

6.2 DETERMINAZIONE ERRORE SISTEMATICO STIMATO

eBIAS

Fonte UNI CEI 70099

Errore di misura

Valore misurato - valore di riferimento

Errore di misura
sistematico

Componente dell'errore di misura che in presenza di misurazioni ripetute resta costante o varia in modo prevedibile

Fonte UNI CEI 70099 2.17

Stima di un errore di misurazione sistematico o della differenza sistematica tra valore quantitativo assegnato e media dei risultati replicati delle misurazione

Fonte 16140-1:2016 2.9

Scostamento di
misura

Stima di un errore sistematico (BIAS in lingua inglese)

6.2 DETERMINAZIONE ERRORE SISTEMATICO STIMATO

eBIAS

fonte ISO 16140-3:2016 : prospetto 2

Metodo (*)	Caratteristica prestazionale	Verifica implementazione	Verifica della matrici (alimentari)
QUALITATIVO	LOD50 stimato ($eLOD_{50}$)	x	x
QUANTITATIVO	Scarto tipo di Riproducibilità (S_{IR})	x	Non applicabile
	Errore sistematico stimato	Non applicabile	x

(*) Metodo deve essere eseguito incluso il procedimento di conferma se previsto su tutte le porzioni di prova

6.2.1 generalità

Determinazione Errore Sistemático Stimato

Verifica Matrici alimentari

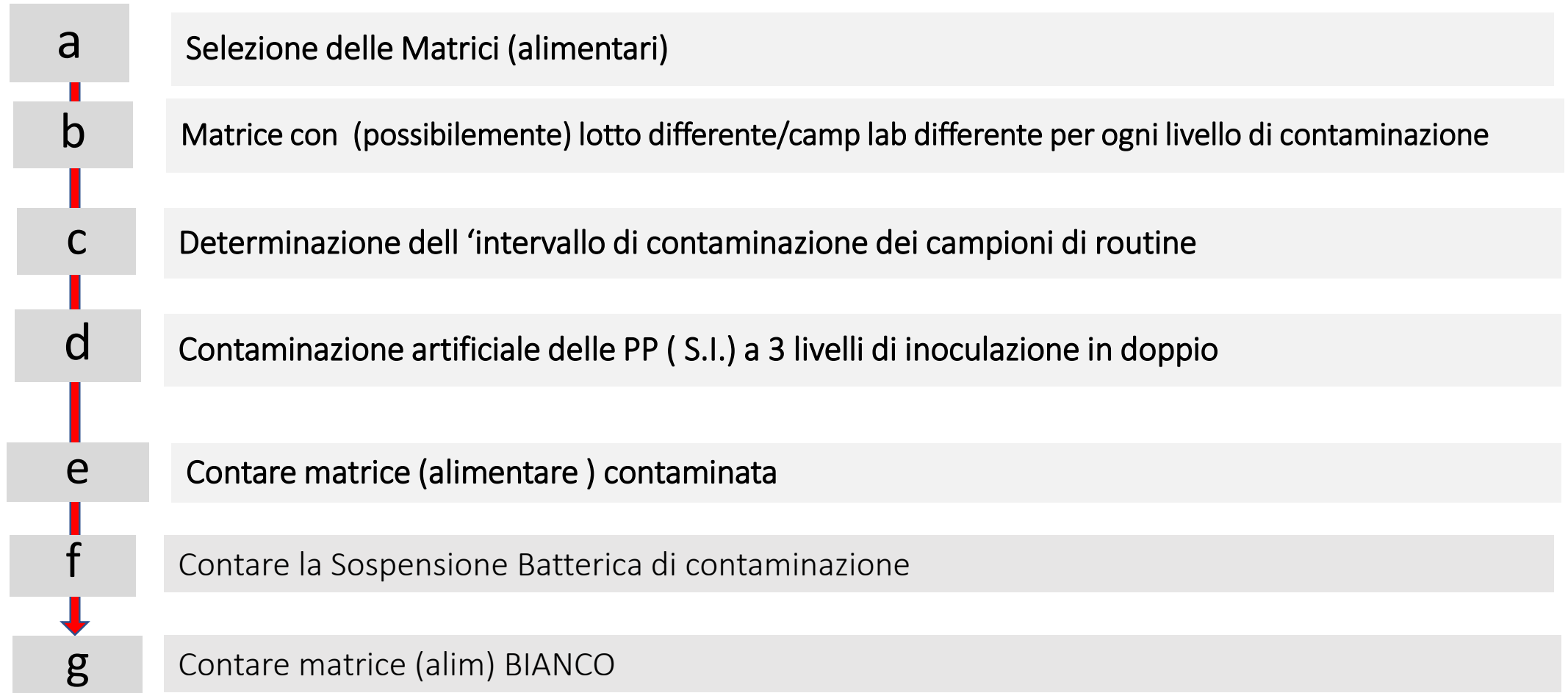
Metodo quantitativo

Procedimento completo

METODO DI CONFERMA SE RICHISTO

6.2 Progetto sperimentale

Fasi del progetto



6.2

Progetto sperimentale

Fasi del progetto

a

Selezione delle Matrici (alimentari)

b

Matrice con (possibilmente) lotto differente/camp lab differente per ogni livello di contaminazione

c

Determinazione dell' intervallo di contaminazione dei campioni di routine

d

Contaminazione artificiale delle PP (S.I.) a 3 livelli di inoculazione in doppio

e

Contare matrice (alimentare) contaminata

f

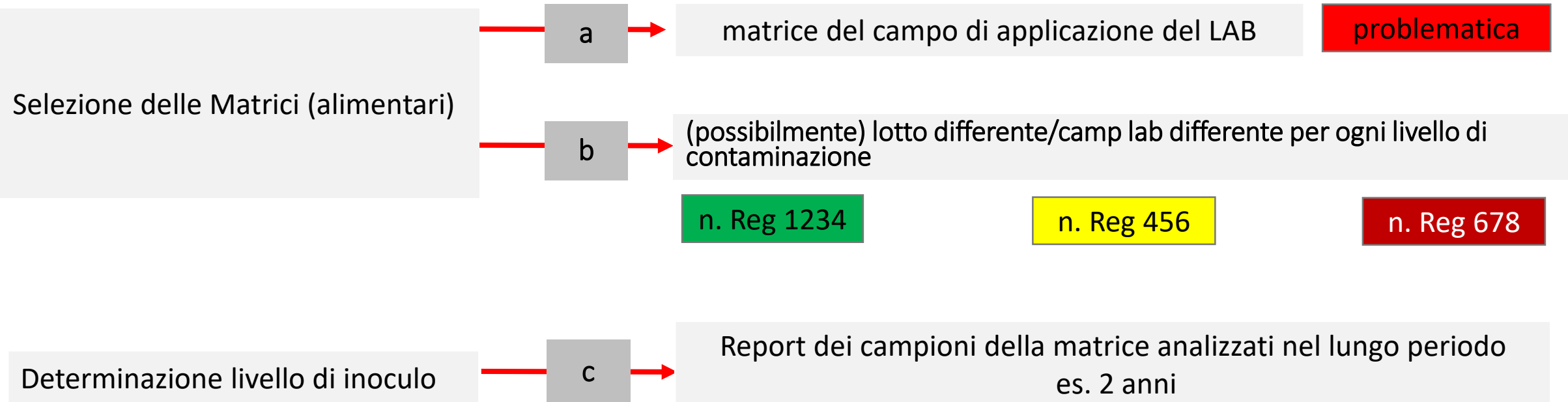
Contare la Sospensione Batterica di contaminazione

g

Contare matrice (alim) BIANCO

6.2 Progetto sperimentale

Fasi del progetto

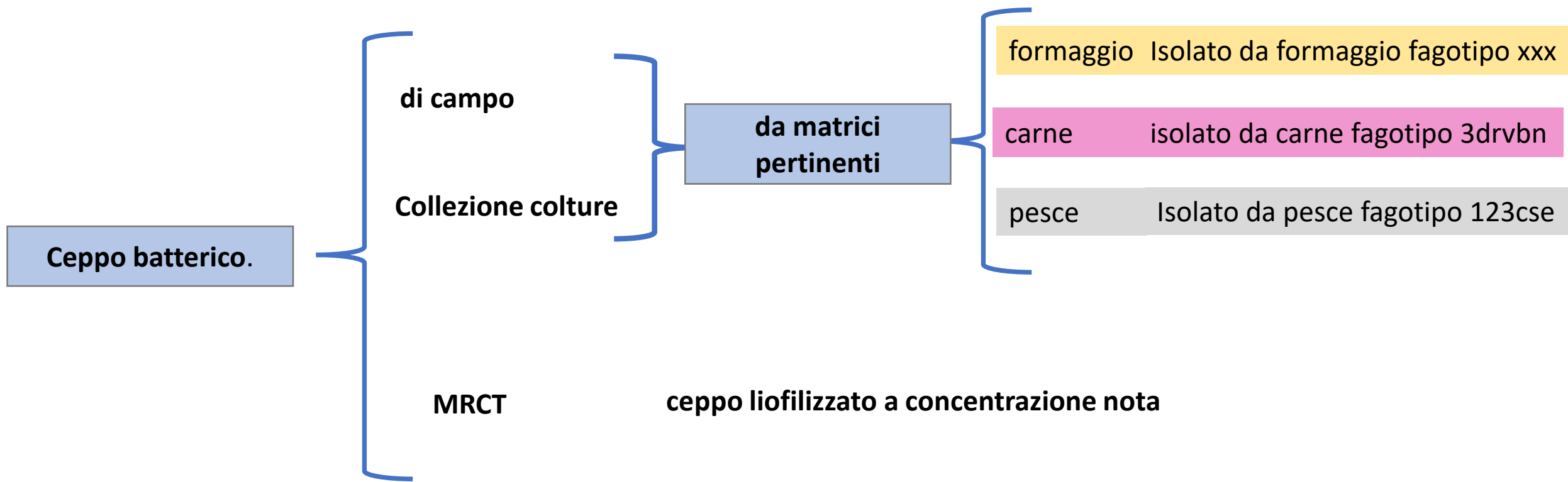


6.2 Progetto sperimentale

Fasi del progetto

d Contaminazione artificiale delle PP (S.I.) a 3 livelli di inoculazione in doppio

Selezione del ceppo



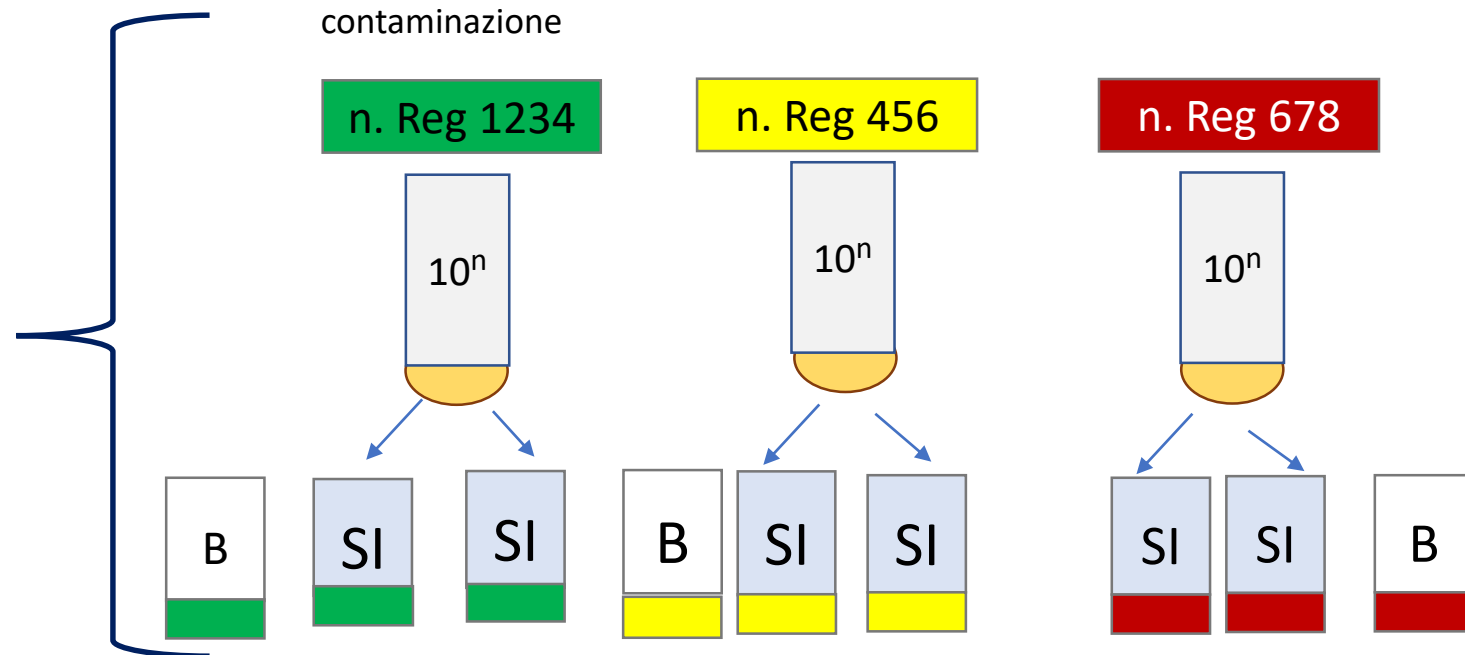
6.2 Progetto sperimentale

Fasi del progetto

d

Contaminazione artificiale 2 repliche
S.I. delle PP a 3 livelli di inoculazione in
doppio

(possibilmente) lotto differente/camp lab differente per ogni livello di
contaminazione



6.2 Progetto sperimentale

Fasi del progetto

d

Contaminazione artificiale delle PP (S.I.) a 3 livelli di inoculazione in doppio

Preparazione dell'inoculo

collezione di
colture o
ceppi di campo

1 **Calcolo** intervallo naturale di contaminazione

2 **Ceppo selezionato semina** in terreno colturale in
condizioni di «*crescita protratta*» **16-24 h**

ISO 11133:2014 5.4

3 **1° conteggio** su terreni non selettivi e determinazione
concentrazione in UFC/ml
*** si assume che stesse condizione = stessa coltura**

4 **Ripetizione della coltura** e calcolo per ricoprire
l'intervallo di contaminazione naturale rappresentativo

MRCT



2-3-4

Non da eseguire

6.2 Progetto sperimentale

Fasi del progetto

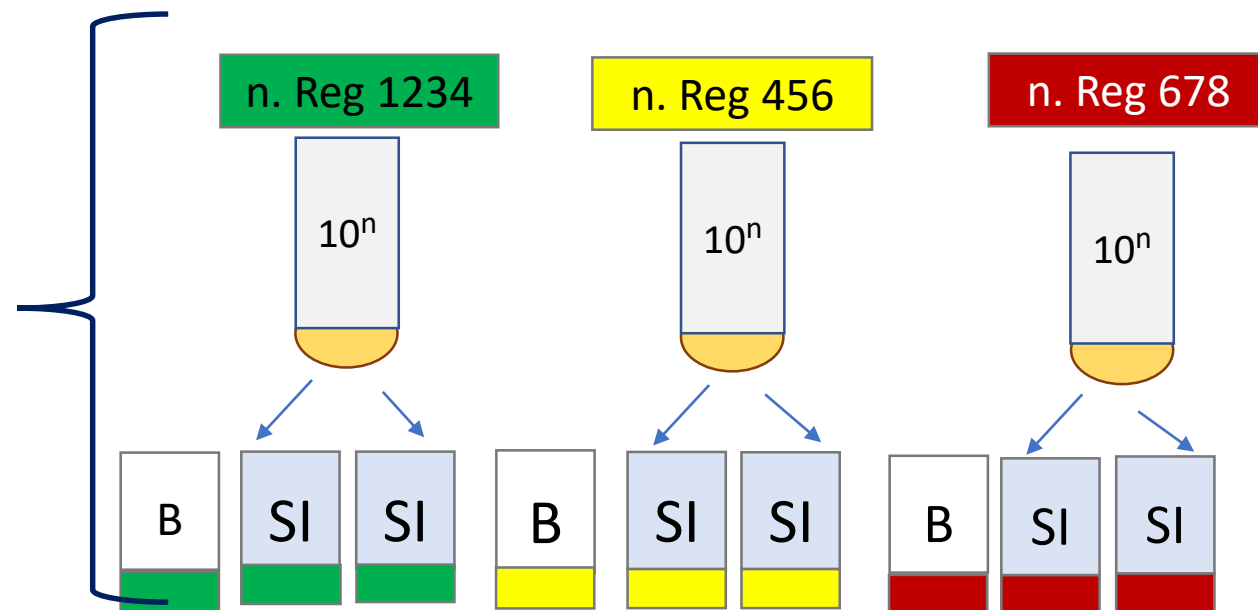
Contaminazione artificiale S.I. a 3 livelli di inoculazione in doppio

Matrice con (possibilmente) lotto differente/camp lab differente per ogni livello di contaminazione

Contare matrice (alim) contaminata

Contare la Sospensione Batterica di contaminazione

Contare matrice (alim) BIANCO



9 prove su campioni + 3 prove sull' inoculo = 12 prove

D.2 Determinazione dell' errore sistematico stimato

da 16140-3:2016 figura D4

D2.1 verifica e figura D4

a) Scelta della matrice



- cat 3 carne e prodotti carne RTC
- Tipo carne macinata
- Matrice : salsiccia

b) Previsione intervallo di contaminazione



10^6 ----- 10^2

Tre livelli contaminazione da ottenere sulle matrici nello studio di verifica

10^6 ufc /g

10^4 ufc /g

10^2 ufc /g

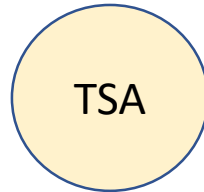
5.4 contaminazione artificiale

5.4.2 inoculazione delle PP

Preparazione dei MO per le prove di performance

ISO 11333:2018 par.5

Preparazione della
coltura stock

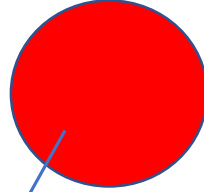
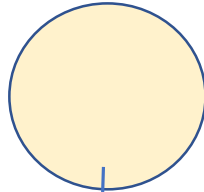


M.O. Aerobio termofilo

37 °C x 18-24 h

ISO 11333:2018 5.4.2.1

Lettura per purezza
delle colonie

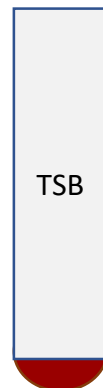


Colonie isolate

1- 2 colonie con ansa di
1 μ l

Brodo non selettivo

37 °C x 18-24 h



Coltura in fase di crescita stazionaria

ISO 11333:2018 5.4.2.2

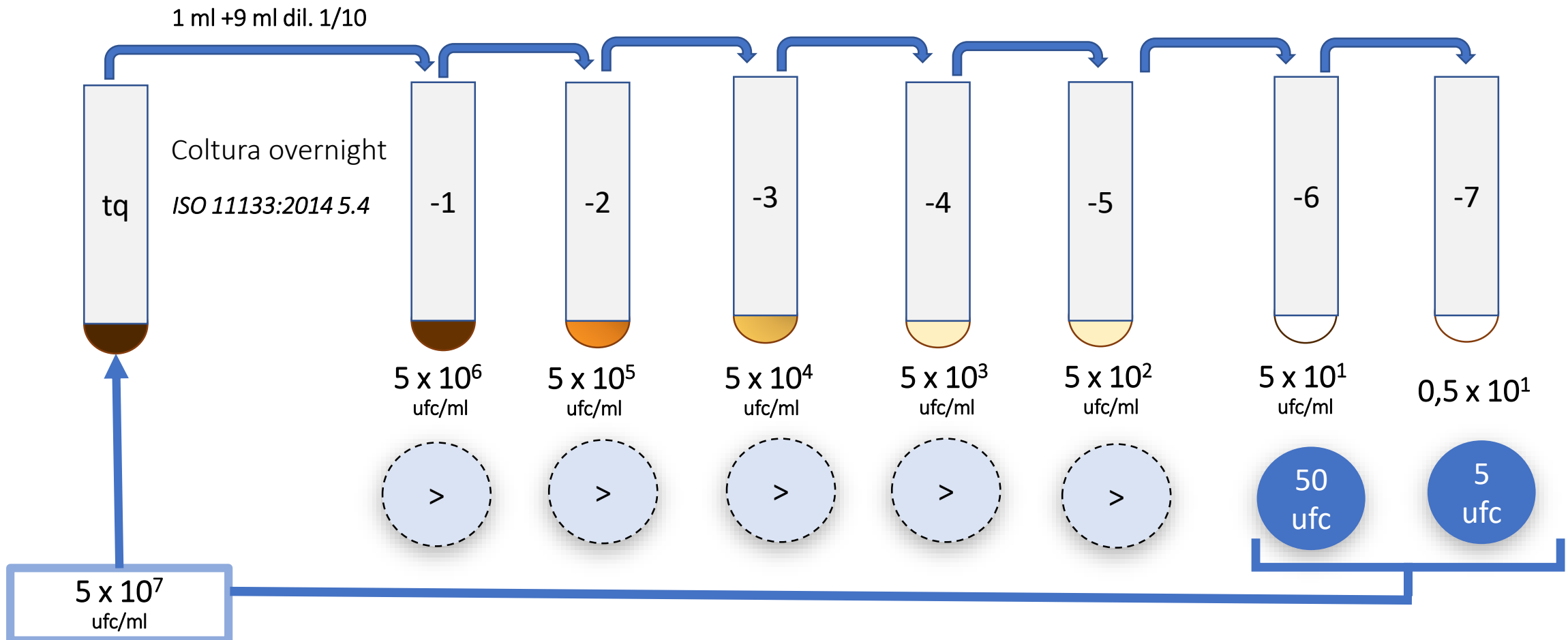
D.2 Determinazione dell' errore sistematico stimato

D2.1 preparazione per la verifica

figura D3

Descrivere sierotipo etc

Determinazione **preliminare** livello inoculo

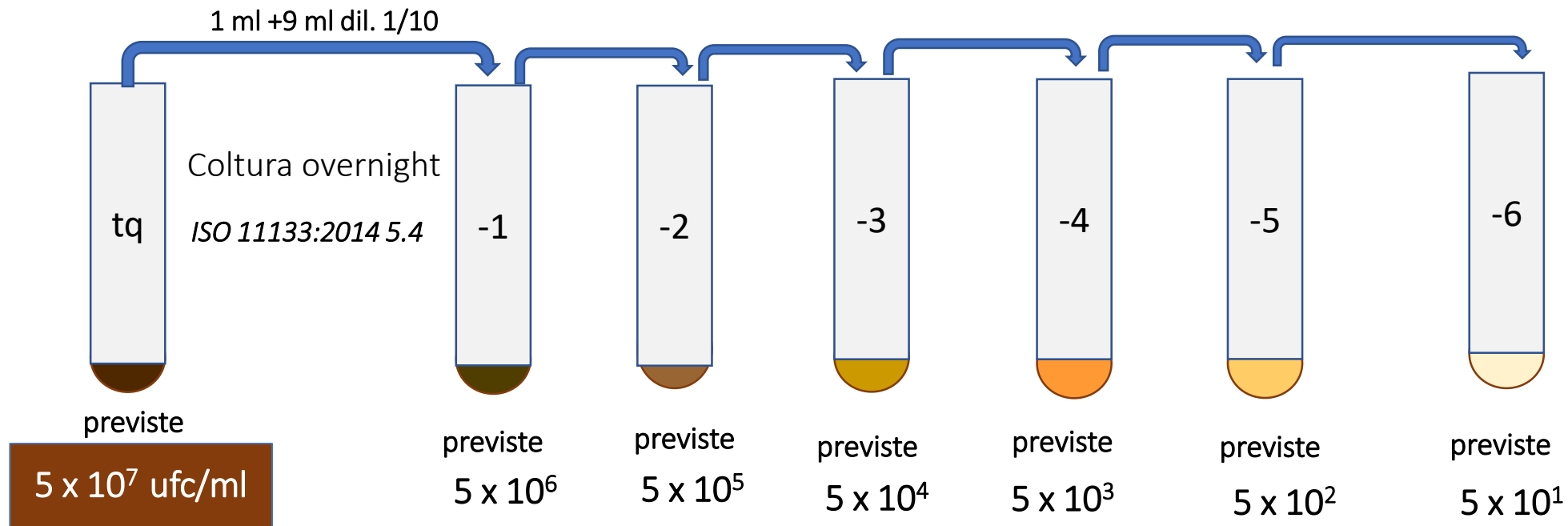


D.2 Determinazione dell' errore sistematico stimato

da 16140-3:2016 figura D4

D2.2 verifica e figura D4

Ripetizione della coltura **overnight fresca 16-24h**



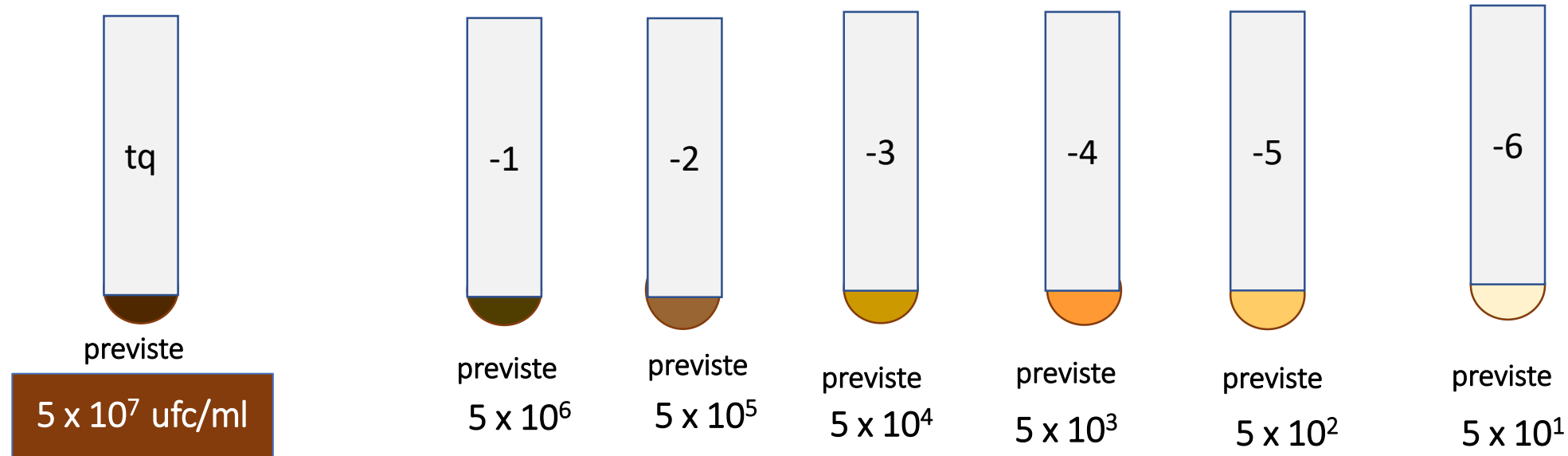
Livelli di concentrazione del M-O- target supposti in base al conteggio preliminare

D.2 Determinazione dell' errore sistematico stimato

da 16140-3:2016 figura D4

D2.2 verifica e figura D4

Calcolo delle sospensioni adatte a determinare il livello di contaminazione deciso



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

Tre livelli contaminazione da ottenere sulle matrici nello studio di verifica

10^6 ufc /g

10^4 ufc /g

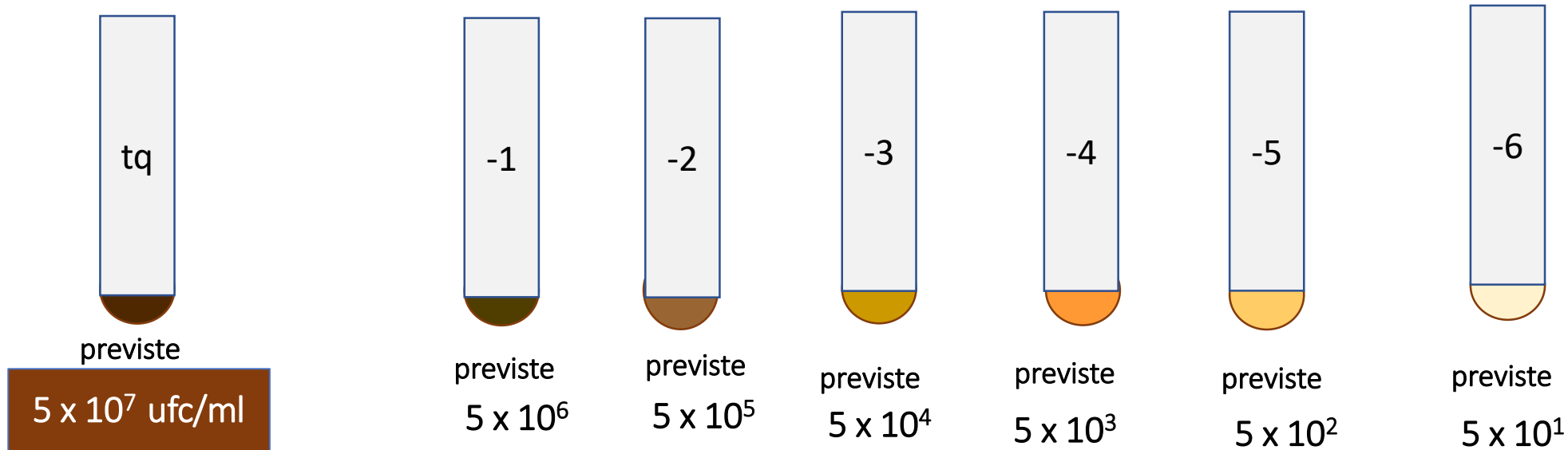
10^2 ufc /g

D.2 Determinazione dell' errore sistematico stimato

da 16140-3:2016 figura D4

D2.2 verifica e figura D4

Calcolo delle sospensioni adatte a determinare il livello di contaminazione deciso



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

Tre livelli contaminazione da ottenere sulle matrici nello studio di verifica

10^6 ufc /g

10^4 ufc /g

10^2 ufc /g

Coltura	ufc/ml	S.I. ml	Por Pr	Dil.	Colt Contam ml	ml	PP g	Titolo batterico totale	Titolo batterico UFC/g di PP	
tq	5 x 10⁷	100	10	89	1	100	10	5 x 10 ⁷	(5 x 10 ⁷) /10	5 x 10⁶
-1	5 x 10 ⁶	100	10	89	1	100	10	5 x 10 ⁶	(5 x 10 ⁶) /10	5 x 10 ⁵
-2	5 x 10⁵	100	10	89	1	100	10	5 x 10 ⁵	(5 x 10 ⁵) /10	5 x 10⁴
-3	5 x 10 ⁴	100	10	89	1	100	10	5 x 10 ⁴	(5 x 10 ⁴) /10	5 x 10 ³
-4	5 x 10³	100	10	89	1	100	10	5 x 10 ³	(5 x 10 ³) /10	5 x 10²
-5	5 x 10 ²	100	10	89	1	100	10	5 x 10 ²	(5 x 10 ²) /10	5 x 10 ¹
-6	5 x 10 ¹	100	10	89	1	100	10	5 x 10 ¹	(5 x 10 ¹) /10	5 x 10 ⁰
-7	5 x 10 ⁰	100	10	89	1	100	10	5 x 10 ⁰	(5 x 10 ⁰) /10	5 x 10 ⁶

D.2 Determinazione dell' errore sistematico stimato

D2.2 verifica e figura D4

Calcolo delle sospensioni adatte a determinare il livello di contaminazione da ottenere

10^6 ufc /g

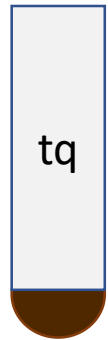
10^4 ufc /g

10^2 ufc /g

Livello di contaminazione da ottenere	grammi di PP in S.I. 1:10	Sospensione batterica da aggiungere	Diluizione della Sospensione da aggiungere (diluizione)	Titolo batterico ottenuto UFC/g di PP	
				in 10 g	In 1 g
5×10^6 /g	10	5×10^7 /g	tq	$(5 \times 10^7) / 10 \text{ g}$	5×10^6 /g
5×10^4 /g	10	5×10^5 /g	-2	$(5 \times 10^5) / 10 \text{ g}$	5×10^4 /g
5×10^2 /g	10	5×10^3 /g	-4	$(5 \times 10^3) / 10 \text{ g}$	5×10^2 /g

D2.1 Determinazione errore sistematico intralaboratorio (SIR)

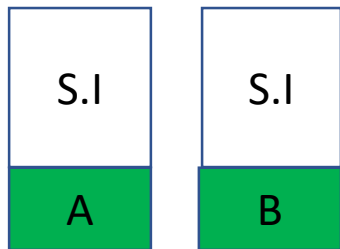
Esempio di inoculazione delle porzioni di prova



Nuova Coltura overnight

previste 5×10^7 ufc/ml

1 ml
(50.000.000)



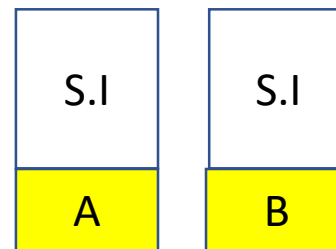
previste 5×10^6 ufc/g

n. Reg 1234



previste 5×10^5 ufc/ml

1 ml (5.000.000)



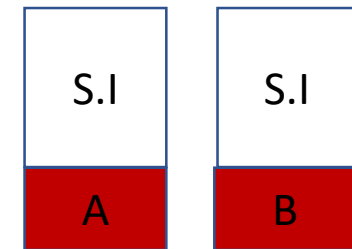
100 ml

previste 5×10^4 ufc/g

n. Reg 456



previste 5×10^3 ufc/ml

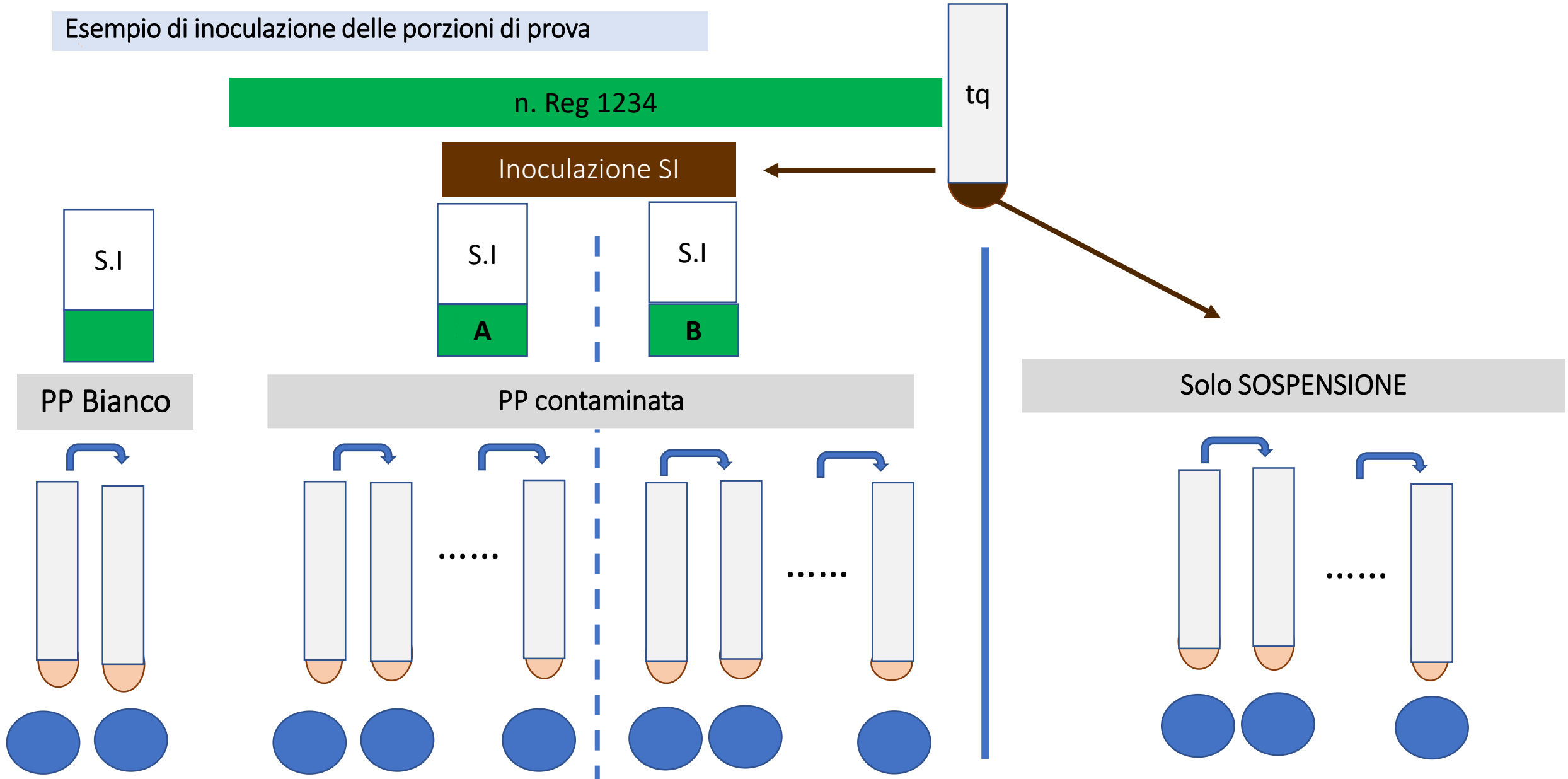


previste 5×10^2 ufc/g

n. Reg 678

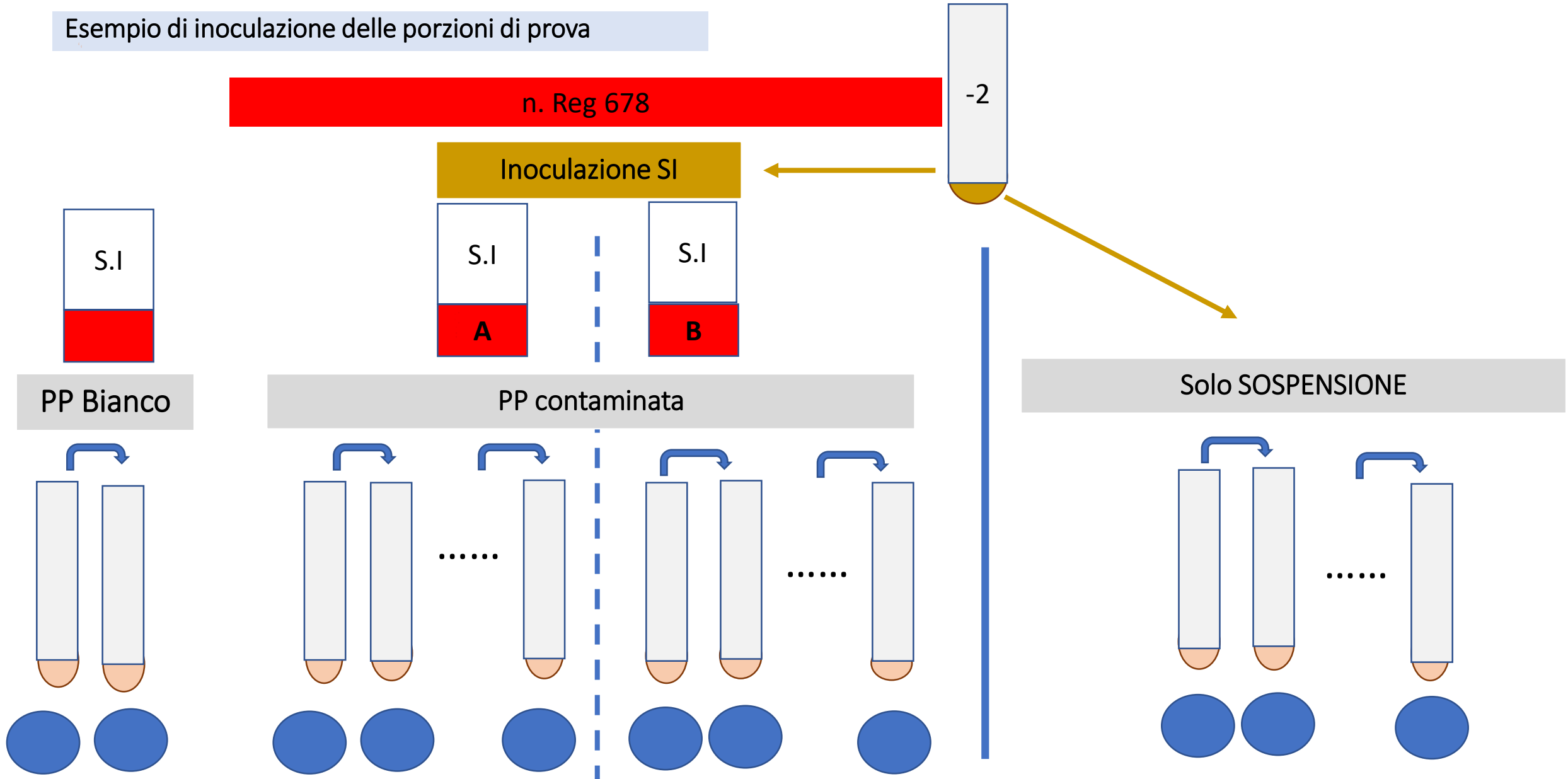
D2.1 Determinazione errore sistematica intralaboratorio

Esempio di inoculazione delle porzioni di prova



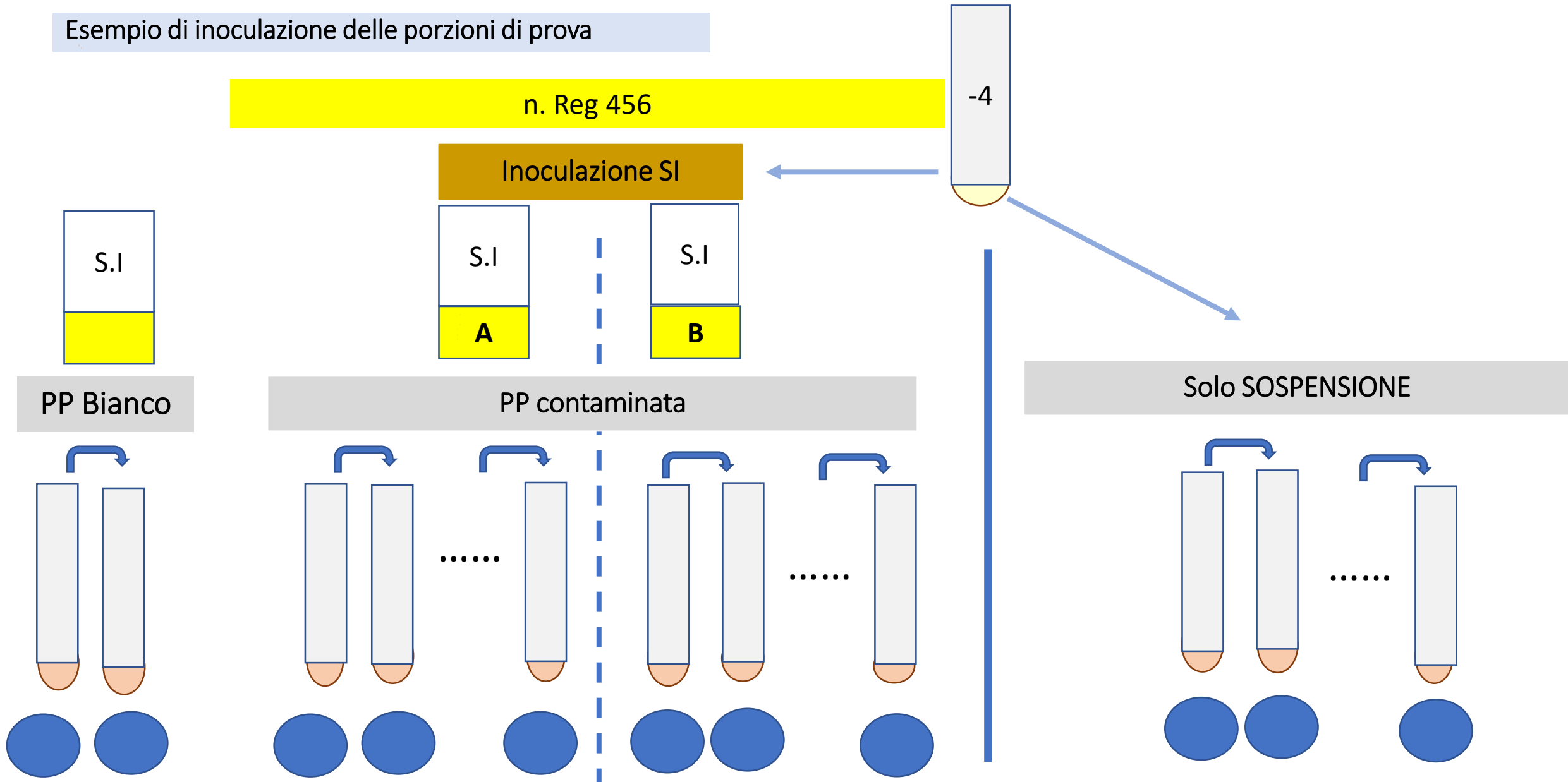
D2.1 Determinazione errore sistematica intralaboratorio

Esempio di inoculazione delle porzioni di prova



D2.1 Determinazione errore sistematica intralaboratorio

Esempio di inoculazione delle porzioni di prova



6.2.5 valutazione dei risultati

fonte 16140-3:2016 6.2.6 prospetto 13

	Risultati Porzione di Prova	MEDIA dei risultati per Campione	Risultati Sospensione dell'inoculo	Errore Sistemático Stimato
	\log_{10} ufc/g o ml	\log_{10} ufc/PP (*)	\log_{10} ufc/ml	
Camp LAB 1 PP1	1,87	2,06	3,17	0,11 < 0,5 \log_{10}
Camp LAB 1 PP2	2,25			
Camp LAB 2 PP1	3,16	3,11	4,05	0,06 < 0,5 \log_{10}
Camp LAB 2 PP2	3,06			
Camp LAB 3 PP1	3,93	3,99	5,29	0,30 < 0,5 \log_{10}
Camp LAB 3 PP2	4,04			

Differenza assoluta tra media dei risultati dei campioni e risultati della sospensione dell'inoculo $\leq 0,5 \log_{10}$

(*) Utilizzo di PP 10 g inoculata con 1 ml di inoculo