

Giugno / 2014

**Report Circuito AQUA MA 3-14 BIS
Schema microbiologia alimentare**

Circuito interlaboratorio AQUA MA 3-14 BIS

PTP accreditato ACCREDIA n. 0004

Responsabile Circuito interlaboratorio AQUA Microbiologia alimentare
Dr.ssa Maria Grimaldi Fax 049 8830484 Tel. 049 8084306
e-mail mgrimaldi@izsvenezie.it

Responsabile tecnico
Dr.ssa Romina Trevisan Fax 049 8830484 Tel. 049 8084303-306
e-mail rtrevisan@izsvenezie.it

Responsabile statistico
Dr.ssa Marzia Mancin Fax 049 8830268 Tel. 049 8084252
e-mail crev.mmancin@izsvenezie.it

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie
Centro Servizi alla Produzione
V.le dell'Università 10 – 35020 LEGNARO (PD)
www.izsvenezie.it

Circuito interlaboratorio AQUA MA 3-14 BIS

PTP accreditato ACCREDIA n. 0004

Report definitivo

1. Composizione e controllo dei campioni

Matrice latte liofilizzato

<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 29428
-----------------------------	------------

Le prove di omogeneità e stabilità sono state eseguite con le seguenti metodiche:

Conta di <i>Campylobacter</i> spp.	ISO/TS 10272-2:2006
------------------------------------	---------------------

Omogeneità verificata per la deviazione standard target $\sigma_t = 0.25$

Il campione risulta omogeneo per $\sigma_t = 0.25$ in quanto la stima del valore della varianza campionaria $s_{sam} = 0.00939$ risulta inferiore al valore di accettabilità $c = 0.02742$ ottenuto dalla combinazione della varianza analitica $s_{an} = 0.017$ e σ_t .

Stabilità verificata per la deviazione standard target $\sigma_t = 0.29$

Il campione risulta stabile per $\sigma_t = 0.29$ in quanto la differenza assoluta della media dei valori osservati al primo e terzo giorno pari a 0.086 risulta inferiore al valore di accettabilità pari a $0.3 \sigma_t$.

I valori di omogeneità e stabilità sono calcolati secondo "The international harmonized protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories (IUPAC technical report, 2006)".

2. Risospensione dei campioni

1. Risospendere il campione liofilizzato con 2 ml di diluente (Soluzione Triptone o altro diluente usato abitualmente in laboratorio).
 2. Lasciare il campione a temperatura ambiente per 15-20 minuti.
 3. Mescolare accuratamente il campione sul vortex.
 4. Prelevare 1 ml ed aggiungerli a 25 ml dello stesso diluente (totale 26 ml): la sospensione ottenuta rappresenta l'alimento tal quale (latte), da cui partire per la determinazione.
 5. Mescolare accuratamente il campione e procedere subito con le determinazioni.
- Seminare per spatolamento 0,1 ml delle diluizioni: alimento tal quale (latte), 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} .

Data inizio analisi dal 16/06/2014 al 18/06/2014.

Circuito interlaboratorio AQUA MA 3-14 BIS

PTP accreditato ACCREDIA n. 0004

3. Determinazioni e valori attesi

I valori attesi, anticipati nel report parziale, sono dati dalla mediana dei risultati ottenuti dalle prove di stabilità eseguite dall'organizzatore del circuito AQUA MA.

Determinazione	Valore atteso
Conta di <i>Campylobacter</i> spp.	360 UFC/ml

4. Determinazioni e valori assegnati

I valori assegnati sono ottenuti dal consenso dei partecipanti, pertanto possono discostarsi dai valori attesi.

Determinazione	Valore assegnato
Conta di <i>Campylobacter</i> spp.	251 UFC/ml

5. Interpretazione dei risultati

5.1 Analisi quantitative in piastra

Calcolo dello z-score per singola osservazione e per laboratorio

I risultati delle analisi quantitative in piastra, a livello di singola osservazione e come media di tutte le osservazioni del laboratorio, vengono valutati mediante calcolo dello z-score come segue:

$-2 \leq z\text{-score} \leq +2$	risultati accettabili
$-3 < z\text{-score} < -2$ e $2 < z\text{-score} < 3$	risultati discutibili
$z\text{-score} \leq -3$ e $z\text{-score} \geq +3$	risultati non accettabili

dove z è calcolato come:

$$z = \frac{(X - \hat{X}_m)}{\sigma_t}$$

con

X risultato riportato dal laboratorio partecipante (singola osservazione e media delle osservazioni);

\hat{X}_m valore assegnato espresso come :

- media robusta (x^*) dei risultati dei partecipanti (singola osservazione e media delle osservazioni) calcolata usando l'algoritmo A previsto dalla ISO 13528 se la distribuzione dei risultati è unimodale, approssimativamente simmetrica e la deviazione standard robusta dei risultati non è significativamente più grande della deviazione standard target;

Circuito interlaboratorio AQUA MA 3-14 BIS

PTP accreditato ACCREDIA n. 0004

- moda della funzione kernel dei risultati nel caso di distribuzioni bimodali o multimodali o asimmetriche o con deviazione standard robusta significativamente più grande della deviazione standard target nel caso in cui informazioni da parte dei partecipanti ne permettano la corretta scelta.

σ_t deviazione standard target.

Incertezza di misura del valore assegnato

L'incertezza di misura del valore assegnato u_x è data da:

$$u_x = \frac{s^*}{\sqrt{n}}$$

Dove:

- se il valore assegnato è espresso come media robusta dei risultati, s^* indica la deviazione standard robusta dei risultati dei partecipanti (o della media delle osservazioni per ogni partecipante) calcolata usando l'Algoritmo A previsto dalla ISO 13528 e n il numero di risultati (o di laboratori), in accordo con "The international harmonized protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories (IUPAC technical report, 2006)";
- se il valore assegnato è espresso come moda della funzione kernel dei risultati s/\sqrt{n} è l'errore standard della moda calcolato con tecniche bootstrap.

Infine, se i valori dell'incertezza:

- Se $u_x^2 \leq 0.1 \cdot \sigma_t^2$ l'incertezza è trascurabile e viene calcolato lo z-score.
- Se $0.1 \cdot \sigma_t^2 < u_x^2 < 0.5 \cdot \sigma_t^2$ lo z-score viene dato solo come informazione e non deve essere considerato una valutazione di *performance* del partecipante;
- Se $u_x^2 > 0.5 \cdot \sigma_t^2$ lo z-score non viene calcolato;

Per i dati in esame il valore limite per l'incertezza è $0.1 \cdot \sigma_t^2 = 0.00841$.

Circuito interlaboratorio AQUA MA 3-14 BIS

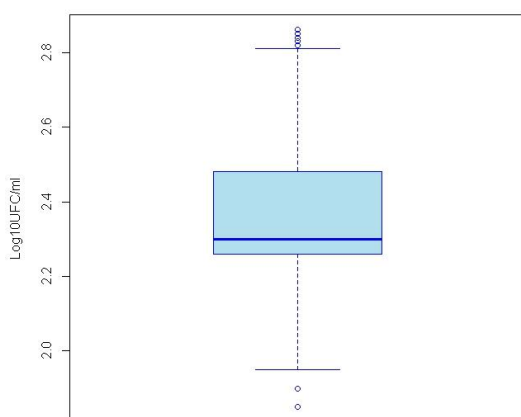
PTP accreditato ACCREDIA n. 0004

Conta di *Campylobacter* spp. (UFC/ml)

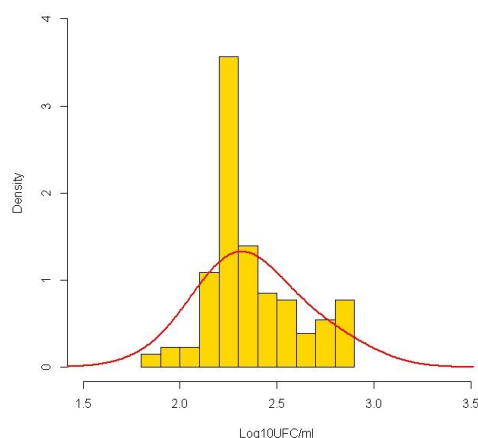
Statistica descrittiva su tutti i dati logaritmici:

variabile	n	min	max	mean	p50	sd	cv
Log(UFC/ml)	129	1.85	2.86	2.38	2.30	0.2257	0.0949

Box-plot dei dati



Distribuzione dei dati e funzione kernel di densità senza outliers



Il laboratorio L000372 presenta un numero di invii multipli e ripetibili pari a quasi il 30% del totale dei risultati inviati come evidenziato dalla barra più elevata nell'istogramma. Questo elevato numero di invii multipli e ripetibili rischia di dare a tale laboratorio un peso maggiore nella determinazione del valore assegnato rispetto agli altri partecipanti. Per questo motivo, nel calcolo del valore assegnato, della deviazione standard e dell'incertezza di misura esso contribuirà con un sottocampione dei risultati inviati, selezionato casualmente, valutato pari al 10% dei dati totali. Tale valore si ritiene possa mantenere la rappresentatività del laboratorio nella stima delle statistiche sopra riportate limitandone gli effetti. La valutazione di performance sarà comunque data per ogni risultato inviato.

Seguono quindi le elaborazioni su un sottocampione di dati.

Circuito interlaboratorio AQUA MA 3-14 BIS

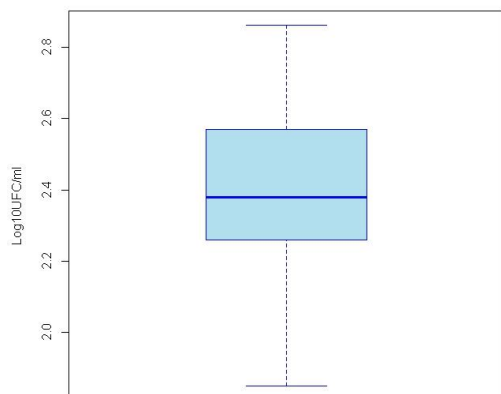
PTP accreditato ACCREDIA n. 0004

Conta di *Campylobacter* spp. (UFC/ml) eseguita su un sottocampione

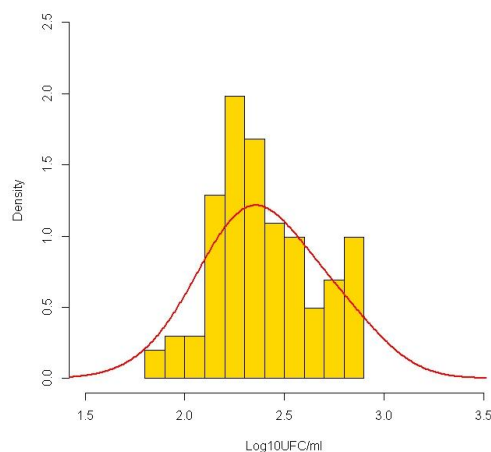
Statistica descrittiva su tutti i dati logaritmici:

variabile	n	min	max	mean	p50	sd	cv
Log(UFC/ml)	101	1.85	2.86	2.41	2.38	0.2462	0.1022

Box-plot dei dati



Distribuzione dei dati e funzione kernel di densità senza outliers



Il valore mediano calcolato su i dati logaritmici è pari a 2.38, leggermente inferiore al valore assegnato robusto calcolato secondo l'algoritmo A, pari a 2.40. La deviazione standard pari a 0.25 diminuisce a 0.24 se calcolata con l'algoritmo.

L'ipotesi di unimodalità dei dati è supportata dalla verifica della condizione per cui la deviazione standard robusta dei risultati non è significativamente più grande della deviazione standard target ($s^* < 1.2\sigma_t$), condizione che in questo caso risulta verificata. La distribuzione dei dati, che non presenta outliers, è unimodale e simmetrica (p-value=0.55). Il valore assegnato è dato quindi dalla media robusta dei dati pari a 2.40 e la sua incertezza di misura $u_x = 0.02$ soddisfa la condizione di trascurabilità ($u_x^2 = 0.0006 < 0.0084$) per cui viene fornito lo z-score per la valutazione della performance dei partecipanti.

Circuito interlaboratorio AQUA MA 3-14 BIS

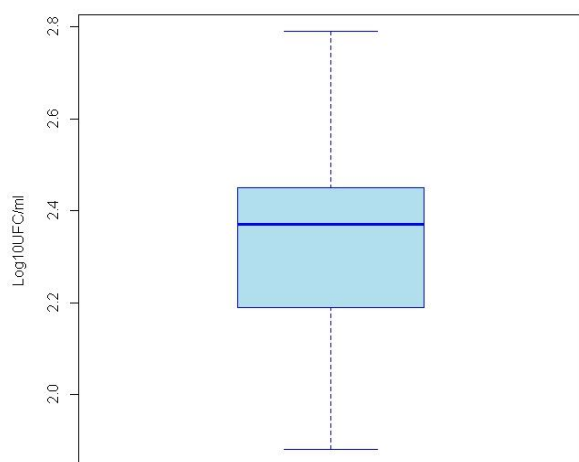
PTP accreditato ACCREDIA n. 0004

Conta media di *Campylobacter* spp. (UFC/ml) per laboratorio

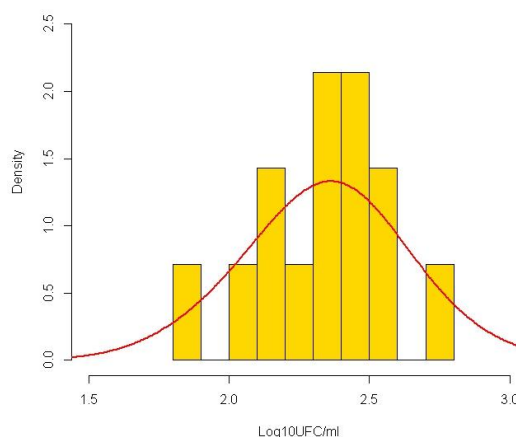
Statistica descrittiva sui dati medi logaritmici:

variabile	n	min	max	mean	p50	sd	cv
Log(UFC/ml)	14	1.88	2.79	2.34	2.37	0.2249	0.0960

Box-plot dei dati



Distribuzione dei dati e funzione kernel di densità senza outliers



Il valore mediano calcolato su tutti i dati logaritmici è pari a 2.37, leggermente superiore al valore assegnato robusto calcolato secondo l'algoritmo A, pari a 2.35. La deviazione standard pari a 0.23 diminuisce a 0.20 se calcolata con l'algoritmo.

L'ipotesi di unimodalità dei dati è supportata dalla verifica della condizione per cui la deviazione standard robusta dei risultati non è significativamente più grande della deviazione standard target ($s^* < 1.2\sigma_t$), condizione che in questo caso risulta verificata. La distribuzione dei dati, che non presenta outliers, è unimodale e simmetrica (p-value=0.83). Il valore assegnato è dato quindi dalla media robusta dei dati pari a 2.35 e la sua incertezza di misura $u_x = 0.05$ soddisfa la condizione di trascurabilità ($u_x^2=0.0029 < 0.0084$) per cui viene fornito lo z-score per la valutazione della performance dei partecipanti.

Circuito interlaboratorio AQUA MA 3-14 BIS

PTP accreditato ACCREDIA n. 0004

6. Termini ed abbreviazioni

Termini	Abbreviazioni
Deviazione standard dei dati	DS o sd
Deviazione standard target	DS _t o σ_t
Valore assegnato	VA
Numero di osservazioni	n
Valore minimo	min
Valore massimo	max
Valore medio	mean
Valore mediano	p50
Coefficiente di variazione	cv

7. Note

- 1) I laboratori sono resi anonimi e identificati solo tramite codici alfa-numeric (Informativa ex art. 13 del D.Lgs. n. 196/30.6.2003 e s.m. e i. "Codice in materia di protezione dei dati personali":
 - i dati acquisiti sono utilizzati dall'Istituto per il Circuito Interlaboratorio AQUA e la gestione delle attività correlate;
 - le attività comportanti il trattamento dei dati conferiti sono svolte per conseguire finalità a carattere istituzionale;
 - il trattamento dei dati è effettuato sia con strumenti informatici che cartacei da parte dei servizi dell'Istituto;
 - il titolare del trattamento è l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie in persona del Direttore Generale con sede in Legnaro (PD) – Viale dell'Università, 10 e il Responsabile della Struttura Complessa SCS8 – Centro Servizi alla Produzione è il dr. Renzo Mioni;
 - l'interessato potrà esercitare i diritti di cui all'art. 7 del D.Lgs. n. 196/2003 rivolgendosi all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie con sede in Legnaro (PD) – Viale dell'Università, 10).
- 2) In base alla ISO/IEC 17043:2010 (p. 4.5), le metodiche utilizzate dai partecipanti sono state comparate per valutare la loro equivalenza tecnica.
- 3) Non sono pervenuti, per cause tecniche, i risultati dei laboratori L000357 e L000360.
- 4) Hanno eseguito le prove:
Conta di *Campylobacter* spp. 14 laboratori partecipanti.

Circuito interlaboratorio AQUA MA 3-14 BIS

PTP accreditato ACCREDIA n. 0004

Analisi quantitative in piastra

Calcolo dello z-score per singola osservazione

Circuito interlaboratorio AQUA MA 3-14 BIS

PTP accreditato ACCREDIA n. 0004

CONTA DI CAMPYLOBACTER SPP.

DSt log ₁₀ =	0,29	VA _{algoritmo} =	251	VA _{algoritmo} ±2DS=	66	955
DS log ₁₀ algoritmo =	0,24	VA _{log₁₀ algoritmo} =	2,40	VA _{log₁₀ algoritmo} ±2DS _{log₁₀} =	1,82	2,98

codice laboratorio	metodo	codice analista	n.repliche	UFC/ml	Log UFC/ml	z-score
L000320	ISO/TS 10272-2:2006	L	1	230	2,36	-0,13
			2	230	2,36	-0,13
			3	250	2,40	-0,01
			4	280	2,45	0,16
			5	300	2,48	0,27
		10	1	250	2,40	-0,01
			2	200	2,30	-0,34
L000330	ISO/TS 10272-2:2006	AR	1	240	2,38	-0,07
		ARRIP	1	290	2,46	0,22
		SF	1	350	2,54	0,50
		SFRIP	1	210	2,32	-0,27
L000331	ISO/TS 10272-2:2006	MM	1	140	2,15	-0,88
			2	150	2,18	-0,77
		FF	1	130	2,11	-0,99
			2	150	2,18	-0,77
		MT	1	220	2,34	-0,20
			2	180	2,26	-0,50
			3	160	2,20	-0,68
			4	110	2,04	-1,24
			5	170	2,23	-0,58
L000332	ISO/TS 10272-2:2006	MCA	1	110	2,04	-1,24
			2	130	2,11	-0,99
L000337	ISO/TS 10272-2:2006	AB	1	350	2,54	0,50
			2	270	2,43	0,11
		AT	1	260	2,41	0,05
			2	250	2,40	-0,01
L000342	ISO/TS 10272-2:2006	SB	1	90	1,95	-1,54
			2	90	1,95	-1,54
			3	170	2,23	-0,58
			4	170	2,23	-0,58
			5	150	2,18	-0,77
		EL	1	100	2,00	-1,38
			2	110	2,04	-1,24
			3	150	2,18	-0,77
			4	190	2,28	-0,42
			5	150	2,18	-0,77
L000343	ISO/TS 10272-2:2006	SS	1	460	2,66	0,91
			2	450	2,65	0,87
			3	450	2,65	0,87
			4	530	2,72	1,12
			5	610	2,79	1,33
		VP	1	660	2,82	1,45
			2	700	2,85	1,53
			3	670	2,83	1,47
			4	600	2,78	1,30
			5	700	2,85	1,53
		EF	1	720	2,86	1,58
			2	670	2,83	1,47
			3	630	2,80	1,38
			4	700	2,85	1,53
			5	690	2,84	1,51
		TS	1	630	2,80	1,38
			2	680	2,83	1,49
			3	630	2,80	1,38
			4	640	2,81	1,40
			5	580	2,76	1,25
L000359	ISO 10272-2:2006	A	1	300	2,48	0,27
			2	200	2,30	-0,34
		B	1	340	2,53	0,45
			2	240	2,38	-0,07
		C	1	230	2,36	-0,13
			2	270	2,43	0,11

Circuito interlaboratorio AQUA MA 3-14 BIS

PTP accreditato ACCREDIA n. 0004

CONTA DI CAMPYLOBACTER SPP.

DSt log ₁₀ =	0,29	VA _{algoritmo} =	251	VA _{algoritmo} ±2DS=	66	955
DS log ₁₀ algoritmo =	0,24	VA _{log10 algoritmo} =	2,40	VA _{log10 algoritmo} ±2DS _{log10} =	1,82	2,98

codice laboratorio	metodo	codice analista	n.repliche	UFC/ml	Log UFC/ml	z-score
L000372	ISO/TS 10272-2:2006	GS	1	200	2,30	-0,34
			2	220	2,34	-0,20
			3	180	2,26	-0,50
			4	190	2,28	-0,42
			5	200	2,30	-0,34
			6	180	2,26	-0,50
			7	200	2,30	-0,34
			8	200	2,30	-0,34
			9	180	2,26	-0,50
			10	170	2,23	-0,58
		CM	1	170	2,23	-0,58
			2	200	2,30	-0,34
			3	190	2,28	-0,42
			4	170	2,23	-0,58
			5	200	2,30	-0,34
			6	170	2,23	-0,58
			7	200	2,30	-0,34
			8	180	2,26	-0,50
			9	170	2,23	-0,58
			10	200	2,30	-0,34
		MR	1	180	2,26	-0,50
			2	160	2,20	-0,68
			3	180	2,26	-0,50
			4	200	2,30	-0,34
			5	200	2,30	-0,34
			6	180	2,26	-0,50
			7	180	2,26	-0,50
			8	160	2,20	-0,68
			9	190	2,28	-0,42
			10	170	2,23	-0,58
		AR	1	180	2,26	-0,50
			2	200	2,30	-0,34
			3	180	2,26	-0,50
			4	170	2,23	-0,58
			5	180	2,26	-0,50
			6	210	2,32	-0,27
			7	190	2,28	-0,42
			8	180	2,26	-0,50
			9	180	2,26	-0,50
			10	180	2,26	-0,50
L000375	ISO /TS 22964:2006	1	1	320	2,51	0,36
		2	1	340	2,53	0,45
L000453	ISO/TS 10272-2:2006	BIO	1	230	2,36	-0,13
		CAP	1	250	2,40	-0,01
		CAR	1	160	2,20	-0,68
		CAST	1	200	2,30	-0,34
		CRI	1	160	2,20	-0,68
		DE L	1	160	2,20	-0,68
		DI M	1	260	2,41	0,05
		GIO	1	270	2,43	0,11
		LA T	1	250	2,40	-0,01

IZSve – Centro Servizi alla Produzione
Report definitivo del 23/07/2014

Circuito interlaboratorio AQUA MA 3-14 BIS

PTP accreditato ACCREDIA n. 0004

CONTA DI CAMPYLOBACTER SPP.

DSt log ₁₀ =	0,29	VA _{algoritmo} =	251	VA _{algoritmo} ± 2DS =	66	955
DS log _{10 algoritmo} =	0,24	VA _{log10 algoritmo} =	2,40	VA _{log10 algoritmo} ± 2DS _{log10} =	1,82	2,98

codice laboratorio	metodo	codice analista	n.repliche	UFC/ml	Log UFC/ml	z-score
L000486	ISO/TS 10272-2:2006	AP	1	70	1,85	-1,91
		MR	1	80	1,90	-1,71
L000502	ISO/TS 10272-2:2006	EA	1	200	2,30	-0,34
			2	200	2,30	-0,34
		FV	1	230	2,36	-0,13
			2	240	2,38	-0,07
L000536	ISO/TS 10272-2:2006	CD	1	380	2,58	0,62
			2	450	2,65	0,87
			3	360	2,56	0,54
			4	260	2,41	0,05
			5	370	2,57	0,58
			6	210	2,32	-0,27
			7	460	2,66	0,91
			8	290	2,46	0,22
			9	400	2,60	0,70
			10	390	2,59	0,66

Nota relativa al metodo

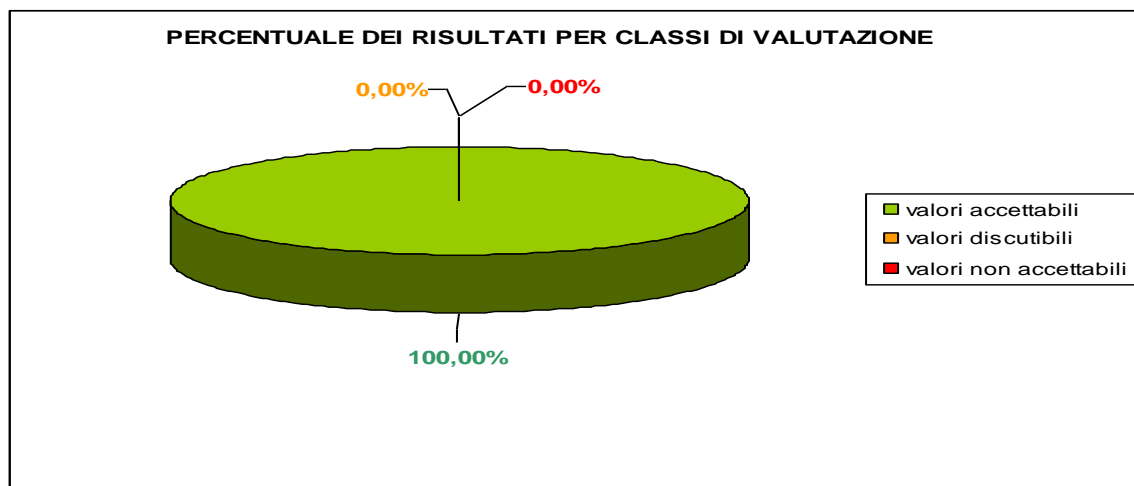
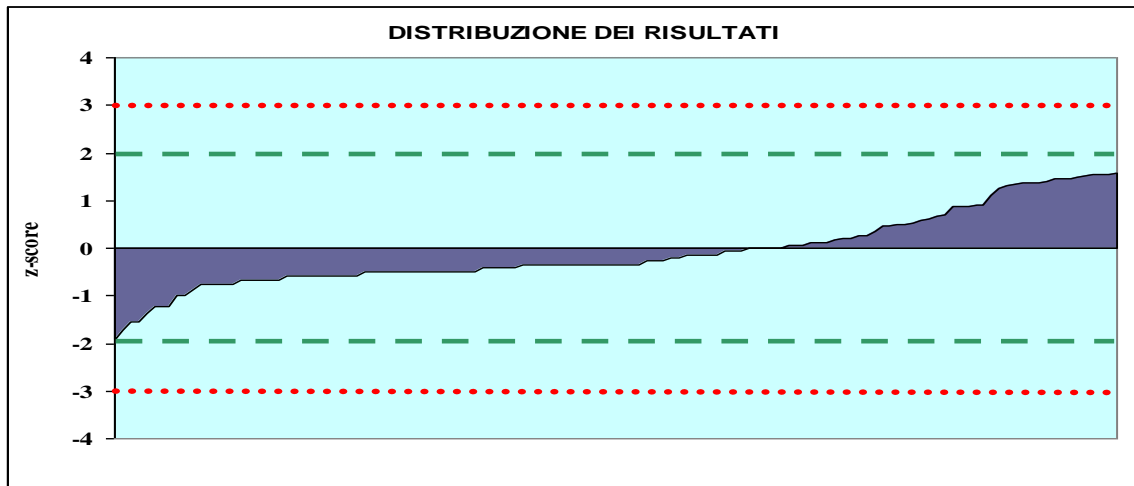
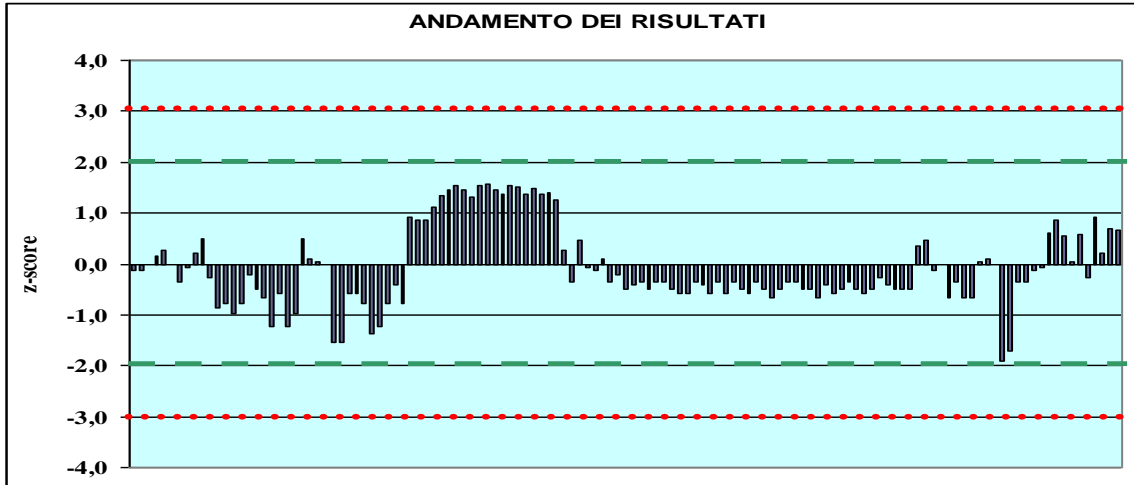
Si sottolinea l'importanza di specificare il metodo utilizzato con sigla e numero corretti.

Si osserva che alcuni laboratori comunicano l'utilizzo della metodica ISO/TS 10272-2:2006 ma specificano l'esecuzione di identificazioni biochimiche diverse da quanto previsto dalla norma.

Circuito interlaboratorio AQUA MA 3-14 BIS

PTP accreditato ACCREDIA n. 0004

CONTA DI CAMPYLOBACTER SPP.



Circuito interlaboratorio AQUA MA 3-14 BIS

PTP accreditato ACCREDIA n. 0004

Analisi quantitative in piastra

Calcolo dello z-score per laboratorio

Circuito interlaboratorio AQUA MA 3-14 BIS

PTP accreditato ACCREDIA n. 0004

CONTA DI CAMPYLOBACTER SPP. PER LABORATORIO

DSt log₁₀ =	0,29	VA_{algoritmo}=	224
DS log₁₀ algoritmo =	0,20	VA_{log10 algoritmo}=	2,35

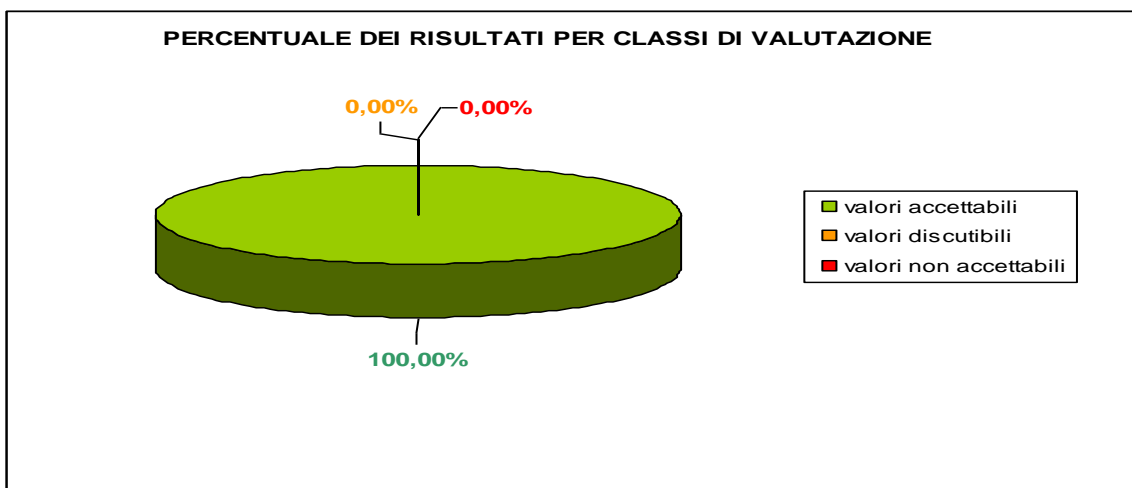
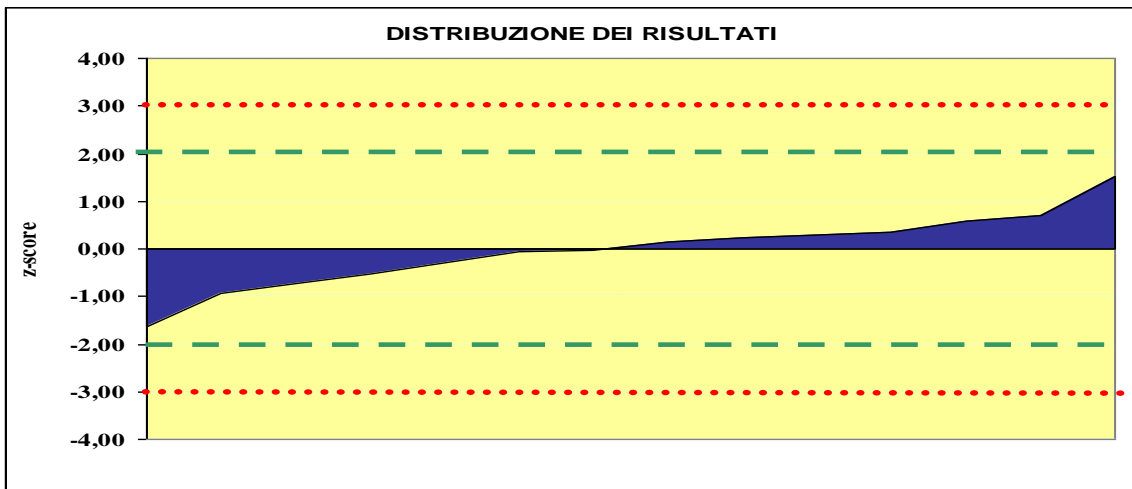
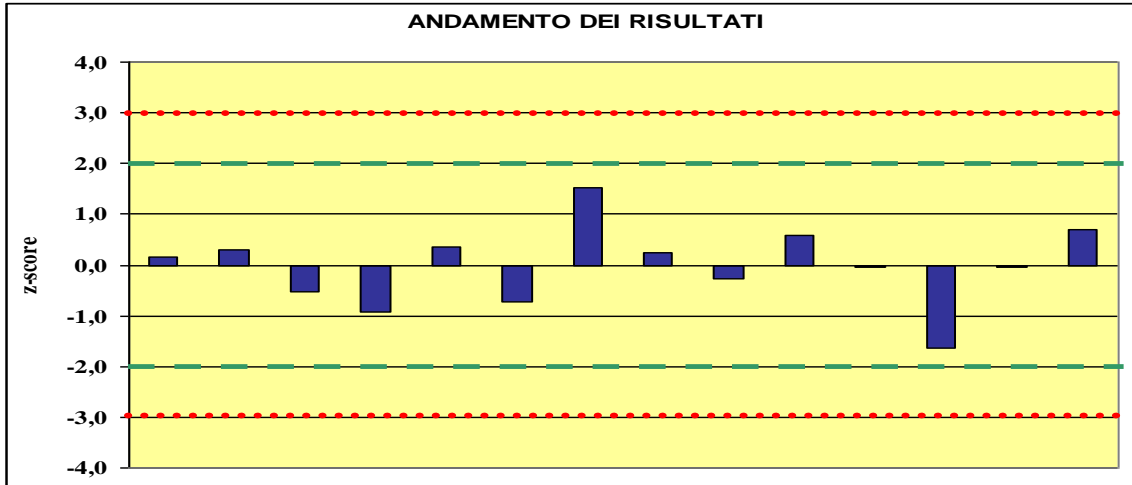
VA_{algoritmo}±2DS=	59	851
VA_{log10 algoritmo}±2DS_{log10} =	1,77	2,93

codice laboratorio	Media UFC/ml	Log Media UFC/ml	z-score
L000320	249	2,40	0,16
L000330	273	2,44	0,29
L000331	157	2,19	-0,53
L000332	120	2,08	-0,93
L000337	283	2,45	0,35
L000342	137	2,14	-0,74
L000343	620	2,79	1,53
L000359	263	2,42	0,24
L000372	186	2,27	-0,28
L000375	330	2,52	0,58
L000453	216	2,33	-0,06
L000486	75	1,88	-1,64
L000502	218	2,34	-0,04
L000536	357	2,55	0,70

Circuito interlaboratorio AQUA MA 3-14 BIS

PTP accreditato ACCREDIA n. 0004

CONTA DI CAMPYLOBACTER SPP. PER LABORATORIO



Circuito interlaboratorio AQUA MA 3-14 BIS

PTP accreditato ACCREDIA n. 0004

Data report definitivo 23/07/2014

Responsabile circuito interlaboratorio
Dr.ssa Maria Grimaldi



----- Fine report -----