che il metodo è **adatto per lo scopo e il campo di applicazione** per :

- rivelare la presenza /assenza ( metodo qualitativo) o
- quantificare ( metodo quantitativo) il numero delle colonie di uno specifico microrganismo o gruppi di microrganismi in una determinata matrice

- Processo **esplorativo** sperimentale finalizzato a stabilire limiti operativi e *performances* di un metodo nuovo, modificato o carente di informazioni
- I risultati, le modifiche apportate sono riportati in un documento
- Può essere confrontata ad altri metodi , ad una **precisione teorica predefinita** in ragione allo scopo e al campo di applicazione previsto per quel metodo metodo.

23

## VALIDAZIONE di METODI ALTERNATIVI

ISO 16140 2003

I metodi alternativi commerciali sono frequentemente validati su richiesta del produttore da Enti terzi quali AFNOR, AOAC , NORDVAL.

### In questo caso il laboratorio utilizzatore :

dovrà solo dimostrare di essere in grado di eseguire il metodo con delle performance che non siano inferiori a quelle dichiarate dal protocollo di validazione

24

This certificate contains 6 pages 1/6

**AFNOR Validation**  
Alternative methods for agribusiness  
Analytical performances certified

**VALIDATION CERTIFICATE FOR ALTERNATIVE ANALYTICAL METHOD  
ACCORDING TO STANDARD EN ISO 16140: 2003**

Certificate No.: BIO-12/11-03/04

Validation date : 12.03.2004\*  
Extension date : 02.12.2004\*  
Renewal date : 14.12.2005\*  
End of validity : 17.01.2008  
\* EN ISO 16140 protocol was used in 2004 for the preliminary study and in 2006 for the inter-laboratory study

The company  
(head office, distribution, and production site)  
BIOMERIEUX  
Chemin de l'Orme  
69380 MANCY-L'ETOILE  
France

Is hereby authorized to refer to this AFNOR Validation certificate for the following alternative qualitative analysis method:  
**VIDAS Listeria monocytogenes II (VIDAS LMO2) – Ref. 30704**  
Enrichment stage at 37 °C

Protocol reference: 11600 versions (J) and (K)

**SCOPE**  
All human food products and environmental samples

**RESTRICTIONS OF USE**  
None

**REFERENCE METHOD**  
EN ISO 11296-1 (1997) including Amendment A1 (2004): Food Microbiology – Horizontal Method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes – Part 1: Detection method

*Jacques BESLIN*  
Deputy General Manager  
Jacques BESLIN

AFNOR Certification  
11, rue Francis de Pressensac – 33071 Le Plan de Saint Denis Cedex - France  
Phone +33 (0) 41 02 60 00 – Fax +33 (0) 40 17 80 00  
certification@afnor.com - www.afnor-validation.com

**METODI ALTERNATIVI VALIDATI:  
attestato di validazione**

N. ATTESTATO  
SCADENZA VALIDAZIONE  
DENOMINAZIONE METODO  
CAMPO APPLICAZIONE  
EVENTUALI RESTRIZIONI  
METODI DI RIFERIMENTO

25

## VALIDAZIONE SECONDARIA

### Assicura

- affidabilità durante l'uso normale , ovvero che il metodo “è adatto allo scopo”
- tenute sotto controllo e mantenimento entro limiti specificati delle caratteristiche del metodo nell'applicazione “routinaria” di laboratorio

### Realizzato da

laboratori utilizzatori di metodi sviluppati e validati ( val. primaria) da altri

- Consiste nel dare evidenza che il laboratorio, applicando un metodo validato è capace di corrispondere alle specifiche stabilite nella validazione primaria valutandone le prestazioni del metodo a lungo termine ( es, predisponendo apposite carte di controllo)
- Il laboratorio deve confermare che è in grado di eseguire correttamente i metodi normalizzati prima della messa in opera.
- La partecipazione a circuiti esterni di assicurazione della qualità completa la validazione secondaria (dati di riproducibilità)

26

## PARAMETRI di QUALITA' per metodi di prova microbiologici

Sensibilità	Probabilità , espressa come percentuale, che un risultato positivo sia effettivamente positivo
Specificità	Probabilità , espressa come percentuale, che un risultato negativo sia effettivamente negativo
Robustezza	Capacità del metodo di non essere influenzato significativamente , per effetto di variazioni deliberate introdotte nelle sue fasi di realizzazione
Esattezza	Differenza tra il valore medio ottenuto da un sufficiente numero di prove indipendenti ed il valore di riferimento accettato come reale.
Precisione	Grado di accordo tra misure indipendenti della stessa variabile analitica. In funzione delle modalità con cui vengono replicate le prove, può essere definita come ripetibilità o come riproducibilità. La riproducibilità è valutata attraverso prove organizzate gestite da circuiti interlaboratorio
Incertezza	Parametro associato al risultato di una misurazione o prova, che caratterizza la dispersione dei dati ragionevolmente attribuibili al misurando
Ripetibilità	Parametro entro il quale si deve confrontare la differenza tra dati in doppio ottenuti sullo stesso campione utilizzando lo stesso metodo di prova adottato dal laboratorio.

27

## VALIDAZIONE SECONDARIA (verifica applicabilità del metodo)

### PROVE QUANTITATIVE ACCURATEZZA

**Esattezza**  
(cfr tra risultati propri / **mat. riferimento**)

**Precisione**  
*Ripetibilità*: più prove stesso operatore, appar, proced, vicine (da cfr con **rip. della norma**)  
*Riproducibilità*: op e condizioni diverse; necessaria per inc. estesa

### PROVE QUALITATIVE ACCURATEZZA

**Sensibilità**

**Specificità**

**Concordanza** tra operatori

28

## PROVE QUANTITATIVE

	APPLICAZIONE	MATERIALE	ATTIVITA'	NOTE
VALIDAZIONE PRIMARIA	Metodi non normati (es. metodi interni)	Materiale di Riferimento Ceppi ATCC (per confronto con un metodo normato)  Circuito interlaboratorio	Prove di Ripetibilità (1 operatore 10 prove) Prove di riproducibilità (2 operatori 10 prove ciascuno)	
VALIDAZIONE SECONDARIA	Metodi normati privi dell'indicazione del valore di "r"		Prove di Ripetibilità (1 operatore 10 prove) Prove di riproducibilità (2 operatori 10 prove ciascuno)	
	Metodi normati con l'indicazione del valore di "r" Metodi non normati ma con la validazione già effettuata dal laboratorio emittente		Prove di Ripetibilità (1 operatore 2 prove) applicabilità del metodo, per il confronto del "r" di laboratorio con "r" della norma) Prove di riproducibilità (2 operatori 10 prove ciascuno) (Calcolo dello scarto tipo di Riproducibilità "SR")	

29

## 2.3 ASSICURAZIONE QUALITA' DEL DATO ANALITICO

30

## MONITORAGGIO nel TEMPO

Secondo ISO/IEC 17025 e ISO 7218:2007

Il laboratorio deve avere procedure di controllo qualità per **monitorare la validità delle prove eseguite.**

**CONTROLLO DAY- to- DAY**

I dati risultanti devono essere registrati in modo che le **linee di tendenza** siano rivelabili e, quando sia fattibile, devono essere applicate tecniche statistiche per riesaminare i risultati.

31

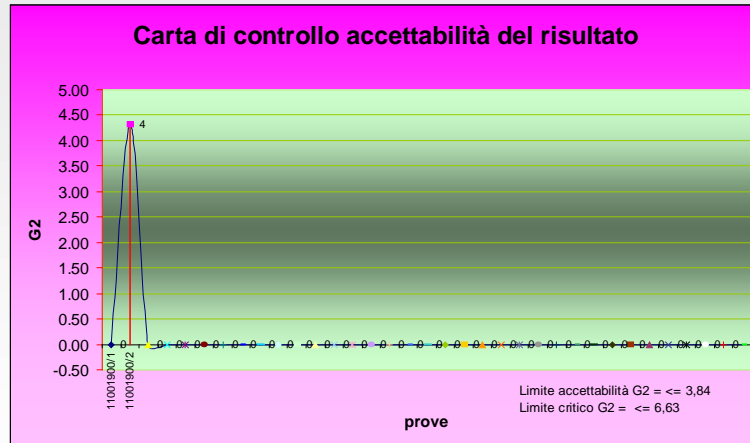
## ACCETTABILITA' DEI RISULTATI DI ROUTINE

PG CIP 003-2 rev.0															
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	
1	Accettabilità dei risultati delle prove di routine e carta di controllo per la competenza del laboratorio														
2	Caselle di inserimento dati di colore celeste					Conteggi									
	ANNO	IP Registrazione	Risultato	Incertezza della prova di routine	G <sup>2</sup>	Rifiuto o Accettazione del dato	Risultato prima diluizione	Risultato seconda diluizione	Operatore e inserimento dati	Incertezza estesa	Incertezza composta ottenuta attraverso la riproducibilità	Prima diluizione	Seconda diluizione		
4	2011	11001900/1	500	160	1560	0.00	ACCETTABILE	50	5	guazzoni	0.494	0.24	0.1	0.01	
5	2011	11001900/2	864	281	2658	4.32	NON ACCETTABILE	80	15	guazzoni	0.488	0.24	0.1	0.01	
6		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!	#NUM!				#DIV/0!					
7		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!	#NUM!				#DIV/0!					
8		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!	#NUM!				#DIV/0!					
9		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!	#NUM!				#DIV/0!					
10		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!	#NUM!				#DIV/0!					
11		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!	#NUM!				#DIV/0!					
12		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!	#NUM!				#DIV/0!					
13		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!	#NUM!				#DIV/0!					
14		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!	#NUM!				#DIV/0!					
15		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!	#NUM!				#DIV/0!					
16		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!	#NUM!				#DIV/0!					
17		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!	#NUM!				#DIV/0!					
18		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!	#NUM!				#DIV/0!					
19		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!	#NUM!				#DIV/0!					
20		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!	#NUM!				#DIV/0!					
21		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!	#NUM!				#DIV/0!					

carica mesofila / stafilococchi / streptococchi / bacilli enterococchi / bacilli enterici

32





33

## Controllo di qualità delle performances ISO 7218:2007

- L'utilizzo di campioni civetta naturalmente o artificialmente contaminati per gruppi di matrici;
- Analisi in doppio con differenti metodi;
- Analisi di replicati dei risultati;
- L'utilizzo di materiali di riferimento (compresi i materiali da proficiency test).

34

## 2.3 CIRCUITI

proficiency test

35

### Scopo dei confronti interlaboratorio ISO/IEC Guida 43-1

- a) **Valutare le prestazioni** di un laboratorio nell'effettuazione di una determinata misurazione e controllarne la validità nel tempo.
- b) **Identificare i problemi** del laboratorio correlati a questa misurazione (competenza del personale, taratura della strumentazione).
- c) Stabilire la **validità e la comparabilità di nuovi metodi** di misura e convalida di quelli routinariamente utilizzati.
- d) Fornire **maggior sicurezza agli utilizzatori** dei risultati
- e) Identificare le **differenze tra i laboratori**.
- f) Stabilire **le prestazioni di un metodo**.
- g) Assegnare **valori ai materiali di riferimento** e stabilire la loro idoneità per particolari procedimenti.

Criteri per la valutazione  
delle prestazioni analitiche  
in accordo con ISO/IEC Guide 43-1 e ISO/FDIS 13528

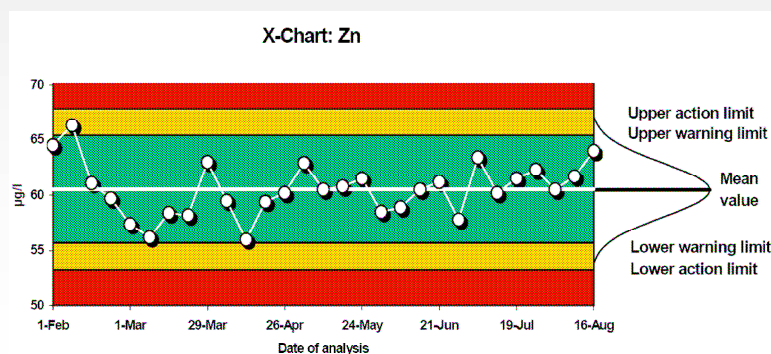
**z-score**

- Il risultato del laboratorio è:
- per  $|z| < 2$  **accettabile**
- per  $2 < |z| < 3$  **discutibile** *tendenza verso valori insoddisfacenti*
- per  $|z| > 3$  **non accettabile**
- Ogni risultato viene valutato ai fini di individuare tipo ed entità delle azioni correttive (es: grave, insoddisfacente..)

37

## CARTE DI CONTROLLO

- Allo scopo di avere una verifica statistica della stabilità del metodo nel tempo, si allestiscono carte di controllo.

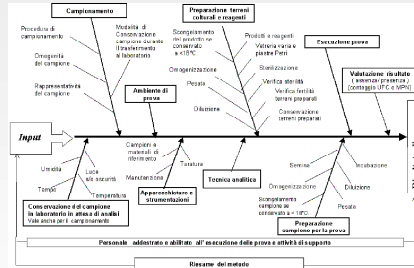


## GESTIONE dei RISULTATI NON ACCETTABILI

### Verifica delle cause

#### Azioni correttive:

- Tarature
- Manutenzioni
- Addestramento
- Reclami, ecc.
- Influenza sui risultati forniti ai clienti ...



### Verifica dell'efficacia

39

## 2.4 INCERTEZZA DI MISURA

40

## INCERTEZZA DI MISURA

Parametro, associato al risultato di una misurazione, che caratterizza la dispersione dei valori che può essere ragionevolmente attribuita al misurando

è obbligatorio fornire (richiesta del cliente, norma cogente) una indicazione quantitativa della qualità del risultato, cosicché **gli utenti ne possano accertare l'attendibilità**

Senza tale indicazione i risultati delle misurazioni **non possono essere confrontati né tra di loro, né con valori di riferimento assegnati da specifiche o da norme.**

41

## FOGLIO di CALCOLO INCERTEZZA di MISURA

PG CIP 003-2 rev.0														
A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	
1	Accettabilità dei risultati delle prove di routine e carta di controllo per la competenza del laboratorio													
2	Caselle di inserimento dati di colore celeste				Conteggi									
	ANNO	IP <sup>o</sup> Registrazione	Risultato	Incertezza della prova di routine	G <sup>2</sup>	Rifiuto o Accettazione del dato	Risultato prima diluizione	Risultato seconda diluizione	Operatore inserimento dati	Incertezza estesa	Incertezza composta ottenuta attraverso la riproducibilità	Prima diluizione	Seconda diluizione	
4	2011	11001900/1	500	160 1560	0.00	ACCETTABILE	50	5	guazzoni	0.494	0.24	0.1	0.01	
5	2011	11001900/2	864	281 2658	4.32	NON ACCETTABILE	80	15	guazzoni	0.488	0.24	0.1	0.01	
6			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!				#DIV/0!				
7			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!				#DIV/0!				
8			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!				#DIV/0!				
9			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!				#DIV/0!				
10			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!				#DIV/0!				
11			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!				#DIV/0!				
12			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!				#DIV/0!				
13			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!				#DIV/0!				
14			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!				#DIV/0!				
15			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!				#DIV/0!				
16			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!				#DIV/0!				
17			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!				#DIV/0!				
18			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!				#DIV/0!				
19			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!				#DIV/0!				
20			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!				#DIV/0!				
21			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!				#DIV/0!				
(*) N° carica mesofila / stafilococchi / enterococchi / bacilli aerobi / clostridi / batteri anaerobi														

42

## 2.5 RISULTATI

43

### CONTROLLO DEI DATI ELABORAZIONE

Il software dell'elaboratore elettronico sviluppato dall'utilizzatore deve essere documentato con sufficiente dettaglio e convenientemente validato.

Questo requisito si applica anche allo sviluppo su **FOGLI ELETTRONICI** (es. formule nelle celle di Excel o macro Visual Basic) devono essere preparate ed applicate delle procedure per proteggere i dati che comprendano gli aspetti di integrità e di riservatezza dei dati di ingresso o della raccolta dati, della conservazione, della trasmissione e del trattamento degli stessi

44



La funzionalità del foglio di calcolo è periodicamente controllata dal redattore attraverso l'uso di dati noti e procedure di calcolo alternative

Le modalità di verifica sono dichiarate dal redattore

45

## ESPRESSIONE dei RISULTATI

Devono essere definiti i **decimali o le cifre significative**

**Zero in notazione scientifica**

**Arrotondamento dei risultati**

**Espressione dei piccoli numeri**

**Ed ancora:**

- Presentazione su formato predefinito
- Completezza delle informazioni richieste
- Trasmissione
- Modifiche

46

## Alcuni esempi pratici

47

## I risultati analitici indirizzano a:

- processi decisionali successivi nell'iter diagnostico
- azioni da intraprendere per risultati n.c.
- conseguenze legali e commerciali

**Alcuni esempi** 

48



## AW

### Nel controllo ufficiale

Da essa e dalla valutazione di altri elementi di rischio dipendono scelte diagnostiche successive nell'ambito dei criteri di sicurezza alimentare per *Listeria monocytogenes*

- $\text{pH} \leq 4,4$  o
- $\text{pH} \leq 5,0$  e

$\text{aw} \leq 0,92$   
 $\text{aw} \leq 0,94$

### Nello studio di prodotto

è determinante nella definizione commerciale

Attraverso un'accurata misurazione del valore di Aw è possibile garantire in modo attendibile la qualità dei prodotti alimentari; infatti il valore Aw influenza:

- sviluppo microbico
- caratteristiche organolettiche dell'alimento
- conservabilità del prodotto

49

## Fasi di messa a punto di un metodo di prova

Scelta del metodo, campo di applicazione

Scelta delle apparecchiature

Addestramento del personale

Validazione del metodo

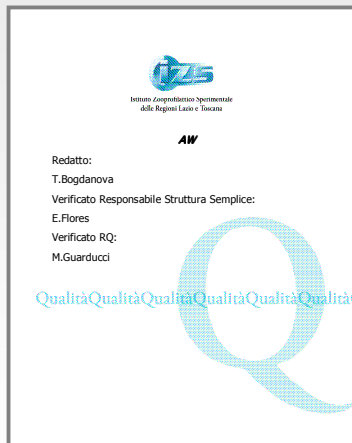
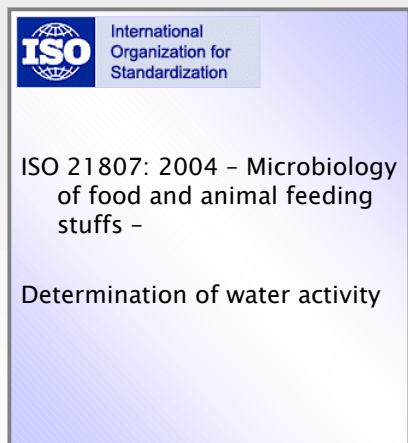
Monitoraggio della qualità dei risultati (circuiti)

Valutazione complessiva



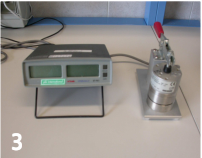



Accreditamento

50

## 1. METODO di PROVA



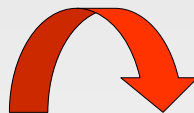
Il limite di ripetibilità contenuto nella norma ISO 21807 corrisponde allo scarto tipo di ripetibilità di 0,002  $\text{sn}^{-1}$  per il range di valori dell'aw da 0,600 a 0,999.

1 – Aqualab 4TE			
2 – AQUALAB Lite			
3 – Aw Win			
PRINCIPIO	Punto di rugiada	capacitivo	capacitivo
PRECISIONE	$\pm 0.003 \text{ aw}$	$\pm 0.015 \text{ aw}$	?
RISOLUZIONE	$\pm 0.0001 \text{ aw}$	$\pm 0.001 \text{ aw}$	$\pm 0.001 \text{ aw}$
VELOCITA' MISURAZIONE	<5min	5min	1 ora
RANGE TEMPERATURA DI CONTROLLO	15–50°C	NO destabilizzato da T ambiente	NO destabilizzato da T ambiente
CAMPO DI MISURA	0.600–0.999	0.600–0.999	0.600–0.999
VALIDAZIONE	POS NOR 	POS INT	POS NOR 
STANDARD	0.760-0.984 – 1000 $\pm 0.003$	0.760-0.984 – 1000 $\pm 0.003$	95%-80% $\pm 1.2\%$
Sn-1 = $\geq 0.002$			
ESITO per ISO 2180:2004	F	S	F

## un risultato numerico presuppone un approfondimento diagnostico

- **Contaminazione da Stafilococchi coag. +**
- Reg.2073/05 – 1441/07 considerano l'enumerazione di Stafilococchi coagulasi-positivi solo tra i **criteri di igiene del processo**  
Tuttavia lo stesso Regolamento precisa che:  
  
Es. **formaggio a base di latte crudo** il superamento dei criteri **obbliga** d'ufficio di sottoporre la partita di formaggio alla ricerca delle **enterotossine stafilococciche**
- limiti  $m=10^4$  ufc/gr       $M=10^5$  ufc/gr  
criterio di campionamento  $n=5$   $c=2$   
2 unità= tra  $10^4$  -  $10^5$       3 unità  $\leq 10^4$

53



**IGIENE di PROCESSO**

**Stafilococchi coagulasi positivi**

**ISO 6888-1:1999** – Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species). Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium  
**Amendement 1:2003** – Inclusion of precision data

**Stafilococchi coagulasi positivi**

**ISO 6888-2:1999** – Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species). Part 2: Technique using rabbit plasma fibrinogen agar medium  
**Amendement 1:2003** – Inclusion of precision data

### SICUREZZA ALIMENTARE

**Enterotossine stafilococciche**

**Metodo europeo di screening del LCR**

54

Accettabilità dei risultati delle prove di routine e carta di controllo per la competenza del laboratorio												
Caselle di inserimento dati di colore celeste												
AIHO	ID Registrazione	Risultato	Incertezza della prova di routine	G <sup>2</sup>	Rifiuto o Accettazione del dato	Conteggi		Operatore inserimento dati	Incertezza estesa	Incertezza composta ottenuta attraverso la riproducibilità	Prima diluizione	Seconda diluizione
						Risultato prima diluizione	Risultato seconda diluizione					
2011	11012963/1	12091	3950	37011	0.07	ACCETTABILE	120	13	smaldone	0.486	0.24	0.01
2011	11012963/2	1155	377	3536	0.02	ACCETTABILE	115	12	smaldone	0.486	0.24	0.01
2011	11012963/3	12636	4130	38658	0.04	ACCETTABILE	127	12	smaldone	0.486	0.24	0.01
2011	11012963/4	12182	3980	37286	0.13	ACCETTABILE	123	11	smaldone	0.486	0.24	0.01
2011	11012963/5	1100	359	3372	0.00	ACCETTABILE	110	11	smaldone	0.486	0.24	0.01
		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!				#DIV/0!			
		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!				#DIV/0!			
		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!				#DIV/0!			
		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!				#DIV/0!			
		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!				#DIV/0!			
		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#NUM!				#DIV/0!			

CRITERIO di VALUTAZIONE

limiti       $m=10^4$  ufc/gr       $M= 10^5$  ufc/gr

critero di campionamento  $n=5$   $c=2$

2 unità= tra  $10^4$  -  $10^5$     3 unità  $\leq 10^4$

PROVA: STAFILOCOCCI COAG. POS. (S. AUREUS ED ALTRE SPECIE) - TECNICA: ESAME CULTURALE PARTE 2				
Camp.	Aliq.	UC #	Ident. Camp.	Esito
1	1	1		1.2x10 <sup>4</sup> ufc/g
Altro				
Interv. di fiducia - lim. inf.: 4.0x10 <sup>3</sup> ufc/g				
Interv. di fiducia - lim. sup.: 3.7x10 <sup>4</sup> ufc/g				
Camp.	Aliq.	UC #	Ident. Camp.	Esito
1	1	2		1.2x10 <sup>3</sup> ufc/g
Altro				
Interv. di fiducia - lim. inf.: 3.8x10 <sup>2</sup> ufc/g				
Interv. di fiducia - lim. sup.: 3.5x10 <sup>3</sup> ufc/g				
Camp.	Aliq.	UC #	Ident. Camp.	Esito
1	1	3		1.5x10 <sup>4</sup> ufc/g
Altro				
Interv. di fiducia - lim. inf.: 4.1x10 <sup>3</sup> ufc/g				
Interv. di fiducia - lim. sup.: 3.9x10 <sup>4</sup> ufc/g				
Camp.	Aliq.	UC #	Ident. Camp.	Esito
1	1	4		1.2x10 <sup>4</sup> ufc/g
Altro				
Interv. di fiducia - lim. inf.: 4.1x10 <sup>3</sup> ufc/g				
Interv. di fiducia - lim. sup.: 3.7x10 <sup>4</sup> ufc/g				
Camp.	Aliq.	UC #	Ident. Camp.	Esito
1	1	5		1.1x10 <sup>3</sup> ufc/g
Altro				
Interv. di fiducia - lim. inf.: 3.6x10 <sup>2</sup> ufc/g				
Interv. di fiducia - lim. sup.: 3.4x10 <sup>3</sup> ufc/g				
Prova STAFILOCOCCI COAG. POS. (S. AUREUS ED ALTRE SPECIE) (ESAME CULTURALE PARTE 2)				
Metodo di Prova ISO 6888-2: 1999/ Amd 1 2003				
Livello Fiducia: 95%				
Fattore Copertura: 2				

## INCERTEZZA

- Per il cliente esprime l'efficienza del laboratorio che ha prodotto il dato
- Permette di confrontare i risultati tra loro (dati storici) e con valori di riferimento assegnati da specifiche o norme (autocontrollo per il laboratorio)

57

## FINE

58