

# L'ACCREDITAMENTO DEI LABORATORI PER LA SICUREZZA ALIMENTARE

**Circuiti interlaboratorio: esperienza di un  
laboratorio di controllo ufficiale  
nell'organizzazione dei Ring Test**

Giorgio Fedrizzi

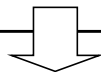
Istituto Zooprofilattico Sperimentale L.E.R.  
Reparto di Merceologia degli Alimenti di Origine Animale  
Bologna

Roma ISS 25 ottobre 2005



## PERCHE' UN LABORATORIO PUBBLICO ORGANIZZA PT

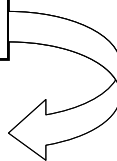
- **IMPORTANZA PT**
- **POCO COPERTO IL SETTORE RESIDUI DI FARMACI VETERINARI**
- **SERVIZIO NON ADEGUATO** (tempi, analiti, materiale, concentrazione, programmazione a breve termine...)



DISPONIBILITA' DI MATERIALE

COMPETENZA  
NEL SETTORE RESIDUI  
DI FARMACI VET

PROGETTI DI RICERCA  
MINISTERO DELLA SALUTE

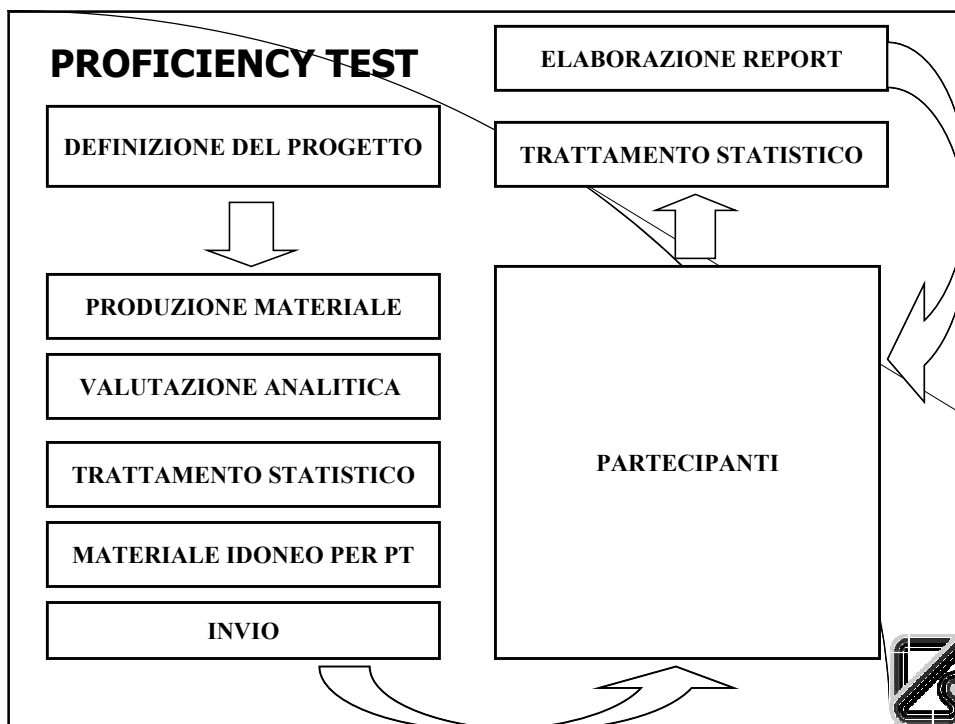


10 PT IN 2 ANNI



PRC 99001  
PRC 2003 27  
PRC 2004 ???





**DEFINIZIONE DEL PROGETTO PTs** *I PTs sono un punto di campionamento delle risultanze di un laboratorio*

**OBIETTIVI:** corretta rilevazione  
 corretta identificazione  
 corretta quantificazione

**REGOLE:** 5 (vediamo nel corso della presentazione)

**PARTECIPANTI:** IIZZSS; ISS

**ANALITI:** Farmaci veterinari + Aflatossina M1 + Nitriti/nitrati

**MATRICI:** muscolo, fegato, rene, grasso di diverse specie animali, uova, latte miele e loro derivati

**NORME DI RIFERIMENTO:** ISO/IEC Guida 43 (Part 1 e 2)

**FINANZIAMENTO:** PRC del Ministero della Salute

## PRESENTAZIONE DEL PROGETTO

Lettera di presentazione del progetto ai possibili partecipanti

- Obiettivi dei PT
- Indicazione chiara a chi è volto
- Non obbligatorietà
- Indicazione di chi organizza e i compiti (...RISERVATEZZA!!!)
- Tempi di esecuzione (data inizio e data di fine)
- Programma di massima con gli analiti e le matrici
- Proposte eventuali degli interessati
- Costi
- Richiesta di impegno formale

CALENDARIO DETTAGLIATO DEI PT



## CALENDARIO DEL PROGETTO



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO  
SPERIMENTALE  
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA  
ROMAGNA  
(ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO)  
**SEDE di BRESCIA**  
SEZIONE di BOLOGNA

Via Fiorini, 5  
40127 BOLOGNA  
Tel. 051 4200011  
dir. chimico: 051 4200025  
Fax: 051 4200038  
Videoconf. (051) 6333675  
E-mail: lachimer@iperbole.bologna.it

### CALENDARIO PROFICIENCY TEST 2002

ANALITA	DATA INVIO CAMPIONE	DATA ULTIMA PER L'INVIO DEL RISULTATO	DATA ULTIMA PER L'INVIO DEL REPORT	ADESIONE
FLUMEQUINA	29/01/02	21/02/02	15/03/02	€
OSSITETRACICLINA	19/03/02	12/04/02	30/04/02	€
CLORAMFENICOLO	06/05/02	30/05/02	20/06/02	€
NITRITI/NITRATI	30/05/02	03/07/02	30/07/02	€
SULFAMETAZINA	10/09/02	02/10/02	23/10/02	€
NICARBAZINA	05/11/02	27/11/02	20/12/02	€

Siete pregati di inviare il più presto possibile e comunque non oltre il 15 febbraio via E-mail o via fax il calendario con la Vostra adesione compilata

Confidiamo molto nella Vostra puntualità.

Data

Il referente



## **PRODUZIONE MATERIALE**

### **ANALITI**

**RESIDUI DI FARMACI VETERINARI**  
Accettabilità dei partecipanti  
Caratteristiche chimico fisiche  
Competenza analitica adeguata  
Considerare gli LMR / MPRL  
**NON FORTIFICARE MA TRATTARE**  
Possibile presenza di metaboliti

### **MATRICE**

Competenze nel settore  
Considerare il PNR / PNAA / emergenze  
Procedura di: preparazione  
omogeneizzazione  
stabilizzazione  
confezionamento  
conservazione  
**UGUALE a campioni routinari**  
**NO LIOFILIZZAZIONE!**

Massima del prof. H. Muntau



**“PER PRODURRE DEL BUON MATERIALE NE DEVI  
BUTTARE TANTO!!!!”**



**REGOLA NR.1:**

**NON FORTIFICARE, MA TRATTARE GLI ANIMALI**



## REGOLA NR.2:

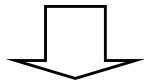
**IL MATERIALE PRODOTTO DEVE ESSERE IL PIU' POSSIBILE UGUALE AI CAMPIONI CONFERITI ABITUALMENTE AI LABORATORI**



## CRITERI DI SCELTA DELLA MATRICE

- Omogeneità
- Quantità
- Stabilità: **biologica: ridotta attività enzimatica/batterica**  
**chimica: ridotta attività ossido-riduttiva, variazioni di pH**  
**fisica: separazione di fase, granulometria**
- Disponibilità
- Conforme alla Normativa (residui, trasporto ...)
- Sicura per gli operatori
- Accettata dai partecipanti PT
- Il più possibile simile ai campioni della routine
- Facile manipolazione

2 muscoli con attività metabolica simile



**MUSCOLO PETTORALE DI TACCHINO**

cotto

**MORTADELLA**

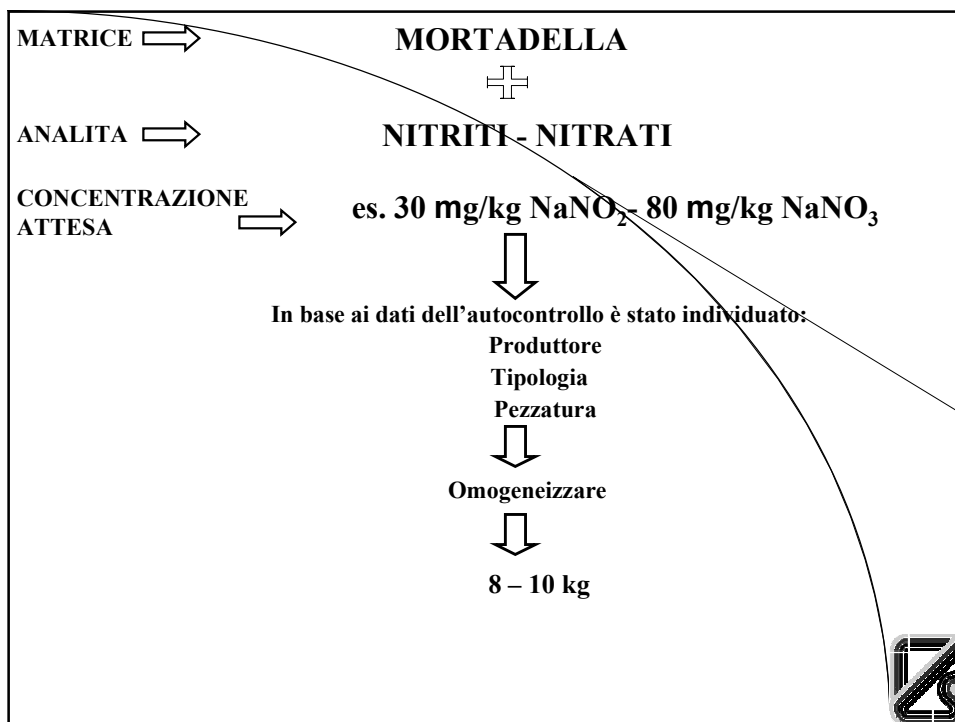
**FORMAGGIO**


ParmigianoReggiano

**MIELE**

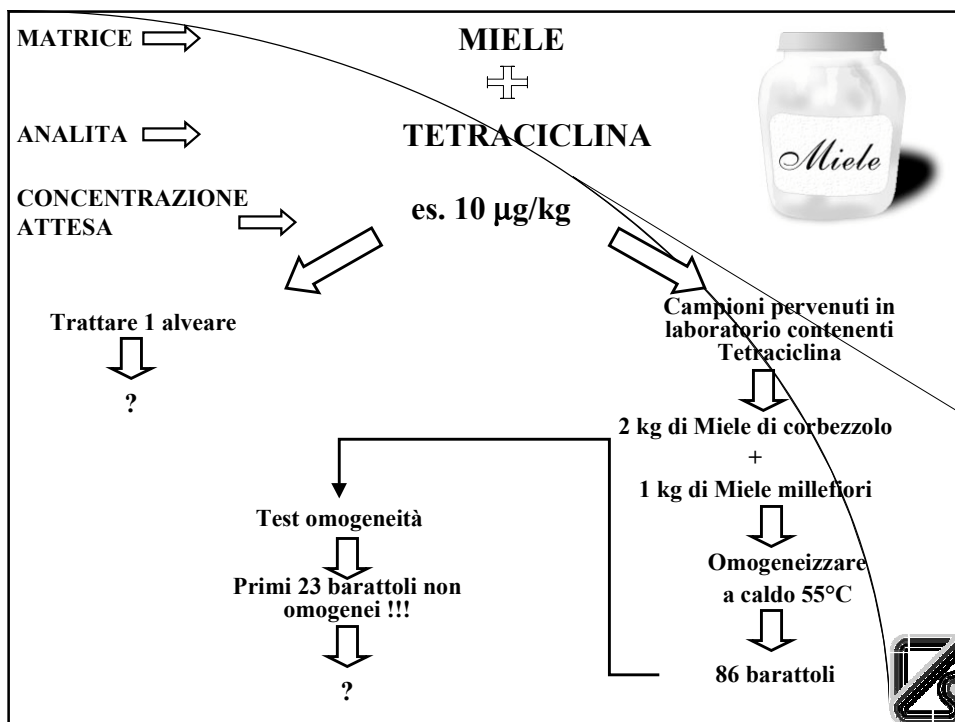
???







**E ... ACQUISTARLA DAL SALUMIERE  
NON ERA PIU' SEMPLICE?**

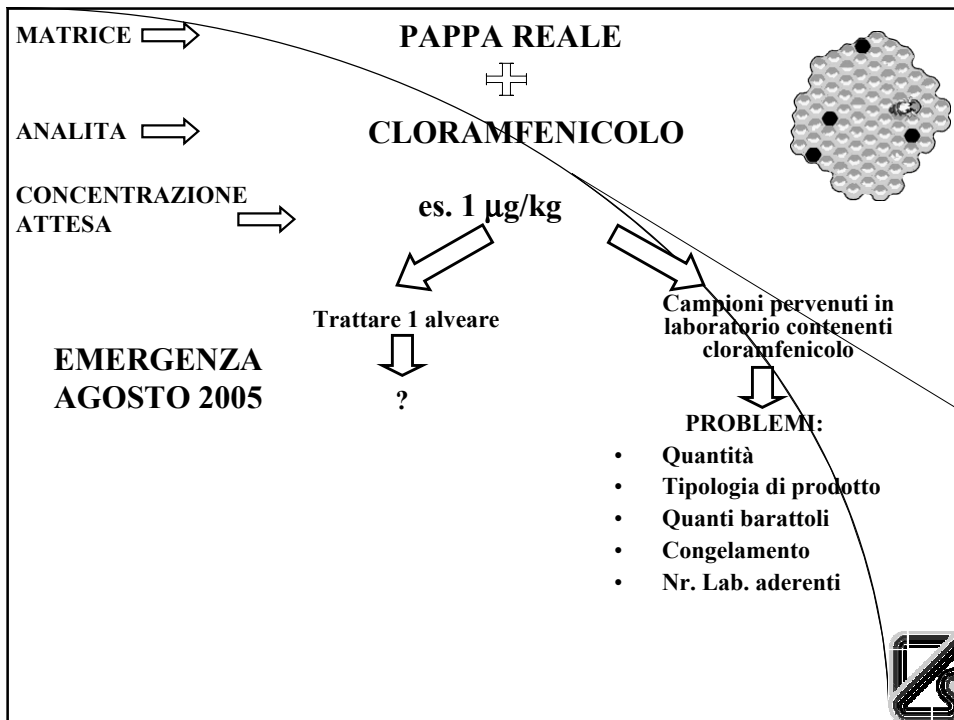




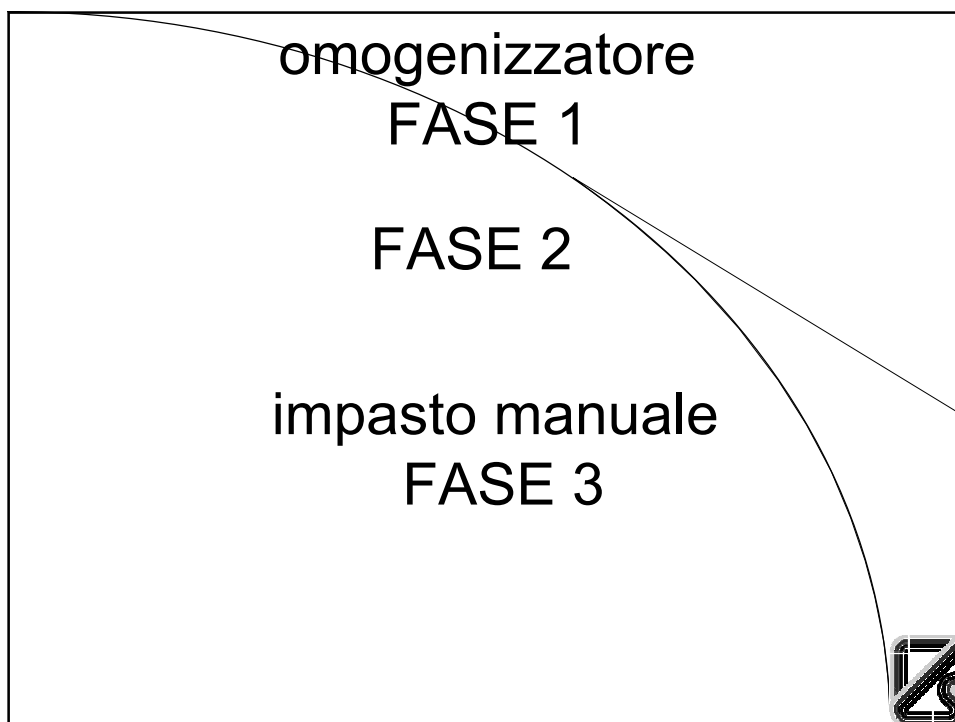
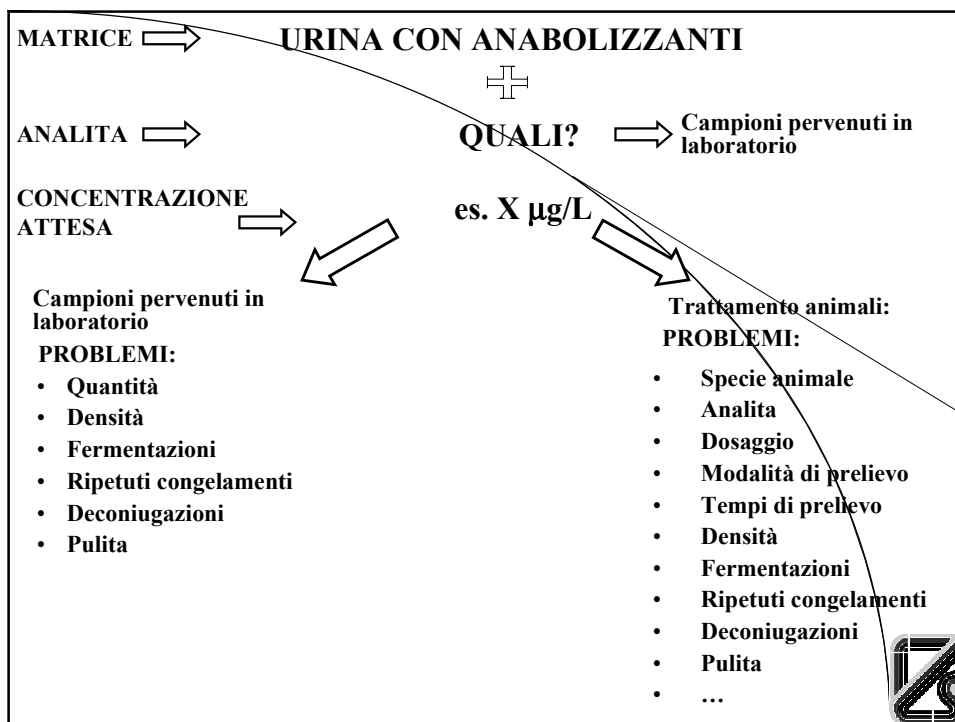
**E ... FORTIFICARE IL MIELE  
NON ERA PIU' SEMPLICE?**

## NUOVE MATRICI IN CANTIERE ...

SE IL MINISTERO DELLA SALUTE RIFINANZIARA' IL  
PROGETTO DI RICERCA CORRENTE PER IL 2005





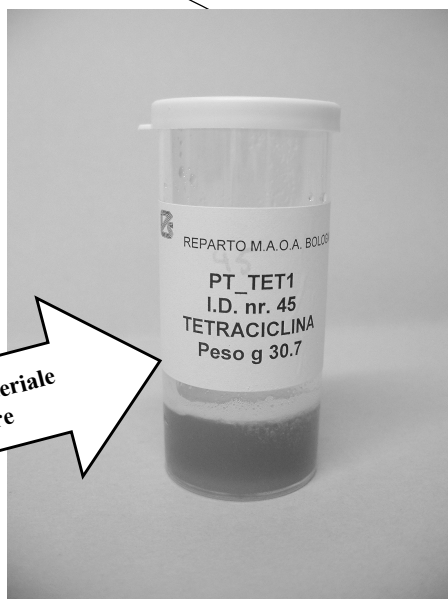


# Predisposizione di una postazione

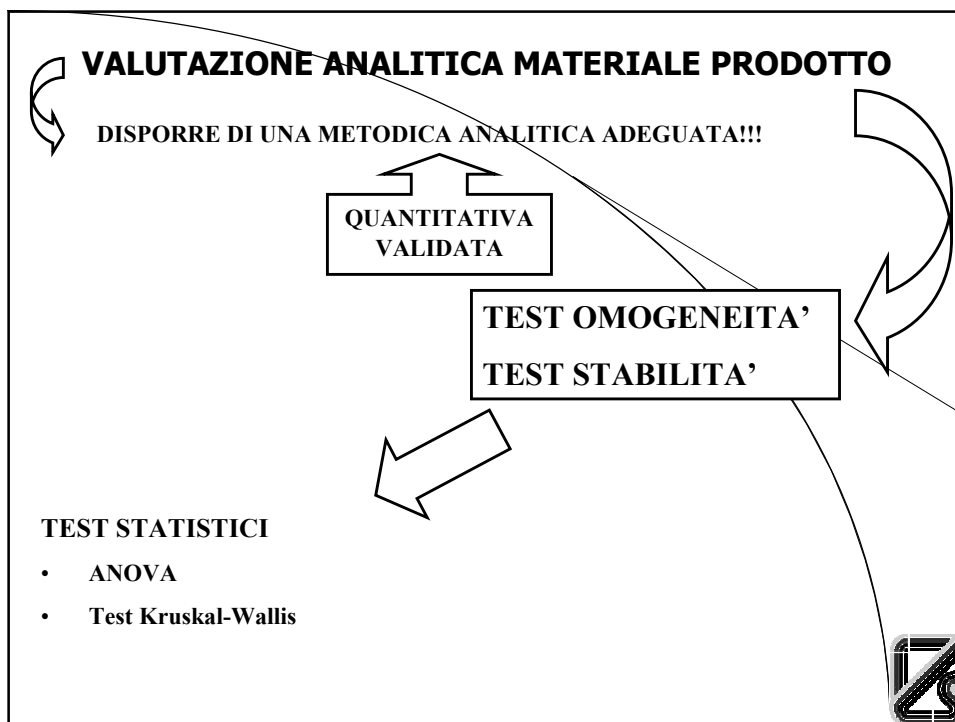


Registro barattoli

# Barattoli



forma/capacità/materiale del contenitore



## TRATTAMENTO STATISTICO

ESEMPIO OMOGENEITA' (PT\_AFM1B)

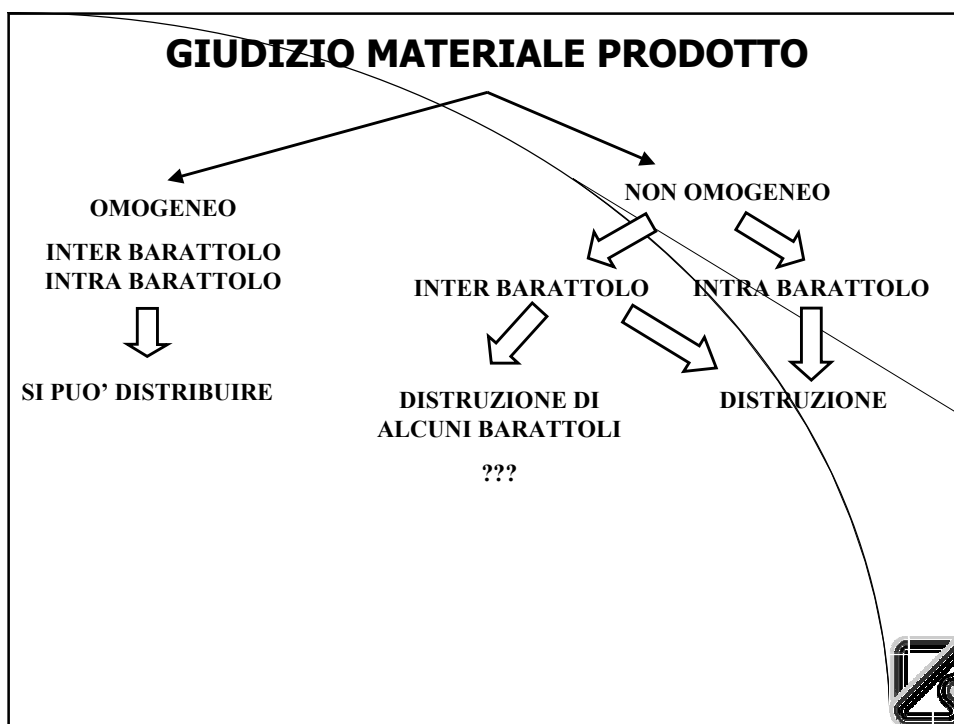
**ANOVA**

Nr. barattoli	10
Nr. repliche intra-barattolo	3
Valore medio (ng/kg) Aflatossina M1	210
Valore $\sigma$	46,36
F tabulato	2,39
F calcolato	1,10
F calc < F tab.?	OK
Sam <sup>2</sup>	17,37
$\sigma_{all}^2$	193,32
Critical (C)	602,81
Sam <sup>2</sup> < C?	OK

**Test Kruskal-Wallis**

Somma Numerosità	30
Numerosità	3
Rango <sup>2</sup> /Numerosità	7929,3
Gradi di libertà	9
$\chi^2$ calcolato	9,31
$\chi^2$ tabulato	16,91
$\chi^2$ calc. < $\chi^2$ tab.	OK

**Nel report sono riportate per esteso tutte le determinazioni e modalità di calcolo applicate per i 2 test statistici**



- ## DISTRIBUZIONE DEL MATERIALE AI LAB ADERENTI
- Preannunciata (calendario + e-mail di *memo*)
  - Invio con corriere espresso con consegna entro le 09,00 del giorno successivo
  - In ghiaccio secco
  - Documenti di accompagnamento:
    - istruzione per la conservazione del campione
    - istruzioni per l'analisi del campione
    - modulo per invio risultati con relative istruzioni
    - scheda tecnica per la descrizione della metodologia analitica
    - istruzioni di sicurezza
  - Il laboratorio organizzatore non partecipa al PT

# DOCUMENTI DI ACCOMPAGNAMENTO



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE  
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA  
(ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO)  
SEDE DI BRESCIA  
REPARTO DI MERCEOLOGIA DEGLI ALIMENTI DI  
ORIGINE ANIMALE  
BOLOGNA

Via Fiorini, 5  
40127 BOLOGNA  
Tel. 051 4200011  
dir. chimico: 051 4200025  
Fax: 051 4200038  
E-mail: lachimer@iperbole.bologna.it

## ISTRUZIONI

LABORATORIO: ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'  
VIALE REGINA ELENA 299  
00161 ROMA  
Alla c.a. attenzione dr. ssa R. Draisci  
Email: draisci@iss.it

### PROFICIENCY TEST CLORAMFENICOLO (PT\_CAF2B)

Si inviano

1) 1 contenitore di campione di muscolo (nr.10) per l'analisi di cloramfenicolo.

All'arrivo in laboratorio siete pregati di verificare:

1) La condizione del materiale (congelato): se il materiale non si presenta idoneo all'analisi, (parzialmente o totalmente scongelato) siete pregati di contattarci al più presto. Provvederemo ad un secondo invio.

2) La corrispondenza delle etichette con i numeri di identificazione sopra scritti

ISTRUZIONI:

- Congelare immediatamente il campione a -20°C fino all'esecuzione dell'analisi.
- Prima di pesare il campione per l'analisi omogenizzarlo accuratamente mediante cucchiaino o spatola fino al completo assorbimento della condensa sulle pareti.
- Analizzare il campione per cloramfenicolo e trasmettere via FAX le schede allegate debitamente compilate entro il 10 maggio 2005.

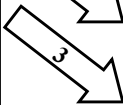
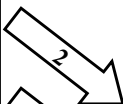
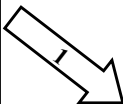
Il report con l'elaborazione dei risultati verranno inviati **ESCLUSIVAMENTE** a coloro che avranno restituito gli esiti in tempo utile.

La documentazione allegata vi sarà inviata anche in formato elettronico: sarebbe opportuno inviarci gli esiti in formato elettronico al seguente indirizzo: [simonetta.menotta@bs.izs.it](mailto:simonetta.menotta@bs.izs.it)

Verranno comunque accettati anche gli esiti inviati via fax purchè in tempo utile. Siamo a disposizione per qualsiasi chiarimento ai seguenti recapiti:

E mail: [lachimer@iperbole.bologna.it](mailto:lachimer@iperbole.bologna.it)  
Tel. 051 4200025  
Fax 051 4200038

Certi della vostra puntualità, si porgono distinti saluti.



## REGOLA NR.3:

### IL LABORATORIO ORGANIZZATORE NON E' MAI PARTECIPANTE AL PT



## PROBLEMI NELLA DISTRIBUZIONE DEL MATERIALE?

- di corriere (tempi di consegna) MAI!!!
- di perdita dei campioni

SI NELLE ACCETTAZIONI DEI LAB.  
("SEMPRE I SOLITI!")



"A.C."

Ulteriore invio di  
materiale

- Condizioni di arrivo

SEMPRE CONGELATO



## INVIO DEI RISULTATI ALLA STRUTTURA ORGANIZZATRICE

ANALITA	CODICE PT	LAB. ADERENTI	LAB. PARTECIPANTI	LAB. RITIRATI
FLUMEQUINA	PT_FLU1	8	7	1
OSSITETRACICLINA	PT_OST2	12	9	3
CLORAMFENICOLO	PT_CAF3	14	13	1
NITRITI NITRATI	PT_NIN4	14	13	1
SULFAMETAZINA	PT_SMT5	12	9	3
NICARBAZINA	PT_NIC6	11	9	2
AFLATOSSINA M1	PT_AFM1B	12	12	0
CLORAMFENICOLO	PT_CAF2B	11	7	4
TETRACICLINA	PT_TET3B	11	7	4



**REGOLA NR.4:**

**I RISULTATI INVIATI OLTRE I TERMINI  
SARANNO RIPORTATI NEL REPORT MA  
NON SARANNO ELABORATI**



**REGOLA NR.5:**

**CHI NON COMUNICA I RISULTATI NON RICEVE  
IL REPORT FINALE**



## TRATTAMENTO STATISTICO: TEST DI STABILITA'

ESEMPIO STABILITA' (PT\_AFM1B)

### ANOVA

Nr. barattoli	10+4
Nr. repliche intra-barattolo	3
Valore medio (ng/kg)	214
Valore $\sigma$	47,17
F tabulato	2,08
F calcolato	1,73
F calc < F tab.?	OK
Sam <sup>2</sup>	165,42
$\sigma_{all}^2$	200,33
Critical (C.)	586,32
Sam <sup>2</sup> < C.?	OK

### Test Kruskal-Wallis

Somma Numerosità	30+12
Numerosità	3
Rango <sup>2</sup> /Numerosità	13321,8
Gradi di libertà	13
$\chi^2$ calcolato	-40,48
$\chi^2$ tabulato	22,36
$\chi^2$ calc. < $\chi^2$ tab.	OK

Nel report sono riportate per esteso tutte le determinazioni e modalità di calcolo applicate per i 2 test statistici



## ELABORAZIONE STATISTICA DEI RISULTATI

- TEST SHAPIRO-WILK



per verificare la distribuzione normale dei dati

- TEST DI DIXON



per eliminare eventuali dati aberranti (estremi superiori o inferiori)

- TEST DI GRUBBS



per eliminare eventuali dati anomali da scartare

SE TUTTO  
OK

CALCOLO DELLO Z-SCORE PER CIASCUN PARTECIPANTE





## Z-SCORE ESEMPIO (PT\_CAF2B)

Lo Z score è stato calcolato come:

$$Z = (x - C_m) / \sigma_p$$

dove:

- $x$  è il valore dell'analita riscontrato dal laboratorio.
- $C_m$  è il valore "vero" ottenuto dalla media dei risultati provenienti dai laboratori escludendo dati aberranti.
- $\sigma_p$  è un valore calcolato della deviazione standard.

Il valore  $\sigma$  deriva dall'applicazione della forma appropriata dell'equazione di Horwitz per analisi in concentrazioni inferiori a 120 ppb:

$$\sigma_p = 0,22 C / m_r$$

dove:

- $C$  è il valore "vero" assegnato in forma adimensionale
- $m_r$  è il rapporto di masse adimensionale.

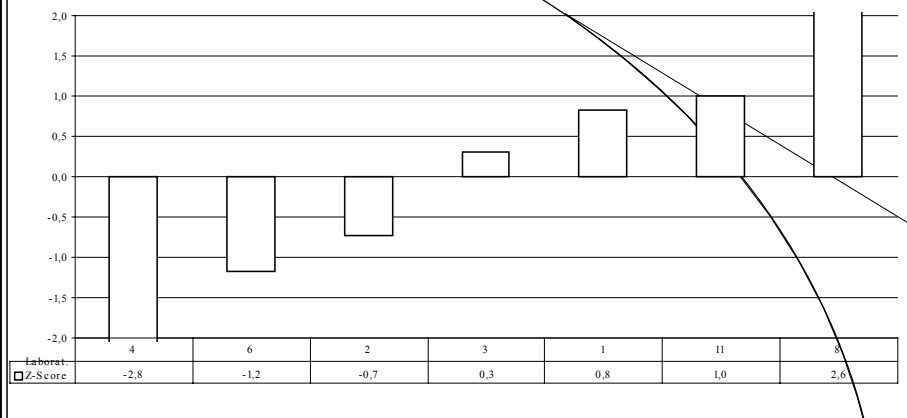
I valori delle medie e di  $\sigma_p$  calcolati dai risultati pervenuti in laboratorio sono di seguito indicati:

C ( $\mu\text{g/kg}$ )	$\sigma_p$
2,62	1,02



## Z-SCORE ESEMPIO (PT\_CAF2B)

Z-Score ottenuti dai singoli laboratori

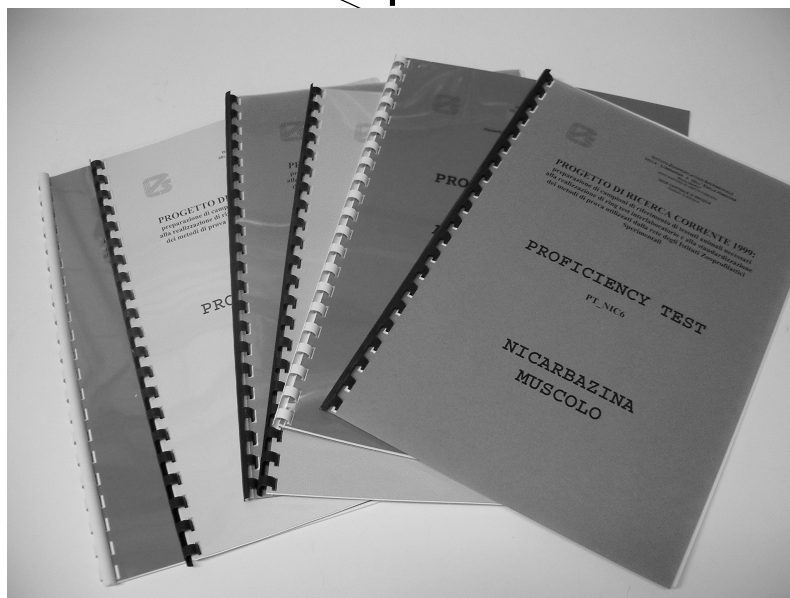


# DESCRIZIONE DEI METODI ANALITICI ADOTTATI DAI PARTECIPANTI

CARATTERISTICHE	LABORATORI	%	CARATTERISTICHE	LABORATORI	%
Laboratori accreditati	1 2 3 4 6 8 11	100	SPE utilizzate	1 3 6 8 11	100
Validazione del metodo			Ditta produttrice		
Nessuna	11	14,2	Baker	1 6	40
Validazione interna	1 2 3 4 6 8	85,7	Phenomenex	8 11	40
Controlli di qualità adottati:			Determinazione		
Campione fortificato a concentrazione nota	1 2 3 4 6 8 11	100	LC-MS/MS	1 2 3 6 8 11	85,7
Materiali di riferimento	2	14,2	ELISA	3	14,3
Ring Test	11	14,2	Colonna utilizzata		
Metodo routinariamente utilizzato dal laboratorio?:			C18	1 3 6 8 11	83,3
Si	1 2 3 4 8 11	85,7	Altro	2	16,6
No	6	14,2	Ditta produttrice		
Numero di repliche effettuate sul PT inviato			Phenomenex	2	16,7
2	2 3 4 6 8 11	85,7	Supelco	1	16,7
>3	1	14,2	Altro	3 6	33,3
Recupero % indicato deriva da:			Waters	8 11	33,3
Campioni analizzati in parallelo	1 2 3 4 6 8 11	100	Caratteristiche del metodo		
1 campione	2 4	28,6	Analisi isocratica	1 2 6	50
2 campioni	3 8 11	42,8	Analisi in gradiente	3 8 11	50
più di due campioni	1 6	28,6	Temperatura (analisi HPLC)		
Peso del campione			Ambiente	1 2 6	50
0-10 g	2 3 4 6	57,1	Controllata	3 8 11	50
10 g	8 11	28,6	30-40°C	3 8 11	100
Non riportato	1	14,3	Fase mobile		
Solvente di estrazione			Metanolo	1 3	40
Acetonitrile	2	14,3	Acetonitrile	2 6 8 11	60
Etile acetato-ammoniaca	3 8	28,6	Acido diluito	6 8 11	60
Etile acetato	4 6 11	42,8	Base diluita	1 2	40
Diclorometano-Acetone	1	14,3	Flusso (mL/min.)		
Purificazione del campione			<0,2	6	16,7
Estrazione liquido - liquido	2 4	28,6	0,2-0,5	1 2 3 8 11	83,3
SPE	1 3 6 8 11	71,4	Volume iniezione (µL)		
			10	1 3 6 8 11	83,3
			31-50	2	16,7



## Report



## COSA E' STATO FATTO NEI 2 PRC?

ANALITA	DATA	MATRICE	BARATTOLI PRODOTTI	LAB. ADERENTI	LAB. PARTECIPANTI	Z-SCORE < 2
FLUMEQUINA	01/2002	muscolo	450	8	7	100,0%
OSSITETRACICLINA	03/2002	muscolo	158	12	9	88,9%
CLORAMFENICOLO (§)	05/2002	muscolo	240	14	13	69,2%
NITRITI NITRATI (&)	05/2002	mortadella	101	14	13	61,5% 23,1%
SULFAMETAZINA	09/2002	muscolo	108	12	9	100,0%
NICARBAZINA	11/2002	muscolo	108	11	9	88,8%
AFLATOSSINA M1 (#)	02/2005	formaggio	86	12	12	100,0%
CLORAMFENICOLO (*)	02/2005	muscolo	67	11	7	71,4%
TETRACICLINA	08/2005	miele	45 (23 elim.)	11	7	NON VALUTABILE

(§): CAF 61,3 µg/kg

(&): CSZ 76,9%; RSZ 15,4%; SSZ 15,4%

(#): emergenza aflatossina M1 nel latte

(\*): CAF 2,6 µg/kg; elaborati solamente dati con metodo di conferma

N.B. il laboratorio organizzatore non è "partecipante"



## RICADUTE POSITIVE (e negative!) DEI 2 PRC

### CONTATTI INTERNAZIONALI CON RICHIESTE DA:

- Germania
- Turchia
- Brasile
- Lituania
- 5. Israele
- 6. Spagna
- 7. Estonia
- 8. ....

Nella maggior parte sono i Lab  
nazionali di riferimento

### INSERIMENTO IN SITI WEB:

- EPTIS: European Proficiency Testing Information System  
(database di PTs attivi in Europa e U.S.A.)  
[www.eptis.bam.de](http://www.eptis.bam.de)
- 2. VIRM (Virtual Institute Reference Materials) Dr. H. Kipphardt  
[virm@bam.de](mailto:virm@bam.de)

### INVITO PER LA FORMULAZIONE DI UN'OFFERTA PER ORGANIZZARE PTs:

- Ucraina (Delegazione della Commissione CEE per l'Ucraina e Moldova)



## CAUSE DI PRESTAZIONI NON SODDISFACENTI

Opportunità di miglioramento continuo delle prestazioni dei laboratori

### LABORATORI

- Errori EPISODICI
- Errori SISTEMATICI

### ORGANIZZATORI

- Impostazione PT
- Omogeneità
- Stabilità
- Trattamento statistico
- Errori EPISODICI



## LABORATORI

- **ERRORI EPISODICI: + frequenti**

esecuzione delle procedure dal ricevimento del campione  
alla emissione del RdP  
compilazione dei reports  
malfunzionamento strumentale  
unità di misura  
errori di calcolo  
errori di diluizione  
non corretta interpretazione dei risultati strumentali  
errori di campionamento strumentale  
errori di preparazione del campione

- **ERRORI SISTEMATICI**

analitici  
derive delle calibrazioni  
strumentazione analitica non adeguata  
errore analitico intrinseco  
identificare la cause di errore tra lab che impiegano gli  
stessi MMPP

diligenza  
competenza  
esperienza  
QC

QC

