L'accreditamento dei laboratori per la sicurezza alimentare

1^ edizione 2005 25 - 26 ottobre ISS SINAL SIT

Valutazione dell'incertezza di misura in ambito microbiologico

Angela Maiello

DOCUMENTI di RIFERIMENTO

- UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2000 Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura
- UNI CEI ENV 13005:2000 Guida all'espressione dell'incertezza di misura
- MIKES Centre for metrology and accreditation, Publication J4/2003, Uncertainty of quantitative determinations derived by cultivation of microorganisms, Seppo I. Niemela
- ISO 7218:1996/Amd. 1:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs General rules for microbiological examination
- UNI ENV ISO 13843:2003 Qualità dell'acqua Guida per la validazione di metodi microbiologici

CALCOLO DEL CONTEGGIO (formula della ISO 7218)

$$N = \frac{\sum C}{V(n_1 + 0, 1n_2)d}$$

Si riportano di seguito i dati ottenuti da esercitazioni preliminari al Corso di formazione sull'incertezza di misura ai fini della valutazione del grado di accordo tra i laboratori partecipanti, nel calcolo ed espressione del risultato (dati forniti: serie di conte a 2 diluizioni consecutive)

DATI CONTE

(test di valutazione preliminare al Corso Incertezza)

Prima dilui	zione (10 ⁻³)	Seconda diluizione (10-4)		
Piastra 1 n. colonie	Piastra 2 n. colonie	Piastra 1 n. colonie	Piastra 2 n. colonie	
250	-	25	-	
230	-	40	-	
260	-	15	-	
220	-	50	-	
200	250	50	40	
260	240	28	22	

RISULTATI

Partecipante	Conteggio 1	Conteggio 2	Conteggio 3	Conteggio 4	Conteggio 5	Conteggio 6	ERRORI
A	2,5 x 10 ⁵	ОК					
В	2,5 x 10 ⁵	$3,15 \times 10^5$	2,05 x 10 ⁵	3,6 x 10 ⁵	3,37 x 10 ⁵	2,5 x 10 ⁵	calcolo arrotond.
С	275 x 10 ⁻³	270 x 10 ⁻³	275 x 10 ⁻³	270 x 10 ⁻³	270 x 10 ⁻³	275 x 10 ⁻³	calcolo arrotond
D	$2,5 \times 10^6$	2,4 x 10 ⁶	$2,5 \times 10^6$	2,4 x 10 ⁶	$2,5 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$	esponente arrotond.
Е	$2,5 \times 10^6$	$2,4 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$	$2,4 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$	esponente arrotond.
F	250.000	245.000	250.000	245.000	245.000	245.000	arrotond.
G	250.000	245.000	250.000	250.000	250.000	250.000	arrotond.
Н	250.000	250.000	250.000	250.000	250.000	250.000	OK
I	250.000	320.000	200.000	140.000	320.000	250.000	calcolo
L	2,5 x 10 ⁵	OK					
M	2,5 e+5	2,45 e+5	2,5 e+5	2,45 e+5	2,45 e+5	2,5 e+5	arrotond.
N	250 x 10 ³	245×10^3	274×10^3	245×10^3	245.000	250×10^3	calcolo arrotond.
О	2,5 x 10 ⁵	$2,5 \times 10^6$	2,5 x 10 ⁶	$2,5 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$	esponente
P	250.000	315.000	205.000	360.000	337.500	250.000	calcolo arrotond.
Q	250.000	315.000	205.000	360.000	337.500	250.000	calcolo arrotond.

DISTRIBUZIONE DEI DATI

- VALORE CORRETTO: 250.000
- VALORI NON CONFORMI: 68%

- MINIMO: 140.000
- MASSIMO: 2.500.000 (360.000)

UNI CEI ENV 13005:2000

Guida all'espressione dell'incertezza di misura

Fornisce le regole generali per la valutazione e l'espressione dell'incertezza nella misurazione

Non fornisce istruzioni dettagliate o finalizzate ad un'unica tecnologia.

Necessità di norme basate sulla Guida e dedicate a problemi di settori specifici della misurazione

Relazioni con laboratori di chimica

- Gap in relazione all'approccio metrologico tra i laboratori di chimica e quelli di microbiologia

- Tendenza dei tecnici di microbiologia a trasferire nel proprio ambito esperienze e applicazioni adottate dai laboratori chimici

Problemi di applicabilità delle metodologie chimiche

In chimica: i dati di misura sono variabili casuali continue che seguono il modello di distribuzione di probabilità normale

In microbiologia: si opera su variabili casuali discrete (dati di conteggio) che seguono prevalentemente il modello di distribuzione di probabilità di Poisson

TENDENZA DIFFUSA

BASARE LA STIMA DELL'INCERTEZZA DI MISURA SU DATI DI RIPETIBILITÀ E RIPRODUCIBILITÀ

Problemi per le prove microbiologiche

(indipendenti dall'operatore)

- instabilità della matrice (alimento / acqua)
- variabilità dei sottocampioni (tra essi prima che nella prova)
- distribuzione dei microrganismi ($\sigma^2 \cong \mu$)

Valutazione delle incertezze di Categoria A

Per una stima attendibile di tale incertezza è opportuno disporre di un elevato numero di risultati paralleli

Procedimento meno adeguato in microbiologia rispetto alle prove di chimica a causa dell'instabilità dei campioni.

Miglior approccio in microbiologia: stimare le singole componenti dell'incertezza → incertezza tipo composta

MICROBIOLOGIA PRINCIPALI COMPONENTI DELL'INCERTEZZA

- Distribuzione casuale delle cellule microbiche
- Volume di inoculo
- Diluizioni
- Lettura del risultato

Stima delle componenti di incertezza

Per comprendere come arrivare a "costituire" la incertezza composta è necessario scrivere in dettaglio quali misurazioni vanno a caratterizzare il risultato finale.

Alcune componenti saranno date da misurazione di volumi, altre da conte



Approccio per Singole Componenti Valutazioni preliminari

Calcolo sperimentale della ripetibilità di dosaggio delle pipette (scarto tipo del volume di inoculo)

Calcolo sperimentale della ripetibilità di dosaggio del diluente (scarto tipo del volume di diluente)

Calcolo sperimentale della ripetibilità di conteggio degli operatori (incertezza di lettura delle piastre)

CALCOLO DELLO SCARTO TIPO DEL VOLUME DI INOCULO

	Media laboratorio	Scarto tipo laboratorio	Incertezza tipo relativa	CV	n. valori
	1,00	0,0216	0,0217	2,17%	40
ANALISTA					
0	1,00	0,0246	0,0245	2,45%	20
0	1,00	0,0185	0,0185	1,85%	20
0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	0
0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	0
0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	0
0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	0
0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	0
0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	0

	Ripetizione 1	Ripetizione 2	Ripetizione 3	Ripetizione 4	Scarto tipo
Pipetta 1	1,00	1,04	1,01	0,98	0,0250
Pipetta 2	0,99	1,00	0,97	0,98	0,0129
Pipetta 3	1,00	1,01	1,04	1,03	0,0183
Pipetta 4	0,99	0,98	0,98	0,96	0,0126
Pipetta 5	1,00	1,05	1,02	1,00	0,0236

DATA	00/01/1900	
Analista	0	
	Media	Scarto tipo
	1,00	0,0246
Incertezza tip	Incertezza tipo relativa	
	0,0245	2,45%

	Ripetizione 1	Ripetizione 2	Ripetizione 3	Ripetizione 4	Scarto tipo
Pipetta 1	1,00	0,99	0,98	0,99	0,0082
Pipetta 2	1,00	0,99	0,98	1,00	0,0096
Pipetta 3	1,04	0,98	0,99	0,99	0,0271
Pipetta 4	1,03	1,00	1,00	0,98	0,0206
Pipetta 5	1,02	0,99	1,01	0,96	0,0265

DATA	00/01/1900	
Analista	0	
	Media	Scarto tipo
	1,00	0,0185
Incertezza tipo relativa		CV
	0,0185	1,85%

CALCOLO DELLO SCARTO TIPO DEL VOLUME DEL DILUENTE

TABELLA	N. 1				DATA	00/01/1900
ANALISTA	0	Autoclave	0		Bilancia cod.	0
-	TEMPERATURA INIZIO CICLO:	0	ORA INIZIO CICLO:	0.00		
	TEMPERATURA FINE CICLO:	0	ORA FINE CICLO:	0.00		

0 ml TEMPERATURA LETTURA: Impostazione dosatore

		Provetta con		Provetta con diluente		Calo %	Differenza % volume	
N.	Provetta vuota	diluente	Peso netto diluente	dopo sterilizzazione in	Peso netto diluente	causato dalla	rispetto ai ml richiesti	Giudizio
	con tappo	prima della	PRE-sterilizzazione	autoclave	POST-sterilizzazione	sterilizzazione	(Tolleranza +/-2%)	
		sterilizzazione					,	
1	16,95	26,01	9,06	25,84	8,89	1,9	-1,22	OK
2	16,93	26,09	9,16	26,05	9,12	0,4	1,33	OK
3		28,87	9,15	28,63	8,91	2,6	-1,00	OK
4	20,18	29,34	9,16	29,12	8,94	2,4	-0,67	OK
5	18,49	27,64	9,15	27,42	8,93	2,4	-0,78	OK
6	24,82	33,99	9,17	33,74	8,92	2,7	-0,89	OK
7	18,93	28,09	9,16	27,80	8,87	3,2	-1,44	OK
8	18,19	27,36	9,17	27,13	8,94	2,5	-0,67	OK
9	20,02	29,19	9,17	28,95	8,93	2,6	-0,78	OK
10	23,90	33,08	9,18	32,95	9,05	1,4	0,56	OK
11	19,74	28,91	9,17	28,67	8,93	2,6	-0,78	OK
12	20,21	29,33	9,12	29,17	8,96	1,8	-0,44	OK
13		28,35	9,20	28,13	8,98	2,4	-0,22	OK
14	19,54	28,74	9,20	28,54	9,00	2,2	0,00	OK
15	17,14	26,24	9,10	26,08	8,94	1,8	-0,67	OK
16	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	28,01	9,15	27,75	8,89	2,8	-1,22	OK
17	18,51	27,64	9,13	27,41	8,90	2,5	-1,11	OK
18	,	29,62	9,13	29,48	8,99	1,5	-0,11	OK
19		33,48	9,16	33,33	9,01	1,6	0,11	OK
20		25,89	9,17	25,70	8,98	2,1	-0.22	OK
21	16,69	25,88	9,19	25,73	9,04	1,6	0,44	OK
22	20,05	29,23	9,18	29,07	9,02	1,7	0,22	OK
23	,	26,42	9,25	26,17	9,00	2,7	0,00	OK
24		26,92	9,19	26,73	9,00	2,1	0,00	OK
25		29,64	9,28	29,37	9,01	2,9	0,11	OK
26		33,54	9,25	33,30	9,01	2,6	0,11	OK
27		29,10	9,19	28,99	9,08	1,2	0,89	OK
28	- , -	25,64	9,27	25,36	8,99	3,0	-0,11	OK
29		28,57	9,22	28,38	9,03	2,1	0,33	OK
30		29,10	9,22	29,05	9,17	0,5	1,89	OK
	,	MEDIA	9,18	MEDIA	8,98	2,13	-0,21	OK
		SCARTO TIPO	0,05	SCARTO TIPO	0,0691	0,68	-,	
		C.V.	0,52	C.V.	0,77	31,69	1	

CALCOLO DELLE COMPONENTI D'INCERTEZZA

Incertezza dovuta alla Distribuzione di Poisson Incertezza di lettura delle piastre



Incertezza del conteggio

dovuta alla distribuzione di Poisson

Conta di colonie da una singola capsula Petri

$$\left[\left[u \left(z \right) / z \right]^2 = \frac{1}{z}$$

Conta di colonie da più capsule Petri

$$[u(Z)/Z]^2 = \frac{1}{\sum z_i} = \frac{1}{Z}$$

Incertezza di conteggio

dovuta alla lettura delle capsule

Incertezza media di conteggio di capsule in singolo

- >Rilettura in ordine casuale delle capsule
- ► Breve lasso di tempo tra le due letture
- > Almeno una trentina di capsule

Incertezza di conteggio nei risultati MPN

Distinzione tubi positivi e negativi.
Problema trascurabile. Mancanza di dati di letteratura

Incertezza di lettura delle piastre

INCERTEZZA DILETTURA ANALISTA

Calcolo mediante la trasformazione delle conte in logaritmi naturali

N. PIASTRA

١	CONTA 1	CONTA 2	$(\ln_{contal} - \ln_{contal})^2$
1	3 4 3	337	0,00040
2	4 0	3 9	0,00090
3	5 7	6 2	0,00810
4	399	397	0,00010
5	112	130	0,02250
6	3 4 9	325	0,00640
7	8 5	8 4	0,00010
8	129	122	0,00360
9	16	17	0,00360
1 0	27	27	0,0000,
1 1	n . d .	n.d.	n.d.
1 2	n .d .	n.d.	n.d.
1 3	n . d .	n.d.	n.d.
1 4	n . d .	n.d.	n.d.
1 5	n.d.	n.d.	n.d.
1 6	n.d.	n.d.	n.d.
1 7	n . d .	n.d.	n.d.
1 8	n . d .	n.d.	n.d.
1 9	n . d .	n.d.	n.d.
2 0	n . d .	n.d.	n.d.
2 1	n.d.	n.d.	n.d.
2 2	n.d.	n.d.	n.d.
2 3	n . d .	n.d.	n.d.
2 4	n . d .	n.d.	n.d.
2 5	n . d .	n.d.	n.d.
2 6	n . d .	n.d.	n.d.
2 7	n.d.	n.d.	n.d.
2 8	n.d.	n.d.	n.d.
2 9	n.d.	n.d.	n.d.
3 0	n.d.	n.d.	n.d.
	•	TOTALE	0,0457

Varianza relativa di lettura dell'analista

Incertezza tipo relativa di lettura dell'analista

0,0023

Incertezza di lettura delle capsule

- Caso di capsule *in singolo* sottoposte ad una seconda lettura dopo un breve intervallo di tempo

Calcolo della varianza relativa

Primo metodo (valori trasformati in ln)

$$\left[u\left(\frac{1}{lett}\right)/lett\right]^{2} = \frac{\sum_{1}^{n} \left(\ln z_{1} - \ln z_{2}\right)^{2}}{2 \cdot n}$$

Incertezza di lettura delle capsule

- Caso di capsule *multiple* sottoposte ad una seconda lettura dopo un breve intervallo di tempo

Calcolo della varianza relativa

$$[u(L)/L]^{2} = \frac{\sum_{1}^{n} (\ln z_{1} - \ln z_{2})^{2}}{2 \cdot n} \cdot \frac{\sum_{1}^{n} z_{i}^{2}}{(\sum_{1}^{n} z_{i})^{2}}$$

Incertezza di lettura delle capsule

da parte del laboratorio

- Caso di *p* capsule sottoposte alla lettura indipendente da parte di più tecnici

Calcolo della varianza relativa

$$\left[u\left(lett.\right)/lett.\right]^{2} = \frac{\sum_{p=1}^{n} \left(\frac{S(x_{i})}{x_{i}}\right)^{2}}{n}$$

 x_i = conteggio della capsula p da parte dell'i-esimo operatore

CALCOLO DELLE COMPONENTI D'INCERTEZZA

Incertezza dovuta al dosaggio degli inoculi



Incertezza del volume totale inoculato

(con diluizioni)

Incertezza relativa del volume totale inoculato

$$u(V)/V = \frac{\sqrt{u^2(V)}}{V}$$

Varianza del volume totale inoculato

$$u^{2}(V) = n \cdot u^{2}(inoc) + \left(\frac{1}{f}\right)^{2} \cdot \left\{ n \cdot \left[u(inoc)/inoc \right]^{2} + k \cdot \left[u(f)/f \right]^{2} \right\}$$

CALCOLO DELLE COMPONENTI D'INCERTEZZA

Incertezza dovuta al fattore di diluizione



Varianza relativa del Fattore di diluizione totale (k step)

Caso di fattori di diluizione costanti

$$\left[u\left(F\right)/F\right]^{2} = k \cdot \left[u\left(f\right)/f\right]^{2}$$

 $k = n^{\circ}$ di step di diluizione

Caso di fattori di diluizione diversi nei singoli step

$$[u(F)/F]^2 = [u(f_1)/f_1]^2 + [u(f_2)/f_2]^2 + [u(f_3)/f_3]^2 + \cdots$$

CALCOLO DELLE COMPONENTI D'INCERTEZZA

Eventuale Incertezza di conferma delle colonie



Prove di conferma

Applicazione di un coefficiente di conferma al numero di colonie presunte positive



$$x = \frac{k}{n}z$$

$$\hat{p} = \frac{k}{n}$$

k = numero di colonie confermate

n = numero di colonie presunte positive sottoposte a conferma

z = numero di colonie presunte positive

Varianza relativa del coefficiente di conferma

$$[u(\hat{p})/\hat{p}]^2 = \frac{n-k}{kn}$$

k = colonie confermate

n = colonie presunte positive, sottoposte a conferma

Varianza relativa della distribuzione di Poisson

(caso della conta confermata)

$$[u(x)/x]^2 = \frac{1}{z} + \frac{1}{k} - \frac{1}{n}$$

Conferma generale in un sistema di rivelazione multiplo

La somma delle conte confermate è espressa dalla relazione

$$X = \sum x_i = \hat{p}_1 z_1 + \hat{p}_2 z_2 + \mathbf{K}$$

 x_i = numero conte confermate

 z_1 = numero delle colonie presunte positive, della prima capsula

 z_2 = numero delle colonie presunte positive, della seconda capsula

Varianza relativa della somma delle conte confermate

$$[u(X)/X]^{2} = \frac{1}{\sum z_{i}} + \frac{1}{\sum k_{i}} - \frac{1}{\sum n_{i}}$$

che può anche essere scritto come

$$[u(X)/X]^2 = \frac{1}{Z} + \frac{1}{K} - \frac{1}{N}$$

Z = somma delle colonie presunte positive

K =somma delle colonie confermate

N = somma delle colonie presunte positive sottoposte a conferma

Angela Maiello, Dino Spo



Componenti dell'incertezza

Componenti incertezza	Quando contribuiscono all'incertezza?
Distribuzione di Poisson $u(Z)/Z$	Comune a tutti i conteggi (di facile calcolo, è inversamente proporzionale al numero di colonie contate)
Volume totale inoculato $u(V)/V$	Comune a tutti i conteggi è legata alla ripetibilità di dosaggio degli inoculi. E' richiesta una valutazione sperimentale della ripetibilità del dosaggio con le pipette.
Fattore di diluizione $u(F)/F$	In presenza di diluizioni (è legata alla numerosità delle diluizioni allestite e alla ripetibilità di dosaggio dei volumi del diluente) E' richiesta una valutazione sperimentale della ripetibilità del dosaggio del diluente.
Lettura piastre $u(L)/L$	Comune a tutti i conteggi, richiede una preliminare valutazione della ripetibilità dei conteggi da parte degli operatori.
Conferma colonie $u(p)/p$	Solo se richiesta la conferma delle colonie. In tale caso comprende e quindi sostituisce $u(Z)/Z$ (distribuzione di Poisson)

Rapporto di calcolo

delle componenti dell'incertezza

Incertezza relativa del risultato della prova

Prove che non prevedono la conferma

$$u(y)/y = \sqrt{[u(Z)/Z]^2 + [u(V)/V]^2 + [u(F)/F]^2 + [u(L)/L]^2}$$

RISULTATO FINALE

Contenuto microbico del campione (risultato) _____N____

Incertezza relativa u(y)/y =

$$u(y)/y =$$

Incertezza di misura = N * Incertezza relativa



Metodo semplificato

Basato sul calcolo del parametro G²

Metodo che non richiede il calcolo delle singole componenti di incertezza, ma che tiene conto delle componenti date da

- distribuzione di Poisson
- incertezza dei volumi di inoculo
- incertezza di lettura delle piastre

$$G_{n-1}^{2} = 2 \cdot \left[\sum_{i=1}^{n} z_{i} \cdot ln \left(\frac{z_{i}}{V_{i}} \right) - Z \cdot ln \left(\frac{Z}{V} \right) \right]$$





Metodo semplificato

$$u(y)/y = \sqrt{\left[u(x)/x\right]^2 + \left[u(F)/F\right]^2}$$

In cui

$$\left[u\left(\begin{array}{c} - \\ x \end{array}\right) / \frac{-}{x}\right]^{2} = \frac{G^{2}_{n-1}}{n-1} \cdot \frac{1}{Z}$$

Il metodo semplificato permette di valutare l'incertezza relativa che include tutte le componenti casuali che influenzano le conte in un sistema rivelatore multiplo



Confronto tra metodi di calcolo

Tabella 8c – Confronto degli intervalli dell'incertezza ottenuti applicando i diversi approcci di calcolo

Risultato 2,5 x 10 ⁷ UFC	Incertezza tipo composta	Incertezza estesa (k = 2)	Limite inferiore	Limite superiore
Metodo metrologico	0,17 x 10 ⁷	± 0,34 x 10 ⁷	2,2 x 10 ⁷	2,8 x 10 ⁷
Metodo semplificato	0,16 x 10 ⁷	± 0,32 x 10 ⁷	2,2 x 10 ⁷	2,8 x 10 ⁷
ISO 7218	/	/	$2,3 \times 10^7$	2.7×10^7

L'intervallo di fiducia calcolato risulta confrontabile

Diverse combinazioni di conta di colonie Medesimo conteggio microbico per unità di campione

Diluizioni				Risultato	G_{n-1}^{2}	Incertezza	Limite	Limite
10 ⁵	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁶	(UFC)	$\overline{n-1}$	estesa U	inferiore	superiore
249	248	23	24	2,5 x 10 ⁷	0,05	± 510.000	2,4×10 ⁷	2,6x10 ⁷
240	244	33	27	2,5×10 ⁷	0,99	±2100.000	2,3×10 ⁷	2,7x10 ⁷
204	280	28	83	2,5×10 ⁷	4,86	±4.700.000	2,0 x 10 ⁷	3,0x10 ⁷
184	300	22	38	2,5 x 10 ⁷	11,57	±7.300.000	1,8 x 10 ⁷	3,2×10 ⁷

Mediante calcolo secondo ISO 7218 nei diversi casi si sarebbe ottenuto lo stesso intervallo di fiducia

Efficacia del metodo semplificato

• Il metodo semplificato di calcolo dell'incertezza a differenza della ISO 7218, esprime valori di incertezza con ampiezza che è funzione della qualità della prestazione analitica che ha prodotto il risultato

Applicazione di calcolo ad un metodo normato

Carica microbica mesofila in la (su mezzo di coltura Plate		Diluizio	ne 10 ⁻⁵	Diluizione	e 10 ⁻⁶	
Conta colonie per piastra		224	260	25	35	
CALCOLO DELLE COMPONEN	VTI DI INCERTEZZA	Incertezza tipo relativa <i>u</i>		Peso %		
1. Fattore di diluizione		0,022	2	18,8 %)	
2. Volume totale inoculato		0,00	0,005		4,3 %	
3. Distribuzione di Poisson delle	e cellule microbiche	0,042	9	36,6 %		
4. Ripetibilità di lettura delle cap	osule	0,047	2	40,3 %		
INCERTEZZA TIPO RELATIVA	COMPOSTA (u(y)/y)	0,067	0,0676			
		Incertez compo della mis	osta	Incertez estesa		
Risultato della prova	2,5 x 10 ⁷	0,17 x	10 ⁷	± 0,34 x	107	

MODULO PER L'INSERIMENTO DEI DATI ANALITICI

Analista	Codice prova	Codice campione	Prima diluizione utile	1ª diluizione Piastra 1	1 ^a diluizione Piastra 2	2ª diluizione Piastra 1	2ª diluizione Piastra 2	Conferma colonie P = piastra C = campione	UFC/g-ml	Limite inferiore UFC/g-ml ISO 7218	Limite superiore UFC/g-ml ISO 7218
Elisa	27	2586	2	17	10	2	2	-	1,4E+03	1,0E+03	2,0E+03
Elisa	90	2581/1	3	104				-	1,0E+05	8,6E+04	1,3E+05
Elisa	90	2581/3	3	19				-	1,9E+04	1,2E+04	2,9E+04
Elisa	139	2564	3	73	72	7		-	7,2E+04	6,2E+04	8,5E+04
Elisa	139	2565	2	150	121	6	5	Р	1,1E+04	9,7E+03	1,3E+04
Elisa	139	2566	2	236	242	20	27	-	2,4E+04	2,2E+04	2,6E+04
Elisa	27	2653/1	1	20		1	1	-	1,8E+02	1,2E+02	2,8E+02
Elisa	27	2653/3	1	30		1	6	-	3,1E+02	2,3E+02	4,2E+02
Elisa	27	2653/4	1	38		2	6	-	3,8E+02	2,9E+02	5,1E+02
Elisa	90	2653/2	1	108		12		-	1,1E+03	9,1E+02	1,3E+03
Elisa	90	2653/3	1	30		3		-	3,0E+02	2,2E+02	4,2E+02
Elisa	90	2653/6	2	21				-	2,1E+03	1,4E+03	3,2E+03
Elisa	85	2653/1	1	20		2		-	2,0E+02	1,3E+02	3,0E+02
Elisa	85	2653/2	1	31		0		-	2,8E+02	2,0E+02	4,0E+02
Elisa	139	2639	2	106	111	17	8	-	1,1E+04	9,7E+03	1,2E+04
Elisa	139	2640	2	146	131	12	15	-	1,4E+04	1,2E+04	1,5E+04
Elisa	139	2641	2	62	52	6	5	-	5,7E+03	4,8E+03	6,8E+03
Elisa	27	2654/1	2	127	143	20	7	-	1,4E+04	1,2E+04	1,5E+04
Elisa	27	2654/2	2	17	13	1	1	-	1,5E+03	1,0E+03	2,0E+03
Elisa	27	2654/5	1	17		1	0	-	1,5E+02	9,7E+01	2,4E+02
Elisa	90	2654/1	3	58		10		-	6,2E+04	4,9E+04	7,8E+04
Elisa	90	2654/2	1	29		3		-	2,9E+02	2,1E+02	4,1E+02
Elisa	90	2654/5	2	96		9		-	9,5E+03	7,9E+03	1,2E+04
Elisa	93	1	7	71	60	9	14	-	7,0E+08	6,0E+08	8,2E+08
Elisa	93	2	7	33	38	4	3	-	3,5E+08	2,8E+08	4,4E+08
Elisa	93	3	7	60	47	6	3	-	5,3E+08	4,4E+08	6,3E+08
Elisa	93	4	7	86	81	11	13	-	8,7E+08	7,5E+08	1,0E+09
Elisa	93	5	6	200	250	30	16	-	2,3E+08	2,1E+08	2,5E+08
Elisa	65	1	6	68	69	12	5	-	7,0E+07	6,0E+07	8,2E+07
Elisa	65	2	7	40	55	4	4	-	4,7E+08	3,9E+08	5,7E+08

Calc	olo de	ll'indice >	(²	Calcolo dell'indice del logaritmo del rapporto di verosimiglianza G ²									
	-	ione di Pois CONTE IN D		OMOGENEITA' CONTE				Valutazione di proporzionalità generale ACCETTABILITA' CONTE					
X ² della 1 ^a diluizione	Giudizio	X ² della 2 ^a diluizione	Giudizio	G ²	Giudizio omogeneità	G²/(n-1)	Giudizio variabilità	Omogeneità 1ª diluizione	Giudizio 1ª dil	Omogeneità 2ª diluizione	Giudizio 2ª dil	Proporzionalità Tra diluizioni	Giudizio Tra diluizioni
1,815	OK	0,000	OK	2,32	OK	0,77	OK	1,84	OK	0,00	OK	0,49	OK
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	NC	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		n.d.	NC	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
0,007	OK	n.d.	n.d.	0,02	OK	0,01	OK	0,01	OK	n.d.	n.d.	0,01	OK
6,224	Critico	0,091	OK	13,73	NC	4,58	Critico	6,25	Critico	0,09	OK	7,39	NC
0,075	OK	1,043	OK	1,13	OK	0,38	OK	0,08	OK	1,05	OK	0,01	OK
n.d.	n.d.	0,000	OK	1,06	OK	0,53	OK	n.d.	n.d.	0,00	OK	1,06	OK
n.d.	n.d.	3,571	OK	4,09	OK	2,05	Critico	n.d.	n.d.	3,96	Criti∞	0,13	OK
n.d.	n.d.	2,000	OK	2,11	OK	1,06	Critico	n.d.	n.d.	2,09	OK	0,02	OK
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,12	OK	0,12	OK	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,12	OK
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,00	OK	0,00	OK	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,00	OK
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,00	OK	0,00	OK	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,00	OK
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	#DIV/0!	#DIV/0!
0,115	OK	3,240	OK	3,86	OK	1,29	Critico	0,12	OK	3,31	OK	0,43	OK
0,812	OK	0,333	OK	1,16	OK	0,39	OK	0,81	OK	0,33	OK	0,02	OK
0,877	OK	0,091	OK	0,98	OK	0,33	OK	0,88	OK	0,09	OK	0,01	OK
0,948	OK	6,259	Critico	7,48	OK	2,49	Critico	0,95	OK	6,53	Criti∞	0,00	OK
0,533	OK	0,000	OK	0,88	OK	0,29	OK	0,53	OK	0,00	OK	0,35	OK
n.d.	n.d.	1,000	OK	0,31	OK	0,31	OK	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,31	OK
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,22	OK	2,22	Critico	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,22	OK
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,00	OK	0,00	OK	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,00	OK
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,03	OK	0,03	OK	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,03	OK
0,924	OK	1,087	OK	7,45	OK	2,48	Critico	0,92	OK	1,10	OK	5,43	Critico
0,352	OK	0,143	OK	0,50	OK	0,17	OK	0,35	OK	0,14	OK	0,00	OK
1,579	OK	1,000	OK	2,86	OK	0,95	OK	1,58	OK	1,02	OK	0,26	OK
0,150	OK	0,167	OK	2,84	OK	0,95	OK	0,15	OK	0,17	OK	2,52	OK
5,556	Critico	4,261	Critico	9,92	Critico	3,31	Critico	5,57	Critico	4,33	Criti∞	0,02	OK
0,007	OK	2,882	OK	3,64	OK	1,21	Critico	0,01	OK	2,97	OK	0,67	OK
2,368	OK	0,000	OK	2,61	OK	0,87	OK	2,38	OK	0,00	OK	0,23	OK

Incertezza ESTESA (secondo Mikes J4/2003) ±	Inc.spec.lettura	Incertezza estesa (metodo semplificato Mikes J4/2003) ±	O m o geneità 1ª diluizione	O m o geneità 2ª diluizione	Proporzionalità Tra diluizioni	Om ogeneità TOTALE
5,3E+02		4,5E+02	OK	ΟK	OK	ОК
2,7E+04		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
9,3E+03		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
1,5E+04		5,3E+03	OK	n.d.	OK	OK
2,7E+03		3,1E+03	Critico	O K	NC	NC
3,4E+03		1,9E+03	OK	O K	OK	OK
8,2E+01		5,7E+01	n.d.	O K	OK	OK
1,1E+02		1,5E+02	n.d.	Critico	OK	OK
1,2E+02		1,2E+02	n.d.	OK	OK	OK
2,5E+02		8,2E+01	n.d.	n.d.	OK	OK
1,1E+02		1,2E+01	n.d.	n.d.	OK	OK
9,8E+02		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
9,0E+01		8,3E+00	n.d.	n.d.	OK	OK
1,1E+02		n.d.	n.d.	n.d.	#DIV/0!	n.d.
1,9E+03		1,7E+03	OK	O K	OK	OK
2,2E+03		1,3E+03	OK	O K	OK	OK
1,2E+03		6,7E+02	OK	OK	OK	OK
2,2E+03		2,6E+03	OK	Critico	OK	OK
5,4E+02		2,9E+02	OK	O K	OK	OK
7,4E+01		4,0E+01	n.d.	n.d.	OK	OK
1,8E+04		2,3E+04	n.d.	n.d.	OK	OK
1,1E+02		1,3E+01	n.d.	n.d.	OK	OK
2,4E+03		6,6E+02	n.d.	n.d.	OK	OK
1,5E+08		1,9E+08	OK	OK	Critico	OK
9,6E+07		5,1E+07	OK	OK	OK	OK
1,3E+08		1,1E+08	OK	OK	OK	OK
1,8E+08		1,5E+08	OK	OK	OK	OK
3,8E+07		4,3E+07	Critico	Critico	OK	Critico
1,5E+07		1,4E+07	OK	OK	OK	OK
1,2E+08		1,0E+08	OK	OK	OK	OK

INCERTEZZA TIPO RELATIVA DELLE SINGOLE COMPONENTI						PESO % DELLE SINGOLE COMPONENTI STIMATE				
Fattore di diluizione	Volumi di inoculo	Distribuzione di Poisson	Lettura piastre	Conferma colonie	Fattore di diluizione %	Volumi inoculo %	Distribuzione di Poisson %	Lettura Piastre %	Conferma colonie %	
0,0292	0,0140	0,1796	0,0465	0,0000	11%	5%	67%	17%	0%	
0,0358	0,0217	0,0981	0,0724	0,0000	16%	10%	43%	32%	0%	
0,0358	0,0217	0,2294	0,0724	0,0000	10%	6%	64%	20%	0%	
0,0358	0,0146	0,0811	0,0489	0,0000	20%	8%	45%	27%	0%	
0,0292	0,0140	0,0000	0,0496	0,1047	15%	7%	0%	25%	53%	
0,0292	0,0140	0,0436	0,0468	0,0000	22%	10%	33%	35%	0%	
0,0207	0,0181	0,2132	0,0660	0,000	7%	6%	67%	21%	0%	
0,0207	0,0181	0,1644	0,0599	0,0000	8%	7%	62%	23%	0%	
0,0207	0,0181	0,1474	0,0606	0,000	8%	7%	60%	25%	0%	
0,0207	0,0198	0,0913	0,0655	0,0000	10%	10%	46%	33%	0%	
0,0207	0,0198	0,1741	0,0661	0,0000	7%	7%	62%	24%	0%	
0,0292	0,0217	0,2182	0,0724	0,0000	9%	6%	64%	21%	0%	
0,0207	0,0198	0,2132	0,0661	0,0000	6%	6%	67%	21%	0%	
0,0207	0,0198	0,1796	0,0724	0,0000	7%	7%	61%	25%	0%	
0,0292	0,0140	0,0643	0,0462	0,0000	19%	9%	42%	30%	0%	
0,0292	0,0140	0,0574	0,0469	0,0000	20%	9%	39%	32%	0%	
0,0292	0,0140	0,0894	0,0471	0,0000	16%	8%	50%	26%	0%	
0,0292	0,0140	0,0580	0,0469	0,0000	20%	9%	39%	32%	0%	
0,0292	0,0140	0,1768	0,0485	0,0000	11%	5%	66%	18%	0%	
0,0207	0,0181	0,2357	0,0685	0,0000	6%	5%	69%	20%	0%	
0,0358	0,0198	0,1213	0,0626	0,0000	15%	8%	51%	26%	0%	
0,0207	0,0198	0,1768	0,0659	0,0000	7%	7%	62%	23%	0%	
0,0292	0,0198	0,0976	0,0665	0,0000	14%	9%	46%	31%	0%	
0,0547	0,0140	0,0806	0,0444	0,0000	28%	7%	42%	23%	0%	
0,0547	0,0140	0,1132	0,0469	0,0000	24%	6%	49%	21%	0%	
0,0547	0,0140	0,0928	0,0477	0,0000	26%	7%	44%	23%	0%	
0,0547	0,0140	0,0724	0,0452	0,0000	29%	8%	39%	24%	0%	
0,0506	0,0140	0,0449	0,0470	0,0000	32%	9%	29%	30%	0%	
0,0506	0,0140	0,0806	0,0459	0,0000	26%	7%	42%	24%	0%	
0,0547	0,0140	0,0985	0,0480	0,0000	25%	6%	46%	22%	0%	

INIZIATIVA / OBIETTIVO FUTURO

- Preparazione di un esercizio / esempio applicativo, in ambito microbiologico, secondo l'approccio GUM (fine novembre 2005)
- Traduzione dell'esercizio e proposta al gruppo di lavoro ISO per la valutazione ai fini dell'inserimento in una prossima revisione della "Guide to the expression of uncertainty in measurement"