

ДНРЛ	Министарство пољопривреде шумарства и водопривреде Дирекција за Националне Референтне Лабораторије Батајнички друм 7део број:10, 11080Земун <i>Лабораторија за безбедност и квалитет млека и микробиолошка лабораторија за безбедност хране и хране за животиње</i>	ОБ-ЛБХ-61
	Запи о активности: ИЗВЕШТАЈ О МЛИ ЗА МЕТОДУ ИСПИТИВАЊА МЕЛАМИНА У МЛЕКУ ЕЛИСА ТЕСТОМ	
Издање:2	Датум важећег издања:28.12.2021.	Страна: 1/20

Назив методе: Ензимски имуноесеј за детекцију меламина у храни (50005Б)

Ознака методе: 50005Б

Испитивани матрикс: млеко и производи од млека

Статистичку обраду резултата МЛИ извршио: др Славољуб Станојевић, др вет.

Датум израде извештаја: 16.12.2024.

Временски оквир активности:

Пријава учесника	22.11.2024.
Додела кода учесника	25.11.2024.
Слање материјала учесницима панела	25.11.2024.
Рок за доставу резултат	06.12.2024.
Обрада, анализа и достава резултата	16.12.2024.

ДНРЛ	Министарство пољопривреде шумарства и водопривреде Дирекција за Националне Референтне Лабораторије Батајнички друм 7део број:10, 11080Земун <i>Лабораторија за безбедност и квалитет млека и микробиолошка лабораторија за безбедност хране и хране заживотиње</i>	ОБ-ЛБХ-61
	Запи о активности: ИЗВЕШТАЈ О МЛИ ЗА МЕТОДУ ИСПИТИВАЊА МЕЛАМИНА У МЛЕКУ ЕЛИСА ТЕСТОМ	
Издање:2	Датум важећег издања:28.12.2021.	Страна: 2/20

1. УВОД

Овај програм испитивања оспособљености лабораторија за извођење методе испитивања меламина у млеку компетитивним ЕЛИСА тестом укључивао је материјал намерно контаминиран меламинам како би се процениле перформанси скрининг методе коју лабораторије користе у рутинском раду.

У МЛИ су биле укључене три лабораторије. Лабораторије су претходно обавештене о организацији МЛИ и упућен им је позив за учешће. Након тога је 25.11.2024. године лаборатријама послат испитујући материјал (млеко у праху), курирском поштом, правилно упакован и транспортован у режиму хладног ланца. Лабораторије укучене у МЛИ су биле означене кодовима, при чему се водило рачуна о чувању пословне тајне и поверљивости свих осетљивих информација учесника. Све три лабораторије су доставиле резултате испитивање до датума наведеног у позиву (06.12.2024.).

2. ЗАХВАЛНОСТ

Захваљујемо се свим лабораторијама које су учествовале у овом међулабораторијском поређење.

3. ОПИС АКТИВНОСТИ

3.1. Припрема узорка

Након темељног мешања реферетног материјала (млеко у праху контаминирано меламинам; произвођач материјала: FAPAS UK; ознака РМ: T30142QC), тест-материјал је расподељен у вијале. Узорци су проверени на хомогеност и чувани на контролисаној температури до слања (20°C). Ознака узорка: MLI-DNRL-11-2024.

3.2. DNRL QC datasheet

Матрикс: млеко у праху

Испитивани аналит: меламина

Порекло материјала: FAPAS UK, референтни материјал познате концентрације,

Препоручена температура чувања након пријема: -20° C,

Маса узорка: 2.5 г.

ДНРЛ	Министарство пољопривреде шумарства и водопривреде Дирекција за Националне Референтне Лабораторије Батајнички друм 7део број:10, 11080Земун <i>Лабораторија за безбедност и квалитет млека и микробиолошка лабораторија за безбедност хране и хране за животиње</i>	ОБ-ЛБХ-61
	Запи о активности: ИЗВЕШТАЈ О МЛИ ЗА МЕТОДУ ИСПИТИВАЊА МЕЛАМИНА У МЛЕКУ ЕЛИСА ТЕСТОМ	
Издање:2	Датум важећег издања:28.12.2021.	Страна: 3/20

3.3. Дистрибуција узорака

Тест-материјали су испоручени у одговарајућим контејнерима и условима паковања и транспортовања. Слање је праћено путем система за праћење пошиљки курирске службе на веб-сајту. Пакет је садржао упаковани тест материјал (2.5 грама), пропратно писмо са неопходним упутствима за коришћење и складиштење материјала, као и смернице за извештавање резултата. Електронском поштом смо обавестили учеснике да су материјали послати.

4. КРИТЕРИЈУМИ ЗА ПРОЦЕНУ ПЕРФОРМАНСИ

4.1. Код лабораторије и поверљивост

Поверљивост је загарантована. Учесници су у завршном извештају идентификовани помоћу насумично додељеног кода. Кодови лабораторија су саопштени сваком учеснику путем његове веб-заштићене зоне. Подаци о пријављеним резултатима и прорачунатим вредностима успешности МЛИ су објављени под кодираним називима лабораторија, без навођења назива лабораторија.

4.2. Приказивање резултата

Учесници МЛИ су замољени да доставе квантитативне резултате мерења кориговане за рикавери.

Резултати су приказивани као:

„=...“ означава да је аналит детектован и квантитативно одређен.

„<...“ означава да аналит није детектован.

„>...“ означава да је аналит детектован, али није квантитативно одређен.

„Није тражено“ означава да лабораторија није извршила анализу.

ДНРЛ	Министарство пољопривреде шумарства и водопривреде Дирекција за Националне Референтне Лабораторије Батајнички друм 7део број:10, 11080Земун <i>Лабораторија за безбедност и квалитет млека и микробиолошка лабораторија за безбедност хране и хране за животиње</i>	ОБ-ЛБХ-61
	Запи о активности: ИЗВЕШТАЈ О МЛИ ЗА МЕТОДУ ИСПИТИВАЊА МЕЛАМИНА У МЛЕКУ ЕЛИСА ТЕСТОМ	
Издање:2	Датум важећег издања:28.12.2021.	Страна: 4/20

4.3. Обрада лабораторијских резултат

Приликом статистичке обраде резултат, сви подаци које су доставили учесници разматрани се са две децимале. У случају да децимале нису наведене, сматра се да оне одговарају „нулама“ (нпр. 25 = 25,00; 25,3 = 25,30; 25,32 = 25,32).

5. ИЗРАЧУНАВАЊЕ ДОДЕЉЕНЕ ВРЕДНОСТИ

Имајући у виду да су у овом МЛИ учествовале само три лабораторије, што је недовољно за правилно израчунавање и статистичку обраду додељене вредности материјала, као додељена вредност прихваћена је вредност која је дата у техничкој спецификацији референтног материјала од стране произвођача. Произвођач теста је начначио да је та вредност 11.5 мг/кг, ограничена интервалом поверења од 9.00 до 14.1 мг/кг.

6. МЕРНА НЕСИГУРНОСТ МЛИ

Стандардна мерна несигурност $u(x_{pt})$ је израчуната као: $u(x_{pt}) = s^*/p$ или $u(x_{pt}) = s^*/\sqrt{p}$

где су:

s^* робусна процена стандардне девијације учесника;

p број учесника.

У случају да ефекти неједноликости и нестабилности нису занемарљиви, и то ако је:
 $0.1 < [u(x_{pt})]^2 / \sigma_{pt}^2 \leq 0.5$, стандардна мерна несигурност се проширује фактором 1,25:

$$u(x_{pt}) = 1.25[s^*\sqrt{p}]$$

Ако је медијана коришћена као проценитељ, стандардна девијација се израчунава као:

$$s^* = \text{MADe}$$

(где је MADe медијан апсолутних девијација).

Када је стандардна мерна несигурност превисока, додељена вредност може бити нетачна.

ДНРЛ	Министарство пољопривреде шумарства и водопривреде Дирекција за Националне Референтне Лабораторије Батајнички друм 7део број:10, 11080Земун <i>Лабораторија за безбедност и квалитет млека и микробиолошка лабораторија за безбедност хране и хране за животиње</i>	ОБ-ЛБХ-61
	Запи о активности: ИЗВЕШТАЈ О МЛИ ЗА МЕТОДУ ИСПИТИВАЊА МЕЛАМИНА У МЛЕКУ ЕЛИСА ТЕСТОМ	
Издање:2	Датум важећег издања:28.12.2021.	Страна: 5/20

Зато:

- У случају када је: $[u(x_{pt})]^2/\sigma_{pt}^2 > 0.5$, консензус вредност се не одређује и индивидуални резултати лабораторијских перформанси се не пријављују. Резиме статистике се пружа само у информативне сврхе.
- У случају када је: $0.1 < [u(x_{pt})]^2/\sigma_{pt}^2 < 0.5$, несигурност мерења није занемарљива. Ефекти несигурности се укључују у израчунавање z-скора (који се онда израчунава као z'-скор). Стандардна несигурност $u(x_{pt})$ се проширује фактором 1.25 само у случају када ефекти неједноликости и нестабилности нису занемарљиви.

У случајевима када се десит да само мали број учесника потврди присуство одређених анализата у тест материјалу (овде није био случај). У таквим случајевима, присуство анализата се сматра:

„непотврђеним“, ако мање од 25% учесника детектује једињење;

„потврђеним“, ако 25% или више учесника детектује једињење (минималан број позитивних резултата је у сваком случају три).

7. Z-СКОР, Z'-СКОР И σ_{pt} (СТАНДАРДНА ДЕВИЈАЦИЈА ЗА ПРОЦЕНУ ОСПОСОБЉЕНОСТИ ЛАБОРАТОРИЈА):

7.1. Процена z-скор и z'-скор

Када је број потврђених квантитативних података (лабораторија) $p > 8$, резултат учесника се конвертује у z-скор према једначини:

$$z\text{-скор} = (x_i - x_{pt}) / \sigma_{pt}$$

где су:

- x_i вредност концентрације анализата коју је пријавила лабораторија;
- x_{pt} додељена вредност (добивена на основу вредновања референтног материјала од стране ЕУ референтне лабораторије, применом потврђених тестова у ПТ провери, произвођача материјала и сл);
- σ_{pt} стандардна девијација за процену оспособљености израчуната као $b \cdot x_{pt}$.
- $b = \%RSD / 100$, где је RSD релативна стандардна девијација.

ДНРЛ	Министарство пољопривреде шумарства и водопривреде Дирекција за Националне Референтне Лабораторије Батајнички друм 7део број:10, 11080Земун <i>Лабораторија за безбедност и квалитет млека и микробиолошка лабораторија за безбедност хране и хране за животиње</i>	ОБ-ЛБХ-61
	Запи о активности: ИЗВЕШТАЈ О МЛИ ЗА МЕТОДУ ИСПИТИВАЊА МЕЛАМИНА У МЛЕКУ ЕЛИСА ТЕСТОМ	
Издање:2	Датум важећег издања:28.12.2021.	Страна: 6/20

Вредност %RSD произилази из Хорвицове једначине (Horwitz, W., 1988, Pure Appl. Chem. 60, 855-864)

$$\%RSD = 2^{(1-0.5 \log X_{pt})}$$

где је x_{pt} изражен као бездимензиона концентрација.

Вредност σ_{pt} је повезана са концентрацијом анализата: изведен је из Хорвицове једначине (осим у појединим изузецима); у случају контаминације мање од 10 ppb, користи се Томпсонова модификована Хорвицова једначина (Thompson, M., 2000, Analyst 125, 385-386). У специфичним околностима, σ_{pt} се одређује на основу искуства добављача теста оспособљености (РТр), изведеног из претходних рунди.

7.2. Критеријум за избор између z-скор и z'-скор

Ако је: $0.1 < [u(x_{pt})]^2 / \sigma_{pt}^2 < 0.5$,

резултати учесника се конвертују у z'-скор према једначини:

$$z' = (x_i - x_{pt}) / \sigma_{pt} + u^2(x_{pt})$$

где су:

- 1) x_i вредност концентрације анализата коју је пријавила лабораторија;
- 2) x_{pt} додељена вредност (добијена на основу вредновања референтног материјала од стране ЕУ референтне лабораторије, применом потврђених тестова, произвођача материјала и сл.);
- 3) σ_{pt} стандардна девијација за процену оспособљености израчуната као $b_{x_{pt}}$;
- 4) $u^2(x_{pt})$ стандардна мерна несигурност израчуната као што је претходно описано.

Процена лабораторијске перформансе заснива се на следећим критеријумима за z-скор:

- 1) прихватљиво (задовољавајуће) када је $|z| \leq 2$;
- 2) упозорење (спорно) када је $2 < |z| < 3$;

сигнал за акцију (незадовољавајуће) је када је $|z| \geq 3$.

ДНРЛ	Министарство пољопривреде шумарства и водопривреде Дирекција за Националне Референтне Лабораторије Батајнички друм 7део број:10, 11080Земун <i>Лабораторија за безбедност и квалитет млека и микробиолошка лабораторија за безбедност хране и хране заживотиње</i>	ОБ-ЛБХ-61
	Запи о активности: ИЗВЕШТАЈ О МЛИ ЗА МЕТОДУ ИСПИТИВАЊА МЕЛАМИНА У МЛЕКУ ЕЛИСА ТЕСТОМ	
Издање:2	Датум важећег издања:28.12.2021.	Страна: 7/20

Како је у случају овог МЛИ критеријум за $u(x_{pt})^2/\sigma_{pt}^2$ био 0.2, није било потребе израчунавати z' скор.

Напомена*: Иако је у овом случају број учесника био свега три, определили смо да у овом извештају извршимо статистичку обраду резултата, најпре да би смо показали спремност лабораторија и њихову компетентност, упркос малом броју учесника, али исто тако и због нашег става да се на овај начин уводи нова димензија у квантитативној процени компетентности домаћих лабораторија и будућих ПТ провајдера.

8. Резултати статистичке обраде измерених вредности меламина које су пријавиле лабораторије

8.1. Резултати провере тачности измерених вредности меламина у испитиваном материјалу

У табели 1 дати су резултати статистичке обраде резултат МЛИ. Израчунате су вредности показатеља истинитости и тачности као и критеријуми за процену прихватљивости резултат, односно процену тачности и истинитости.

Тбела 1. Резултати статистичке обраде показатеља тачности измерених вредности меламина у дотављеном материјалу

ИД лабораторије	Измерена вредност	Статистик	абс Д разлика			Тачност		
Лаб. ID /статистик	$\bar{x}_{ri}$	Bias	Д		Recovery	bias	$bias^{\wedge 2}$	D% (error)
MEL1	10.678	-0.8224	0.8224	OK	92.85%	-0.8224	0.67639	-7.152%
MEL2	12.401	0.9013	0.9013	OK	107.84%	0.9013	0.81225	7.837%
MEL3	12.310	0.8100	0.8100	OK	107.04%	0.8100	0.65610	7.043%
Реф.вредност	11.500	-	-	-	-	-	-	-

критична Д вредност **1.9991;**

ДНРЛ	Министарство пољопривреде шумарства и водопривреде Дирекција за Националне Референтне Лабораторије Батајнички друм 7део број:10, 11080Земун <i>Лабораторија за безбедност и квалитет млека и микробиолошка</i> <i>лабораторија за безбедност хране и хране за животиње</i>	ОБ-ЛБХ-61
	Запи о активности: ИЗВЕШТАЈ О МЛИ ЗА МЕТОДУ ИСПИТИВАЊА МЕЛАМИНА У МЛЕКУ ЕЛИСА ТЕСТОМ	
Издање:2	Датум важећег издања:28.12.2021.	Страна: 8/20

8.1.1. Апсолутна грешка

Проценом достављених резултат мерења учесника панела, добијене су вредности биаса, процентне грешке и апсолутне Д разиле. Апсолутна грешка (Д вредност) је критеријум за процену прихватљивости резултат испитивања када се користи референтни материјал:

$$A = |\bar{x} - \mu| \leq 2 \sqrt{\sigma_R^2 - \left(1 - \frac{1}{n}\right) \sigma_r^2}$$

гдје је $\bar{x}$ резултат лабораторија (средња вредност резултата испитивања), μ истинита вредност (референтна вредност), n број мерења, σ_r и σ_R стандардно одступање поновљивости и обновљивости лабораторија. Проценом је утвршено да су све три лабораторије имале апсолутну грешку у интервалу од 0.81 до 0.9013, што је знатно ниже од граничне критичне вредности од 1.991.

8.1.2. Z тест

За континуирану оцену оспособљености лабораторија међулабораторијским испитивањем у овом МЛИ вреднована је z-вредност:

$$Z_i = \frac{\bar{x} - m}{\sqrt{S_R^2 - \left(1 - \frac{1}{n}\right) S_r^2}}$$

Табела 2. Добијене z-вредности

ID лабораторије	Z-вредност
MEL1	-0.65
MEL2	0.71
MEL3	0.64

ДНРЛ	Министарство пољопривреде шумарства и водопривреде Дирекција за Националне Референтне Лабораторије Батајнички друм 7део број:10, 11080Земун Лабораторија за безбедност и квалитет млека и микробиолошка лабораторија за безбедност хране и хране за животиње	ОБ-ЛБХ-61
	Запис о активности: ИЗВЕШТАЈ О МЛИ ЗА МЕТОДУ ИСПИТИВАЊА МЕЛАМИНА У МЛЕКУ ЕЛИСА ТЕСТОМ	
Издање:2	Датум важећег издања:28.12.2021.	Страна: 9/20

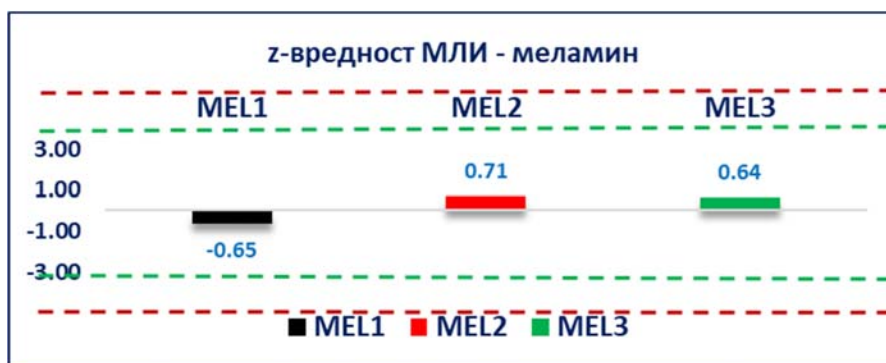


График 1. Графички приказ дистрибуције z-вредности који су оствариле лабораторије.

На основу добијених z-вредности изведен је закључак да су лабораторије оствариле задовољавајући резултат.

8.2. Показатељи дескриптивне статистике мере централне тенденције, поновљивости и обновљивости мерења

Статистик	симбол	вредност
Средња вредност свих лабораторија	$\bar{X}_R$ ($\hat{m}$)	11.80
Параметри прецизности		
Варијанса свих лабораторија	s_m^2	0.94
стандардна девиација свих лабораторија	s_m	0.97
Међулабораторијска варијанса	s_L^2	0.00
Стандардна девиација обновљивости	S_R	0.97
Укупна ст. дев. свих лабораторија	σ_{pt}	0.97
Граница бновљивости	$2.8 \cdot S_R$	2.72
Релативна ст. дев.	RSD	8.22
Предиктивна %РСД (Хорвица једначина)	$RSD_{pr.}$	11.08%
Мерна несигурност (МН) МЛИ	$u_{(xpt)}$	0.56 (4.75%)
Критична вредност за МН МЛИ	$MN_{crit.}$	0.20
HorRate	$RSD/RSD_{pr.}$	0.74
HotaRate критеријум		<2

ДНРЛ	Министарство пољопривреде шумарства и водопривреде Дирекција за Националне Референтне Лабораторије Батајнички друм 7део број:10, 11080Земун <i>Лабораторија за безбедност и квалитет млека и микробиолошка лабораторија за безбедност хране и хране за животиње</i>	ОБ-ЛБХ-61
	Запи о активности: ИЗВЕШТАЈ О МЛИ ЗА МЕТОДУ ИСПИТИВАЊА МЕЛАМИНА У МЛЕКУ ЕЛИСА ТЕСТОМ	
Издање:2	Датум важећег издања:28.12.2021.	Страна: 10/20

9. ЗАКЉУЧАК И МИШЉЕЊЕ

Узимајући у обзир резултате добијене током МЛИ и статистичке показатеље, може се извести закључак да су лабораторије оствариле задовољавајуће резултате и да су оспособљене за тачно и прецизно извођење методе испитивања концентрације меламина у млеку елиса тестом.

16.12.2024. godine

НАЧЕЛНИК ЛАБОРАТОРИЈЕ

др Славољуб Станојевић, научни сарадник

В.Д. ДИРЕКТОРА

 Александра Божић