

PROGRAMMA

Dati **A**nalisi **M**etodi **O**rganizzazione **C**onfronti **L**aboratori **E**sperti

RING TEST AFLATOSSINA M1 NEL LATTE

Marzo 2023

RTM1 280323

Associazione Italiana Allevatori – Laboratorio Standard Latte
Via dell'industria snc - 00054 Maccarese, Roma
Tel. 06 6678830 Fax. 06 6678811 e-mail isl@aia.it

INDICE/INDEX

Indice / Index.....	pag. 2
Norme e documenti di riferimento / Standards and reference documents	pag. 3
Guida all'interpretazione del Ring Test / Ring Test guidelines.....	pag. 4
Elenco laboratori / List of Participants.....	pag. 8
Diagramma di distribuzione di Kernel / Kernel distribution.....	pag. 9
Risultati / Results.....	pag.10
Grafici / Graphs.....	pag.12

NORME E DOCUMENTI DI RIFERIMENTO / STANDARDS AND REFERENCE DOCUMENTS

Per l'organizzazione e l'elaborazione dei dati del RING TEST, il Laboratorio Standard Latte segue in modo conforme i requisiti previsti nei seguenti documenti o norme / Laboratorio Standard Latte - Associazione Italiana Allevatori - operates in organizing and processing proficiency test according and conforming to the:

- ✓ ISO 5725 – 2:2019 – Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – part 2;
- ✓ ISO 13528:2022 – Statistical methods for use in Proficiency Testing by laboratory comparison
- ✓ Pure Appl. Chem. Vol. 78, n°1 pp.145-196, 2006 (The International harmonized protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories);
- ✓ ISO/IEC 17043:2010 Conformity assessment – General Requirements for proficiency testing
- ✓ ISO Guide 17034:2016 – General requirements for the competence of reference material producer
- ✓ ISO/IEC 17025:2018: General requirements for the competence of testing and calibration laboratories
- ✓ J. Dairy Sci. 99:6808-6827: A proficiency test system to improve performance of milk analysis methods and produce reference values for component calibration samples for infrared milk analysis.
- ✓ ISO GUIDE 35:2017 Reference materials – Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability.

Il Responsabile del Laboratorio / *The Lab manager*
(Dott.ssa Annunziata Fontana)



GUIDA ALL'INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Il presente Ring Test ha l'obiettivo di valutare le performance dei laboratori partecipanti in conformità alla norma UNI CEI EN ISO/IEC 17043.

Il Laboratorio Standard Latte è accreditato come provider di prove valutative interlaboratorio (Proficiency Testing Provider, PTP) da Accredia, con codice PTP N°0023P.

Tutte le informazioni in possesso del Laboratorio Standard Latte sui partecipanti sono riservate e non saranno divulgate a nessuno se non esplicitamente concordato con il partecipante.

Questo Ring Test è stato effettuato su 4 lotti di latte vaccino crudo scremato liofilizzato per la metodica ELISA e congelato per la metodica HPLC. A ciascun campione è stato aggiunto il conservante Bronopol 0.2%

L'omogeneità e la stabilità sono state verificate, con esito positivo, in conformità alla norma ISO 13528 - Statistical Methods for Use in Proficiency Testing by Interlaboratory Comparisons, per ciascun lotto.

L'unimodalità della distribuzione dei risultati è stata verificata attraverso il diagramma di densità di Kernel. I dati hanno una distribuzione unimodale quando l'area del picco è uguale o maggiore al 95%. Se tale requisito non viene soddisfatto e la distribuzione risulta multimodale, l'incertezza di misura non viene calcolata e sono forniti i valori di media, scarto tipo e zscore a solo titolo informativo.

I laboratori sono identificati da un numero che è stato precedentemente comunicato per e-mail.

La valutazione della performance del laboratorio viene calcolata sulla media delle repliche.

I laboratori outliers sono stati valutati attraverso il test di Cochran ed il test di Grubbs.

Prima di procedere al calcolo degli outliers, quando necessario, si eliminano i dati del

RING TEST GUIDELINES

This Proficiency Test (Ring Test) aims to evaluate the performance of the participating laboratories in compliance with the UNI CEI EN ISO/IEC 17043 standard.

Laboratorio Standard Latte (LSL) is accredited as a proficiency testing provider (PTP) by Accredia, with code PTP N°0023P.

All information held by Laboratorio Standard Latte on the participants is confidential and will not be disclosed to anyone unless explicitly agreed with the participant.

This Ring Test was performed on 4 batches of lyophilized skimmed raw milk for ELISA method, and frozen for HPLC method.

Bronopol 0.2% preservative was added to each sample.

Each batch was successfully verified for homogeneity and stability in accordance with ISO 13528 - Statistical Methods for Use in Proficiency Testing by Interlaboratory Comparisons.

The unimodal distribution of the results was verified through the Kernel density diagram. The data has a unimodal distribution when the peak area is equal to or greater than 95%. If this requirement is not satisfied and the distribution is multimodal, the measurement uncertainty is not calculated and the mean, standard deviation and zscore values are provided for information only.

Participating laboratories are identified by a unique code which was previously communicated by e-mail.

The evaluation of the laboratory performance is calculated on the average of the replicates.

Outlier laboratories were evaluated by Cochran's and Grubbs' test.

Before proceeding with the calculation of outliers, when necessary, the laboratory data for

laboratorio che presentano una differenza dalla media di tutti i risultati pari a 3 volte lo scarto tipo per quel campione (prescrutinizzazione). Tutti i risultati outliers sono evidenziati in neretto.

VALORE ASSEGNATO

Il valore assegnato è rappresentato dalla media dei risultati esclusi gli outliers.

Lo scarto tipo del Ring Test corrisponde alla deviazione standard dei risultati dei laboratori esclusi gli outliers.

Nel caso in cui $p < 12$ viene eseguita una statistica descrittiva e non può essere fornita la valutazione della performance del laboratorio partecipante.

Si calcola quindi solo:

- media come valore assegnato
- scarto tipo come deviazione standard dei risultati

VALUTAZIONE DEI LABORATORI: ZSCORE E DISTANZA EUCLIDIANA D

Lo zeta score(zs) di ciascun campione viene calcolato:

$$ZS = (X_i - X_{RTi}) / S_{RTi}$$

X_i = media del campione i_{esimo}

X_{RTi} = valore assegnato del campione i_{esimo}

S_{RTi} = scarto tipo del campione i_{esimo}

Lo zs deve essere utilizzato dal laboratorio partecipante per valutare la propria performance nel Ring Test effettuato:

$|zs| \leq 2$ Soddisfacente

$2 < |zs| < 3$ Dubbio

$|zs| \geq 3$ Insoddisfacente

a sample, are eliminated if the difference from the mean of all the results is equal to 3 times the standard deviation (pre-scrutinization). All outliers are highlighted in bold.

ASSIGNED VALUE

The assigned value is represented by the average of the results excluding outliers.

The standard deviation of the Ring Test is the standard deviation of the laboratory results excluding outliers.

In case of the number of participants is less than 12 ($p < 12$) a descriptive statistic is performed and the evaluation of the performance of the participating laboratory cannot be provided.

In this case will be provided only:

- The mean as assigned value
- Standard deviation of the results

PERFORMANCE INDICATORS: Z-SCORE AND EUCLIDIAN DISTANCE D

The Z score (zs) of each sample is calculated:

$$ZS = (X_i - X_{RTi}) / S_{RTi}$$

X_i = mean value of the sample

X_{RTi} = assigned value of the sample

S_{RTi} = Standard deviation of the sample

The zs must be used by the participating laboratory to evaluate its performance in the Ring Test carried out:

$|zs| \leq 2$ Satisfying

$2 < |zs| < 3$ Doubt

$|zs| \geq 3$ Unsatisfactory

Nel report sono evidenziati in arancione i valori di zs dubbi, in rosso quelli insoddisfacenti.

On the report, doubtful zs values are highlighted in orange, unsatisfactory ones in red.

Il Laboratorio Standard latte fornisce lo zs fisso, qualora disponibile, calcolato con lo scarto tipo fisso risultato delle medie delle varianze degli scarti tipo dei Ring test precedenti fino al 2022.

Laboratorio Standard Latte, where possible, also provides the fixed zs value, calculated by the fixed standard deviation resulting from the averages of the variances of the standard deviations of the previous Ring tests up to 2022.

Lo zs fisso permette di monitorare l'andamento del laboratorio nel tempo ed individuare le linee di tendenza (carta di controllo). Non ha scopo valutativo per il presente RT.

Fixed zs value allows to participants laboratory to monitor their own performance over time (it has no evaluation purpose for the PT).

La distanza euclidiana D rappresenta la dispersione dei valori intorno al valore assegnato:

The Euclidian distance D indicates how much the analytical result differs from the assigned value. it is calculated as:

$$D = \sqrt{(mdiff^2 + stdiff^2)}$$

$$D = \sqrt{(mdiff^2 + stdiff^2)}$$

m diff = la media aritmetica delle singole differenze
st diff= lo scarto tipo delle differenze

mdiff: average of the differences from the assigned value
stdiff: standard deviation of the differences from the assigned value.

Il valore di D ottenuto può essere utilizzato per valutare come il proprio laboratorio si è classificato rispetto all'andamento generale del ring test.

The D value can be used to evaluate its own performance by comparison with the other participants.

Nel caso in cui il numero dei campioni sia inferiore a 3 non è calcolata la D.

If the number of samples is less than 3, the D is not calculated.

INCERTEZZA DI MISURA

MEASUREMENT UNCERTAINTY

L'incertezza di misura $u(x)$ per campione viene calcolata secondo la formula:

The measurement uncertainty $u(x)$ per sample is calculated according to the following formula:

$$u(x) = s_{RT} / \sqrt{p}$$

$$u(x) = s_{RT} / \sqrt{p}$$

s_{RT} = scarto tipo del Ring Test
 p = numero di osservazioni valide

s_{RT} = Ring Test standard deviation
 p = number of useful observations

L'incertezza di misura viene pubblicata sul report finale solo se supera il criterio di accettabilità $u(x) < 0,3 * s_{RT}$.

The measurement uncertainty is published in the final report only if it exceeds the acceptability criterion $u(x) < 0.3 * s_{RT}$.

Nel caso in cui il criterio di accettabilità non sia rispettato il valore assegnato non è affidabile e non può essere fornita una valutazione dei laboratori per il parametro interessato. In tal caso viene fornito il valore della media, della deviazione standard e dello z score solo a titolo informativo.

If the acceptability criterion is not respected, the assigned value is not reliable and an evaluation of the laboratories for the parameter concerned cannot be provided. In this case, the mean, the standard deviation and the z score value is provided for information only.

Nel caso in cui la distribuzione dei risultati non sia unimodale oppure $p < 12$, l'incertezza di misura non può essere valutata.

In case the distribution of the results is not unimodal or $p < 12$, the measurement uncertainty cannot be evaluated.

RING TEST AFLATOSSINA M1 NEL LATTE

RTM1 280323

ELENCO LABORATORI PARTECIPANTI LIST OF PARTICIPANTS

A.G.A.LAB	HYPERION
AGENZIA VENETA PER L'INNOVAZIONE - VENETO AGRICOLTURA THIENE ANALYSIS A.C.	IST. ZOOPROFILATTICO BRESCIA
ASS. REGIONALE ALLEVATORI BASILICATA - POTENZA	IST. ZOOPROFILATTICO COSENZA
ASS.REGIONALE ALLEVATORI LOMBARDIA - CREMA	IST. ZOOPROFILATTICO PIACENZA
ASS.REGIONALE ALLEVATORI VENETO - PADOVA	IST.ZOOPROF.SPERIM. FUORNI-SA
ASS.REGIONALE ALLEVATORI PIEMONTE SEZ.CUNEO	IST.ZOOPROF.SPERIM.PUTIGNANO
ARIETE FATTORIA LATTE SANO	IST.ZOOPROFILATTICO TUORO
ARTEST	IST. ZOOPROFILATTICO TORINO - Centro latte
ASSOCIAZIONE ALLEV. FRIULI	LA CHIMICA
AURICCHIO	LAB. VAILATI
BIO RICERCHE DI PAPALINI SERGIO E C. SAS	LABORATORIO DI PALMA RAFFAELE
BIOCHEMICAL SERVICE	LABORATORIO NATURA
BIOS77 SNC	LATTE ARBOREA
C.I.A. LAB SRL	LATTEBUSCHE
CASEIFICIO MANCIANO	LATTERIA DI SOLIGO SAN DONA' DEL PIAVE
CASEIFICIO ZARPELLON	LATTERIA MONTELLO
CENTRALE DEL LATTE D'ITALIA - FIRENZE	LATTERIE VENETE
CENTRALE DEL LATTE D'ITALIA - TORINO	LATTERIE VICENTINE
CENTRALE LATTE D'ITALIA - SALERNO	LIFEANALYTICS - BATTIPAGLIA
CENTRALE LATTE VICENZA	LIFEANALYTICS - SIGNA - FIRENZE
CENTRO LATTIERO CASEARIO AGROALIMENTARE PARMA	LIFEANALYTICS - SOVIZZO
CHELAB	NUTRISERVICE SRL
CONS. LATTE VIRGILIO SOC.AGR.COOP	NUTRISTAR SpA
CONS. PROD. LATTE MAREMMA	PA.L.MER. SCARL
CONSULT SERVICE SRL	PROGNOSIS BIOTECH SA
CR&A	QUALITA' AMBIENTE & SICUREZZA SRLS
EPTANORD	SANA SRL FROSINONE
EUROQUALITY	STUDIO F2 SRL
FEDERAZIONE LATTERIE ALTO ADIGE BOLZANO	STUDIO SIMONAZZI
GRANAROLO BOLOGNA	TRENTINGRANA CONCAST
GRUPPO BUCCIARELLI	TREVILATTE
HELLINIC DAIRIES	

Laboratori partecipanti Number of participating laboratories	63
HPLC HPLC method	20
ELISA ELISA method	84
LATERAL FLOW Lateral Flow Method	7
Unità di misura Unit of measurement	ng/kg
Invio dei campioni Shipping date of the samples	28 Marzo
Data indicata per l'invio dei risultati Dates to send the results	7 Aprile
% dei risultati ricevuti nei limiti indicati % of results arrived on time	87%
Ultimi risultati ricevuti Last results received on	12 Aprile
Data emissione del report Dates for the publication of the report	24 Aprile
Giorni impiegati tra l'invio dei campioni e l'emissione del report Amount of days per elaboration	28
Coordinatore Coordinator	Barbara Magnani
Responsabile dell'emissione Manager	Annunziata Fontana

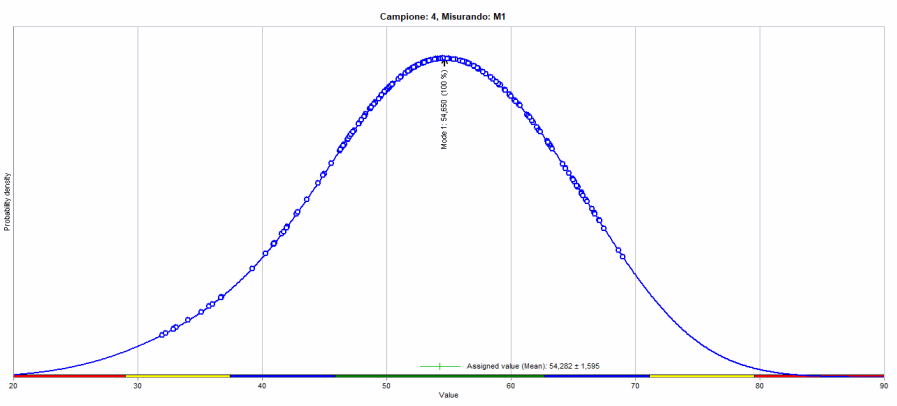
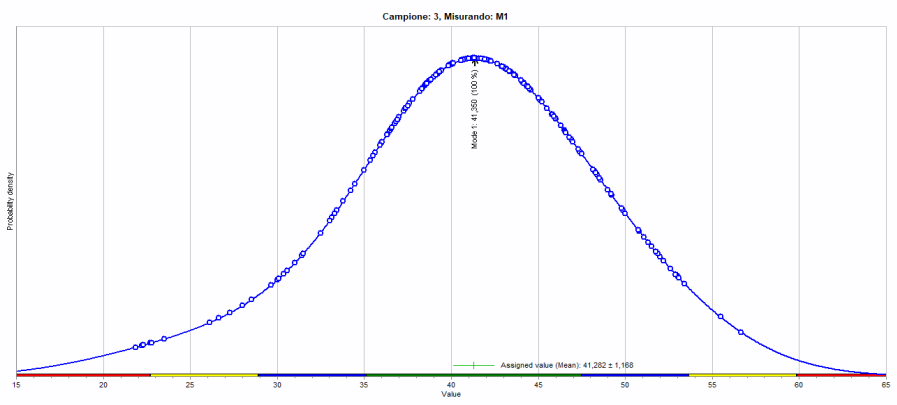
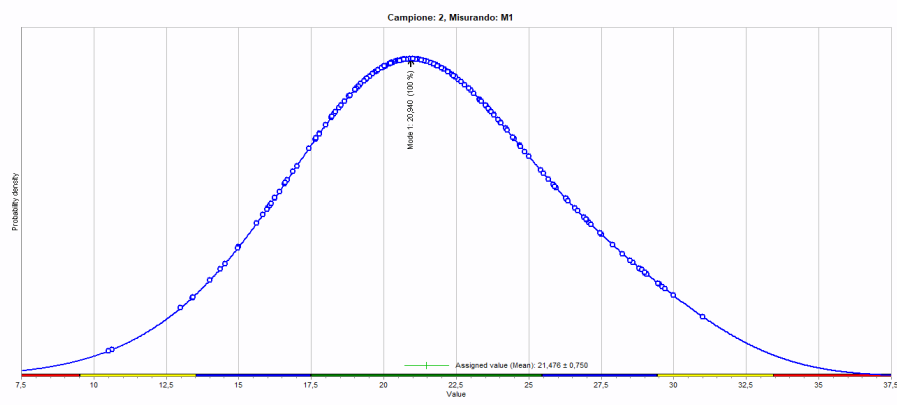
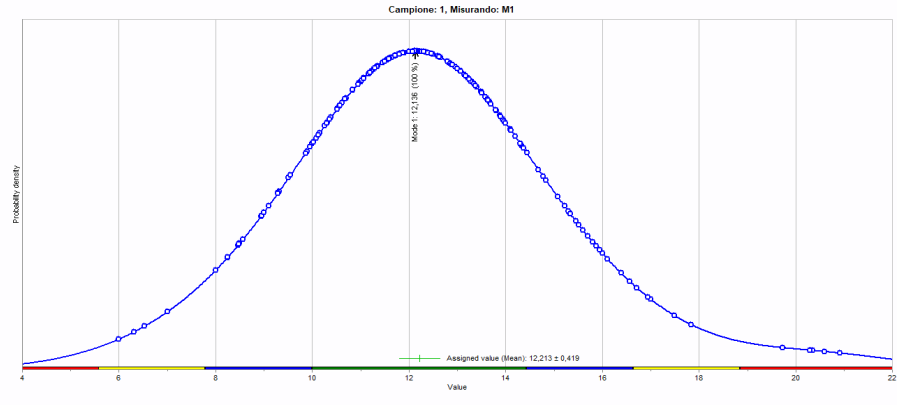
KIT ELISA	%
CHARM TEST	1%
GOLD STANDARD DIAGNOSTI	46%
HELICA BIOSYSTEM	3%
N.D.	3%
PROGNOSIS BIOTECH	37%
R-BIOPHARM	9%

RTM1 280323

DIAGRAMMA DI DENSITA' DI KERNEL

KERNEL DENSITY DIAGRAM

AFLATOSSINA M1 ng/kg
M1 AFLATOXIN ng/kg





RING TEST AFLATOSSINA M1 NEL LATTE M1 AFLATOXIN RING TEST IN MILK

AFLATOSSINA M1 ng/ka M1 AFLATOXIN M1 ng/kg

RISULTATI

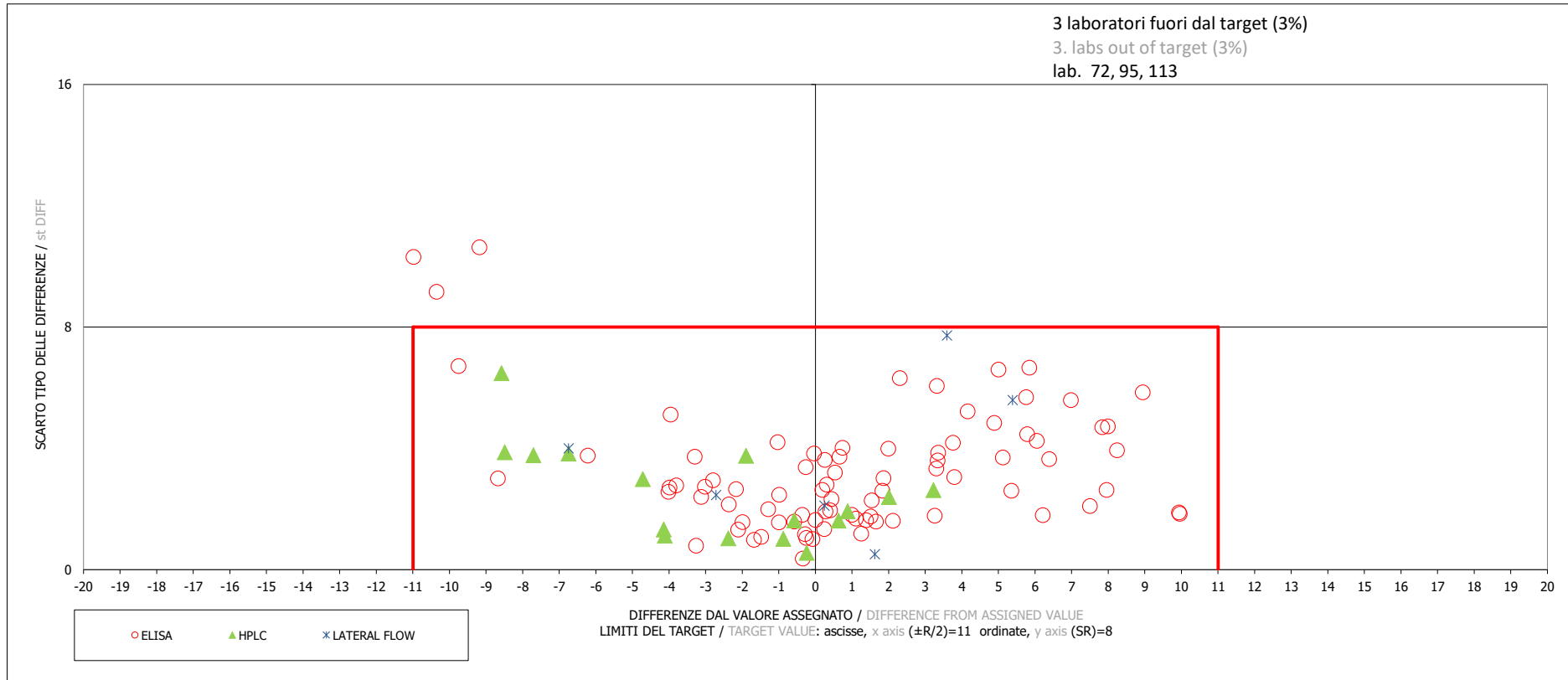
Table with columns: 1, ZS1, Outlier, 2, ZS2, Outlier, 3, ZS3, Outlier, 4, ZS4, Outlier, METODO/METHOD, KIT/%RECUPERO / % RECOVERY. Contains 119 rows of data with various values and method names like ELISA, HPLC, LATERAL FLOW.

Summary statistics table with columns: valore assegnato, n, sR, sr, R, r, sR relativa %, sr relativa %, % es soddisfacenti, % es dubbi, % es inaccettabili, % es inaccettabili, hanno riportato il risultato, n° of labo.

Legenda / Legend: sRT scarto tipo del Ring Test / standard deviation of the Ring Test; n numero delle osservazioni valide considerate nell'elaborazione statistica / number of useful observations; u: incertezza di misura / measurement uncertainty; sR scarto tipo di Riproducibilità / Reproducibility standard deviation; sr scarto tipo di Ripetibilità / repeatability standard deviation; R riproducibilità / Reproducibility; r ripetibilità / repeatability; sR relativa %: scarto tipo di riproducibilità relativo / relative reproducibility standard deviation; sr relativa %: scarto tipo di ripetibilità relativo / relative repeatability standard deviation; dato eliminato / pre-scrutinizzato / pre-scrutinized value.

RTM1 280323

DISPERSIONE DEI RISULTATI INTORNO AL VALORE ASSEGNATO
 DIFFERENCES FROM ASSIGNED VALUE
 Unità di misura ng/kg / unit of measurement ng/Kg

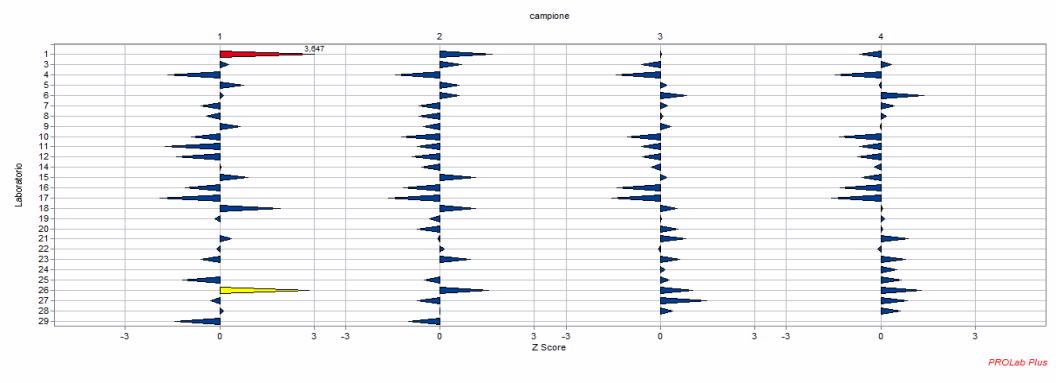


I LIMITI SONO STABILITI DALLA MEDIA PROGRESSIVA AGGIORNATA AL 2022, RIFERITO A TUTTI I METODI E TUTTI I LIVELLI DI AFLATOSSINA M1 (5-80ng/kg)
 TARGET VALUES DEFINED BY PROGRESSIVE MEAN TO 2022, FOR EVERY METHOD AND M1 AFLATOXIN CONCENTRATION (5-80 ng/Kg)

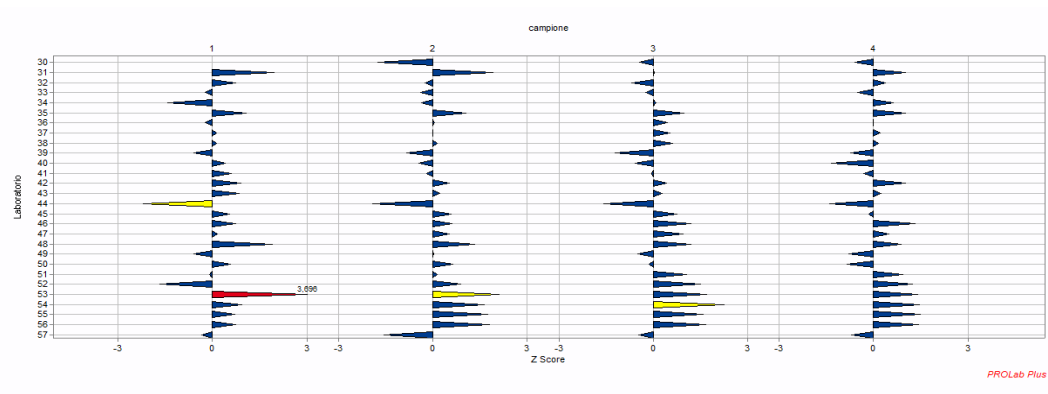
RTM1 280323

Z-SCORE

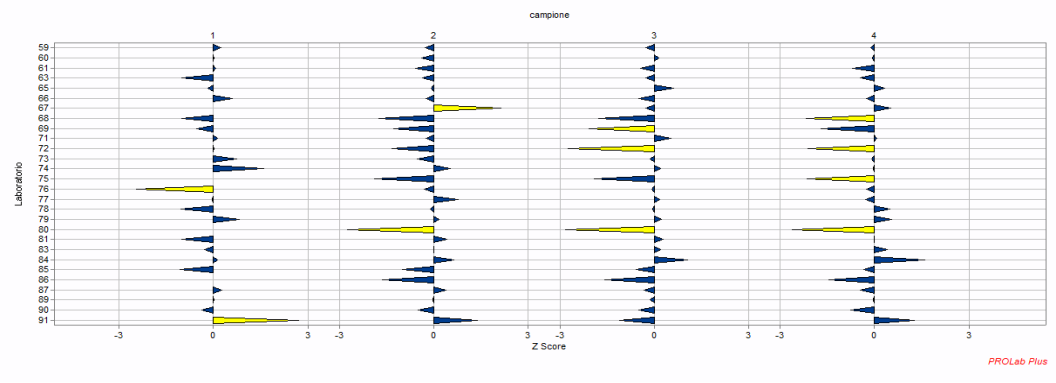
DAL LABORATORIO 1 AL 29



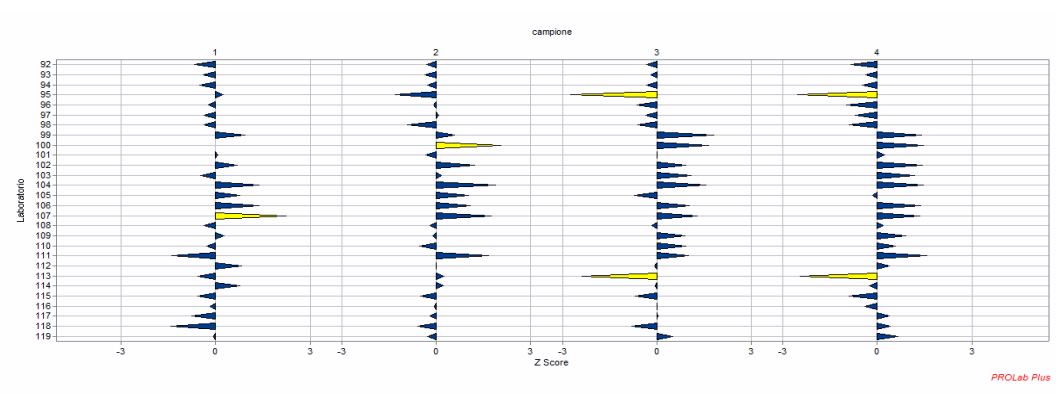
DAL LABORATORIO 30 AL 57



DAL LABORATORIO 59 AL 91



DAL LABORATORIO 92 AL 119

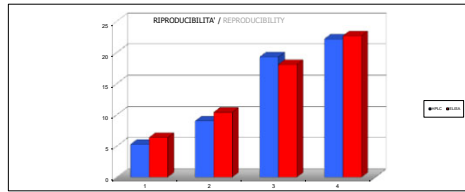
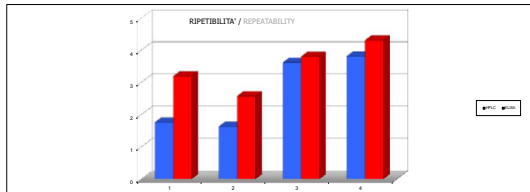
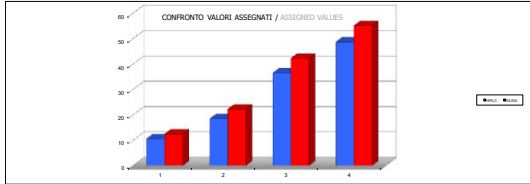


CONFRONTO ELISA-HPLC: VALORE ASSEGNATO, RIPETIBILITA' E RIPRODUCIBILITA' MARZO 2023

ELISA vs HPLC: ASSIGNED VALUE, REPEATABILITY AND REPRODUCIBILITY MARCH 2023

Campione/ sample	HPLC				
	val. ass.	r	R	S_{HPLC}	u
1	10,57	1,76	5,27	13	0,5
2	18,44	1,63	9,01	15	0,8
3	36,48	3,62	19,29	15	1,8
4	48,69	3,81	22,16	14	2,1

Campione/ sample	ELISA				
	val. ass.	r	R	S_{ELISA}	u
1	12,45	3,19	6,35	79	0,3
2	22,21	2,57	10,40	83	0,4
3	42,21	3,80	18,06	84	0,7
4	55,07	4,31	22,65	84	0,9



LEGENDA / LEGEND

r ripetibilità / repeatability
 R riproducibilità / reproducibility
 S_r scarto tipo della ripetibilità / repeatability standard deviation
 S_R scarto tipo della riproducibilità / reproducibility standard deviation
 n_{ELISA} Numero delle osservazioni valide per ELISA / number of useful observations for ELISA method
 n_{HPLC} Numero delle osservazioni valide per HPLC / number of useful observations for HPLC method
 u_{ELISA} incertezza di misura metodo ELISA / measurement uncertainty for ELISA method
 u_{HPLC} incertezza di misura metodo HPLC / measurement uncertainty for HPLC method

VALORI DELLA MEDIA PROGRESSIVA: RIPETIBILITA' E RIPRODUCIBILITA' 2006-2023

PROGRESSIVE MEAN: REPEATABILITY AND REPRODUCIBILITY 2006-2023

ELISA + HPLC	S_r	S_R	r	R
da 10 a 30 ng/Kg	1,28	4,68	3,59	13,11
da 31 a 55 ng/Kg	1,78	6,65	4,98	18,62
da 56 ng/Kg	2,54	8,63	7,12	24,18

ELISA	S_r	S_R	r	R
da 10 a 30 ng/Kg	1,36	3,88	3,80	10,87
da 31 a 55 ng/Kg	2,26	7,45	6,32	20,85
da 56 ng/Kg	2,95	10,90	8,27	30,51

HPLC	S_r	S_R	r	R
da 10 a 30 ng/Kg	1,16	5,28	3,26	14,77
da 31 a 55 ng/Kg	2,09	10,23	5,85	28,65
da 56 ng/Kg	2,06	14,87	5,77	41,63

ANDAMENTO RIPETIBILITA' E RIPRODUCIBILITA' 2006-2023

REPEATABILITY AND REPRODUCIBILITY RATE OVER THE TIME 2006- 2023

