



**Associazione Italiana Allevatori  
Laboratorio Standard Latte**

# PROGRAMMA

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

# RING TEST AFLATOSSINA B1

# lotto RTB1 240919

**VIA DELL'INDUSTRIA SNC - 00054 MACCARESE ROMA**  
Tel. 06 6678830 Fax. 06 6678811 e-mail [ls1@aia.it](mailto:ls1@aia.it)



## **Associazione Italiana Allevatori Laboratorio Standard Latte**

### INDICE

Indice.....	pag. 2
Norme e documenti di riferimento.....	pag. 3
Guida all'interpretazione del Ring Test.....	pag. 4
Valutazione del Ring Test .....	pag. 7
Elenco laboratori .....	pag. 8
Incertezza di misura.....	pag. 9
Ranking .....	pag.10
Confronto ELISA HPLC.....	pag.11
Ripetibilità e Riproducibilità.....	pag.12
Eaborazione generale.....	pag.13
Grafici.....	pag.14



## **Associazione Italiana Allevatori Laboratorio Standard Latte**

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:

- ILAC - G13: 2007 (Guidelines for the requirements for the competence of providers of proficiency testing schemes);
- ISO 5725 – 2: 1994 – Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – part 2;
- 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)

Il Responsabile del Laboratorio  
(Dott.ssa Annunziata Fontana)



## Associazione Italiana Allevatori Laboratorio Standard Latte

### GUIDA ALL'INTERPRETAZIONE DEL RING TEST

La pagina seguente riporta una tabella come esempio di elaborazione dei risultati di analisi di un Ring Test.

La comprensione della legenda risulterà agevolata se si consulterà contemporaneamente il testo e la tabella.

1. Numero di identificazione del laboratorio che viene assegnato ad ogni Ring Test. La chiave identificativa viene comunicata via e-mail ed è riportata in calce all'elenco dei laboratori partecipanti.
2. Numero identificativo dei campioni. Sequenzialmente è riportata la prima e la seconda ripetizione di analisi.
3. Media delle due ripetizioni e media aritmetica di tutti i risultati di analisi (m lab).
4. Nel riquadro che è stampato in tutte le pagine, sono riportate: la media aritmetica (Media), il valore minimo (Min), quello massimo (Max), lo scarto tipo (ST) e il valore assegnato (Val Ass). Quest'ultimo è rappresentato dalla mediana ed è considerato il valore a cui far riferimento per tutte le elaborazioni e confronti. Nei calcoli eseguiti non sono considerati i campioni outlier.
5. I valori dei campioni outlier al test di Mandel, Cochran e di Grubbs sono stampati in grassetto.
6. Risultato mancante, sostituito con il corrispondente valore della mediana, al fine di poter calcolare lo Z Score della media dei risultati. Le cifre sono inserite in un riquadro.
7. Valore di Z Score = media dei risultati di analisi per laboratorio - VAL ASS/ ST , distinto in:
  - ✓ ZS CAMP = z score campione ottenuto utilizzando lo scarto tipo delle medie dei singoli campioni.
  - ✓ ZS LAB = z score laboratorio ottenuto utilizzando lo scarto tipo delle medie dei laboratori.



## Associazione Italiana Allevatori Laboratorio Standard Latte

8. In questa parte dell'elaborato si riportano:
- ✓ la differenza di ogni singolo campione dal valore assegnato riportato nel riquadro (v. punto 4);
  - ✓ la media aritmetica delle singole differenze (m diff);
  - ✓ lo scarto tipo delle differenze (st diff);
  - ✓ la distanza euclidiana (D) o distanza dagli assi, calcolata come radice quadrata della somma dei quadrati di m diff e st diff.

$$D = \sqrt{m\text{diff}^2 + st\text{diff}^2}$$

UNITA' DI MISURA ng/kg (ppt)

# HPLC

1

2

LAB	52	53	54	55	56	57*	58*	59*	60*	61*	62*	63*	64	65	66*	67	68
1	11,00	11,11	<5	11,00	15,17	12,52	7,78	8,61	9,99	10,19	9,74	8,74	N.Q < 10	< 6	13,72	7,760	
2	17,00	27,77	11,20	16,00	26,03	20,87	16,72	16,62	15,98	20,00	17,81	16,50	13,70	14,60	22,02	16,950	25,00
3	41,00	39,40	36,80	37,00	28,07	43,30	21,43	30,84	27,97	36,31	33,44	28,16	27,40	26,10	37,34	27,410	45,00
4	33,00	66,50	29,80	40,00	34,61	52,91	40,21	38,98	35,96	41,84	41,55	34,95	31,60	33,10	51,83	32,310	58,00
1	10,00	8,10	<5	15,00	12,78	12,82	7,91	8,55	9,99	10,39	10,06	9,71	N.Q < 10	< 6	15,38	7,230	13,00
2	16,00	27,20	11,40	19,00	21,89	21,07	16,54	17,50	15,98	18,35	17,48	16,50	13,70	15,80	21,75	14,680	25,00
3	45,00	45,40	34,40	32,00	29,79	43,40	26,07	28,32	29,97	37,96	32,86	29,13	26,30	34,40	36,74	26,000	43,00
4	32,00	61,20	24,50	48,00	30,76	52,04	38,53	39,05	37,96	41,65	39,76	33,98	33,70	41,20	52,08	30,450	55,00

MEDIA DELLE DUE RIPETIZIONI

3

LAB	52	53	54	55	56	57*	58*	59*	60*	61*	62*	63*	64	65	66*	67	68
1	10,50	9,61	10,44	13,00	13,98	12,67	7,84	8,58	9,99	10,29	9,90	9,22	10,14	10,14	14,55	7,50	12,50
2	16,50	27,49	11,30	17,50	23,96	20,97	16,63	17,06	15,98	19,17	17,64	16,50	13,70	15,05	21,88	15,82	25,00
3	43,00	42,40	35,60	34,80	28,93	43,35	23,75	29,58	28,97	37,14	33,15	28,64	26,85	30,25	37,04	26,77	44,00
4	32,80	63,85	27,15	44,00	32,69	52,48	39,37	39,01	36,96	41,75	40,36	34,47	32,65	37,15	51,96	31,38	56,80
m lab	25,63	35,84	21,05	27,25	24,89	32,31	21,90	23,56	22,97	27,09	25,26	22,21	20,83	23,15	31,36	20,35	34,50

MEDIA	MIN	MAX	ST	VALORE ASSEGNATO
10,72	7,50	14,55	2,25	10,14
18,36	11,30	27,49	4,23	17,06
33,76	23,75	44,00	6,54	33,15
40,84	27,15	63,85	10,00	39,01
26,80	20,35	35,84	4,90	25,44

4

7

Z SCORE CALCOLATO CON IL VALORE ASSEGNATO

LAB	52	53	54	55	56	57*	58*	59*	60*	61*	62*	63*	64	65	66*	67	68
ZS CAMP 1	0,160	-0,238	0,000	1,273	1,707	1,126	-1,023	-0,693	-0,067	0,067	-0,108	-0,408	0,000	0,000	1,963	-1,177	1,051
ZS CAMP 2	-0,132	2,466	-1,362	0,104	1,632	0,925	-0,101	0,000	0,255	0,501	0,139	-0,131	0,794	-0,475	1,141	-0,294	1,878
ZS CAMP 3	1,507	1,415	0,374	0,206	-0,646	1,560	-1,433	-0,546	-0,641	0,609	0,000	-0,690	-0,964	-0,444	0,595	-0,987	1,660
ZS CAMP 4	-0,652	2,484	-1,187	0,499	-0,633	1,346	0,036	0,000	-0,206	0,273	0,134	-0,455	-0,637	-0,186	1,294	-0,764	1,749
ZS LAB	0,037	-2,120	-0,897	0,369	-0,114	1,413	-0,724	-0,385	-0,504	0,335	-0,037	-0,660	-0,940	-0,469	1,207	-1,040	1,848

DIFFERENZE DAL VALORE ASSEGNATO

8

LAB	52	53	54	55	56	57*	58*	59*	60*	61*	62*	63*	64	65	66*	67	68
1	0,36	-0,53	0,000	2,86	3,84	2,53	-2,30	-1,56	-0,15	0,15	-0,24	-0,92	0,000	0,000	4,41	-2,64	2,36
2	-0,54	10,43	-5,76	0,44	6,90	3,91	-0,43	0,00	-1,08	2,12	0,59	-0,55	-3,36	-2,01	4,83	-1,24	7,94
3	9,85	9,25	2,45	1,35	-4,22	10,20	-9,40	-3,57	-4,19	3,98	0,00	-4,51	-6,30	-2,90	3,89	-6,45	10,85
m diff	0,78	10,99	-3,79	2,41	0,05	7,53	-2,94	-1,28	-1,87	2,25	0,42	-2,63	-4,01	-1,69	6,52	-4,49	9,66
st diff	6,767	10,454	6,386	1,987	6,331	5,176	4,448	1,693	1,731	1,598	0,706	2,196	3,017	1,219	4,301	3,037	6,295
D	6,813	15,171	7,428	3,122	6,331	9,133	5,334	2,124	2,546	2,756	0,822	3,429	5,015	2,087	7,807	5,423	11,529



## Associazione Italiana Allevatori Laboratorio Standard Latte

### VALUTAZIONE DEL RING TEST

Il laboratorio può valutare la propria performance considerando i valori di:

**OUTLIER:** individuando se i suoi dati siano o meno outliers.

**ZS LAB:** da riportare su una carta di controllo e per monitorare in quale categoria di ZS rientra il Laboratorio. (Pure Appl. Chem. Vol. 78, n°1 pp.145-196, 2006)

$ Z  < 2$	Soddisfacente
$2 <  Z  < 3$	Dubbio
$ Z  > 3$	Insoddisfacente

**D:** per valutare come il proprio laboratorio si è classificato rispetto all'andamento generale del ring test.



ASSOCIAZIONE ITALIANA ALLEVATORI  
LABORATORIO STANDARD LATTE

RING TEST AFLATOSSINA B1 NEL MAIS  
lotto RTB1 240919

ELENCO LABORATORI PARTECIPANTI

AGRIZOOTEC  
ASS.REGIONALE ALLEVATORI PADOVA  
ASS.REGIONALE ALLEVATORI POTENZA  
ASSEGNATARI ASSOCIATI ARBOREA  
LABORATORIO GAMMA  
LABORATORIO STANDARD LATTE  
MOLINO PEILA  
NUTRISERVICE  
PA.L.MER SCARL  
PROGNOSIS BIOTECH SA  
STUDIO F2 SRL

Laboratori partecipanti	13
Sessioni di lavoro per HPLC	4
Sessioni di lavoro per ELISA	9
Unità di misura	µg/kg
Invio dei campioni	24 settembre
Data indicata per l'invio dei risultati	4 ottobre
% dei risultati ricevuti nei limiti indicati	85%
Ultimi risultati ricevuti	8 ottobre
Invio delle elaborazioni statistiche	14 ottobre
Giorni impiegati tra l'invio dei campioni e l'elaborazione	21
Responsabile dell'elaborazione	Barbara Magnani

KIT ELISA UTILIZZATI	%
CHARM TEST	11%
PROGNOSIS BIOTECH LTD	33%
R-BIOPHARM	33%
TECNA	23%



## INCERTEZZA DI MISURA

Camp.	Val. ass.	Oss	IC	±U
1	<lim.rilevabilità	--	--	--
2	7,2	13	0,6	1,3
3	13,9	13	1,0	2,0
4	22,3	13	1,8	3,5

L'omogeneità è stata valutata considerando la varianza delle pesate dell'inoculo della soluzione contaminante

**Legenda:**

**Val ass.:** Indica il valore assegnato, derivato da entrambe le metodiche ELISA ed HPLC, a cui far riferimento per tutte le elaborazioni e confronti.

**Oss:** Numero delle osservazioni valide considerate nell'elaborazione statistica

**IC:** Intervallo di confidenza è il rapporto dello scarto tipo di riproducibilità e la radice quadrata del numero delle osservazioni considerate.

**± U:** Si assume come incertezza estesa del valore assegnato il valore dell'intervallo di confidenza  $p = 95\%$   $k = 2$ .



RING TEST  
AFLATOSSINA B1  
SETTEMBRE '19

## ORDINAMENTO DEI LABORATORI

HPLC ED ELISA			
ORD	LAB	D	%
1	8	0,50	8%
2	6	0,64	15%
3	11	0,96	23%
4	2	1,32	31%
5	9	2,52	38%
6	3	3,04	46%
7	10	3,09	54%
8	4	3,15	62%
9	1	4,25	69%
10	5	5,05	77%
11	7	6,06	85%
12	12	6,29	92%
13	10	10,36	100%

	HPLC
	ELISA
	LATERAL FLOW TEST

### LEGENDA:

ORD = ordinamento;

D = distanza euclidiana dall'origine degli assi.

$$\sqrt{(m \text{ diff})^2 + st^2}$$

dove: **m diff** = m lab - valore assegnato;

**st** = scarto tipo delle differenze

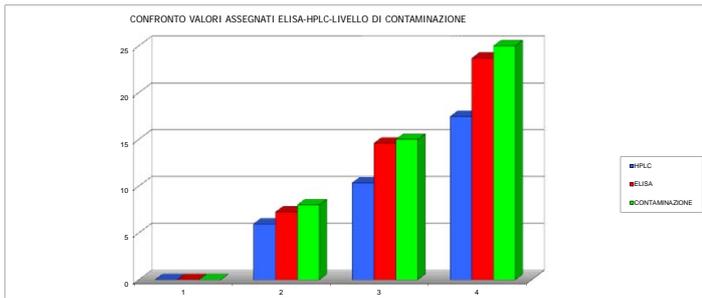
I valori all'interno del riquadro sono relativi a laboratori che hanno almeno un valore sostituito con il valore assegnato



RING TEST  
AFLATOSSINA B1  
SETTEMBRE '19

### CONFRONTO ELISA-HPLC: VALORE ASSEGNATO, RIPETIBILITA' E RIPRODUCIBILITA' MARZO 2019

Campione	HPLC			ELISA			LIVELLO DI CONTAMINAZIONE
	val. ass.	S <sub>r</sub>	S <sub>R</sub>	val. ass.	S <sub>r</sub>	S <sub>R</sub>	
1	negativo	N.A.	N.A.	negativo	N.A.	N.A.	NEGATIVO
2	6,0	N.A.	N.A.	7,2	0,25	2,04	8
3	10,4	N.A.	N.A.	14,6	0,34	1,69	15
4	17,5	N.A.	N.A.	23,7	0,82	4,53	25

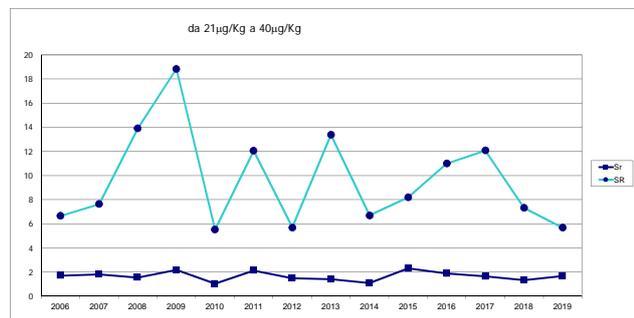
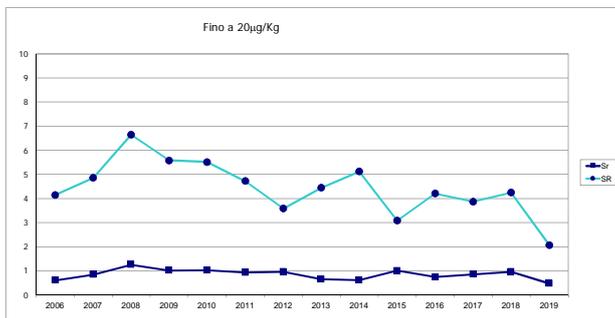


LEGENDA  
r  
R  
S<sub>r</sub>  
S<sub>R</sub>

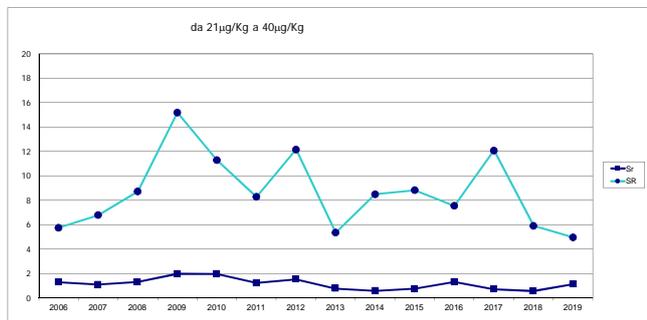
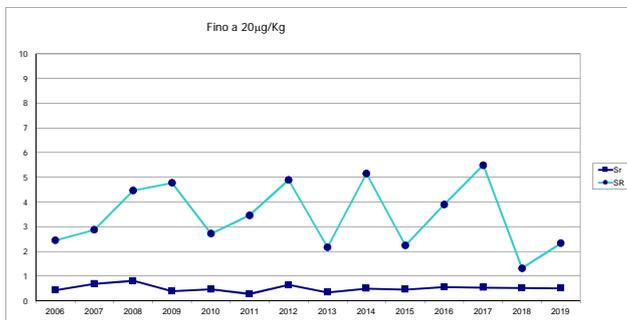
ripetibilità\*  
riproducibilità  
scarto tipo della ripetibilità  
scarto tipo della riproducibilità

### ANDAMENTO SCARTO TIPO DI RIPETIBILITA' E RIPRODUCIBILITA' 2006-2019

#### ELISA



#### HPLC





RING TEST  
AFLATOSSINA B1  
SETTEMBRE '19

RIPETIBILITA', RIPRODUCIBILITA', OUTLIERS Unità di misura: µg/kg

## TUTTI I METODI

Campione	Lab. Utili	Media	r	R	Sr	SR	RSDr	RSDR	RSDL	Out
1*	--	camp.negativo	--	--	--	--	--	--	--	--
2	13	7,03	0,66	6,61	0,23	2,33	3,30	33,22	33,06	
3	13	13,68	0,87	10,39	0,31	3,67	2,25	26,83	26,74	
4	13	22,18	2,01	17,89	0,711	6,32	3,20	28,49	28,31	

NON CI SONO LABORATORI OUTLIERS

## ELISA

Campione	Lab. Utili	Media	r	R	Sr	SR	RSDr	RSDR	RSDL	Out
1*	--	camp.negativo	--	--	--	--	--	--	--	--
2	9	7,42	0,72	5,78	0,25	2,04	3,42	27,53	27,32	
3	9	14,82	0,96	4,79	0,34	1,69	2,29	11,42	11,19	
4	9	24,06	2,32	12,83	0,82	4,53	3,41	18,84	18,53	

VALORI DELLA MEDIA PROGRESSIVA  $s_r$  e  $s_R$  2006-2019

TOTALE DATI: 1792

ELISA	$S_r$	$S_R$	r	R
fino a 20 µg/Kg	0,88	4,57	2,49	12,92
da 21 a 40 µg/Kg	1,70	10,36	4,82	29,31

## HPLC

Campione	Lab. Utili	Media	r	R	Sr	SR	RSDr	RSDR	RSDL	Out
1*	--	camp.negativo	--	--	--	--	--	--	--	--
2		NON APPLICABILE								
3		NON APPLICABILE								
4		NON APPLICABILE								

VALORI DELLA MEDIA PROGRESSIVA  $s_r$  e  $s_R$  2006-2019

TOTALE DATI: 2088

HPLC	$S_r$	$S_R$	r	R
fino a 20 µg/Kg	0,53	3,68	1,50	10,40
da 21 a 40 µg/Kg	1,25	9,15	3,52	25,89

\*CAMPIONE 1 NEGATIVO

LEGENDA

r	ripetibilita'
R	riproducibilita'
Sr	scarto tipo della ripetibilita'
SR	scarto tipo della riproducibilita'
RSDr	ripetibilita' espressa in unita' di media
RSDR	riproducibilita' espressa in unita' di media
RSDL	frazione di RSDR dovuta alla differenza fra i laboratori
OUT	outlier



RING TEST  
AFIATOSSINA B1  
SETTEMBRE '19

## GENERALE (ELISA E HPLC)

Unità di misura: µg/kg

codice	2	3	6	7	8	9	10	11	12	1	4	5	10
1*	<1	<0,5	<lim.rilevabilità	<2	0,00	0,00	<1	<lim.rilevabilità	<1	<LOQ	0,00	< 0,5	<1
2	7,36	7,70	7,09	3,32	7,20	8,00	6,90	7,30	11,52	6,00	6,10	9,82	2,57
3	14,37	13,98	13,05	17,54	14,60	15,00	13,89	13,47	18,10	9,40	11,10	18,82	4,64
4	24,05	27,54	21,88	28,44	22,60	19,00	17,54	23,95	31,88	16,90	17,90	28,88	7,76
1*	<1	<0,5	<lim.rilevabilità	<2	0,00	0,00	<1	<lim.rilevabilità	<1	<LOQ	0,00	< 0,5	<1
2	8,21	7,40	7,21	3,43	7,00	8,00	7,37	7,18	11,31	6,00	5,80	10,20	2,66
3	14,92	13,64	12,75	16,31	14,60	15,00	13,84	13,68	18,10	9,50	11,40	18,73	5,17
4	24,41	26,24	22,26	30,97	22,00	19,00	17,80	23,42	30,13	17,00	18,00	28,52	8,68

KIT ELISA E  
%RECUPERO HPLC R-BIOPHARM PROGNOSSIS PROGNOSSIS R-BIOPHARM R-BIOPHARM CHARM TEST TECNA PROGNOSSIS TECNA 83% 98% 95% 100%

\*L'ELABORAZIONE DEL CAMPIONE N.1, CAMPIONE NEGATIVO, E' RIPORTATA A SOLO SCOPO INFORMATIVO

MEDIA DELLE DUE RIPETIZIONI

codice	2	3	6	7	8	9	10	11	12	1	4	5	10
1*	<1	<0,5	im.rilevabil	<2	0,00	0,00	<1	m.rilevabil	<1	<LOQ	0,00	< 0,5	<1
2	7,79	7,55	7,15	3,38	7,10	8,00	7,14	7,24	11,42	6,00	5,95	10,01	2,62
3	14,65	13,81	12,90	16,93	14,60	15,00	13,87	13,57	18,10	9,45	11,25	18,78	4,91
4	24,23	26,89	22,07	29,71	22,30	19,00	17,67	23,68	31,01	16,95	17,95	28,70	8,22
m lab	15,55	16,08	14,04	16,67	14,67	14,00	12,89	14,83	20,17	10,80	11,72	19,16	5,25

GENERALE						LIVELLO DI CONTAMINAZIONE NEGATIVO
MEDIA	MIN	MAX	ST	VAL. ASS		
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8
7,03	2,62	11,42	2,33	7,15	7,15	15
13,68	4,91	18,78	3,66	13,87	13,87	25
22,18	8,22	31,01	6,30	22,30	22,30	
14,29	5,25	20,17	4,42	14,67	14,67	--

Z SCORE CALCOLATO CON IL VALORE ASSEGNATO

codice	2	3	6	7	8	9	10	11	12	1	4	5	10
ZS CAMP2	0,272	0,171	0,000	-1,622	-0,022	0,364	-0,007	0,038	1,831	-0,495	-0,516	1,228	-1,949
ZS CAMP3	0,213	-0,015	-0,264	0,835	0,201	0,310	0,000	-0,079	1,156	-1,205	-0,714	1,340	-2,446
ZS CAMP4	0,306	0,729	-0,037	1,175	0,000	-0,524	-0,735	0,220	1,382	-0,849	-0,690	1,016	-2,235
ZS LAB	0,201	0,321	-0,142	0,453	0,000	-0,151	-0,402	0,038	1,247	-0,875	-0,668	1,018	-2,133

DIFFERENZE DAL VALORE ASSEGNATO

codice	2	3	6	7	8	9	10	11	12	1	4	5	10
2	0,63	0,40	0,00	-3,78	-0,05	0,85	-0,02	0,09	4,26	-1,15	-1,20	2,86	-4,54
3	0,78	-0,05	-0,97	3,06	0,73	1,14	0,00	-0,29	4,24	-4,42	-2,62	4,91	-8,96
4	1,93	4,59	-0,23	7,41	0,00	-3,30	-4,63	1,38	8,71	-5,35	-4,35	6,40	-14,08
m diff	1,11	1,64	-0,40	2,23	0,23	-0,44	-1,55	0,39	5,73	-3,64	-2,72	4,72	-9,19
st diff	0,71	2,56	0,51	5,64	0,44	2,48	2,67	0,88	2,57	2,20	1,58	1,78	4,78
D	1,32	3,04	0,64	6,06	0,50	2,52	3,09	0,96	6,29	4,25	3,15	5,05	10,36

LEGENDA:



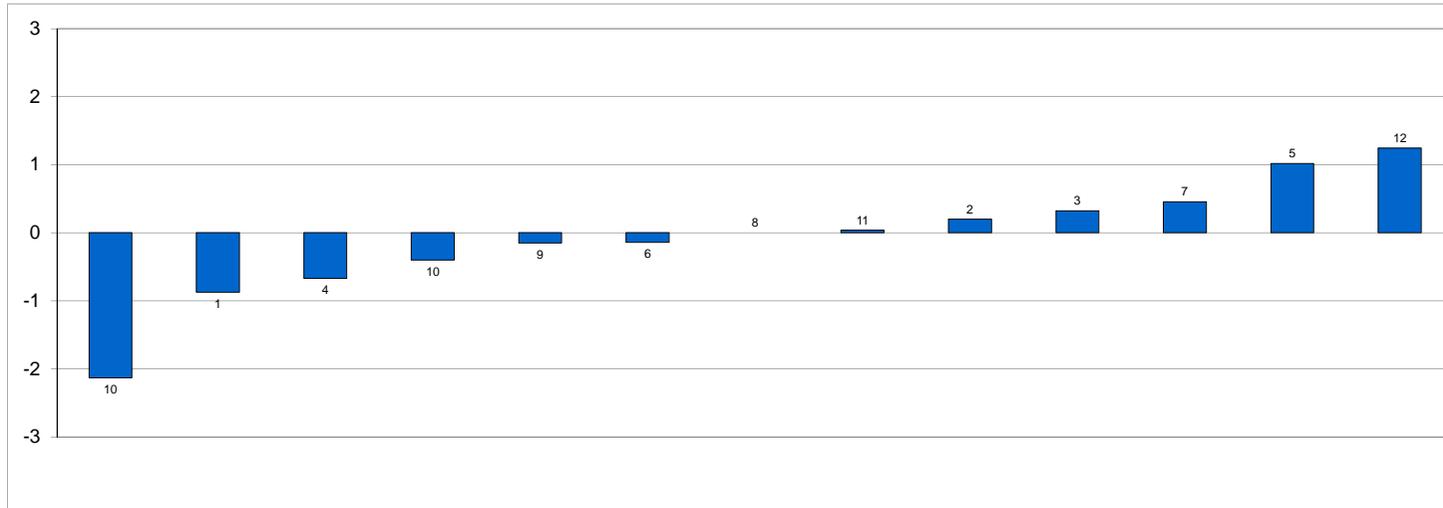
RISULTATI PER SINGOLO METODO

HPLC				
MEDIA	MIN	MAX	ST	VAL. ASS
0,00	0,00	0,00	--	0,00
6,14	2,62	10,01	3,03	5,98
11,10	4,91	18,78	5,77	10,35
17,96	8,22	28,70	8,39	17,45
11,73	5,25	19,16	6,13	11,26

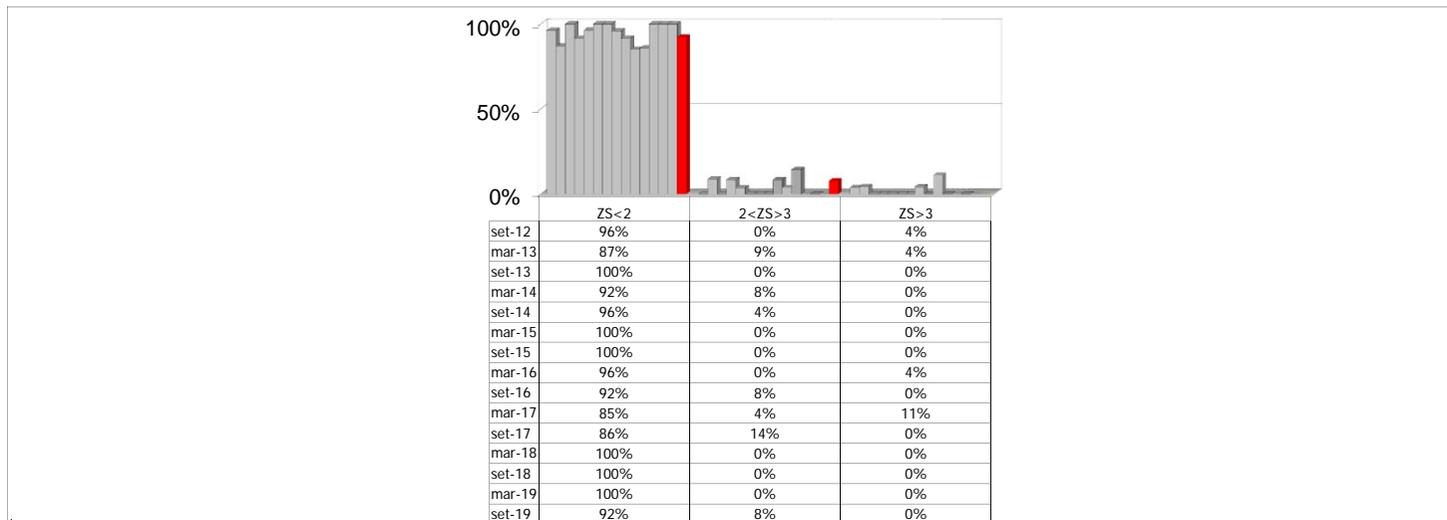
ELISA				
MEDIA	MIN	MAX	ST	VAL. ASS
0,00	0,00	0,00	--	0,00
7,42	3,38	11,42	2,03	7,24
14,82	12,90	18,10	1,68	14,60
24,06	17,67	31,01	4,50	23,68
15,43	12,89	20,17	3,01	14,83

# ELISA ED HPLC - Z SCORE

## Z-SCORE LABORATORI



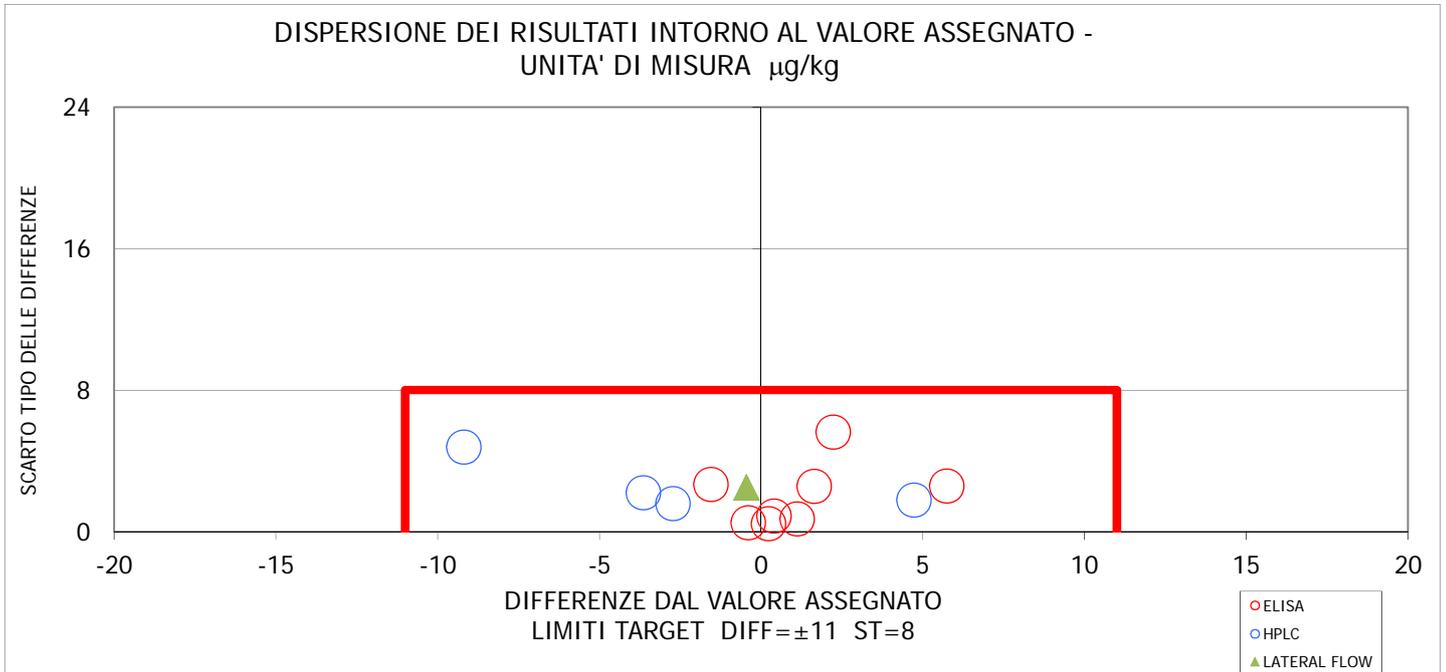
## FREQUENZE % CLASSI Z-SCORE ELISA ED HPLC





RING TEST  
AFLATOSSINA B1  
SETTEMBRE '19

# ELISA ED HPLC



I LIMITI SONO STABILITI DALLA MEDIA PROGRESSIVA CALCOLATA DAL 2006 AL 2019, RIFERITO A TUTTI I METODI E TUTTI I LIVELLI DI AFLATOSSINA B1 (fino a  $40\mu\text{g}/\text{kg}$ )

