

PROGRAMMA

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

RING TEST AFLATOSSINA B₁ NELLA FARINA DI MAIS

Maggio 2024

RTB₁ 280524

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 farina di mais.

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

G10I19 Guida all'interpretazione del Ring Test
Ed 03 Rev 00 31/01/23

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 corn flour.

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 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

Tutti i risultati outliers sono evidenziati in neretto.

outliers are highlighted in bold.

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

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

VALUTAZIONE DEI LABORATORI: ZSCORE E DISTANZA EUCLIDIANA D

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

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

X_i = media del campione i_{esimo}

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

$SRTi$ = 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

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

Il Laboratorio Standard latte fornisce lo zs fisso, qualora disponibile, calcolato con lo scarto tipo fisso risultato delle medie delle varianze degli

PERFORMANCE INDICATORS: Z-SCORE AND EUCLIDIAN DISTANCE D

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

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

X_i = mean value of the sample

X_{RTi} =assigned value of the sample

$SRTi$ = 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

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

Laboratorio Standard Latte, where possible, also provides the fixed zs value, calculated by the fixed standard deviation resulting from the

scarti tipo dei Ring test precedenti fino al 2022.

Lo z_s 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.

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

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

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

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

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

INCERTEZZA DI MISURA

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

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

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

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

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.

averages of the variances of the standard deviations of the previous Ring tests up to 2022.

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

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

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

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

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

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

MEASUREMENT UNCERTAINTY

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

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

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

The measurement uncertainty is published in the final report only if it exceeds the acceptability criterion $u(x) < 0,3 * s_{RT}$.

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 B1 NELLA FARINA DI MAIS

ELENCO LABORATORI PARTECIPANTI LIST OF PARTICIPANTS

ASSOCIAZIONE REGIONALE ALLEVATORI LOMBARDIA - CREMA
ASSOCIAZIONE REGIONALE ALLEVATORI PIEMONTE - CUNEO
ASSOCIAZIONE REGIONALE ALLEVATORI VENETO - PADOVA
BIOCHEMICAL SERVICE
CORFILAC
GI.MA SRL STAB. LONGIANO
GI.MA SRL STAB. RIPAMOLISANI
GI.MA SRL STAB. RUBIERA
GI.MA SRL STAB.CAVALLERMAGGIORE
LAB. ANALISI LATTE AGENZIA LAORE
LATTE ARBOREA
MOLINO PEILA
NUTRISERVICE SRL
PA.L.MER. SCARL
PROGNOSIS BIOTECH SA

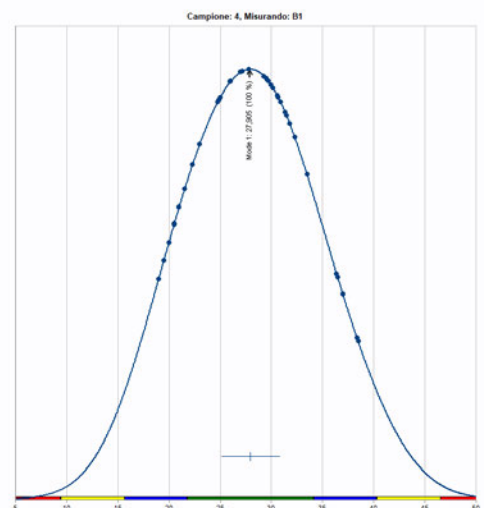
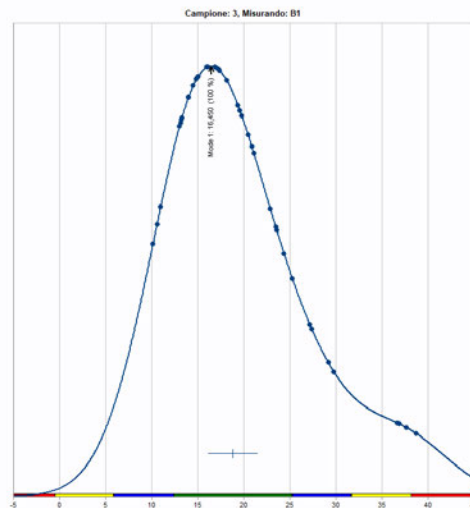
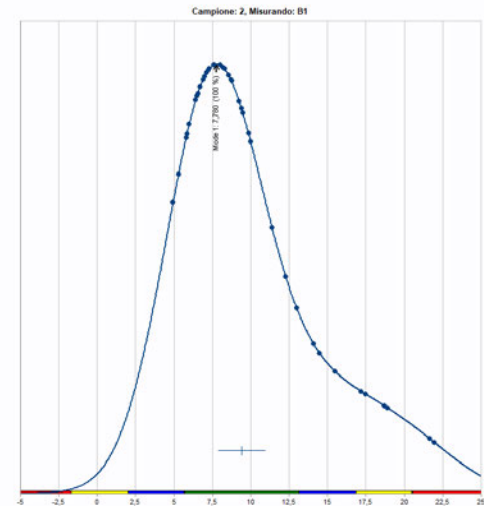
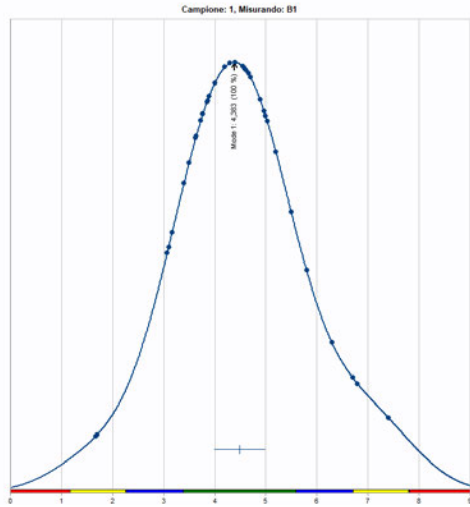
Laboratori partecipanti Number of participating laboratories	15
HPLC HPLC method	8
ELISA ELISA method	9
LATERAL FLOW Lateral Flow Method	6
Unità di misura Unit of measurement	µg/kg
Invio dei campioni Shipping date of the samples	28 Maggio 2024
Data indicata per l'invio dei risultati Dates to send the results	07 giugno 2024
% dei risultati ricevuti nei limiti indicati % of results arrived on time	80%
Ultimi risultati ricevuti Last results received on	10 giugno
Data emissione del report Dates for the publication of the report	14 giugno
Giorni impiegati tra l'invio dei campioni e l'emissione del report Amount of days per elaboration	17
Coordinatore Coordinator	Barbara Magnani
Responsabile dell'emissione Manager	Annunziata Fontana

KIT ELISA	%
GOLD STANDARD DIAGNOSTI	6%
N.D.	44%
PROGNOSIS BIOTECH	50%

DIAGRAMMA DI DENSITA' DI KERNEL

KERNEL DENSITY DIAGRAM

AFLATOSSINA B1 $\mu\text{g/kg}$

B1 AFLATOXIN $\mu\text{g/kg}$


RING TEST AFLATOSSINA B1 NELLA FARINA DI MAIS B1 AFLATOXIN RING TEST IN CORN FLOUR

AFLATOSSINA B1 µg/kg

B1 AFLATOXIN µg/kg

RISULTATI

RESULTS

	1	ZS1	Outlier	2	ZS2	Outlier	3	ZS3	Outlier	4	ZS4	Outlier	METODO/ METHOD	KIT/%RECUPERO/ % RECOVERY
1	3,76	-0,60		7,61	-0,54		24,85	0,70		31,20	0,59		ELISA	PROGNOSIS BIOTECH
2	3,25	-0,99		6,85	-0,71		17,20	-0,33		29,45	0,27		HPLC	97%
3	3,12	-1,10		7,39	-0,59		14,29	-0,72		25,41	-0,48		ELISA	GOLD STANDARD DIAGNOSTICS
4	3,75	-0,60		7,01	-0,67		13,22	-0,86		24,86	-0,58		HPLC	100%
5	4,64	0,09		8,72	-0,29		21,00	0,18		>25			ELISA	PROGNOSIS BIOTECH
6	3,75	-0,60		6,49	-0,79		13,14	-0,87		21,93	-1,12		HPLC	100%
7	10,12	4,37	Grubbs	20,19	2,30		37,81	2,43		27,51	-0,09		ELISA	PROGNOSIS BIOTECH
8	3,68	-0,66		5,40	-1,03		10,58	-1,22		19,75	-1,52		FLUORIMETRO	N.D.
9	4,25	-0,21		13,75	0,85		22,00	0,32		30,20	0,41		LATERAL FLOW	N.D.
10	4,85	0,26		11,85	0,42		16,55	-0,41		36,70	1,60		LATERAL FLOW	N.D.
11	7,40	2,25		17,35	1,66		27,30	1,03		31,60	0,66		LATERAL FLOW	N.D.
12	5,35	0,65		8,25	-0,39		16,50	-0,42		25,50	-0,46		ELISA	PROGNOSIS BIOTECH
13	4,35	-0,14		6,50	-0,79		14,50	-0,69		25,00	-0,55		FLUORIMETRO	VICAM
15	6,05	1,19		14,80	1,09		29,50	1,32		37,50	1,75		LATERAL FLOW	N.D.
17	1,68	-2,22		7,27	-0,61		14,95	-0,63		20,76	-1,33		HPLC	80%
18	4,50	-0,02		7,00	-0,67		15,00	-0,62		27,50	-0,09		LATERAL FLOW	N.D.
19	6,75	1,74		11,50	0,34		16,50	-0,42		>30			LATERAL FLOW	N.D.
20	N.R.			5,55	-1,00		10,80	-1,18		19,75	-1,52		HPLC	98%
21	4,58	0,05		9,45	-0,12		17,15	-0,33		31,44	0,63		HPLC	93%
22	4,79	0,21		9,56	-0,10		19,60	-0,01		35,94	1,46		ELISA	PROGNOSIS BIOTECH
23	4,96	0,34		8,66	-0,30		23,25	0,48		>25			ELISA	PROGNOSIS BIOTECH
24	5,00	0,37		8,10	-0,43		18,90	-0,10		>25			ELISA	PROGNOSIS BIOTECH
25	10,08	4,34	Grubbs	20,43	2,35		37,19	2,35		29,84	0,34		ELISA	PROGNOSIS BIOTECH

LIVELLO DI CONTAMINAZIONE	4	8	16	28
---------------------------	---	---	----	----

valore assegnato/ assigned value	4,52	9,99	19,64	27,99
s _{RT}	1,28	4,44	7,47	5,44
p	20	23	23	19
u	0,29	0,93	1,56	1,25
sR	1,29	4,49	7,48	5,53
sr	0,23	0,91	0,70	1,46
R	3,61	12,56	20,95	15,50
r	0,64	2,55	1,96	4,08
sR relativa % / relative sR %	29%	45%	38%	20%
sr relativa % / relative sr %	5%	9%	4%	5%
% zs soddisfacenti / % zs satisfying	82%	91%	91%	100%
% zs dubbi / % zs doubt	9%	9%	9%	0%
% zs insoddisfacenti / % zs unsatisfactory	9%	0%	0%	0%
n°laboratori che hanno riportato il risultato/ n° of labs	22	23	23	19

ATTENZIONE! I campioni 2 e 3 presentano lo scarto tipo relativo del Ring Test maggiore del 30%. Media, scarto tipo e z score sono forniti a solo scopo informativo e non hanno valenza statistica.

Legenda / Legend:

Livello di contaminazione	valore atteso
sRT	scarto tipo del Ring Test/ standard deviation of the Ring Test
p:	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 mancante / missing value
	Z SCORE 2< zs < 3
	Z SCORE ZS ≥3
prescr	dato eliminato con la prescrutinizzazione / pre-scrutinized value

COD	DIFFERENZE DAL VALORE ASSEGNATO DIFFERENCES FROM ASSIGNED VALUE			
	1	2	3	4
1	-0,76	-2,38	5,21	3,21
2	-1,27	-3,14	-2,44	1,46
3	-1,40	-2,60	-5,36	-2,58
4	-0,77	-2,98	-6,42	-3,14
5	0,11	-1,27	1,36	--
6	-0,77	-3,50	-6,50	-6,07
7	5,60	10,20	18,17	-0,49
8	-0,85	-4,59	-9,07	-8,24
9	-0,27	3,77	2,36	2,21
10	0,33	1,87	-3,09	8,71
11	2,88	7,37	7,66	3,61
12	0,83	-1,74	-3,14	-2,49
13	-0,17	-3,49	-5,14	-2,99
15	1,53	4,82	9,86	9,51
17	-2,84	-2,71	-4,69	-7,23
18	-0,02	-2,99	-4,64	-0,49
19	2,23	1,52	-3,14	--
20	--	-4,44	-8,84	-8,24
21	0,06	-0,54	-2,49	3,44
22	0,27	-0,43	-0,04	7,95
23	0,44	-1,33	3,61	--
24	0,48	-1,89	-0,74	--
25	5,56	10,45	17,55	1,85

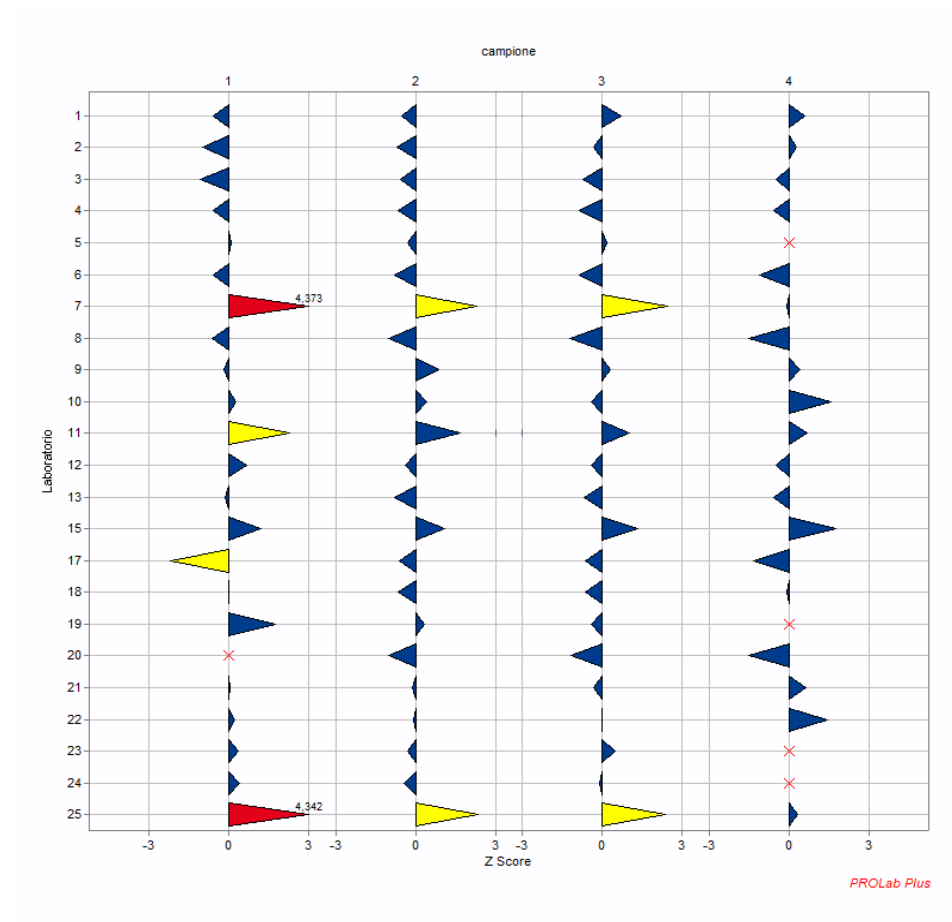
m diff	st diff	D
1,32	3,50	3,74
-1,35	2,02	2,43
-2,99	1,68	3,42
-3,33	2,33	4,06
--	--	--
-4,21	2,65	4,97
8,37	7,86	11,48
-5,69	3,77	6,82
2,01	1,68	2,62
1,95	4,96	5,33
5,38	2,49	5,92
-1,64	1,74	2,39
-2,95	2,07	3,60
6,43	3,99	7,57
-4,37	2,11	4,85
-2,04	2,17	2,98
--	--	--
-7,17	2,39	7,56
0,12	2,47	2,47
1,94	4,02	4,46
--	--	--
--	--	--
8,85	6,78	11,15

ORDINAMENTO LAB / LAB RANKING			
ORD	COD	D	%
1	12	2,39	5%
2	2	2,43	11%
3	21	2,47	16%
4	9	2,62	21%
5	18	2,98	26%
6	3	3,42	32%
7	13	3,60	37%
8	1	3,74	42%
9	4	4,06	47%
10	22	4,46	53%
11	17	4,85	58%
12	6	4,97	63%
13	10	5,33	68%
14	11	5,92	74%
15	8	6,82	79%
16	20	7,56	84%
17	15	7,57	89%
18	25	11,15	95%
19	7	11,48	100%
20	5	--	--
21	19	--	--
22	23	--	--
23	24	--	--

-- dato mancante / missing value

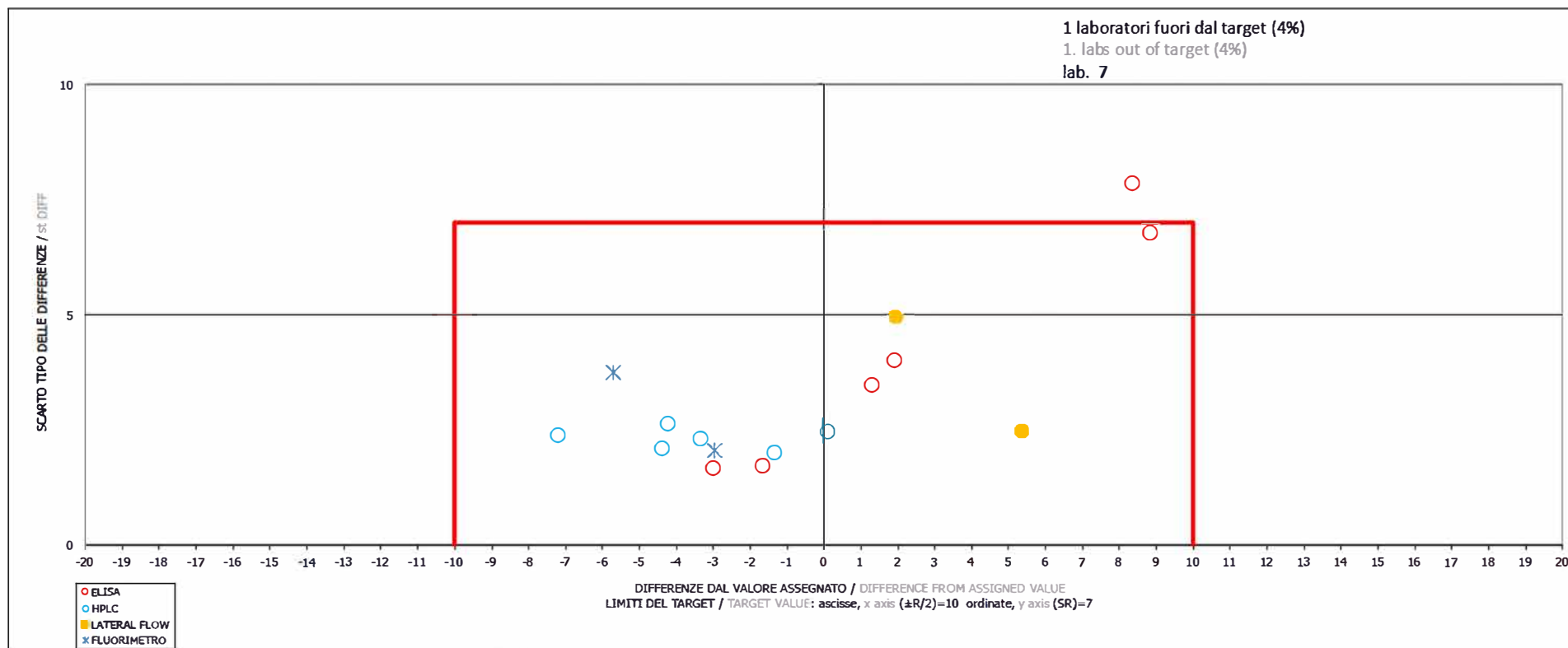
ATTENZIONE! I campioni 2 e 3 presentano lo scarto tipo relativo del Ring Test maggiore del 30%. Media, scarto tipo e z score sono forniti a solo scopo informativo e non hanno valenza statistica.

Z-SCORE



DISPERSIONE DEI RISULTATI INTORNO AL VALORE ASSEGNATO

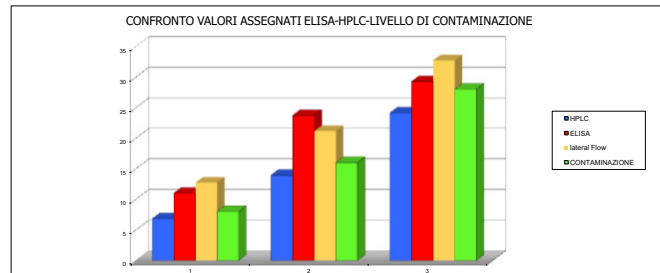
DIFFERENCES FROM ASSIGNED VALUE

Unità di misura $\mu\text{g/kg}$ / unit of measurement $\mu\text{g/Kg}$


I LIMITI SONO STABILITI DALLA MEDIA PROGRESSIVA AGGIORNATA AL 2022, RIFERITO A TUTTI I METODI E TUTTI I LIVELLI DI AFLATOSSINA B1 (2-50 $\mu\text{g/kg}$)
TARGET VALUES DEFINED BY PROGRESSIVE MEAN TO 2022, FOR EVERY METHOD AND B1 AFLATOXIN CONCENTRATION (2-50 $\mu\text{g/Kg}$)

CONFRONTO ELISA-HPLC: VALORE ASSEGNATO, RIPETIBILITA' E RIPRODUCIBILITA' MAGGIO 2024

Campione	HPLC media	ELISA media	Lateral Flow media	LIVELLO DI CONTAMINAZIONE
1	3,6	4,5	5,6	4
2	6,8	11,0	12,7	8
3	13,9	23,7	21,1	16
4	24,1	29,2	32,7	28



VALORI DELLA MEDIA PROGRESSIVA: RIPETIBILITA' E RIPRODUCIBILITA' 2006-2024

	S _r	S _R	r	R
fino a 20 µg/Kg	0,70	3,97	1,99	11,23
da 21 a 40 µg/Kg	1,48	9,12	4,19	25,80

LEGENDA
r ripetibilità
R riproducibilità
S_r scarto tipo della ripetibilità
S_R scarto tipo della riproducibilità

ANDAMENTO RIPETIBILITA' E RIPRODUCIBILITA' 2006-2024 - TUTTI I METODI

