



**Associazione Italiana Allevatori
Laboratorio Standard Latte**

PROGRAMMA

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

RING TEST AFLATOSSINA B1 NEL MAIS

Settembre 2021

RTB1 280921

VIA DELL'INDUSTRIA snc - 00054 MACCARESE ROMA
Tel. 06 6678830 Fax. 06 6678811 e-mail 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
Elenco laboratori	pag. 8
Incertezza di misura.....	pag. 9
Confronto ELISA HPLC.....	pag.10
Dati.....	pag.11
Elaborazione generale (ELISA ed HPLC).....	pag.12



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:

- ISO 5725 – 2:2019 – Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – part 2;
- ISO 13528:2015 – 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
(Dott.ssa Annunziata Fontana)



Associazione Italiana Allevatori Laboratorio Standard Latte

GUIDA ALL'INTERPRETAZIONE DEL RING TEST

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 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, in conformità alla norma ISO 13528 - Stastical Methods for Use in Proficiency Testing by Interlaboratory Comparisons, per ciascun lotto.

E' stata verificata la normalità della distribuzione per ciascun lotto attraverso il test di Kolmogorov Smirnov, con esito positivo.

A pagina 11 sono riportati i dati tal quali inviati dai laboratori partecipanti. La valutazione della performance del laboratorio viene calcolata sulla media delle repliche.

La pagina 7 illustra 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 per email ad ogni Ring Test.
2. Numero identificativo dei campioni
3. media delle due ripetizioni
4. In grassetto i valori di tutti i campioni outliers.
Prima di procedere al calcolo degli outliers per il test di Cochran e Grubbs, si eliminano i dati del laboratorio che presentano una differenza dalla media di tutti i risultati maggiore di 3 volte lo scarto tipo per quel campione (pre-scrutinizzazione).
5. Nel riquadro, sono riportate le statistiche ottenute dalla media delle repliche di ciascun partecipante (risultati):
 - a) Val ass: valore assegnato corrisponde alla media aritmetica dei risultati. E' considerato il valore a cui far riferimento per tutte le elaborazioni e confronti
 - b) st: scarto tipo, deviazione standard dei risultati
 - c) Min: valore minimo di tutti i risultati
 - d) Max; valore massimo di tutti i risultati
 - e) p = numero delle osservazioni valide
 - f) u = incertezza di misura di ciascun lotto

Nei calcoli eseguiti non sono considerati i valori 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**
- **valore minimo e Massimo**



Associazione Italiana Allevatori Laboratorio Standard Latte

6. Z Score: z_s del campione ottenuto utilizzando lo scarto tipo dei risultati:

$$ZS = (x_i - x_{RTi})/st_i$$

x_i = media del campione i_{esimo}

x_{RTi} = valore assegnato del campione i_{esimo} (media dei risultati)

st_i = scarto tipo del campione i_{esimo} (deviazione standard dei risultati esclusi gli outliers)

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

$ z_s \leq 2$	Soddisfacente
$2 < z_s < 3$	Dubbio
$ z_s \geq 3$	Insoddisfacente

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

Il Laboratorio Standard latte fornisce lo z_s fisso, qualora disponibile, calcolato con lo scarto tipo fisso, risultato delle medie delle varianze degli scarti tipo dei Ring test precedenti fino al 2018.

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.

7. In questa parte dell'elaborato si riportano:

- ✓ la differenza di ogni singolo campione dal valore assegnato
- ✓ 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.

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

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.



Associazione Italiana Allevatori Laboratorio Standard Latte

INCERTEZZA DI MISURA

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

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

st= scarto tipo del Ring Test ottenuto dai risultati dei laboratori esclusi gli outliers

p = numero di osservazioni valide

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

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 dello z score solo a titolo informativo.

Nel caso in cui $p < 12$ l'incertezza di misura non può essere valutata.



RING TEST

5 GENERALE (TUTTI I METODI)				
	1	2	3	4
VAL ASS.(MEDIA)	12,90	23,13	38,31	44,73
ST	3,30	4,84	7,57	7,72
MIN	8,00	14,35	26,82	30,50
MAX	22,00	31,37	63,55	61,00
p	33	34	33	34
u	0,57	0,83	1,32	1,32

1	2	3 MEDIA DEI CAMPIONI			
		1	2	3	4
1	20,33	29,30	45,28	46,00	
2	12,81	22,78	34,05	48,64	
3	14,27	19,56	33,55	41,75	
4	10,15	20,97	31,53	38,52	
5	11,08	21,04	38,13	43,04	
6	9,33	15,59	28,82	30,50	
7	12,50	21,45	37,00	40,90	
8	17,75	30,80	51,00	53,90	
9	13,50	26,00	38,50	43,00	
10	8,50	16,50	28,50	34,50	
11	11,64	20,52	38,31	44,44	
12	11,27	19,30	31,66	36,18	
13	9,39	19,36	33,57	31,10	
14	15,00	24,00	37,00	44,00	
15	11,00	20,00	34,50	42,00	
16	14,15	31,37	41,56	44,96	
17	16,00	28,50	46,50	60,50	
18	8,00	16,50	33,00	39,00	
19	11,75	20,72	31,78	36,43	
20	10,50	19,00	31,50	44,50	
21	9,31	19,24	35,82	41,73	
22	15,08	29,37	41,26	55,31	
23	17,50	29,37	47,00	61,00	
24	11,48	25,97	44,34	52,82	
25	14,00	24,00	39,50	46,50	
26	13,35	24,89	37,56	43,63	
27	22,00	28,00	63,55	53,90	
28	15,35	30,25	45,00	53,10	
29	11,33	14,35	26,82	37,81	
30	14,00	27,00	44,00	53,00	
31	10,94	22,98	37,61	43,61	
32	8,70	17,05	29,10	35,20	
33	--	22,50	38,50	48,00	
34	13,77	28,08	46,61	51,23	

6 ZSCORE			
ZS 1	ZS 2	ZS 3	ZS 4
2,25	1,28	0,92	0,16
-0,03	-0,07	-0,56	0,51
0,41	-0,74	-0,63	-0,39
-0,83	-0,45	-0,89	-0,80
-0,55	-0,43	-0,02	-0,22
-1,08	-1,56	-1,25	-1,84
-0,12	-0,35	-0,17	-0,50
1,47	1,58	1,68	1,19
0,18	0,59	0,03	-0,22
-1,33	-1,37	-1,30	-1,33
-0,38	-0,54	0,00	-0,04
-0,49	-0,79	-0,88	-1,11
-1,06	-0,78	-0,63	-1,77
0,64	0,18	-0,17	-0,09
-0,58	-0,65	-0,50	-0,35
0,38	1,70	0,43	0,03
0,94	1,11	1,08	2,04
-1,49	-1,37	-0,70	-0,74
-0,35	-0,50	-0,86	-1,08
-0,73	-0,85	-0,90	-0,03
-1,09	-0,80	-0,33	-0,39
0,66	1,29	0,39	1,37
1,40	1,29	1,15	2,11
-0,43	0,59	0,80	1,05
0,33	0,18	0,16	0,23
0,14	0,36	-0,10	-0,14
2,76	1,01	3,33	1,19
0,74	1,47	0,88	1,09
-0,48	-1,81	-1,52	-0,90
0,33	0,80	0,75	1,07
-0,60	-0,03	-0,09	-0,15
-1,27	-1,25	-1,22	-1,23
--	-0,13	0,03	0,42
0,26	1,02	1,10	0,84

7 DIFFERENZE DAL VALORE ASSEGNATO			
1	2	3	4
7,43	6,17	6,97	1,27
-0,09	-0,35	-4,26	3,91
1,37	-3,57	-4,76	-2,98
-2,75	-2,16	-6,78	-6,21
-1,82	-2,09	-0,18	-1,69
-3,57	-7,54	-9,49	-14,23
-0,40	-1,68	-1,31	-3,83
4,85	7,67	12,69	9,17
0,60	2,87	0,19	-1,73
-4,40	-6,63	-9,81	-10,23
-1,26	-2,61	0,00	-0,29
-1,63	-3,83	-6,65	-8,55
-3,51	-3,77	-4,74	-13,63
2,10	0,87	-1,31	-0,73
-1,90	-3,13	-3,81	-2,73
1,25	8,24	3,25	0,23
3,10	5,37	8,19	15,77
-4,90	-6,63	-5,31	-5,73
-1,15	-2,41	-6,53	-8,30
-2,40	-4,13	-6,81	-0,23
-3,59	-3,89	-2,49	-3,00
2,18	6,24	2,95	10,58
4,60	6,24	8,69	16,27
-1,42	2,84	6,03	8,09
1,10	0,87	1,19	1,77
0,45	1,76	-0,75	-1,10
9,10	4,87	25,24	9,17
2,45	7,12	6,69	8,37
-1,57	-8,78	-11,49	-6,92
1,10	3,87	5,69	8,27
-1,96	-0,15	-0,70	-1,12
-4,20	-6,08	-9,21	-9,53
--	-0,63	0,19	3,27
0,87	4,95	8,31	6,51

m diff	st diff	D
5,46	2,84	6,16
-0,19	3,34	3,34
-2,49	2,67	3,65
-4,47	2,36	5,05
-1,45	0,86	1,68
-8,71	4,43	9,77
-1,80	1,45	2,31
8,60	3,27	9,20
0,49	1,89	1,95
-7,76	2,76	8,24
-1,04	1,18	1,57
-5,16	3,05	6,00
-6,41	4,84	8,03
0,24	1,55	1,57
-2,89	0,80	3,00
3,24	3,56	4,82
8,11	5,52	9,81
-5,64	0,74	5,69
-4,60	3,37	5,70
-3,39	2,78	4,38
-3,24	0,63	3,30
5,49	3,83	6,69
8,95	5,16	10,34
3,89	4,15	5,68
1,24	0,38	1,29
0,09	1,29	1,30
12,10	8,99	15,07
6,16	2,57	6,68
-7,19	4,19	8,32
4,74	3,02	5,62
-0,98	0,77	1,25
-7,25	2,56	7,69
--	--	--
5,16	3,17	6,06

LEGENDA:
 CON - SI INDICANO DATI MANCANTI
 IN GRASSETTO I VALORI OUTLIERS
 IN ROSSO |ZS|>3
 IN ARANCIONE 2 < |zs| < 3



ASSOCIAZIONE ITALIANA ALLEVATORI
LABORATORIO STANDARD LATTE

RING TEST AFLATOSSINA B1 NEL MAIS

RTB1 280921

ELENCO LABORATORI PARTECIPANTI

ASS. REGIONALE ALLEVATORI BASILICATA - POTENZA

ASS. REGIONALE ALLEVATORI PIEMONTE SEZ.CUNEO

ASS. REGIONALE ALLEVATORI VENETO - PADOVA

LAB. ANALISI LATTE AGENZIA LAORE

LABORATORIO NIRO

LATTE ARBOREA

NUTRISERVICE SRL

STUDIO F2 SRL

Laboratori partecipanti	8
Sessioni di lavoro per HPLC	3
Sessioni di lavoro per ELISA	8
Unità di misura	µg/kg
Invio dei campioni	28 Settembre
Data indicata per l'invio dei risultati	08 Ottobre
% dei risultati ricevuti nei limiti indicati	63%
Ultimi risultati ricevuti	14 ottobre
Data emissione elaborato del Ring Test	4 novembre
Giorni impiegati tra l'invio dei campioni e l'elaborazione	37
Responsabile dell'elaborazione	Barbara Magnani

KIT ELISA UTILIZZATI	%
LATERAL FLOW	13%
EUROFINS TECNA	61%
PROGNOSIS BIOTECH	13%
R-BIOPHARM	13%



**RING TEST
AFLATOSSINA B1
RTB1 280921**

INCERTEZZA DI MISURA

aflatossina B1 $\mu\text{g}/\text{kg}$				
Camp.	Valore assegnato	p	st	u
1	27,74	11	7,78	n.a.
2	6,99	11	1,50	n.a.
3	14,31	11	2,70	n.a.
4	camp. Negativo	--	--	--

Omogeneità del lotto è stata verificata, in conformità alla norma ISO 13528 - Stastical Methods for Use in Proficiency Testing by Interlaboratory Comparisons, attraverso la determinazione dell'aflatossina M1 con metodica ELISA, con esito positivo.

Si dichiara che è stato effettuato, alla scadenza della data di esecuzione del Ring Test il test di stabilità dei campioni con esito positivo

Per $p < 12$ non può essere valutata l'incertezza di misura

Legenda:

Val ass.:

Indica il valore assegnato a cui far riferimento per tutte le elaborazioni e confronti.

p: Numero delle osservazioni valide considerate nell'elaborazione statistica

st: scarto tipo del Ring Test

u: incertezza di misura

n.a. non applicabile

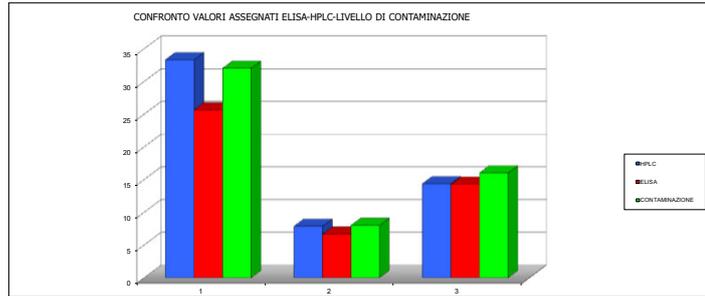


RING TEST
AFLATOSSINA B1
RTB1 280921

CONFRONTO ELISA-HPLC: VALORE ASSEGNATO, RIPETIBILITA' E RIPRODUCIBILITA' SETTEMBRE 2021

Campione	HPLC			ELISA			LIVELLO DI CONTAMINAZIONE
	val. ass.	S _r	S _R	val. ass.	S _r	S _R	
1	33,3	N.A.	N.A.	25,6	N.A.	N.A.	32
2	7,9	N.A.	N.A.	6,7	N.A.	N.A.	8
3	14,4	N.A.	N.A.	14,3	N.A.	N.A.	16
4	negativo	N.A.	N.A.	negativo	N.A.	N.A.	NEGATIVO

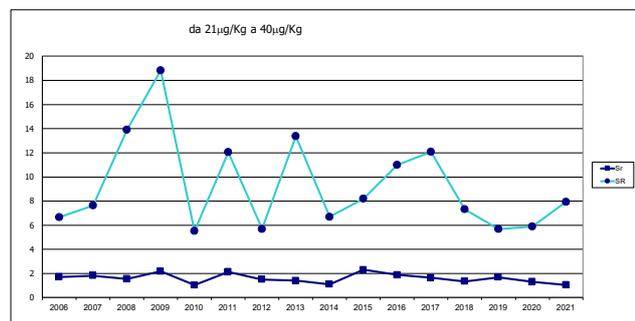
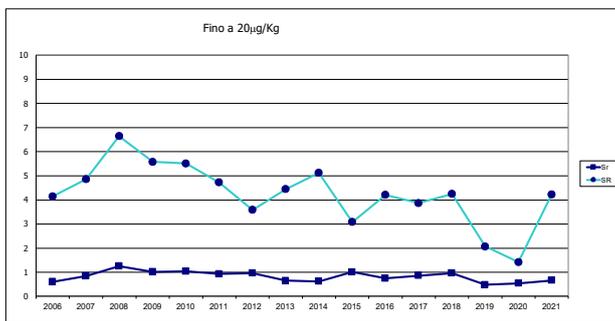
N.A. non applicabile per p<12



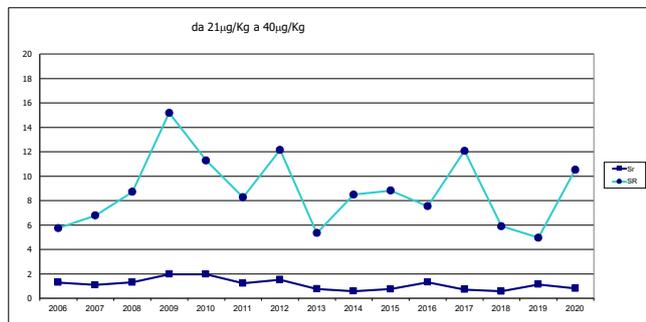
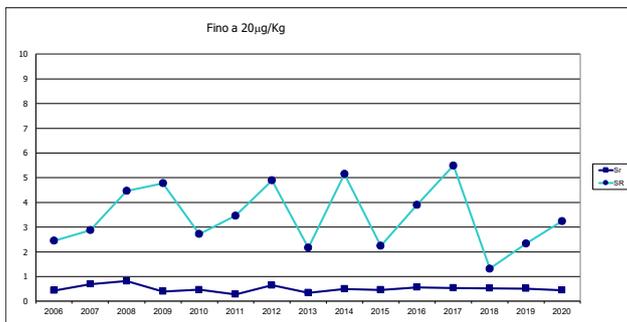
LEGENDA
r ripetibilità
R riproducibilità
S_r scarto tipo della ripetibilità
S_R scarto tipo della riproducibilità

ANDAMENTO SCARTO TIPO DI RIPETIBILITA' E RIPRODUCIBILITA' 2006-2021 - ULTIMI DATI MARZO 2021

ELISA



HPLC





DATI ELISA e HPLC

UNITA' DI MISURA µg/kg (ppb)

codice	I ripetizione				II ripetizione				kit ELISA e % recupero HPLC
	1	2	3	4	1	2	3	4	
2	40,00	7,44	18,48	<0,5	36,96	8,24	18,50	<0,5	PROGNOSIS BIOTECH
3	15,38	4,80	10,52	<1	16,81	4,38	10,33	<1	EUROFINS TECNA
3	28,76	6,67	11,47	<0,1	27,10	6,38	12,61	<0,1	100%
4	29,89	7,84	14,47	<1	26,83	8,31	15,63	<1	EUROFINS TECNA
6	38,11	8,20	14,94	<1,5	37,81	8,30	14,19	<1,5	80%
7	18,49	5,36	10,70	<1	19,19	5,19	11,19	<1	EUROFINS TECNA
8	24,00	8,00	18,00	0,00	23,00	8,00	17,00	0,00	LATERAL FLOW
9	33,50	8,85	16,45	0,30	34,60	8,75	16,52	0,30	98%
10	29,84	7,37	13,45	<1	32,04	6,48	14,31	<1	R-BIOPHARM
11	30,19	7,49	15,47	<1	31,53	8,20	16,51	<1	EUROFINS TECNA
12	17,83	4,95	11,65	<1	18,41	4,58	12,35	<1	EUROFINS TECNA

	HPLC
	ELISA
	LATERAL FLOW TEST



GENERALE (ELISA e HPLC)

	GENERALE (TUTTI I METODI)			
	1	2	3	4
VAL.ASS	27,74	6,99	14,31	camp. negativo
st	7,78	1,50	2,70	--
MIN	16,10	4,59	10,43	--
MAX	38,48	8,80	18,49	--
p. contaminazione	11	11	11	--
livello contaminazione	32,00	8,00	16,00	--

	ELISA			
	1	2	3	4
VAL.ASS	25,65	6,67	14,29	camp. negativo
st	7,80	1,53	3,00	--
MIN	16,10	4,59	10,43	--
MAX	38,48	8,08	18,49	--
p. contaminazione	8	8	8	--
livello contaminazione	32,00	8,00	16,00	--

	HPLC			
	1	2	3	4
VAL.ASS	33,31	7,86	14,37	camp. negativo
st	5,06	1,18	2,23	--
MIN	27,93	6,53	12,04	--
MAX	37,96	8,80	16,49	--
p. contaminazione	3	3	3	--
livello contaminazione	32,00	8,00	16,00	--

COD	MEDIA DEI CAMPIONI			
	1	2	3	4
2	38,48	7,84	18,49	<0,5
3	16,10	4,59	10,43	<1
3	27,93	6,53	12,04	<0,1
4	28,36	8,08	15,05	<1
6	37,96	8,25	14,57	<1,5
7	18,84	5,28	10,95	<1
8	23,50	8,00	17,50	0,00
9	34,05	8,80	16,49	0,30
10	30,94	6,93	13,88	<1
11	30,86	7,85	15,99	<1
12	18,12	4,77	12,00	<1

COD	DIFF DAL VAL.ASS			
	1	2	3	4
2	10,74	0,85	4,18	n.a.
3	-11,64	-2,40	-3,88	n.a.
3	0,19	-0,46	-2,27	n.a.
4	0,62	1,09	0,74	n.a.
6	10,22	1,26	0,26	n.a.
7	-8,90	-1,71	-3,36	n.a.
8	-4,24	1,01	3,19	n.a.
9	6,31	1,81	2,18	n.a.
10	3,20	-0,06	-0,43	n.a.
11	3,12	0,86	1,68	n.a.
12	-9,62	-2,22	-2,31	n.a.

LEGENDA:

ELISA

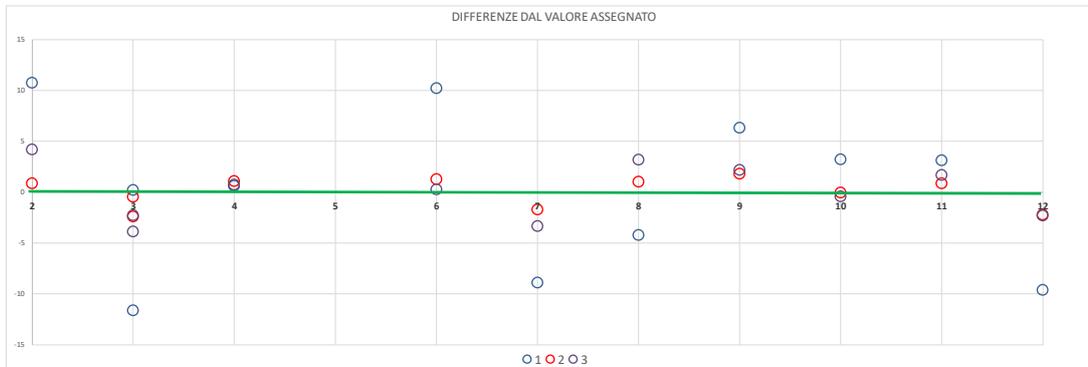
HPLC

LATERAL FLOW

-- DATO MANCANTE

n.a. non applicabile

I VALORI DELLA MEDIA, ST, MIN E MAX, SUDDIVISI PER METODO, ELISA O HPLC, SONO FORNITI A SCOLO SCOPO INFORMATIVO



NEL GRAFICO SONO RIPORTATE LE DIFFERENZE DI CIASCUN CAMPIONE DAL CORRISPONDENTE VALORE ASSEGNATO (ZERO SULL'ASSE DELLE ORDINATE)

Per p<12 viene eseguita una statistica descrittiva senza la valutazione della performance del laboratorio partecipante. E' calcolato solamente: valore assegnato, st, min e max. A solo scopo informativo viene fornita la differenza di ciascun risultato dal corrispondente valore assegnato.