



Di Giannatale Elisabetta




IZSAM G.CAPORALE  
TERAMO

**Circuiti interlaboratorio: ISO e FSIS**

**Teramo 11&12/12/2013**




# Ring test Listeria FSIS

- 
- Inizio circuito 2/4/2013
  - Inserimento risultati : 8 maggio 2013
  - Matrice: baby food –prosciutto maiale
  - Campioni inviati: 30
  - Metodica di isolamento: USDA FSIS MLG 8.05
  - Laboratori partecipanti :9 (8 IZS e 1 Estero)



# Preparazione campioni

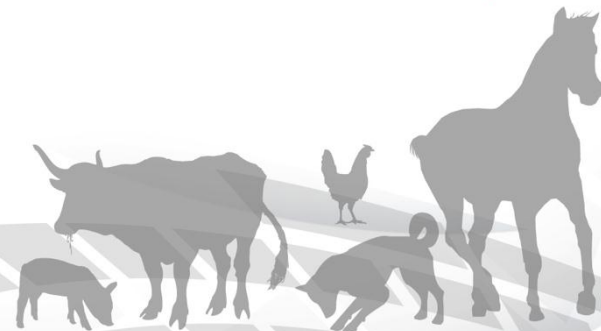
- 
- ❖ 30 campioni, congelati,
  - ❖ Due livelli di contaminazione ,L1 ( $10^2$ ) ufc/ml ,L2 ( $10^3$  ufc/ml)
  - ❖ Campioni non contaminati con l'organismo target (negativi)
  - ❖ Organismo target: *Listeria monocytogenes*
  - ❖ Pool contaminanti: E.coli, S.aureus, Lattobacilli carica  $10^4$  ufc/ml



# PREPARAZIONE CAMPIONI



- 25 g di prodotto, infettato con 1 ml di inoculo L1 o L2 e flora contaminante o solo flora contaminante (Neg.)
- scegliere a caso fra la carica L1, L2 i campioni per le prove di omogeneità e stabilità
- Scegliere a caso 10 campioni fra i negativi da cui effettuare la ricerca di *Listeria monocytogenes*.
- Identificare i campioni con le etichette e ricomporre il gruppo per ogni laboratorio, ponendolo in congelatore a circa -20°C.




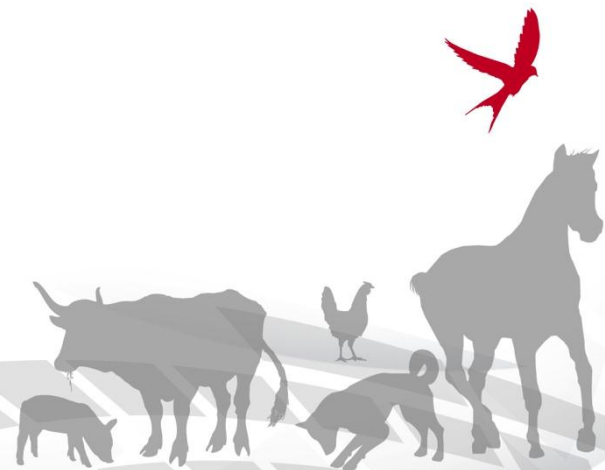
# Stabilità ed omogeneità dei gruppi

- a) La stabilità, per entrambi i livelli di contaminazione, è stata determinata esaminando i campioni nei diversi intervalli di tempo, per circa 40 giorni;
- b) I risultati conseguiti sono stati utilizzati per calcolare le rette di regressione. L'analisi di regressione è stata effettuata a partire dall'istante di tempo successivo al congelamento. Nel momento **in cui il coefficiente angolare della retta di regressione ( $y = ax + b$ ) risulti statisticamente non diverso da zero (intervallo di confidenza dei coefficienti al 95%), i campioni possono considerarsi stabili**



# Distribuzione

- 
- a) Spediti in ghiaccio secco e corriere celere
  - b) Accompagnati dalla modulistica; scheda sicurezza e istruzioni operative
  - c) Campione appoggio per la misura della T
  - d) All'arrivo misura della temperatura e stoccaggio fino alla prova.



# Omogeneità lotti

- L'omogeneità (10 campioni a 4,8,12,16 giorni) dei campioni è stata determinata per entrambi i lotti calcolando il T2 di **Cochran**
- I lotti sono risultati omogenei



- a) La stabilità, per entrambi i livelli di contaminazione, è stata determinata esaminando i campioni nei diversi intervalli di tempo (ogni 3 giorni 3 campioni), per almeno 40 giorni.
- b) I risultati conseguiti sono stati utilizzati per calcolare le rette di regressione. L'analisi di regressione è stata effettuata a partire dall'istante di tempo successivo al congelamento. Nel momento in cui il coefficiente angolare della retta di regressione ( $y = ax + b$ ) risulti statisticamente non diverso da zero (intervallo di confidenza dei coefficienti al 95%), i campioni possono considerarsi stabili.
- c) Entrambi i lotti sono risultati stabili per l'intero periodo considerato





# Stabilità lotto L1

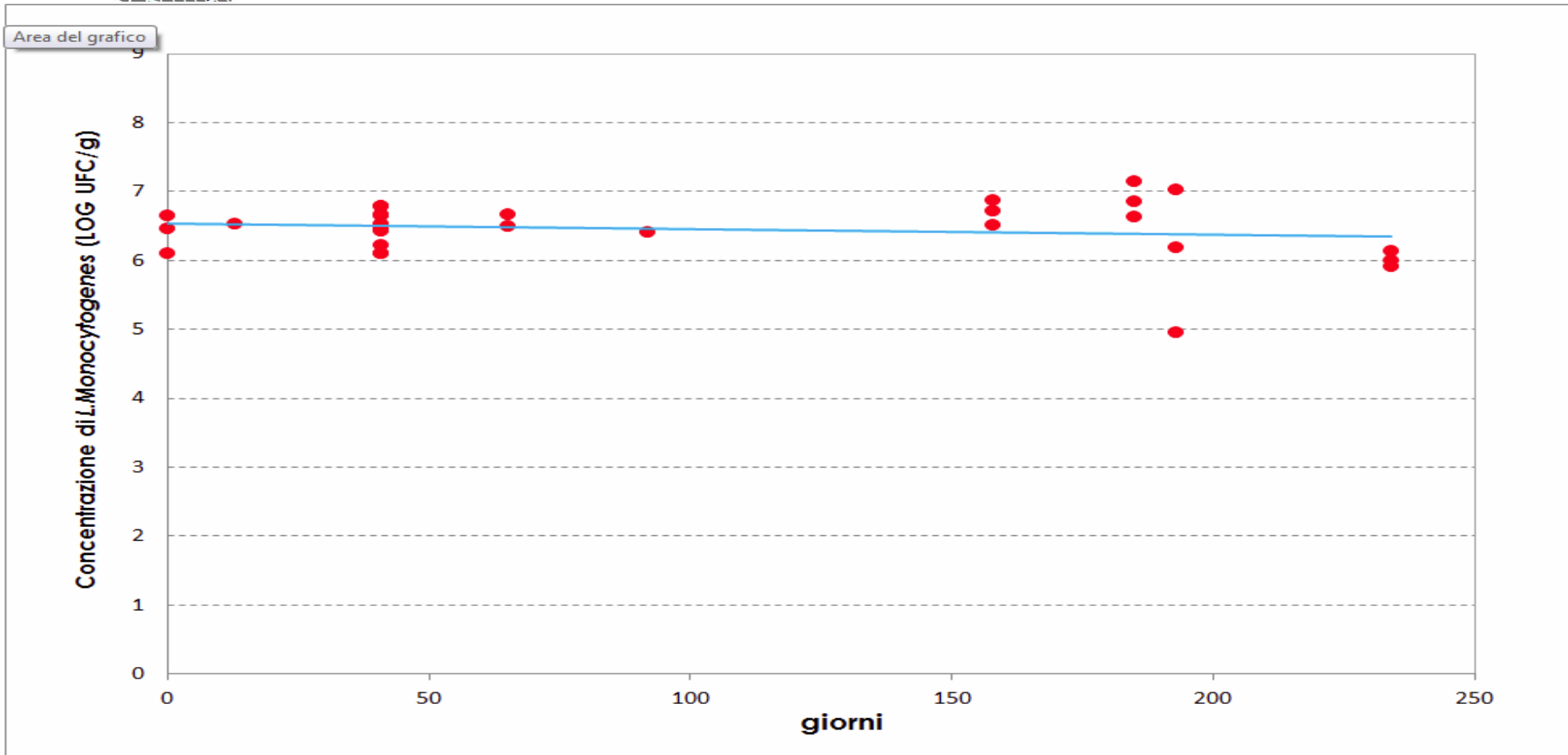


Tabella I. Analisi di regressione per la valutazione della stabilità

Lotto	Equazione	Valore di t coefficiente angolare	Significatività
1	$6,530 - 0,0008 * t$	-0,0008	>0,05



# Stabilità Lotto 2

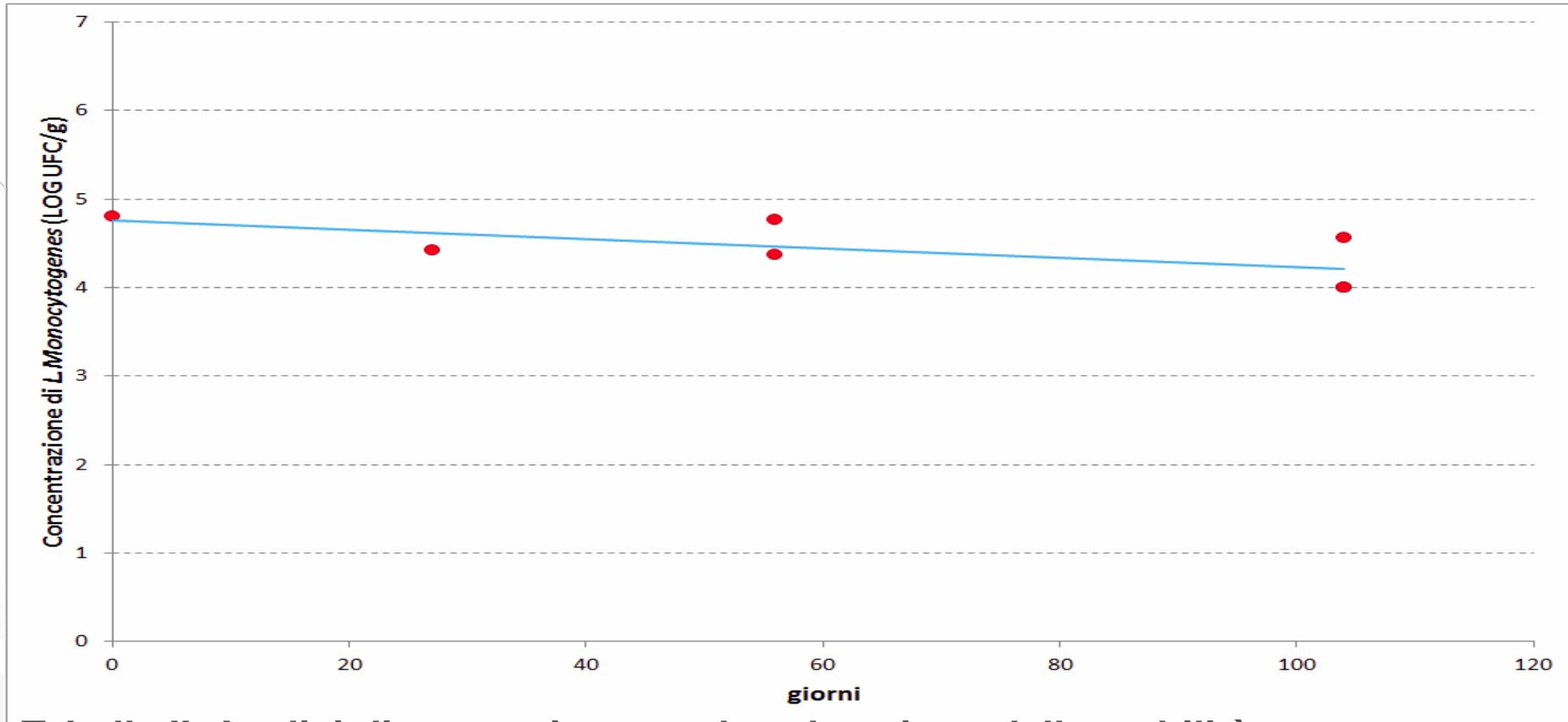



Tabella II. Analisi di regressione per la valutazione della stabilità

Lotto	Equazione	Valore di t coefficiente angolare	Significatività
2	4,781-0,006*t	-0,006	>0,05



# Valutazione statistica dei risultati



a) I risultati delle prove sono stati interpretati come errati o corretti, sulla base della loro corrispondenza ai risultati attesi. E' stata quindi stimata la probabilità che il laboratorio fornisca risultati esatti attraverso l'impiego di una distribuzione Beta( $s+1$ ;  $n-s+1$ ):

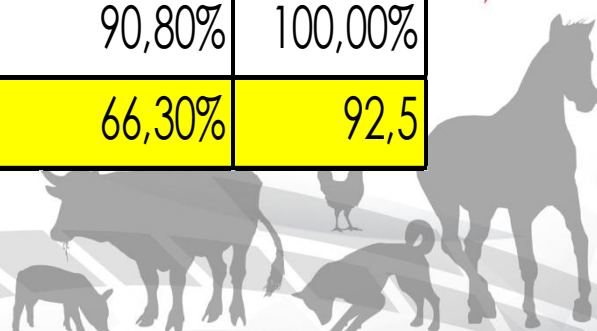
- $s$  = numero di risultati corretti forniti da ciascun laboratorio
- $n$  = numero di risultati totali forniti da ciascun laboratorio





# Risultati ottenuti dai laboratori e stima della % minima di risultati corretti.

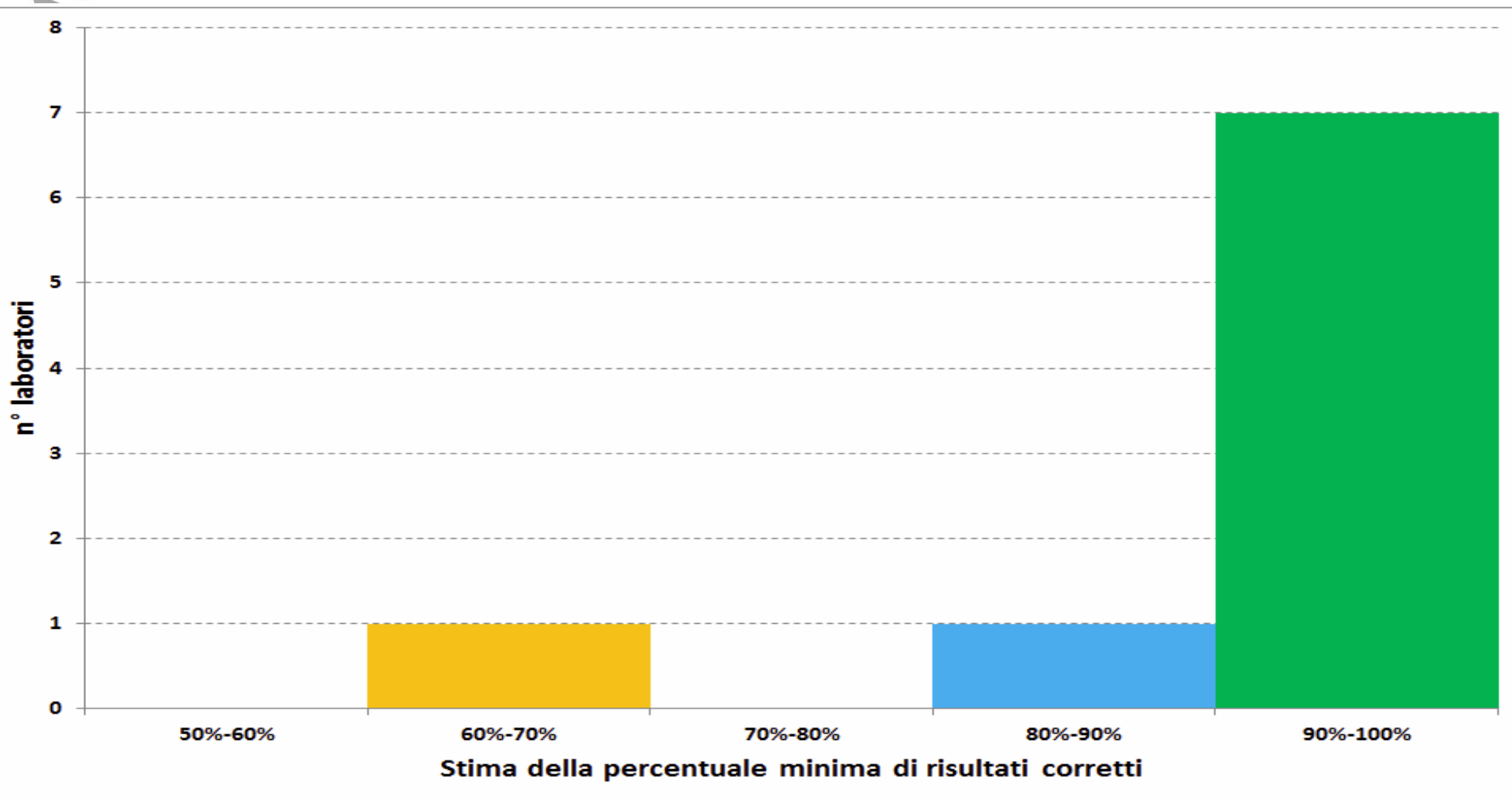
Identificativo laboratorio		RISULTATI DISTRIBUZIONE 13/LM 2013			
campioni corretti	campioni esaminati	l.c.i. (95%)		l.c.s. (95%)	
292	30	30		90,80%	100,00%
293	30	30		90,80%	100,00%
294	30	30		90,80%	100,00%
298	30	30		90,80%	100,00%
333	30	30		90,80%	100,00%
474	29	30		83,30%	99,20%
501	30	30		90,80%	100,00%
555	30	30		90,80%	100,00%
600	25	30		66,30%	92,5



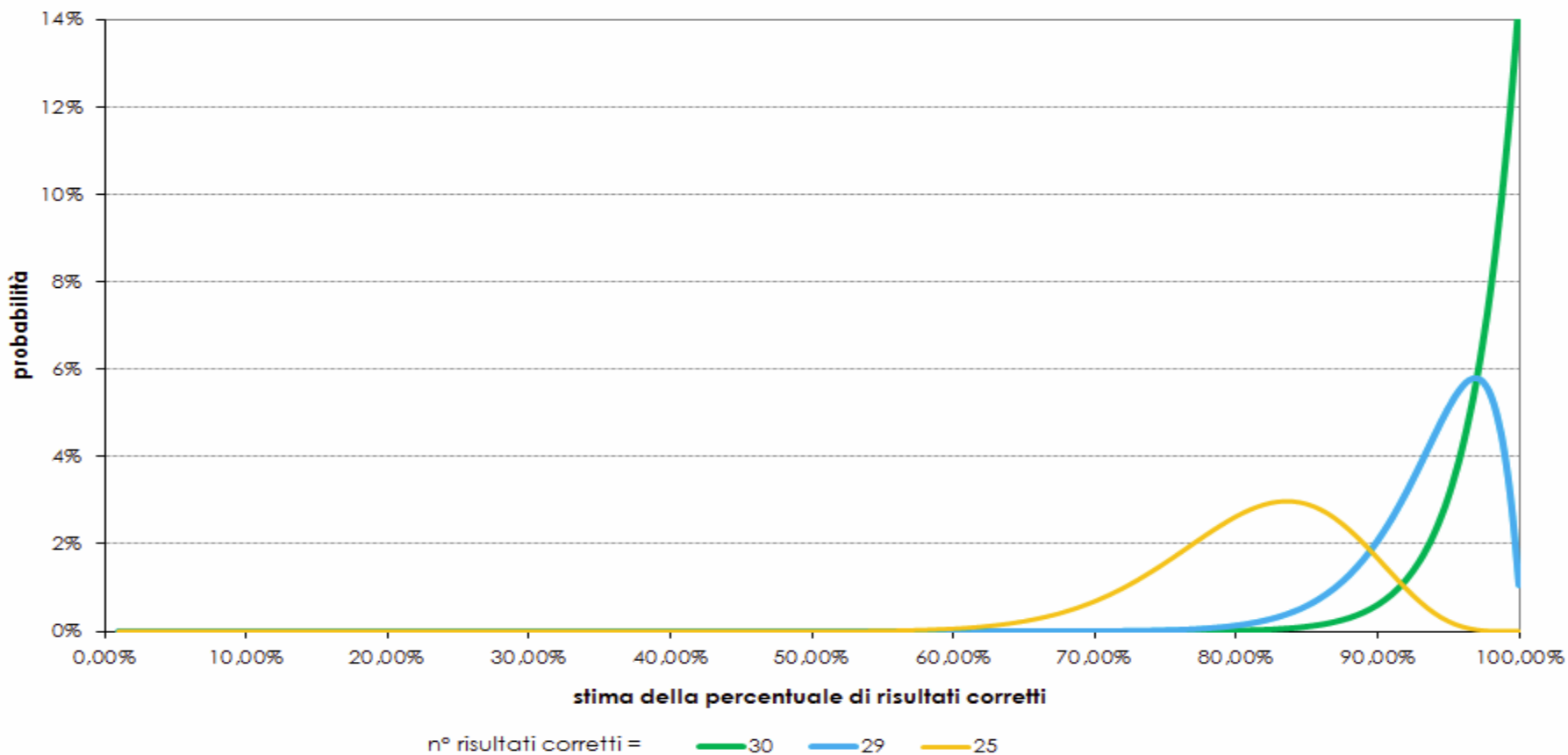


IZSAM  
TERAM

# distribuzione totale della stima della percentuale di dati corretti forniti dai laboratori

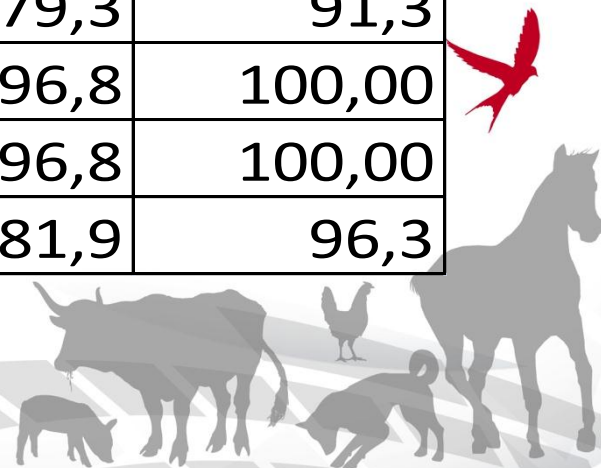


# Distribuzioni delle percentuali di risultati corretti




# Risultati CUMULATI Distribuzioni

n° laboratorio	RISULTATI CUMULATI			
	corretti	totale	l.c.i.(95%	l.c.s. (95%)
266	100	100	97,1	100,00
292	160	160	98,2	100,00
293	160	160	98,2	100,00
294	159	160	96,6	99,8
298	160	160	98,2	100
333	158	160	95,6	99,6
474	108	125	79,3	91,3
551	90	90	96,8	100,00
555	90	90	96,8	100,00
600	55	60	81,9	96,3




# AZIONI CORRETTIVE

- 
- RIPETIZIONE DEL RING TEST PER I DUE LABORATORI CON RISULTATI NON CONFORMI;
  - ALLA RIPETIZIONE TUTTI I CAMPIONI SONO STATI INDIVIDUATI CORRETTAMENTE DAI 2 LABORATORI.






# Ring test *Listeria monocytogenes*

- 
- ✓ Metodica utilizzata: Norma ISO 11290 parte 1
  - ✓ Matrice . Latte in polvere
  - ✓ Contaminazione : gocce secche a titolo noto di *L.monocytogenes* a due livelli L1 e L2
  - ✓ Campioni negativi contaminati con gocce secche a titolo noto di E.coli+S.aureus
  - ✓ Partecipato 14 laboratori
  - ✓ Invio campioni 18 novembre 2013



- 
- ✓ Omogeneità e stabilità sono effettuate sulle lenticole dal momento della loro produzione e poi con cadenza quindicinale ;
  - ✓ in più campioni contaminati preparati per la spedizione vengono esaminati sempre per omogeneità e stabilità per 10 giorni dopo la spedizione
  - ✓ Campioni spediti con corriere celere



# Primi risultati: 13/14 laboratori

