

ISO/IEC 17025: validazione, incertezza, assicurazione qualità dei dati

- Scelta dei metodi (preferibilmente normati)
- Metodi interni: definizione dei requisiti (ISO 78/2)
- Validazione dei metodi
- Incertezza di misura - necessaria anche per i laboratori di prova, eventualmente con procedure semplificate.

Scelta dei metodi

Il Laboratorio **deve**, ove possibile, utilizzare metodi e procedure di prova definiti da Norme, Regole Tecniche o Metodi ufficiali in vigore.

Sono accettati i progetti di Norma (ISO FDIS, prEN, prENV, ecc.), solo nella forma sottoposta al voto finale.

ACCREDIA non riconosce come metodi normati articoli pubblicati su riviste o istruzioni dei fornitori delle apparecchiature: in tali casi il laboratorio richiederà l'accreditamento mediante l'emissione di un metodo interno.

Scelta dei metodi (RT-08)

Qualora i metodi non normati siano sviluppati e validati da Laboratori di Riferimento Nazionali o Comunitari accreditati, possono essere utilizzati da altri laboratori senza ulteriore validazione purché:

- tali metodi rientrino nel campo di accreditamento del laboratorio che li ha sviluppati;
- contengano i limiti di ripetibilità e riproducibilità (ripetibilità intermedia);
- siano messi a disposizione dal laboratorio di riferimento, nella versione in vigore, sul proprio sito web, corredati dalla dichiarazione di validazione;
- la dichiarazione di validazione del laboratorio di riferimento sia aggiornata (data di emissione non superiore a 3 anni);
- il laboratorio che li applica abbia verificato di rientrare nel limite di ripetibilità dichiarato.

Scelta dei metodi

KIT: certificati (es. validazione AFNOR, AOAC, NORDVAL) sono accettabili - ove applicabile deve essere anche accreditato il corrispondente metodo normato (alcuni kit sostituiscono solo parte del metodo, per esempio Salmonella Vidas; inoltre se scade la validazione non si possono più usare).

Norme superate o progetti di norma sono accettati se ad essi fanno riferimento la normativa cogente o le norme per la certificazione di prodotto.

Scelta dei metodi...

...adeguati alle necessità del cliente

E' bene sottolineare come le incertezze analitiche debbano essere **compatibili con lo scopo** per cui il dato è prodotto e non necessariamente le più basse tecnicamente raggiungibili in un'ottica di sostenibilità dei costi.

Manuale UNICHIM 197

CEN/TS 15675:2007 - Emissioni da sorgente stazionaria

- Il laboratorio deve usare procedure scritte come specificato in EN 15259.
- I metodi utilizzati devono fare riferimento a normativa primaria (Direttive) o normativa accettata dalla direttiva IPPC.
- Se è indicato un metodo, **non è ammesso** modificarlo o usarne uno sostitutivo.

Contenuto dei metodi interni

- identificazione appropriata;
- scopo;
- descrizione del tipo di oggetto da provare o tarare;
- parametri o grandezze e campi di misura da determinare;
- attrezzature e apparecchiature, compresi i requisiti tecnici di prestazione;
- campioni di riferimento e materiali di riferimento richiesti;
- condizioni ambientali e periodo di stabilizzazione richiesto;
- descrizione della procedura, comprendente: apposizione di marchi di identificazione, manipolazione, trasporto, immagazzinamento e preparazione degli oggetti da provare; verifiche da effettuare prima di iniziare le attività: verifiche del buon funzionamento dell'apparecchiatura e, se richiesto, taratura e messa a punto prima dell'utilizzo; metodi di registrazione delle osservazioni e dei risultati; tutte le misure di sicurezza da osservare;
- criteri e/o requisiti per l'approvazione / rifiuto;
- dati da registrare e i metodi di analisi e di presentazione;
- incertezza o le procedure di stima dell'incertezza.

5.4.5 Validazione (storico...)

- Quando è necessario impiegare metodi di prova o procedure non normalizzate, esse devono essere **completamente documentate**. (*UNI CEI EN 45001, §5.4.1*)
- I Metodi di prova interni devono riportare i riferimenti bibliografici dei documenti utilizzati per la loro elaborazione. I risultati di eventuali prove comparative eseguite con metodi analoghi nell'ambito del Laboratorio, o di circuiti interlaboratorio, nonché **tutta la documentazione ritenuta utile per dimostrare la validità del metodo** deve essere disponibile e regolarmente archiviata. Il Laboratorio deve determinare la ripetibilità dei Metodi di prova interni, conservandone adeguata documentazione. (*SINAL DG-0007 rev.2, § 10.6.*).

5.4.5. Validazione

- Conferma, sostenuta da evidenze oggettive, che i requisiti relativi ad una specifica utilizzazione o applicazione prevista sono stati soddisfatti. (UNI EN ISO 9000:2005).
 - uso di materiali di riferimento certificati
 - confronto con altri metodi
 - confronti interlaboratorio
 - verifica dei contributi all'incertezza di misura, etc.
- È richiesto il **riesame periodico** della validazione dei metodi.
- Il Responsabile deve firmare la **dichiarazione circa l'idoneità del metodo** per lo scopo previsto.

Validazione secondaria?

UNI ENV ISO 13843

- 2.38 validazione secondaria: Dimostrazione per via sperimentale che un metodo stabilito funziona in conformità alle sue specifiche presso l'utilizzatore. **Ma allora deve essere un metodo già validato, quindi NON E' VALIDAZIONE**
- ISO/IEC 17025 - 5.4.2 Il laboratorio deve confermare che può correttamente eseguire i metodi normalizzati prima di metterli in opera per le prove e/o le tarature. Nel caso di cambiamento del metodo la conferma deve essere ripetuta.

5.4.5 Validazione

Il laboratorio deve validare i metodi non normati, i metodi sviluppati/progettati dal laboratorio, i metodi normati utilizzati al di fuori del proprio campo di applicazione prefissato, come pure estensioni e modifiche di metodi normati per confermare che i metodi siano adatti all'impiego previsto. La validazione deve essere estesa in modo da soddisfare le esigenze di una data applicazione o di un campo di applicazione.

Il laboratorio deve registrare i risultati ottenuti, le procedure utilizzate per la validazione, così pure una dichiarazione circa l'idoneità del metodo per l'utilizzo previsto. *(ISO/IEC 17025, §5.4.5)*

Validazione

Dovranno essere definiti:

- i criteri di accettabilità della validazione (es. compatibilità dei risultati ottenuti con quelli riportati nel certificato di un materiale di riferimento, o con i criteri di accettabilità dell'organizzatore di un circuito interlaboratorio, o con i risultati di un metodo di riferimento).
- I parametri del metodo da determinare, e su quanti livelli.

Validazione dei metodi

- ✓ Federal Register: March 1, 1995, page 11259-11262. (<http://www.access.gpo.gov/nara/cfr/index.html>). Contiene termini e definizioni relativi alla validazione (US FDA)
- ✓ Federal Register: March 7, 1996, page 9315-9319. International Conference on Harmonisation; Draft Guidelines on the Validation of Analytical Procedures.
- ✓ IUPAC - Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report)
- ✓ ISO 78-2 (1999) Chemistry – Layout for standards – Part 2: Methods of chemical analysis.
- ✓ EURACHEM The fitness for Purpose of Analytical Methods, 1998 .
- ✓ NORDVAL Protocol for the validation of alternative microbiological methods
- ✓ NATA, Format and Content of Test Methods and Procedures for Validation and Verification of Chemical Test Methods.
- ✓ Documenti guida e corsi LGC e VAM.
- ✓ Linee Guida per la validazione dei metodi analitici e per il calcolo dell'incertezza di misura - ARPA Emilia Romagna.
- ✓ UNI EN ISO 16140:2011. Microbiologia di alimenti e mangimi per animali - Protocollo per la validazione di metodi alternativi.

GLP - grado di validazione

Type of analytical procedure; characteristics	Identification	Impurities Quantitation	Impurities Limit	Assay; dissolution, content/potency
Accuracy	-	+	-	+
Precision				
Repeatability	-	+	-	+
Intermediate Precision	-	+	-	+
Specificity	+	+	+	+
Detection Limit	-	-	+	-
Quantitation Limit	-	+	-	-
Linearity	-	+	-	+
Range	-	+	-	+

Manca la robustezza, che deve comunque essere tenuta in considerazione

Robustezza

- La robustezza di una procedura analitica è la sua capacità di non essere influenzata da piccole, ma deliberate, variazioni nei parametri del metodo, e fornisce una indicazione della sua affidabilità durante l'impiego normale.
- *La valutazione della robustezza dovrebbe essere considerata in fase di sviluppo e dipende dal tipo di metodo in studio. Dovrebbe dimostrare l'affidabilità dei risultati rispetto a deliberate variazioni dei parametri del metodo. Se i risultati sono suscettibili a variazioni delle condizioni analitiche, queste dovranno essere controllate in modo idoneo, oppure deve essere inclusa una dichiarazione precauzionale nella procedura.*
- **Utilizzo del DOE**

93/256/CEE: Decisione della Commissione, del 14 aprile 1993...

- Bianco del campione, bianco dei reattivi
- Specificità
- Accuratezza
- Ripetibilità, riproducibilità.
- Limite di rivelazione, limite di determinazione
- Sensibilità (pendenza della retta di taratura)
- **Praticabilità (velocità, costi), applicabilità**
- Interpretazione dei risultati
- Sensibilità alle interferenze
- Tecniche di conferma (co-cromatografia, GC-MS, ecc.)

ABROGATA

Minima accuratezza espressa come recupero

Le massime deviazioni ammesse nell'analisi di materiali di riferimento, dopo correzione per il recupero medio, sono le seguenti:

< 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$	- 50% fino a + 20%
1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$	- 30% fino a + 10%
> 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$	- 20% fino a + 10%

E' ammesso, in mancanza di materiali di riferimento certificati, la determinazione del recupero da matrici fortificate.

EURACHEM: estensione della validazione

Il livello di validazione o rivalidazione necessario dipende dalla natura delle modifiche necessarie per applicare un metodo a differenti laboratori, apparecchi, operatori...

E' sempre opportuno qualche grado di validazione, persino quando si utilizzano metodi normati o pubblicati *apparentemente* ben caratterizzati.

[ISO/IEC 17205 §4.4 b) il laboratorio abbia la capacità e le risorse per soddisfare i requisiti]

Limiti richiesti

concentrazione

- 1 µg/kg
- 10 µg/kg
- 100 µg/kg
- 1 mg/kg

scarto tipo

45 %
32 %
23 %
16 %

concentrazione

- >0,5 mg/kg
- 1-500 µg/kg
- < 1 µg/kg

recupero

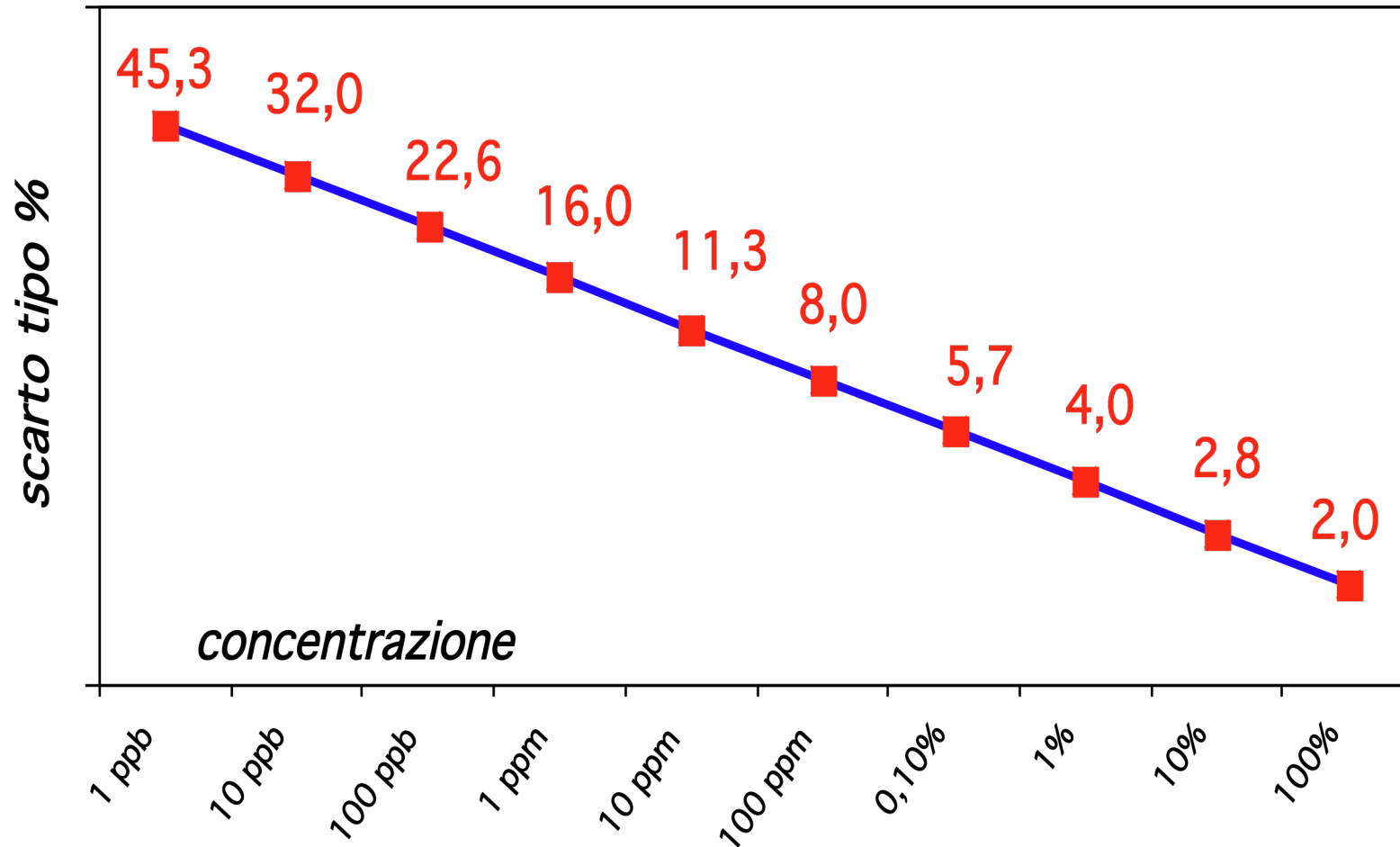
80-110 %
60-115 %
50 %

La legge di Horwitz

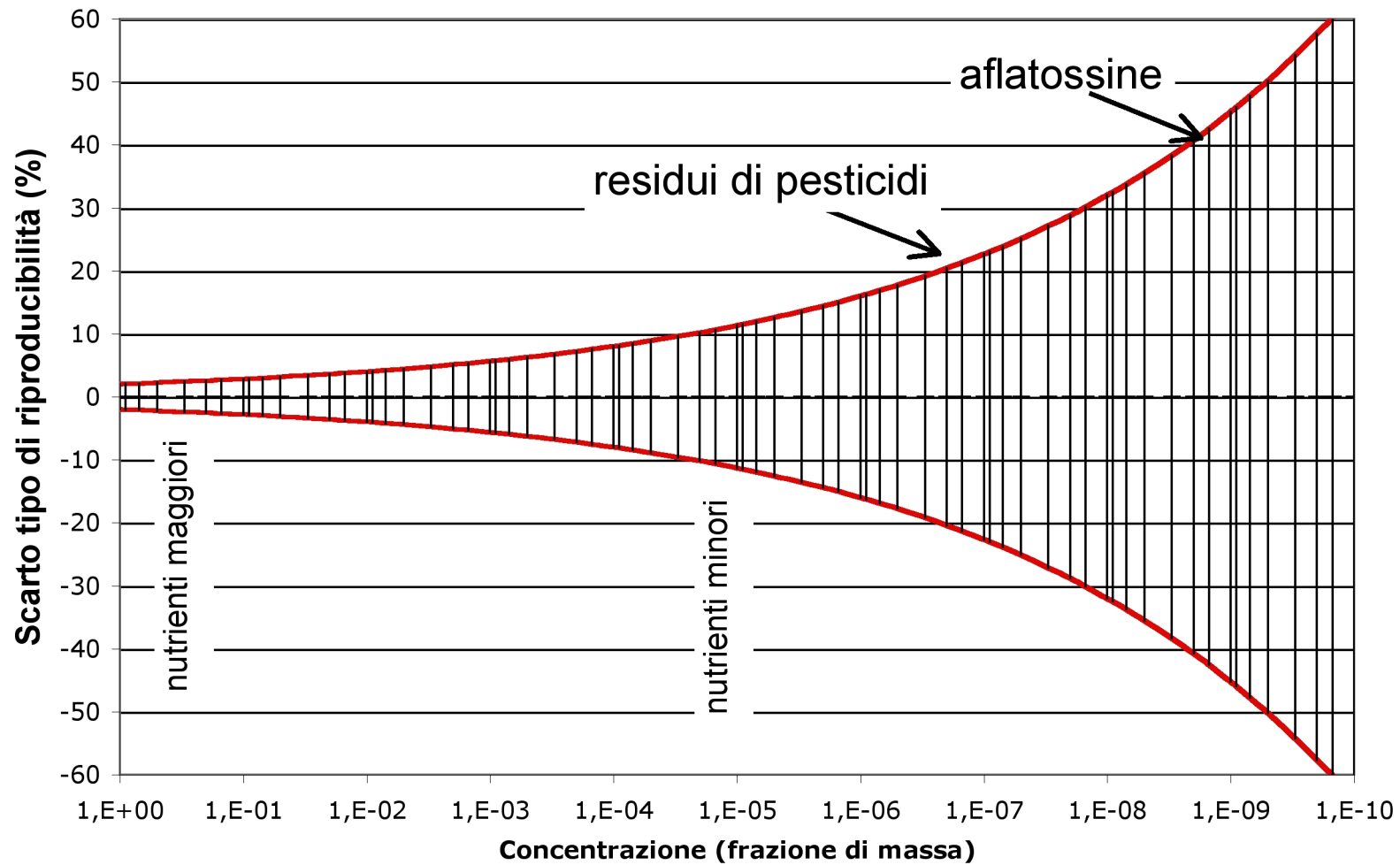
$$RSD_R = 2^{(1-0,5*\log C)}$$

- RSD_R = scarto tipo relativo di riproducibilità
- C = concentrazione come frazione di massa
- Direttiva 98/53/CE (D.M. 23 dicembre 2000, contiene anche criteri per i recuperi).

Legge di Horwitz



Equazione di Horwitz



CEN/TS 15675:2007 - Emissioni da sorgente stazionaria

Se è necessario modificare un metodo od usarne uno diverso da quello indicato, deve essere validato mediante:

- definizione del metodo, indicando range e tipo di matrice;
- determinazione dell'incertezza complessiva, con verifica della sua adeguatezza, e della selettività, limite di rivelazione, ecc.
- verifica della ripetibilità e dell'assenza di errori sistematici.

CEN/TS 14793 riporta un esempio di validazione

ISO 15189:2007 - 5.5.2

- I metodi commerciali devono essere convalidati dal fabbricante (Direttiva 98/79/CE). Il laboratorio dovrà confermare che può riprodurre adeguatamente le specifiche tecniche definite, prima di applicarle ai campioni di pazienti. Perciò, dovrà confermare come minimo la precisione e l'accuratezza ai livelli di decisione clinica.
- I metodi sviluppati per il laboratorio devono essere completamente convalidati dal laboratorio per dimostrare che sono adeguati alla finalità prevista. La convalida può portarsi a termine seguendo i differenti protocolli esistenti emessi per organizzazioni scientifiche riconosciute, es: Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI, o seguendo le indicazioni riportate nella Direttiva 98/79 CE, Allegato I, A.3, o da EURACHEM.

Validazione dei metodi di taratura

- Quando **si**: metodi sviluppati dal laboratorio.
- Quando **no**: metodi forniti dal costruttore, da un centro di taratura, da guide o pubblicazioni.
- E' sempre **necessaria** la stima dell'**incertezza** di misura, ed il confronto con le specifiche (scostamenti, incertezze).

5.4.6. Incertezza di misura

- Un laboratorio di taratura, o un laboratorio di prova che esegue le proprie tarature, deve avere e deve applicare una procedura per stimare l'incertezza della misura per tutte le tarature e per i tipi di taratura. Quindi si applica la GUM (UNI CEI ENV 13005:2000) o la guida EA-4/02.
- I laboratori di prova devono avere ed applicare procedure per stimare l'incertezza delle misure.
- Anche dove non si può definire rigorosamente, devono essere determinati i contributi all'incertezza complessiva.

Incertezza di misura

parametro non negativo che caratterizza la dispersione dei valori che sono attribuiti a un misurando, sulla base delle informazioni utilizzate. [VIM 2.26]

NOTA 1 L'incertezza di misura include componenti che hanno origine da effetti di natura sistematica, come le componenti associate alle correzioni e i valori assegnati ai campioni di misura, e comprende anche l'incertezza di definizione.

Differenti approcci

- Approccio GUM (UNI CEI ENV 13005)
 - Identificazione e quantificazione dei singoli contributi all'incertezza
 - Combinazione delle varianze pesate (legge di propagazione delle incertezze)
- Approccio classico “chimico”
 - Determinazione dei parametri statistici del metodo analitico (ripetibilità, riproducibilità)

Approccio GUM

Nella maggior parte dei casi un misurando Y non viene misurato direttamente ma viene determinato da N altre quantità X_1, X_2, \dots, X_N tramite la relazione funzionale f :

$$Y=f(X_1,X_2,\dots,X_N) \quad (1)$$

L'insieme delle quantità di ingresso può essere suddiviso in:

- quantità i cui valori ed incertezze sono direttamente determinate dalla misurazione in corso. Questi possono essere ottenuti da, per esempio, una singola osservazione, osservazioni ripetute, o giudizi basati sull'esperienza;
- quantità i cui valori ed incertezze sono introdotti nella misurazione da sorgenti esterne, come quantità associate con campioni di prima linea tarati, materiali di riferimento certificati, dati di riferimento ottenuti da manuali.

Valutazione di categoria A (sperimentale)

Presuppone la ripetizione delle osservazioni e la stima del valore del misurando come **media** dei valori ottenuti.

La **varianza sperimentale** delle osservazioni, che stima la varianza s^2 della distribuzione di probabilità di q è data da

$$s^2(q_k) = \frac{1}{n-1} \sum_{k=1}^n (q_k - \bar{q})^2$$

La migliore stima di σ^2 , la varianza della media, è data da:

$$s^2(\bar{q}) = \frac{s^2(q_k)}{n}$$

L'incertezza tipo u è definita come lo **scarto tipo della media**:

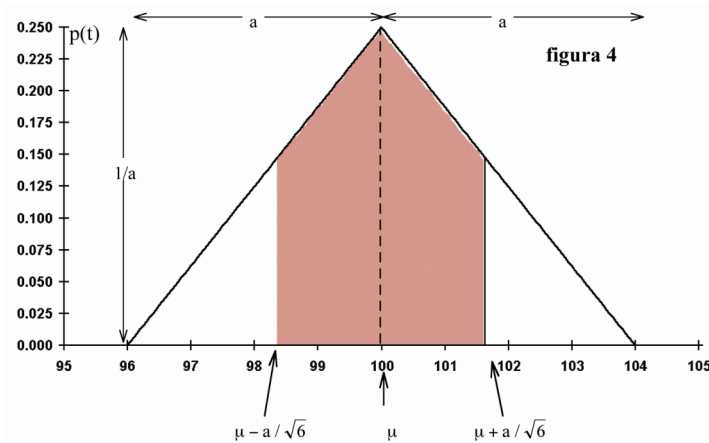
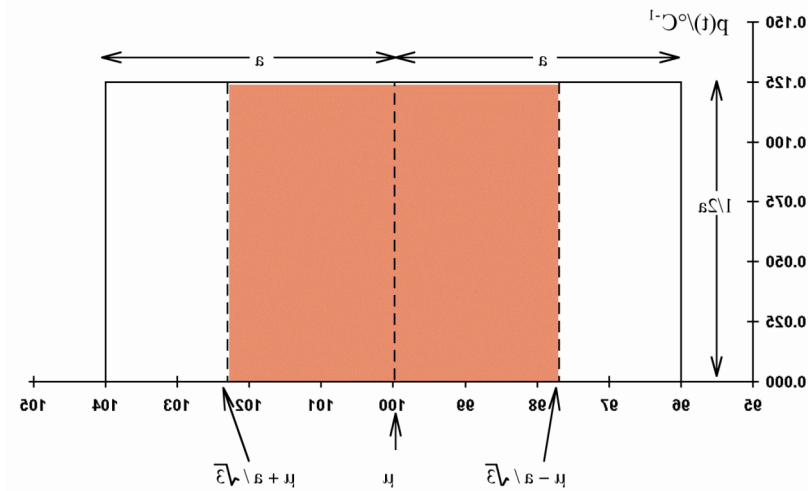
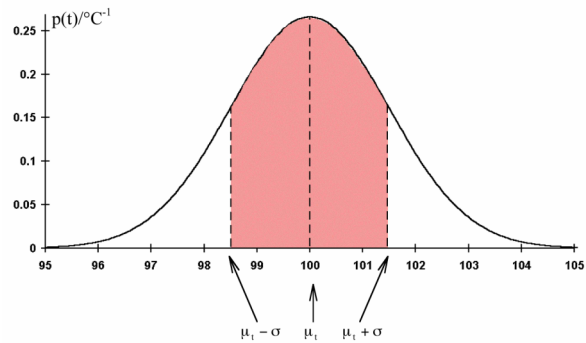
$$u = \sqrt{s^2(\bar{q})}$$

Valutazione di categoria B

Per una stima x_i che non è stata ottenuta da osservazioni ripetute, la varianza stimata associata $u^2(x_i)$ o l'incertezza tipo $u(x_i)$ viene valutata mediante giudizio scientifico basato su tutte le informazioni disponibili sulla possibile variabilità di x_i .

- ★ dati di precedenti misure (**importante**);
- ★ esperienza o conoscenze generali di comportamento e proprietà dei materiali e strumenti;
- ★ specifiche del produttore;
- ★ dati forniti in certificati di taratura od altri certificati;
- ★ incertezze assegnate a valori di riferimento presi da manuali

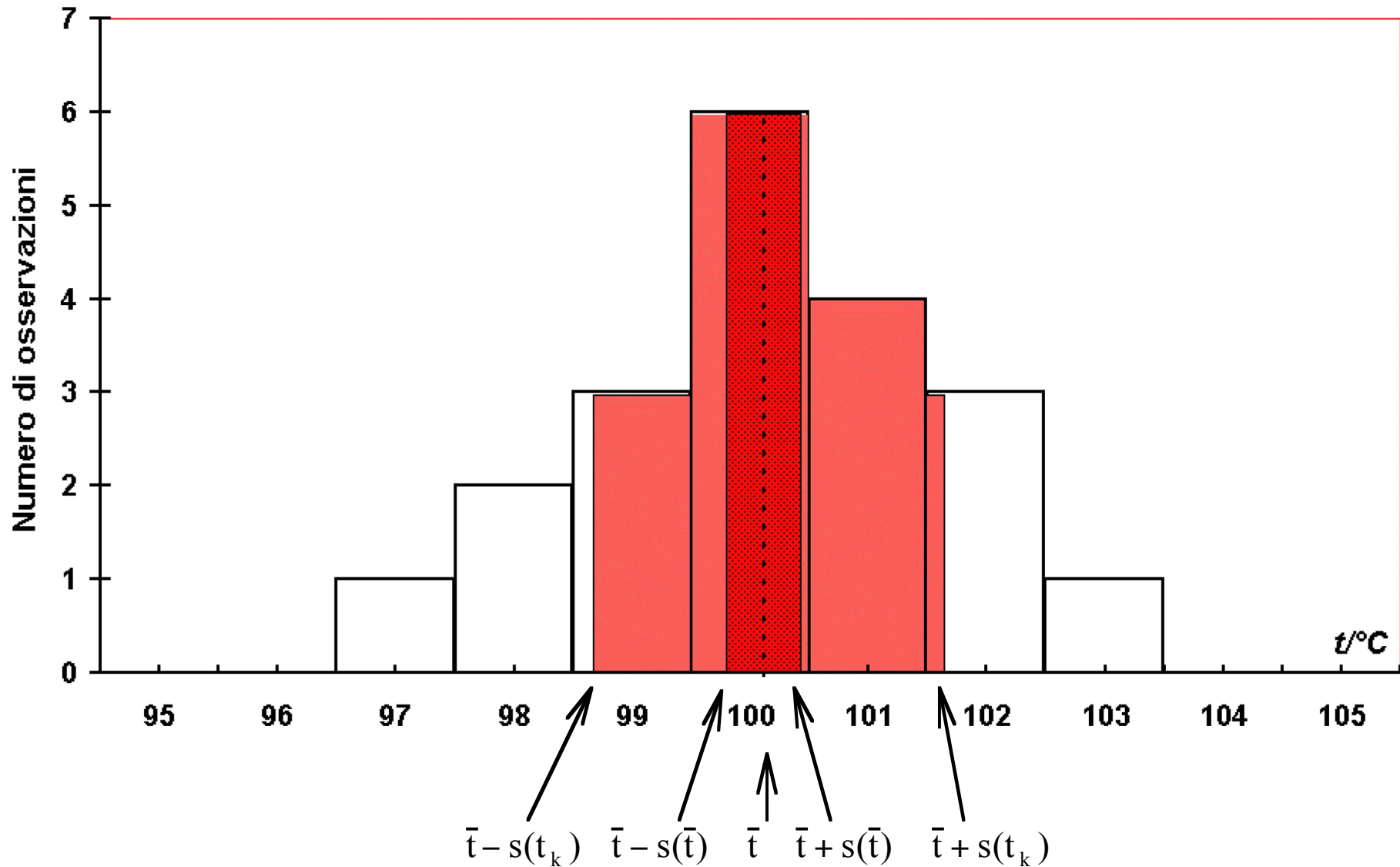
Distribuzione normale, rettangolare, triangolare



Venti osservazioni ripetute della temperatura t raggruppati in intervalli di 1°C

intervallo	$t_1 \leq t < t_2$	Temperatura
t_1	t_2	$t/^\circ\text{C}$
94.5	95.5	-
95.5	96.5	-
96.5	97.5	96.90
97.5	98.5	98.18; 98.25
98.5	99.5	98.61; 99.03; 99.49
99.5	100.5	99.56; 99.74; 99.89; 100.07; 100.33; 100.42
100.5	101.5	100.68; 100.95; 101.11; 101.20
101.5	102.5	101.57; 101.84; 102.36
102.5	103.5	102.72
103.5	104.5	-
104.5	105.5	-

Misure di temperatura



Stima dell'incertezza

distribuzione	Tipo	incertezza
triangolare	B	$\frac{a}{\sqrt{6}}$
rettangolare	B	$\frac{a}{\sqrt{3}}$
U-shape	B	$\frac{a}{\sqrt{2}}$
normale	B	σ
scarto della media	A	$\frac{s}{\sqrt{n}}$

Comparazione per una distribuzione di temperatura tra 96 e 104°C

distribuzione	ampiezza intervallo	$u(\mu_t)$, °C
triangolare	8	1,6
rettangolare	8	2,3
normale	$-2,58\sigma - +2,58\sigma \approx 8$	$\sigma=1,6$
U-shape	8	2,8
scarto della media (N=20)	8	0,33



Incertezza composta (quantità non correlate)

L'incertezza tipo composta è la radice quadrata positiva della varianza composta che è data dalla:

$$u^2(y) = \sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 u^2(x_i)$$

Riproducibilità

$$R = 2 \cdot \sqrt{2} \cdot s_R$$

- 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.

L'equazione di Horwitz

William Horwitz ha sviluppato la sua equazione dall'esame di numerosi circuiti interlaboratorio, utilizzati sia per validazione di metodi che come proficiency tests.



Lo scarto tipo di riproducibilità ottenuto dall'equazione di Horwitz può quindi fornire una stima dell'incertezza, da verificare confrontandola con i singoli contributi individuati.

L'equazione di Horwitz

Il laboratorio deve verificare che il proprio scarto tipo di ripetibilità (stretta) sia compatibile con lo scarto tipo di riproducibilità ottenuto dall'equazione di Horwitz.

$$0,5 \cdot S_R \leq s_r \leq 0,66 \cdot S_R$$

Incertezza e ripetibilità nelle prove in doppio

limite di ripetibilità $r = 2 \cdot \sqrt{2} \cdot s_r$ condizione $|x_1 - x_2| \leq r$

relazione di compatibilità (UNI 4546) $|x_1 - x_2| \leq U_1 + U_2$

nel caso di prova in doppio $|x_1 - x_2| \leq 2U$

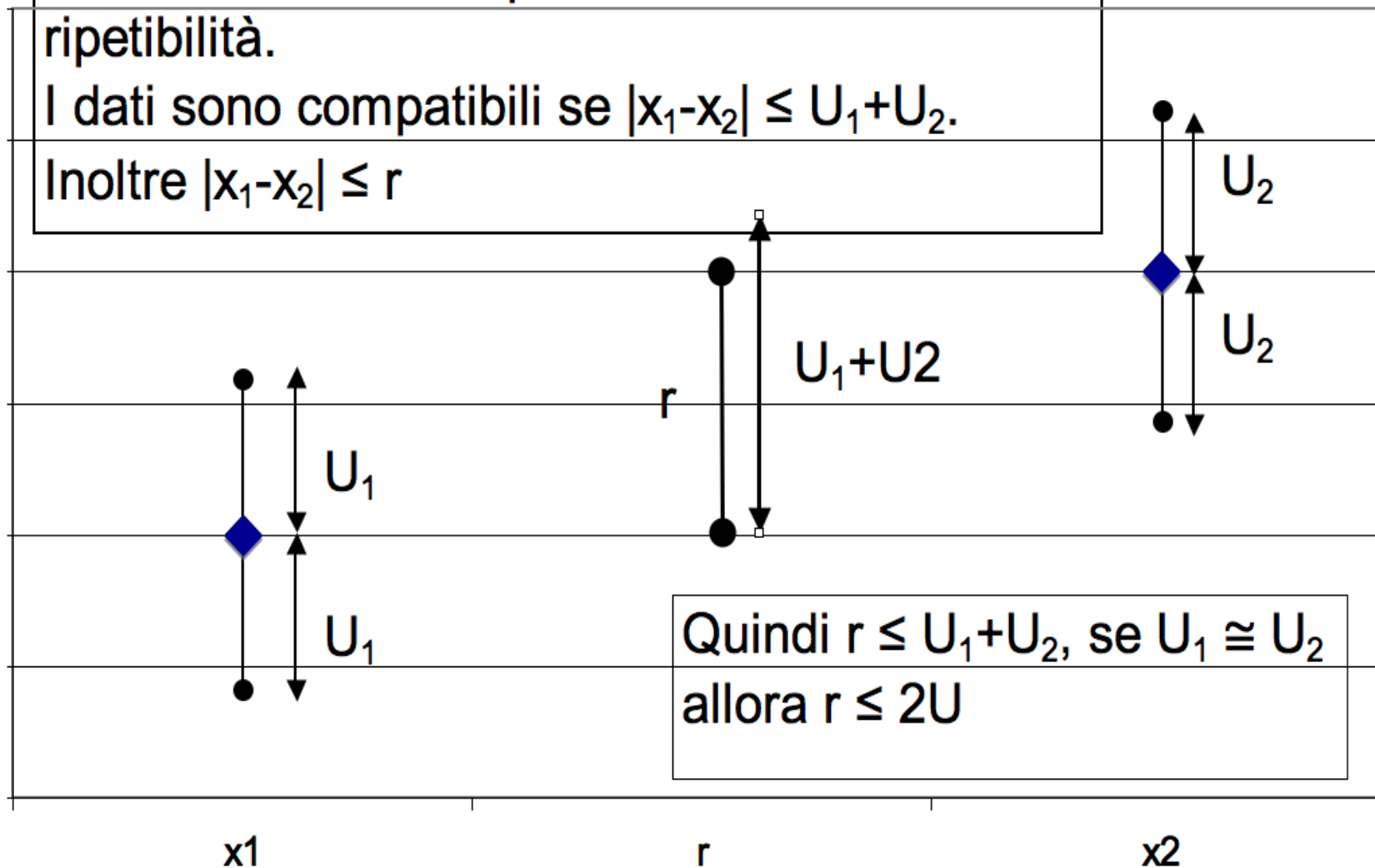
quindi $r \leq 2U$

s_r contribuisce a u_c , quindi anche $s_r \leq u_c$

Due misurazioni indipendenti in condizioni di ripetibilità.

I dati sono compatibili se $|x_1 - x_2| \leq U_1 + U_2$.

Inoltre $|x_1 - x_2| \leq r$



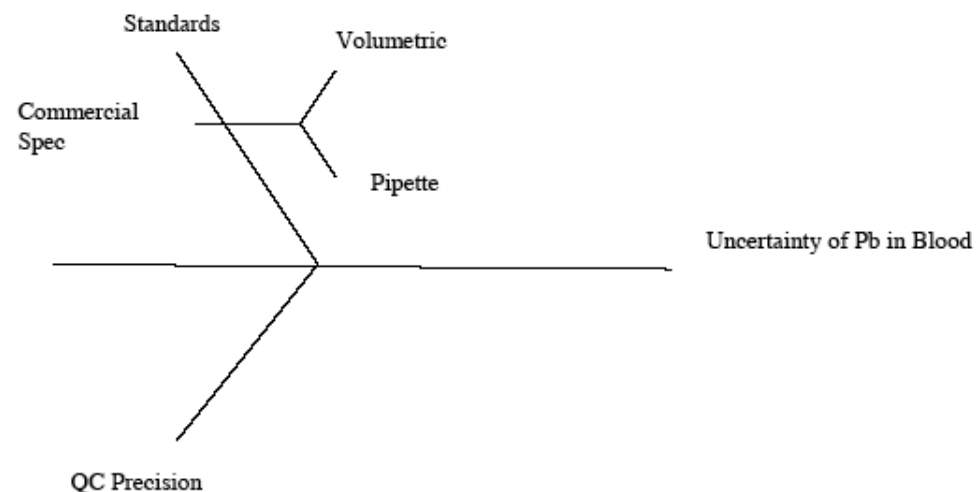
Stima dell'incertezza Suggerimenti di Thompson



- c = concentrazione dell'analita espressa come massa/massa
- s_R = scarto tipo di riproducibilità corrispondente

Equazione	Campo di applicazione
$0,02 * c^{0,8495}$	$1,2 * 10^{-7} \leq c \leq 1,38 * 10^{-1}$
$s_R = 0,22 * c$	$c < 1,2 * 10^{-7}$
$s_R = 0,01 * c^{1/2}$	$c > 1,38 * 10^{-1}$

- The Estimation of Uncertainty by the Utilization of Validation and Quality Control Data. Greg O'Donnell and Robert Geyer
- La variabilità dei dati di controllo qualità fornisce una stima dell'incertezza, che va combinata con i contributi dei materiali di riferimento, della vetreria, ecc.



An Ishikawa (cause and effect) diagram of the uncertainty budget

- ✓ SINAL DT-0002 rev. 1 Guida per la valutazione e la espressione dell'incertezza nelle misurazioni.
- ✓ EURACHEM (<http://www.eurachem.org/>) Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 2nd edition, 2000. Traduzione in italiano (Rapporto ISTISAN 03/30) su: <http://www.iss.it>
- ✓ UNI CEI ENV 13005:2000 (ex UNI CEI 9:1997). Guida all'espressione dell'incertezza di misura.
- ✓ EA-4/02 (1999). Expressions of the Uncertainty of Measurements in Calibration. Il documento EA 4/02 è stato tradotto da SIT (DOC 519, www.sit-italia.it/SIT/Documenti/Documenti.htm).

- ✓ UNI EN ISO 7218:2007 - Microbiologia di alimenti e mangimi per animali - Requisiti generali e guida per le analisi microbiologiche
- ✓ ISO/TS 19036:2006 - Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Guidelines for the estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations. + Amd 1:2009.
- ✓ Seppo I. Niemela - Uncertainty of quantitative determinations derived by cultivation of microorganisms (http://www.mikes.fi/documents/upload/J4_2003.pdf)
- ✓ Angela Maiello, Dino Spolaor. Guida per l'espressione dell'incertezza di misura nelle prove microbiologiche. (<http://sites.google.com/site/incertezzamicro/home/guida>)

- ✓ EUROLAB (<http://www.eurolab.org/>) - Measurement uncertainty revisited: alternative approaches to uncertainty evaluation. Technical report 1/2007.
- ✓ EURACHEM/CITAC - Use of uncertainty information in compliance assessment. First edition 2007.
- ✓ EURACHEM/CITAC - Measurement uncertainty arising from sampling. First edition 2007.
- ✓ IEC Guide 115 - Application of uncertainty of measurement to conformity assessment activities in the electrotechnical sector.

Incertezza estesa

L'incertezza estesa si ottiene moltiplicando l'incertezza tipo composta per un fattore di copertura k tale che $U=ku_c$, in modo da definire un intervallo intorno al risultato che ci si aspetti comprendere la maggior parte della distribuzione dei valori ragionevolmente attribuiti al misurando (generalmente 95 %).

Generalmente k è compreso tra 2 e 3.

Gradi di libertà

- Il valore di k si ricava dalle tabelle di Student, in funzione dei gradi di libertà effettivi.
- I gradi di libertà effettivi si ottengono dall'equazione di Welch-Satterthwaite:

$$v_{eff} = \frac{u_c^4(y)}{\sum_{i=1}^N \frac{u_i^4(y)}{v_i}}$$

CEN/TS 15675:2007 - Emissioni da sorgente stazionaria

EN ISO 14956 e EN ISO 20988 forniscono guide sulla stima dell'incertezza. Gli approcci possibili sono:

- Ripetute misurazioni su materiali di riferimento
- Lavoro sperimentale: determinazione della ripetibilità, confronti interlaboratorio
- Stime basate su precedenti risultati e specifiche della strumentazione.

Incertezza e regole decisionali



E'
ABBASTANZA
LARGA?

Decisioni - UNI - ISO

UNI CEI ENV 13005
+ SUPPLEMENTI...
UNI ENV ISO 14253-2

UNI ISO 14253-1
ISO 10576-1

UNI ISO 14253-3

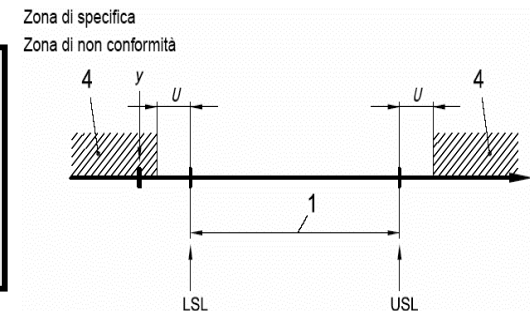
VALUTAZIONE DELLA
INCERTEZZA DI MISURA
(BILANCIO DELL'INCERTEZZA)

CONFRONTO CON I
LIMITI DI SPECIFICA
(REGOLE DECISIONALI)

PROCESSO
DECISIONALE
(EVENTUALE GESTIONE
DELLE CONTROVERSIE)

momento tecnico

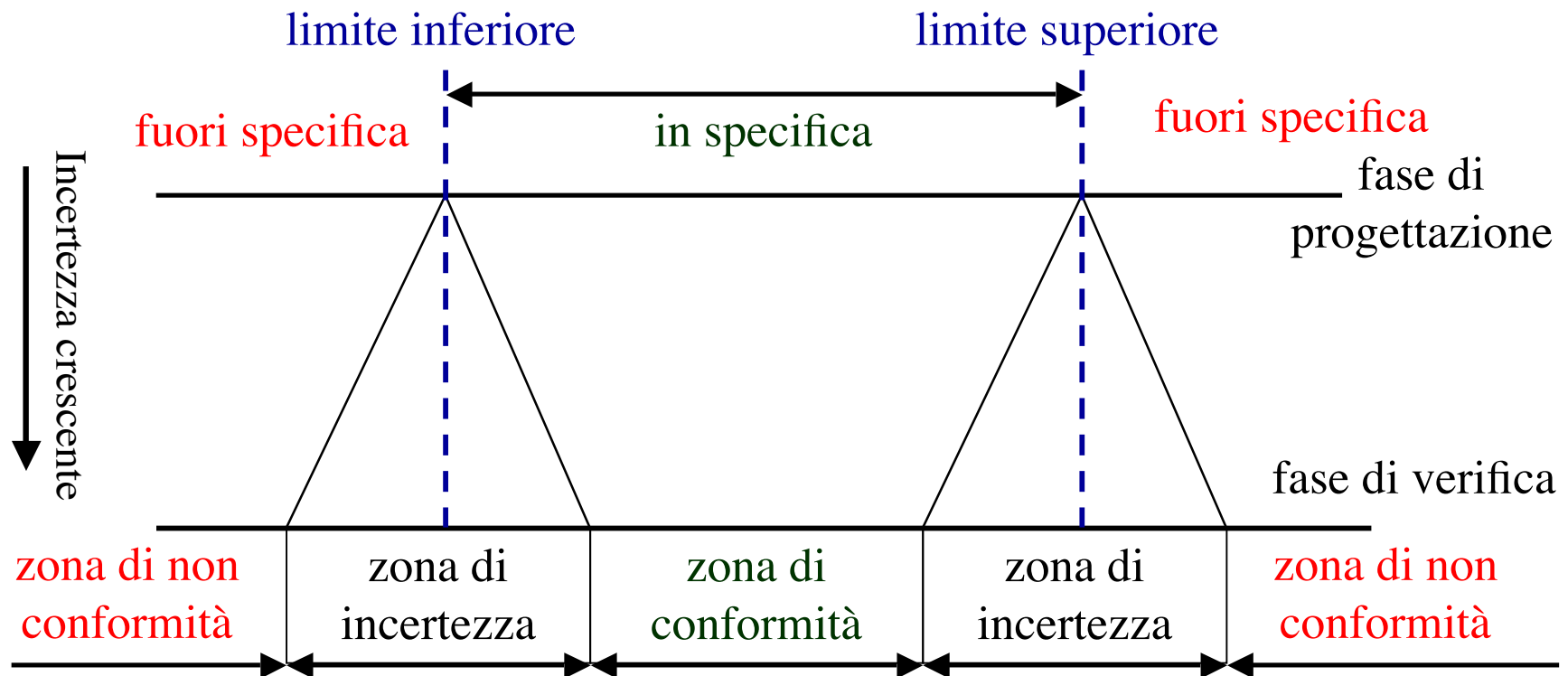
$$U = k \cdot u$$



momento economico

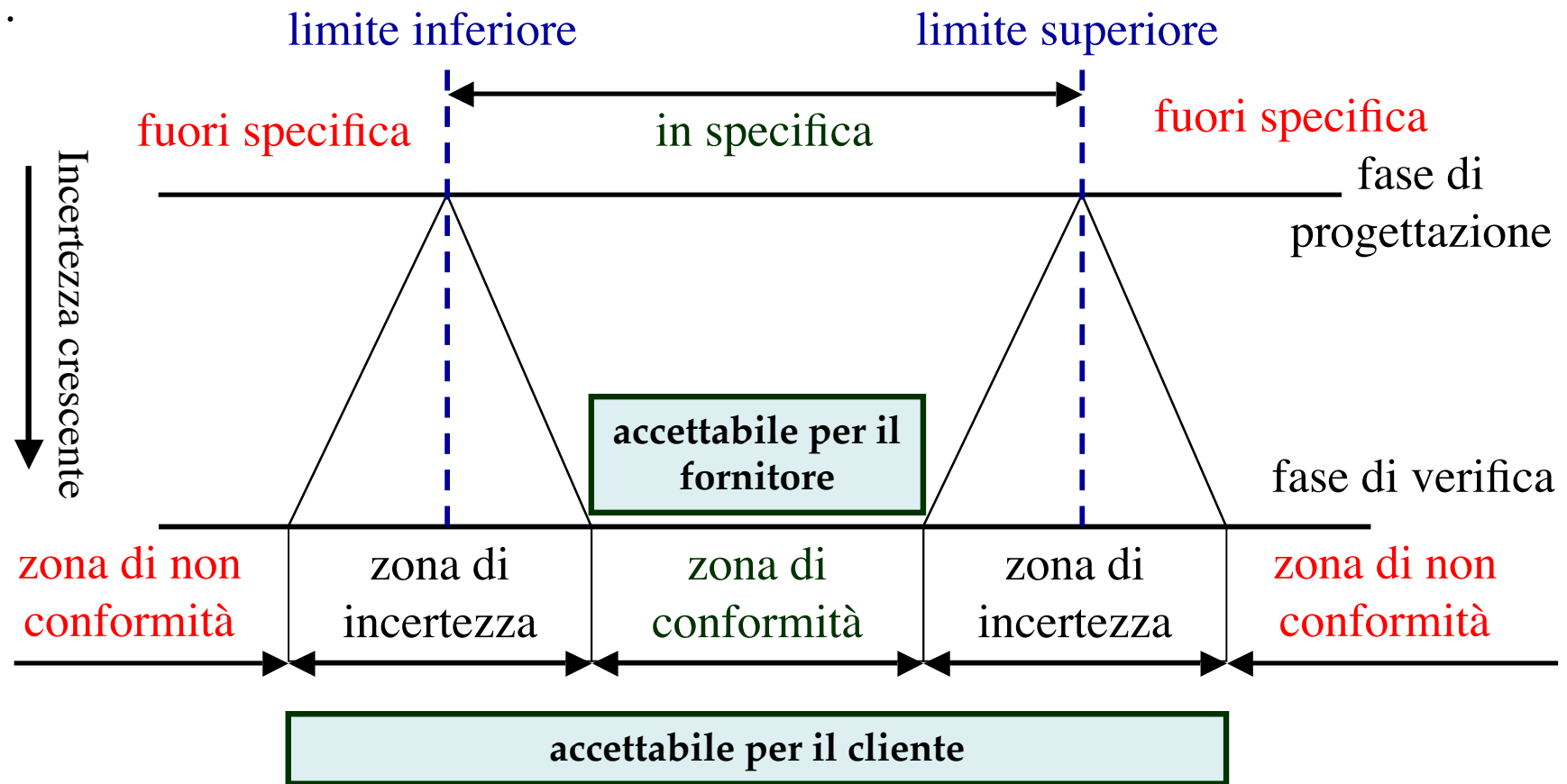
Decisioni

ISO 14253-1, Geometrical Product Specifications (GPS) - Inspection by measurement of workpieces and measuring equipments - Part 1: Decision rules for proving conformance or non-conformance with specifications.



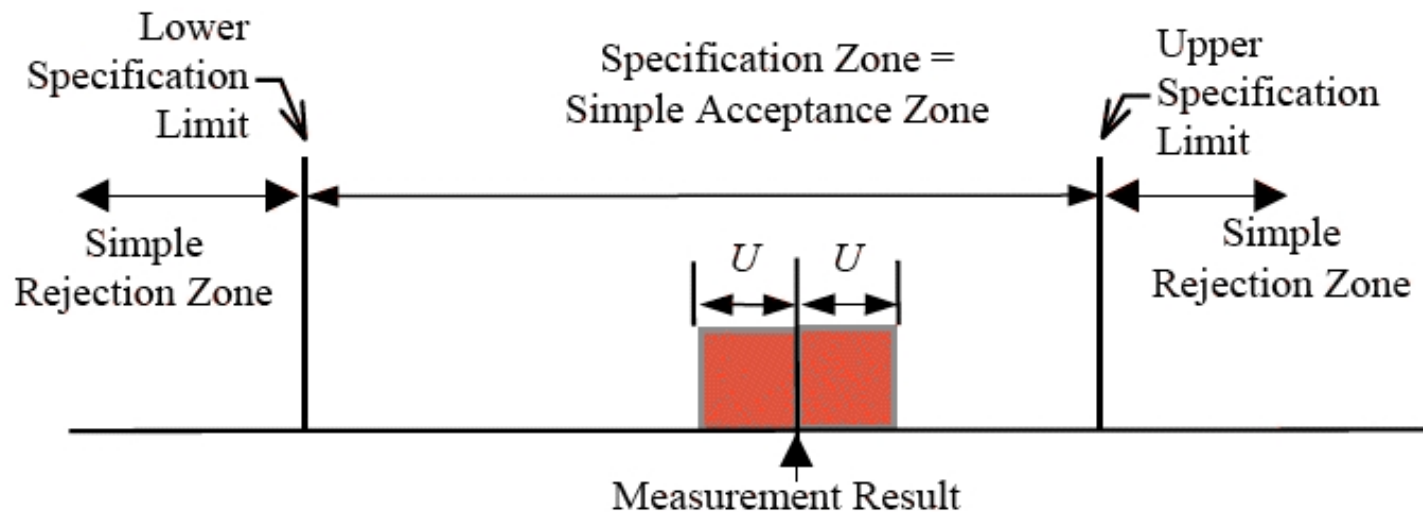
Decisioni

Principio ISO: L'incertezza di misura interviene sempre a sfavore di quella parte che si assume l'onere di provare la conformità o la non conformità, e provvede pertanto a eseguire la misurazione



Decisioni (Dr. Phillips - NIST)

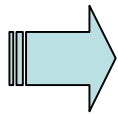
Regola 4:1 (MIL-STD 45662A) l'intervallo ($\pm U$) dell'incertezza estesa ($k=2$) deve essere minore di 1/4 dell'intervallo di specifica. Quindi U deve essere minore di 1/8 dell'intervallo di specifica



Regole decisionali: ASME B89.7.3.1

PRINCIPIO ASME

la determinazione dell'incertezza di misura è un'attività di carattere tecnico, l'adozione di una determinata regola decisionale è una decisione di tipo economico



l'incertezza di misura non definisce di per sé, se non per precisa e documentata scelta, le zone di accettazione o rifiuto rispetto all'intervallo di specifica.

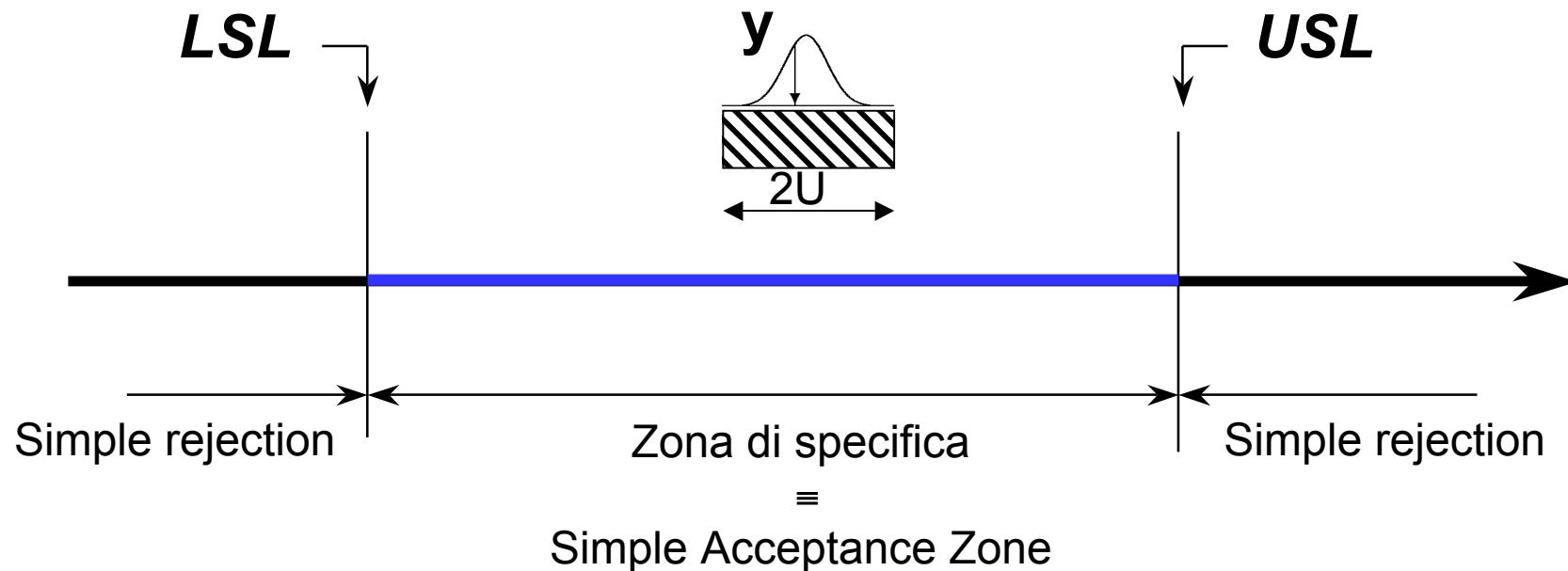
introduzione dei concetti di:

- ✓ **banda di guardia**
(*guard band*)
- ✓ **accettazione/rifiuto stretto/rilassato/semplce**
(*stringent/relaxed acceptance/rejection*)
- ✓ **zona di transizione**
(*transition zone*)

$$g = h \cdot U$$

Regole decisionali: ASME B89.7.3.1

A Accettazione e rifiuto semplici con regola N:1



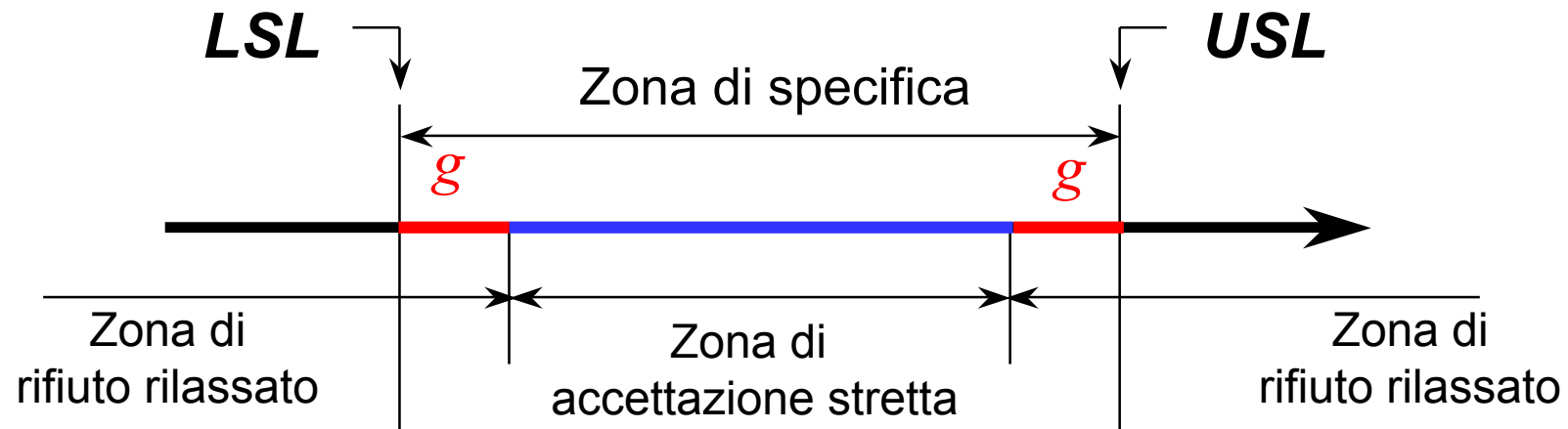
$$\frac{|USL - LSL|}{U} = N$$

$$N = 10 \rightarrow 4$$

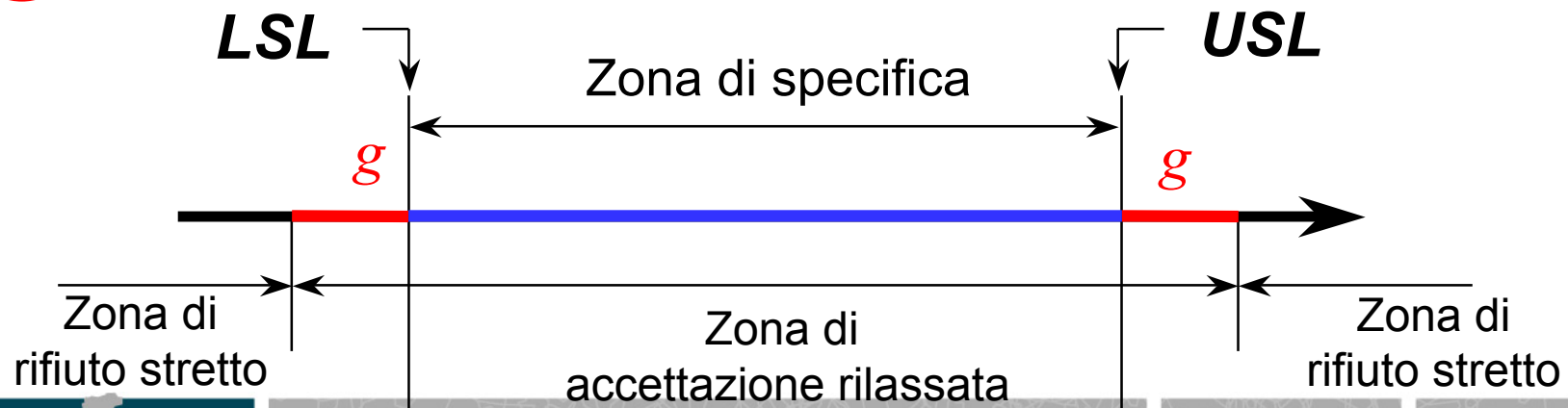
(MIL-STD 45662A)

Regole decisionali: ASME B89.7.3.1

B Accettazione stretta e rifiuto rilassato con banda di guardia Z%



C Accettazione rilassata e rifiuto stretto con banda di guardia Z%





Non è vero:
è passata e
scappata...

Codex Alimentarius Commission

Report of the 27° sessione of codex committee on methods of analysis and sampling: Budapest 15-19 may 2006

Proposed draft guidelines for settling disputes over analytical (test) results.

Scopo: fornire una guida alle autorità governative per risolvere le dispute che possono sorgere quando i risultati analitici eseguiti su una sostanza alimentare non siano in accordo tra quelli ottenuti alla partenza e quelli ottenuti all'arrivo.

Nota: se i governi accettassero gli accordi internazionali (es. ILAC MRA) non sarebbe necessario duplicare le analisi e non ci sarebbero dispute.

Proposed draft guidelines for settling disputes over analytical (test) results.

- Definizione di una differenza massima accettabile Δ_{\max}

- Definire il contenuto medio del campione $T = \frac{Y_1 + Y_2}{2}$

- Definire la differenza percentuale $\Delta\% = \left(\frac{|Y_1 - Y_2|}{T} \right) \cdot 100$

- La condizione di accettabilità è che la differenza sia inferiore al limite di riproducibilità ove dichiarato dal metodo di prova ed ottenuto secondo ISO 5725:

$$|Y_1 - Y_2| \leq 2,83s_R$$

E se non sono disponibili dati statistici di validazione dei metodi di analisi?

Proposed draft guidelines ...

Se non sono disponibili dati statistici di validazione dei metodi di analisi utilizzare Horwitz (anche modificato da Thompson) secondo la tabella:

Name	Range (dimensionless)	Equation of s_R	Equation for Δ_{\max} (%)	Figure
Horwitz [1]	10^{-1} to $1.2 \cdot 10^{-7}$	$s_R = 0.02 \times T^{0.8495}$	$\Delta_{\max} \leq \frac{5.66 \times T^{0.8495}}{T}$	1
Thompson [2]	$> 1.38 \cdot 10^{-1}$	$s_R = 0.01 \times T^{0.5}$	$\Delta_{\max} \leq \frac{2.83 \times T^{0.5}}{T}$	2
	$1.38 \cdot 10^{-1}$ to $1.2 \cdot 10^{-7}$	$s_R = 0.02 \times T^{0.8495}$	$\Delta_{\max} \leq \frac{5.66 \times T^{0.8495}}{T}$	
	$< 1.2 \cdot 10^{-7}$	$s_R = 0.22 \square T$	62.26%	

References

[1] Horwitz W. (1980) Quality Assurance in the Analysis of Foods for Trace Constituents, *J of the AOAC* 63:6, 1344-1354

[2] Thompson M. (2000) Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing, *Analyst* 125, 385-386

Settore cogente



In Europa c'è confusione - doc. SANCO/0064/2003-rev.4

- Correzione per il recupero: in alcuni paesi viene richiesta, in altri no. Es. un campione contenente $5 \mu\text{g/kg}$ di micotossine (limite $4 \mu\text{g/kg}$) può essere dichiarato
 - conforme ($3 \mu\text{g/kg}$, non corretto)
 - non conforme ($5 \mu\text{g/kg}$, effettuata correzione).
- Utilizzo dell'incertezza:
 - si confronta $X - U$ con il limite
 - si confronta X con il limite (**principio di precauzione**, se si tratta di contaminanti tossici o patogeni)
 - per lo stesso X in un paese il limite risulta superato, in un altro no.

doc. SANCO/0064/2003-rev.4

Ipotizzando una specifica di 4 µg/kg per l'analita in oggetto, ed una incertezza dell'ordine del $\pm 44\%$ del risultato, l'analista determinerà, per concentrazioni nominali di 2, 3, 6 e 10 mg/kg, i seguenti risultati con incertezza assegnata:

- I. 10.0 ± 4.4 µg/kg - fuori limite per tutti
- II. 6.0 ± 2.6 µg/kg - **in alcuni paesi fuori limite**
- III. 3.0 ± 1.3 µg/kg - attenzione a futuri campioni
- IV. 2.0 ± 0.9 µg/kg - conforme per tutti.

Decisioni (cogente)

- D.M. 10 febbraio 2000: Metodiche per il controllo del tenore in benzene ed idrocarburi aromatici totali nelle benzine. Indica i metodi da usare (UNICHIM 1135, EN 12177, ASTM D 1319).
- Se il risultato ottenuto X è:

$$X > A_1 + 0,59R$$

Questa è una stima dell'incertezza

- A_1 è il limite di legge
- R è la riproducibilità del metodo ad un livello di confidenza del 95 %

.... allora il campione eccede il limite

Regolamento CE 213/2001

- Se un risultato supera un limite, si ripete la prova in condizioni di ripetibilità.
- Si determina la differenza tra la media dei risultati ed il limite.
- Se tale differenza è maggiore della differenza critica, il campione non soddisfa i requisiti.

$$\text{CrD}_{95}(\bar{y} - m_0) = \frac{0,84}{\sqrt{2}} \sqrt{R^2 - r^2 \frac{n-1}{n}}$$

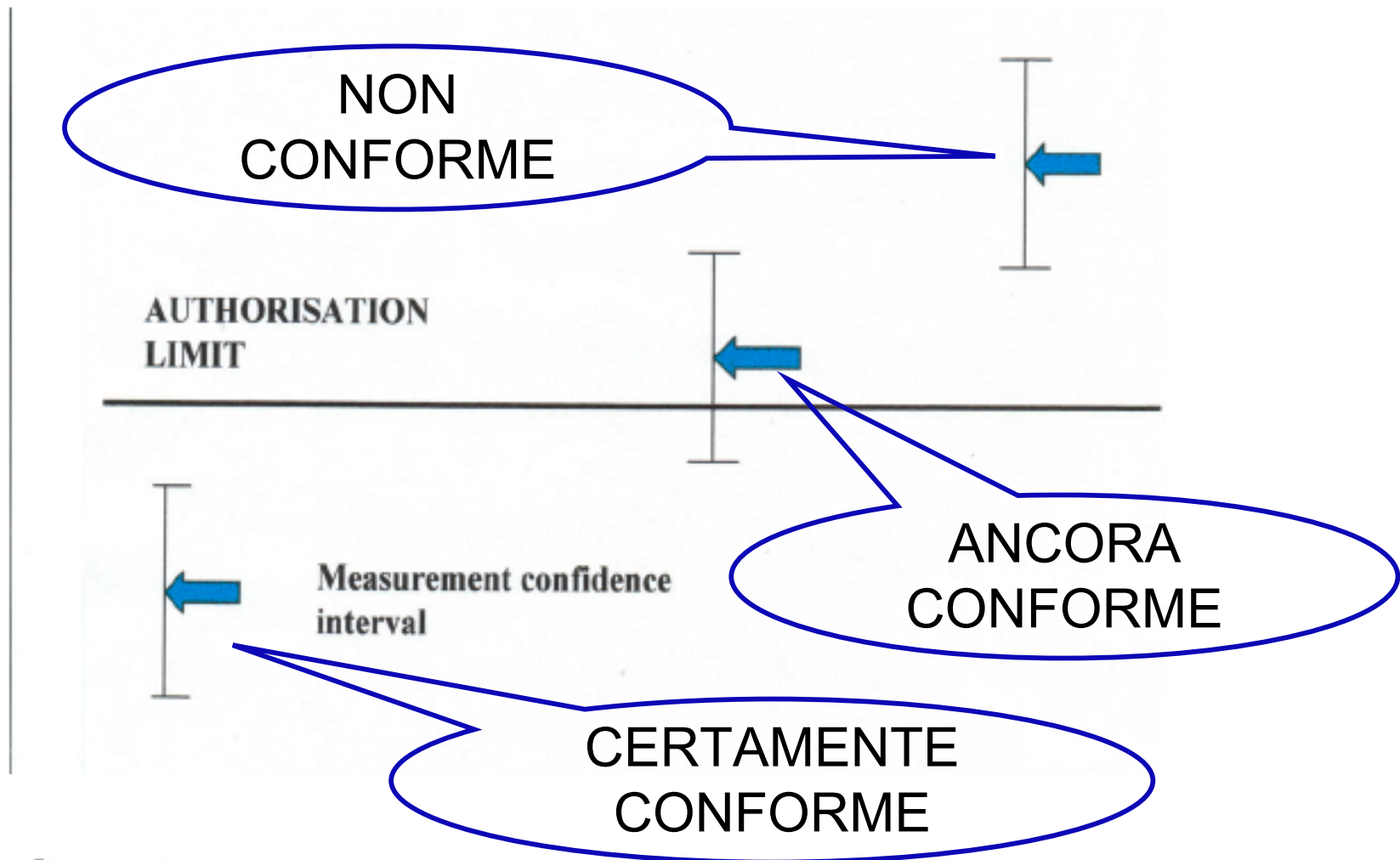
Le Direttive ambientali

- Le Direttive Europee di seconda generazione (incenerimento dei rifiuti, solventi, ecc.) non solo impongono i limiti per i singoli inquinanti, ma specificano anche l'incertezza che deve essere ottenuta dai laboratori.
- L'incertezza deve essere sottratta dal risultato:
 - Se il risultato è inferiore al limite ed il limite è fuori dall'intervallo di fiducia c'è piena conformità.
 - Anche se il risultato supera il limite, ma il limite è ancora all'interno dell'intervallo di fiducia, il processo è ancora conforme.
 - La non conformità viene rilevata solo se il risultato ed il suo intervallo di fiducia superano il limite.

Le Direttive ambientali

- Ovvero, si concede il “**beneficio del dubbio**”.
- Ma attenzione! Le Direttive impongono anche il **limite massimo di incertezza**, che da un lato salvaguarda l’ambiente, dall’altro impone al laboratorio di lavorare correttamente al fine di rientrare nei limiti richiesti, e quindi otteniamo risultati comparabili tra i vari laboratori.

Le Direttive ambientali



E' considerato fuori limite il campione con livello di fiducia 95%

DETERMINATION OF RELEASE COMPLIANCE (4)

Ceiling Limit & Allowable Uncertainty + Compliance Zones

Example of spot value shown at 130mg/m³

Preferred Option:
Transparent & Current Practice
(but perceived leniency?)

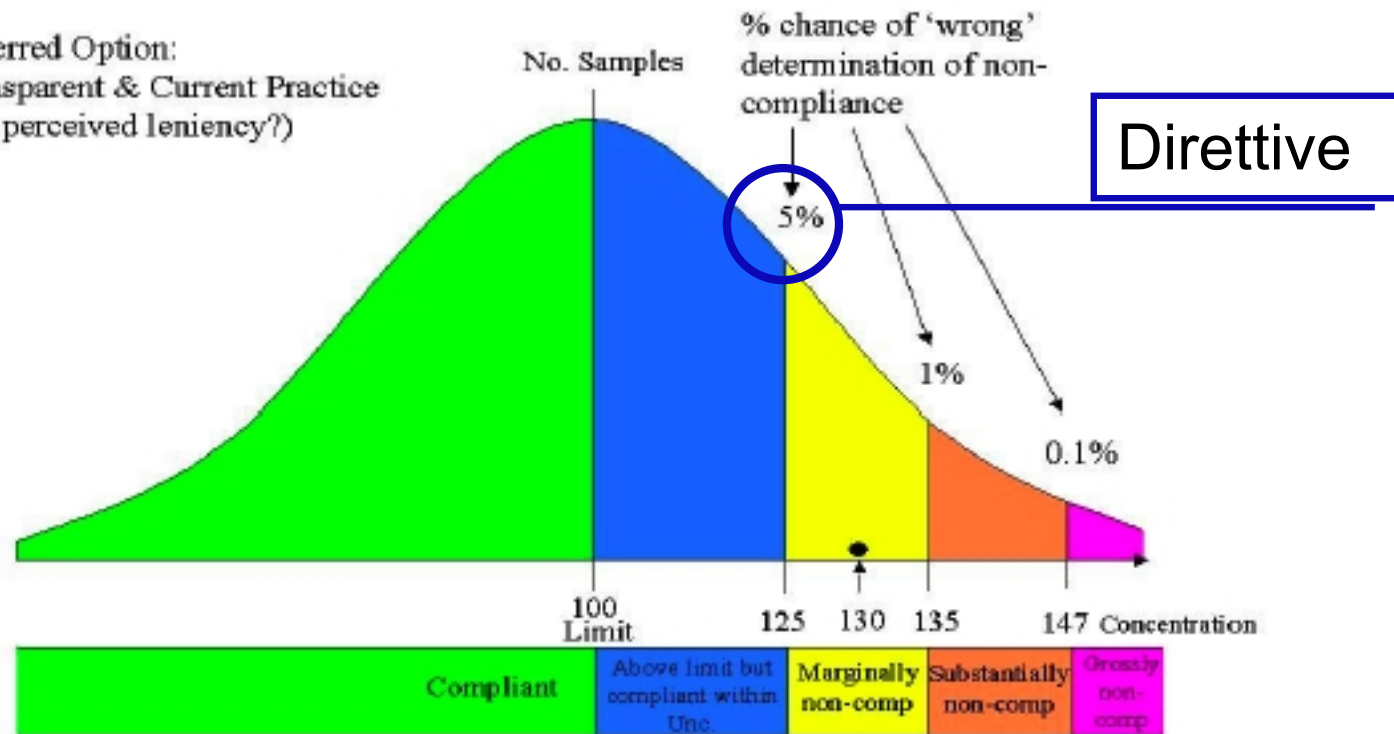


Fig. 4 Severity of non-compliance with regulatory limit

Direttiva 2009/90/CE ...specifiche tecniche per l'analisi chimica ed il monitoraggio delle acque

Articolo 4

Criteria minimi di efficienza per i metodi di analisi

Gli Stati membri verificano che i criteri minimi di efficienza per tutti i metodi di analisi siano basati su un'incertezza di misura pari o inferiore al 50 % ($k = 2$) stimata al livello degli standard di qualità ambientale pertinenti e su un limite di quantificazione pari o inferiore al 30 % rispetto agli standard di qualità ambientale pertinenti.

Invece...

The importance of the Uncertainty of measurement for the “Personal Protective Equipment” sector - CEN Conference on “Uncertainty of Measurement” - 2002-06-10, Brussels

Relativamente alla sicurezza, con riferimento alla direttiva 89/686, si stima che siano stati emessi circa 100000 certificati da organismi notificati nell'intera Unione Europea; dal punto di vista normativo esistono oltre 300 norme armonizzate di prodotto e di prova, che contengono centinaia di metodi di prova che sono correlati con il problema dell'incertezza di misura.

E' stato quindi proposto l'approccio più severo: un risultato rientra nei limiti se e solo se il suo intero intervallo di incertezza ($2U$) rientra nei limiti. Quando il risultato è ancora nei limiti, ma l'intervallo di incertezza supera i limiti, la **decisione è negativa**

The importance of the Uncertainty of measurement for the “Personal Protective Equipment” sector - CEN Conference on “Uncertainty of Measurement” - 2002-06-10, Brussels

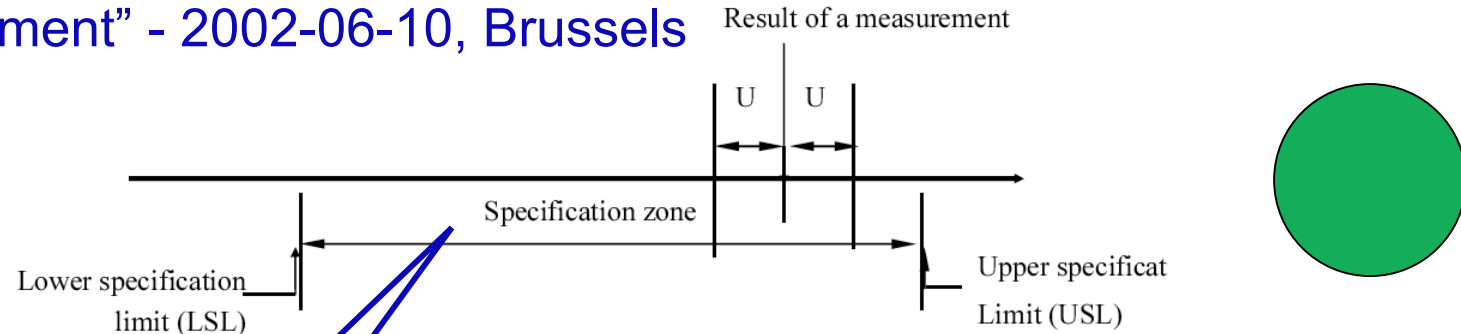


Figure C.1 — Result pass

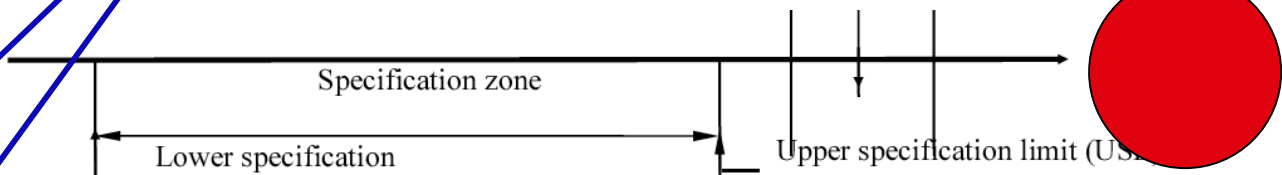


Figure C.2 — Result fail

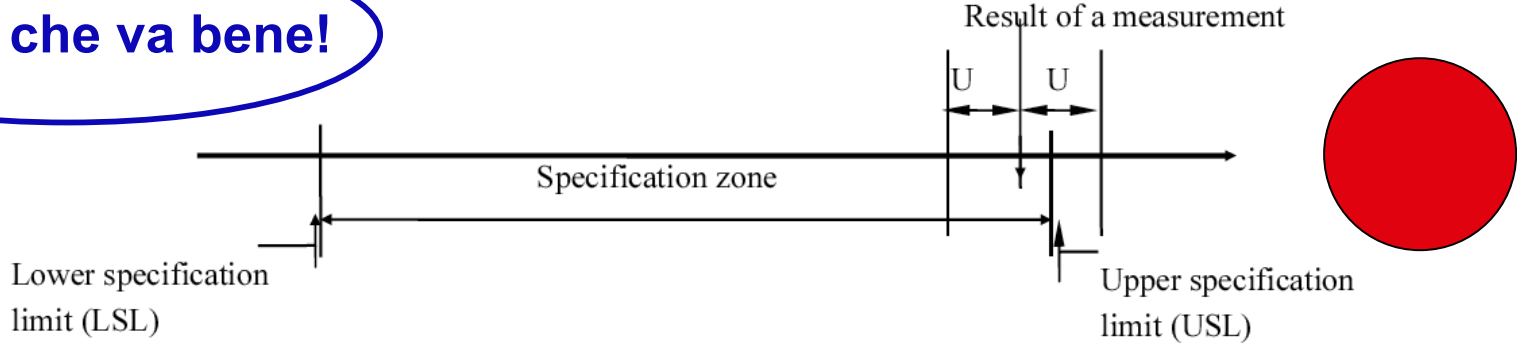


Figure C.3 — Result fail

L'unico che va bene!

Incertezza: ulteriori commenti

- Approccio GUM: molto impegnativo.
- Approccio classico: si deve verificare se le condizioni ed i materiali (anche la qualificazione del personale) corrispondono a quelli dell'esercizio interlaboratorio.
- E' fondamentale l'identificazione di tutti i contributi - per esempio quello del campionamento è spesso importante, e difficile (ed oneroso) da quantificare.
- Una sovrastima dell'incertezza può essere deleteria, per esempio se deve essere utilizzata nel confronto con specifiche.
- Una sottostima può portare a non compatibilità delle misure effettuate da differenti laboratori (vedi UNI 4546)

5.9. Assicurazione qualità dei risultati

- Il laboratorio deve avere procedure di controllo qualità per monitorare la validità delle prove e o delle tarature eseguite. 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. [ISO/IEC 17025]

5.9 - RT-08

- L'attività del laboratorio dovrebbe essere descritta nel manuale qualità od altro documento del laboratorio, in particolare relativamente a pianificazione, effettuazione delle prove, valutazione dei risultati, azioni correttive, documentazione e conservazione delle registrazioni.
- I laboratori devono comunicare ad ACCREDIA la loro partecipazione a confronti interlaboratorio, gestendo i risultati forniti, in conformità al RT-24.

5.9. Assicurazione qualità dei risultati

- **Pianificazione e riesame delle attività di verifica della validità dei risultati forniti.**
- Uso regolare di materiali di riferimento;
- Confronti interlaboratorio;
- Ripetizione di prove, prove in doppio;
- Correlazione di risultati di differenti proprietà di un campione.

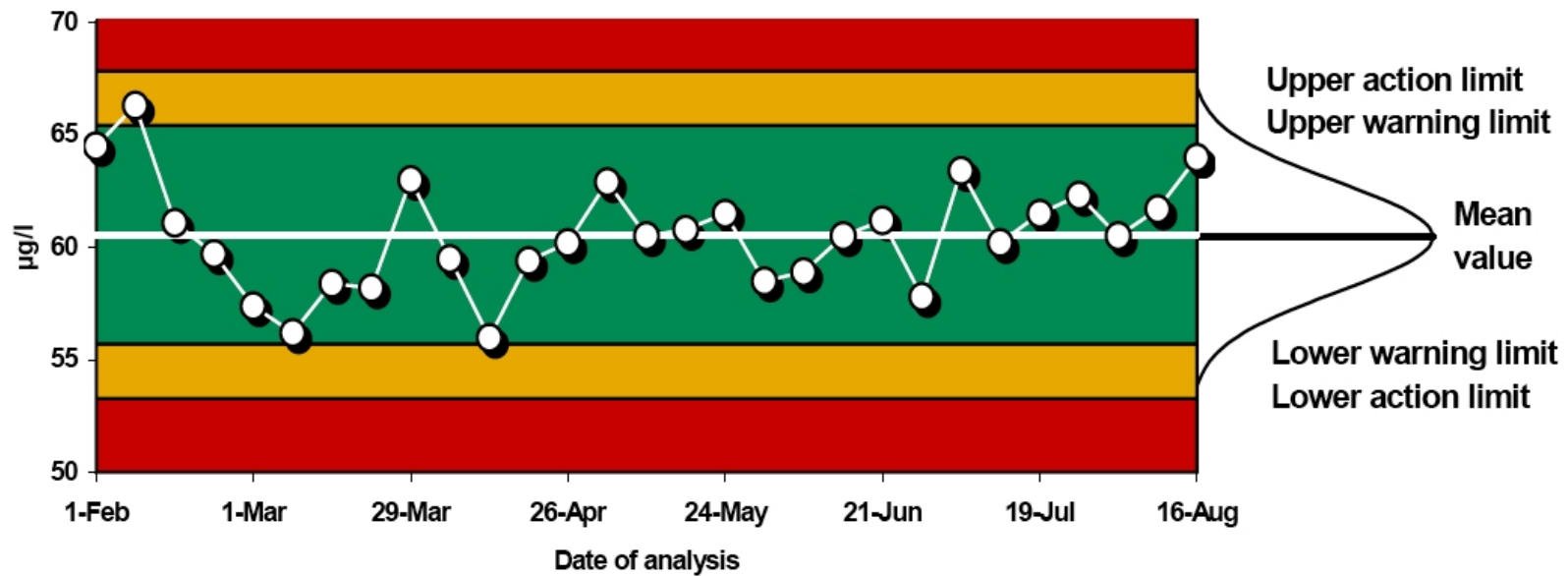
registrazioni

- Uso delle carte di controllo.
- Definizioni dei limiti di accettabilità.
- Definizione delle azioni in caso di fuori controllo.

- Prove valutative: l'organizzazione dovrebbe essere conforme alla ISO/IEC 17043:2010, e/o alla guida ILAC G13:2000.
- Esistono organizzazioni accreditate con riferimento alla ISO/IEC 17043:2010.
- www.eptis.bam.de banca dati proficiency tests

Carte di controllo

X-Chart: Zn

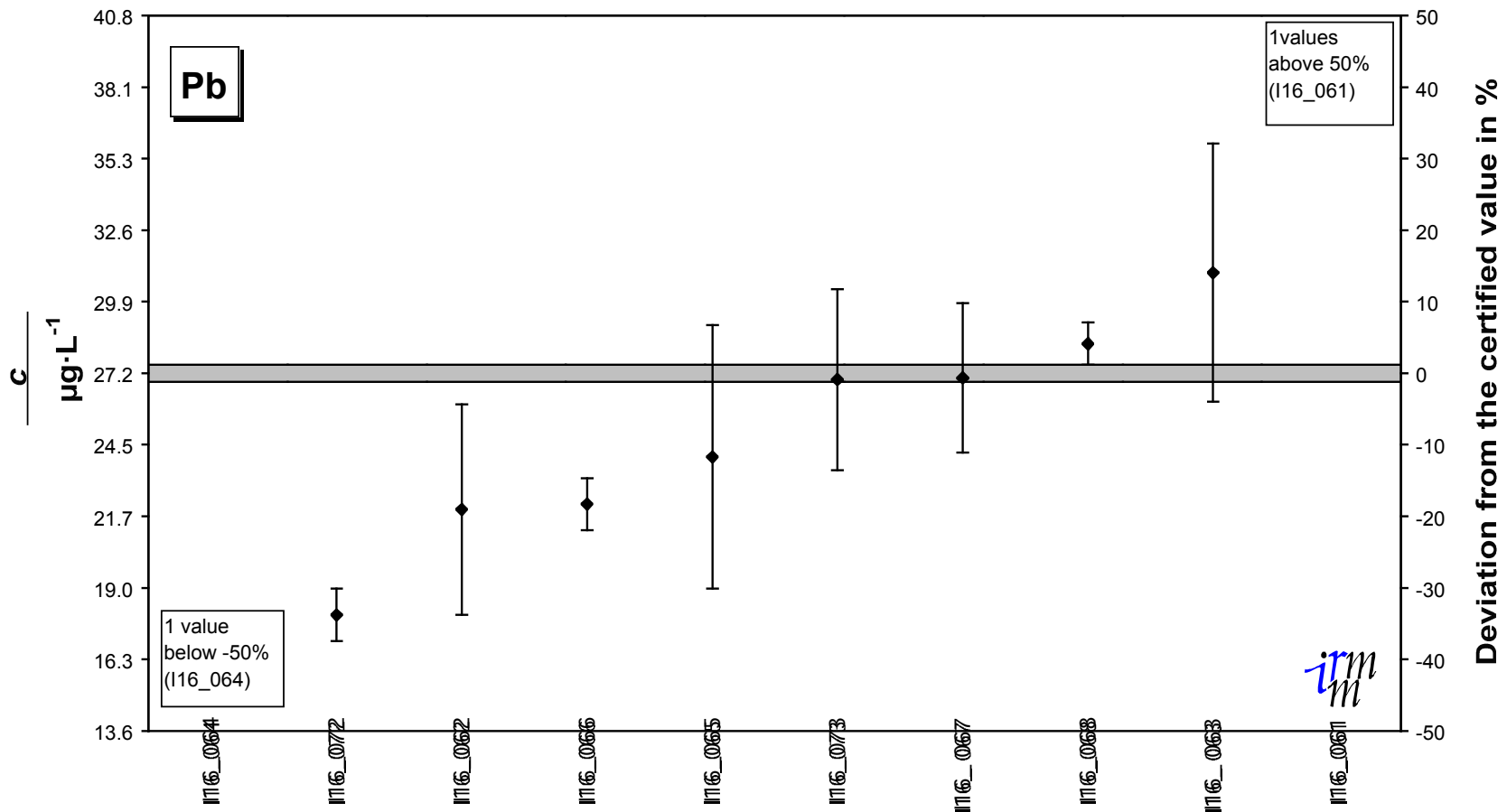


Un materiale di controllo deve venire inserito almeno una volta in ciascuna serie di analisi e il valore ottenuto deve venire riportato su un **diagramma di controllo** allo scopo di misurare gli errori a lungo termine. Inoltre, il laboratorio deve dimostrare periodicamente la conformità alle condizioni di ripetibilità all'interno della serie. **A tal fine si eseguono analisi in doppio di materiali di controllo e/o di test. I risultati di queste analisi devono venire confrontati con eventuali limiti di ripetibilità pubblicati e con dati esistenti relativi alla precisione interna del laboratorio. [Reg. 213/2001/CE]**

Valutazione dei risultati

- Scostamento rispetto al riferimento
- Scostamento percentuale
- Percentile o classificazione ordinata
- Z-score
- E_n
- Casi più complessi: z-score cumulativi, Youden plot ...

IMEP- 16: Pb in wine
Certified value : $27.18 \pm 0.33 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ [$U=k\cdot u_c$ ($k=2$)]



Results from Italian participants nominated by the European Accreditation

Valutazione dei risultati - Z-score

- Z-score:
$$Z = \frac{\text{risultato} - \text{riferimento}}{\text{scarto tipo}}$$
- Classico: si usano la media e lo scarto tipo
- Robusto: si usano mediana e interquartile normalizzato
- $-2 < z < +2$ accettabile
- $2 < |z| < 3$ questionabile: il laboratorio dovrebbe verificare il proprio operato.
- $|z| > 3$ non accettabile: sono necessarie verifiche ed azioni correttive.

Valutazione dei risultati - E_n

- $E_n = \frac{|\text{risultato} - \text{riferimento}|}{\sqrt{U_{\text{lab}}^2 + U_{\text{rif}}^2}}$
- $E_n < 1$ soddisfacente
- $E_n > 1$ non soddisfacente
- criterio utilizzato dai metrologi (anche nei circuiti IMEP, organizzati dall'IRMM)

Valutazione dei risultati PT

- Verificare come è definito il riferimento:
 - Consensus value (media o mediana, dopo aver eliminato i risultati incongruenti);
 - Certificato di un materiale di riferimento;
 - Risultati di uno o più laboratori di riferimento.
- Verifica dei criteri di accettabilità:
 - Scarto tipo dei risultati dei laboratori (tutti o parte)
 - Percentile (es. interquartile normalizzato)
 - Definito altrimenti ...

Gestione dei risultati non accettabili

- Verifica delle cause
- Azioni correttive:
 - Tarature
 - Manutenzioni
 - Addestramento
 - Reclami, ecc.
 - Influenza sui risultati forniti ai clienti ...
- **Verifica dell'efficacia.**

ISO 13528:2005

Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons

Periodo di validità dei risultati di un PT

- Il periodo di validità di un risultato è limitato al momento (a quel ciclo) in cui quel risultato è stato ottenuto.
 - Un singolo risultato positivo non può essere utilizzato per affermare che il laboratorio ottiene dati validi in ogni altra occasione.
- Un laboratorio che opera in un SGQ ed acquisisce risultati soddisfacenti per più cicli sarà autorizzato ad utilizzare quei risultati quale evidenza della propria capacità ad ottenere risultati validi.
 - Gestione dei risultati di ritorno (rif. RT-08 § 5.9.2)

ISO 13528:2005

Determinazione del valore assegnato (e della sua incertezza tipo):

- Dai dati di formulazione del materiale distribuito (materiale sintetico).
- (Dai valori certificati del CRM distribuito.)
- Da valori di riferimento: Un certo numero di campioni del RM distribuito sono analizzati da un laboratorio in condizioni di ripetibilità stretta ed i risultati comparati con quelli ottenuti analizzando un CRM.
- Dai valori di riferimento ottenuti da laboratori esperti.
- Dai valori di consenso ottenuti dai partecipanti.

ISO 13528:2005

Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons

Determinazione del valore assegnato dai valori di consenso ottenuti dai partecipanti:

- Prevede l'utilizzo dell'analisi robusta dei dati (rif. ISO 5725-5) utilizzando un algoritmo robusto per calcolare:
 - Una media (robusta) x^*
 - Uno scarto tipo (robusto) s^*
- Oppure in alternativa
 - La mediana
 - Mediana degli scostamenti in assoluto dei singoli dati dalla mediana (MAD)
 - $s^* = 1,5 \text{ MAD}$

ISO 13528:2005

Fornisce definizione ed interpretazione di:

- z-score

$$z = (x - X) / \hat{\sigma}$$

- “Action signal” per z-score < -3 oppure $> +3$
- “Warning signal” per z-score < -2 oppure $> +2$
- Un solo “Action signal” o due successivi “Warning signal” devono essere interpretati come l’evidenza di una anomalia che richiede di essere indagata.

ISO 13528:2005

Fornisce definizione ed interpretazione di:

- En numbers

$$E_n = \frac{x - X}{\sqrt{U_{\text{lab}}^2 + U_{\text{ref}}^2}}$$

- z'-score

$$z' = (x - X) / \sqrt{\hat{\sigma}^2 + u_X^2}$$

- Zeta-score

$$\zeta = (x - X) / \sqrt{u_x^2 + u_X^2}$$

- Ez-score

$$E_{z-} = \frac{x - (X - U_X)}{U_x}$$

$$E_{z+} = \frac{x - (X + U_X)}{U_x}$$

ISO 13528:2005

Suggerisce metodo grafici per visualizzare le prestazioni di serie di partecipazioni a PT

- Carte di controllo (Shewart) degli z-score
- Carte di controllo (Cusum) degli z-score
- Grafici degli scostamenti standardizzati del laboratorio contro le medie dei laboratori partecipanti
- Grafici per punti
-

CEN/TS 15675:2007 - Emissioni da sorgente stazionaria

Ove esistano prove valutative devono essere utilizzate.

In alternativa, possono essere utilizzati:

- Analisi di miscele di gas di riferimento
- Uso di strumenti di riferimento per i parametri fisici
- Pesate di filtri e materiale particolato.

Internal quality control

http://www.nordicinnovation.net/nordtestfiler/tec569_ed_2.pdf

