



**PAŃSTWOWY INSTYTUT WETERYNARYJNY
– PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY**

KRAJOWE LABORATORIUM REFERENCYJNE

Zakładu Bezpieczeństwa Żywności

(obecnie Dział Badań Mikrobiologicznych Żywności i Pasz)

Sprawozdanie nr PIWet-PT2025/DBM/09
z badań biegłości w zakresie:

*„Oznaczania histaminy w rybach i produktach
rybnych”*

Runda nr 01/2025

Sprawozdanie końcowe

Spis treści

I. Informacje ogólne	2
1. Badania biegłości i ich znaczenie	2
2. Organizacja badań biegłości	2
3. Zakres badań rundy nr 01/2025	4
4. Uczestnicy rundy nr 01/2025	4
5. Obiekt badań biegłości, jednorodności i stabilności.....	4
6. Zasady opracowania wyników.....	5
7. Dokumenty związane.....	8
II. Informacje szczegółowe	9
1. Wyniki badań uczestników i dane statystyczne.....	9
2. Graficzna prezentacja osiągniętych rezultatów	10
III. Informacje końcowe	10
Aneks 1. Zestawienie wyników jednorodności obiektu badań biegłości.....	11
Aneks 2. Zestawienie wyników stabilności obiektu badań biegłości.....	12

I. Informacje ogólne

1. Badania biegłości i ich znaczenie

Badania biegłości stanowią jedną z podstawowych metod zewnętrznej oceny jakości (External Quality Assessment – EQA) i służą ocenie kompetencji laboratorium do realizacji badań lub pomiarów w porównaniu z innymi uczestnikami. Badania biegłości przez porównania międzylaboratoryjne, oprócz określania i monitorowania zdolności laboratorium do wykonywania badań, mogą służyć, między innymi: identyfikacji problemów w laboratoriach, w tym inicjowaniu działań naprawczych, ustaleniu efektywności i porównywalności nowych metod badawczych, dostarczaniu klientom laboratoriów wiarygodnych wskaźników zaufania, identyfikowaniu różnic między laboratoriami, określaniu cech charakterystycznych metody czy określaniu właściwości materiałów odniesienia.

Udział w porównaniach międzylaboratoryjnych lub badaniach biegłości stanowi jeden ze sposobów monitorowania miarodajności przeprowadzanych badań w ramach procesu potwierdzenia ważności wyników. Norma PN-EN ISO/IEC 17025 wymaga, aby laboratoria posiadały procedury potwierdzenia ważności wyników zapewniające stałe monitorowanie miarodajności wyników badań dostarczanych klientom. Zgodnie z tym, jednostki akredytujące i oceniające laboratoria, na podstawie zapisów normy PN-EN ISO/IEC 17011, wymagają od laboratoriów akredytowanych lub ubiegających się o akredytację uczestnictwa w badaniach biegłości i odpowiedniego reagowania na uzyskiwane rezultaty, jako jednego z podstawowych elementów potwierdzenia ważności wyników. Polskie Centrum Akredytacji (PCA) zawarło politykę dotyczącą wykorzystywania badań biegłości i porównań międzylaboratoryjnych w procesach akredytacji i nadzoru laboratoriów w dokumencie DA-05.

W stosunku do laboratoriów urzędowej kontroli żywności, na mocy przepisów Rozporządzenia nr 2017/625 Parlamentu Europejskiego i Rady (WE), wymaga się akredytacji na zgodność z normą PN-EN ISO/IEC 17025, a przez to udziału w badaniach biegłości, jako podstawowego środka wykazania kompetencji.

Uczestnictwo w programach badań biegłości daje laboratoriom obiektywne środki do oceny i wykazywania wiarygodności uzyskiwanych wyników badań. Podstawowe zastosowanie programów, tj. ocena zdolności laboratorium do kompetentnego wykonywania badań, może dotyczyć samooceny laboratorium, oceny ich przez klientów lub oceny przez strony trzecie, takie jak jednostki akredytujące lub organy kontrolne. Zaufanie, co do tego, że laboratorium stale uzyskuje wiarygodne rezultaty jest najbardziej istotną kwestią dla klientów laboratorium.

2. Organizacja badań biegłości

Badania biegłości zorganizowano i przeprowadzono zgodnie z zaleceniami normy PN-EN ISO/IEC 17043:2023-10 „Ocena zgodności. Ogólne wymagania dotyczące badania biegłości”. Organizator badań posiada akredytację Polskiego Centrum Akredytacji na zgodność z normą PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02, numer certyfikatu AB 485.



Organizator badań biegłości:

Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy (PIWet-PIB)
Krajowe Laboratorium Referencyjne Zakładu Bezpieczeństwa Żywności
(obecnie Dział Badań Mikrobiologicznych Żywności i Pasz)
Aleja Partyzantów 57
24-100 Puławy
tel.: 81 889 30 00, fax: 81 886 25 95
www.piwet.pulawy.pl

Osoba autoryzująca sprawozdanie z badań biegłości:

prof. dr hab. Jacek Osek
Kierownik Działu Badań Mikrobiologicznych Żywności i Pasz PIWet-PIB

Koordynator Programu:

mgr Marzena Pawul-Gruba
tel.: 81 889 33 02
e-mail: marzena.pawul@piwet.pulawy.pl

Informacje o projekcie i wdrożeniu programu badań biegłości:

Organizatorem programu badań biegłości w zakresie oznaczania histaminy w rybach i produktach rybnych jest Krajowe Laboratorium Referencyjne dla badań produktów pochodzenia zwierzęcego zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 20 sierpnia 2024 r. w sprawie krajowych laboratoriów referencyjnych (Dz. U. poz. 1274 z 2024 r.). Organizator, jako Krajowe Laboratorium Referencyjne, na mocy zapisów ustawy z dnia 29 stycznia 2004 r. o Inspekcji Weterynaryjnej (Dz. U. z 2024 r. poz. 12), jest zobowiązany do organizacji badań porównawczych pomiędzy krajowymi laboratoriami urzędowymi, a następnie do zapewnienia odpowiedniego późniejszego zastosowania takich badań porównawczych.

Działania podzlecane przez Organizatora badań biegłości

Organizator badań nie podzleca żadnych działań podmiotom trzecim. Wszystkie działania związane z organizacją badań biegłości wykonywane są wyłącznie przez Organizatora i w jego siedzibie.

Oświadczenie o poufności

Organizator badań biegłości w zakresie oznaczania zawartości histaminy gwarantuje zachowanie poufności danych dotyczących Uczestników oraz uzyskanych przez nich wyników. Wyniki badań biegłości laboratoriów Zakładów Higieny Weterynaryjnej przekazywane są do Głównego Lekarza Weterynarii, Departamentu Bezpieczeństwa Żywności i Weterynarii Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi oraz dodatkowo do właściwych Wojewódzkich Lekarzy Weterynarii.



Harmonogram rundy nr 01/2025:

Lp.	Etap	Termin
1.	Nadsyłanie zgłoszeń	do 23.05.2025
2.	Potwierdzenie przyjęcia zgłoszenia i nadanie kodu Uczestnikowi badań	Automatycznie w chwili zgłoszenia
3.	Wysyłanie próbek	10.06.2025
4.	Dostarczenie próbek do Uczestnika	11.06.2025
5.	Raportowanie wyników badań	do 27.06.2025
6.	Potwierdzenie wysłania wyników badań	Automatycznie w chwili wysłania
7.	Termin wysłania sprawozdania z badań	do 31.08.2025

Zgłaszanie uczestnictwa w badaniach biegłości oraz raportowanie wyników odbywało się poprzez portal elektroniczny *e-klient* dostępny po zalogowaniu pod adresem: www.piwet.pulawy.pl w zakładce Oferta / Badania Biegłości / Dział Badań Mikrobiologicznych Żywności i Pasz / Uczestnictwo w programie PT (www.eklient.piwet.pulawy.pl). Uczestnicy mieli możliwość wyboru metody badania, z uwzględnieniem metod stosowanych w rutynowej działalności. Raportując wyniki badań Uczestnicy byli zobowiązani podać dane dotyczące zastosowanej metody badawczej.

3. Zakres badań rundy nr 01/2025

Zakres badań oferowanych w rundzie nr 01/2025 obejmował oznaczanie zawartości histaminy w rybie wędzonej (makrela).

4. Uczestnicy rundy nr 01/2025

W badaniach wzięło udział 6 laboratoriów Zakładów Higieny Weterynaryjnej. Uczestnikom badań zapewniono anonimowość poprzez nadanie im indywidualnych numerów kodowych. Każdy Uczestnik posiadał dostęp do portalu elektronicznego umożliwiającego rejestrację uczestnictwa i wprowadzanie wyników badań biegłości oraz pobranie „Regulaminu i oferty uczestnictwa”, dostępnego także na stronie internetowej www.piwet.pulawy.pl, zakładka Oferta / Badania biegłości. Sprawozdanie z badań dostępne było dla Uczestników badań biegłości po zalogowaniu się do portalu elektronicznego w wyznaczonym terminie.

5. Obiekt badań biegłości, jednorodność i stabilność

Jak podkreślono wcześniej, celem badań biegłości jest ocena kompetencji laboratoriów wykonujących analizy w zakresie oznaczania histaminy w rybach i produktach rybnych. Obiektem badania była zhomogenizowana próbka wędzonej makreli, wzbogacona roztworem dichlorowodoru histaminy, przesłana Uczestnikom pocztą kurierską w opakowaniu izotermicznym z wkładem chłodzącym.

Jednorodność i stabilność obiektów badań biegłości

Organizator ocenił jednorodność i stabilność materiału z losowo wybranych próbek z partii przeznaczonej do badania na podstawie wyników oznaczenia zawartości



histaminy. Sprawdzenie jednorodności i stabilności obiektów badanych wykonano w oparciu o procedurę zawartą w Aneksie B normy ISO 13528:2022.

W teście jednorodności zbadano 10 losowo wybranych próbek z powtórzeniem. Próbkę uważana jest za jednorodną, gdy spełniony jest warunek:

$$s_s \leq 0,3 \sigma_{pt},$$

gdzie s_s – odchylenie standardowe między próbkami, σ_{pt} – odchylenie standardowe dla oceny biegłości.

W teście stabilności badano po 3 losowo wybrane próbki z powtórzeniem. Próbkę uważana jest za stabilną, gdy spełniony jest warunek:

$$|\bar{y}_1 - \bar{y}_2| \leq 0,3\sigma_{pt},$$

gdzie $|\bar{y}_1 - \bar{y}_2|$ – różnica bezwzględna pomiędzy wartością średnią z testu stabilności przed wysyłką próbek i wartością średnią z testu stabilności w dniu wykonania badań. Szczegółowe zbiorcze informacje dotyczące jednorodności obiektu badań przedstawione są w Aneksie 1 oraz dotyczące stabilności w Aneksie 2.

6. Zasady opracowania wyników

Na standardową procedurę oceny wyników raportowanych przez Uczestników składało się wyznaczenie wartości przypisanej i jej niepewności, obliczenie statystycznych wskaźników charakteryzujących uzyskane wyniki oraz ocena osiągniętych rezultatów. Dane wszystkich Uczestników biorących udział w badaniach biegłości przenoszone były automatycznie z portalu elektronicznego do arkusza kalkulacyjnego, a następnie podlegały sprawdzeniu przez co najmniej dwie osoby.

Wartości parametrów niezbędnych w statystyce badań biegłości wyznaczono w oparciu o zastosowanie mocnych (odpornych) metod statystycznych, zgodnych z wytycznymi norm ISO 13528:2022. Metody te pozwalają na wyznaczenie odpornego odchylenia standardowego, wartości przypisanej i jej niepewności oraz wskaźnika oceny osiągnięć bez usuwania wartości odstających, w sposób zapewniający brak wpływu takich wartości na obliczane parametry.

Wartość przypisana i jej niepewność

Wartość przypisana X_{pt} jest odporną średnią (medianą) wszystkich wyników raportowanych przez Uczestników wyznaczoną z zastosowaniem algorytmu A odpornej analizy danych normy ISO 13528:2022.

Niepewność tak obliczanych wartości przypisanych X_{pt} jest niepewnością standardową u_x , wyrażaną za pomocą wzoru:

$$u_x = \frac{1,25 \times s^*}{\sqrt{p}}$$

u_x – niepewność standardowa wartości przypisanej

s^* – odporne odchylenie standardowe

p – liczba Laboratoriów dostarczających wyniki

Należy zauważyć, że niepewność wartości przypisanej zależy od metody służącej jej wyznaczeniu oraz liczby Uczestników raportujących wyniki, a także innych czynników. Niepewność standardowa podawana jest dla każdej wartości przypisanej badań ilościowych. Jeśli wartość tej niepewności spełnia kryterium $u_x \leq 0,3 \sigma_{pt}$, gdzie σ_{pt} jest odchyleniem standardowym dla badania biegłości danego obiektu, wówczas jest ona nieznacząca i nie jest uwzględniana w interpretacji rezultatów badania biegłości. Jeśli kryterium to nie jest spełnione wówczas niepewność taka jest znacząca i wartość jest uwzględniana w interpretacji wyników badania biegłości.

Odchylenie standardowe dla oceny biegłości

Odchylenie standardowe dla oceny biegłości σ_{pt} jest określone na podstawie wyników raportowanych przez Uczestników w danej rundzie badań biegłości. Jego wartość jest wyznaczona z zastosowaniem algorytmu A odpornej analizy danych normy ISO 13528:2022.

Przyjęto, że odchylenie standardowe dla oceny biegłości σ_{pt} jest równe odpornemu odchyleniu standardowemu s^* .

W przypadku, gdy wartość odpornego odchylenia standardowego s^* wyznaczona z zastosowaniem algorytmu A normy ISO 13528:2022 jest niższa niż średnia wartość tego odchylenia wyznaczona z ostatnich 5 lat, jako wartość odchylenia standardowego dla oceny biegłości przyjmuje się jego wartość średnią z ostatnich 5 lat.

Wskaźniki osiągnięć

- Wskaźnik z , gdzie

$$z = \frac{x - X_{pt}}{\sigma_{pt}}$$

x – wynik Uczestnika

X_{pt} – wartość przypisana

σ_{pt} – odchylenie standardowe oceny biegłości, obliczone wg wzoru:

$$\sigma_{pt} = 1,134 \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i^* - X_{pt})^2}{n-1}}$$

gdzie

X_{pt} - wartość odniesienia wyznaczona metodą iteracji

x^* - wynik uzyskany w trakcie iteracji

n - liczba wyników

W zależności od wartości wskaźnika z uzyskane przez Uczestnika wyniki badań ilościowych uznaje się za:

$$|z| \leq 2 \quad - \text{zadowalające}$$

$2 < |z| < 3$ – wątpliwe

$|z| \geq 3$ – niezadowolająca

- Wskaźnik z' , gdzie

$$z' = \frac{x - X_{pt}}{\sqrt{\sigma_{pt}^2 + u_x^2}}$$

x – wynik Uczestnika

X_{pt} – wartość przypisana

σ_{pt} – odchylenie standardowe oceny biegłości

u_x – niepewność standardowa wartości przypisanej X_{pt}

W zależności od wartości wskaźnika z' uzyskane przez Uczestnika wyniki badań ilościowych uznaje się za:

$|z'| \leq 2$ – zadowolająca

$2 < |z'| < 3$ – wątpliwe

$|z'| \geq 3$ – niezadowolająca

Wskaźnik z' stosowany jest w sytuacji, kiedy niepewność standardowa u_x wartości przypisanej X_{pt} nie spełnia kryterium $u_x \leq 0,3 \sigma_{pt}$, gdzie σ_{pt} jest odchyleniem standardowym badania biegłości danego obiektu. Wskaźnik z' pozwala wówczas na włączenie niepewności wartości przypisanej X_{pt} do oceny osiągnięć w badaniu biegłości a przez to zwiększa miarodajność oceny badania biegłości.

Interpretacja wartości wskaźników osiągnięć

Kiedy Uczestnik raportuje wynik dający wartość wskaźnika z lub $z' \geq 3,0$ lub $\leq -3,0$ (wynik niezadowolający), wówczas wynik taki powinien być rozpatrywany, jako sygnał wskazujący na konieczność szczegółowej analizy przypadku i podjęcia działań korygujących oraz zapobiegawczych. Podobnie wartość wskaźnika $3,0 > z$ (z') $> 2,0$ i $-3,0 < z$ (z') $< -2,0$ (wynik wątpliwy) powinna być rozpatrywana jako sygnał ostrzegawczy. Wartości wskaźnika z lub z' mieszczące się w zakresie od $-2,0$ do $2,0$ są wartościami prawidłowymi i nie są wymagane jakiegokolwiek działania naprawcze czy też korekcyjne/korygujące.

7. Dokumenty związane

- [1] **PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02** Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących
- [2] **PN-EN ISO/IEC 17011:2018-02** Ocena zgodności – Wymagania dla jednostek akredytujących prowadzących akredytację jednostek oceniających zgodność
- [3] **ISO 13528:2022** Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison
- [4] **Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2017/625 z dnia 15 marca 2017 r.** w sprawie kontroli urzędowych i innych czynności urzędowych przeprowadzanych w celu zapewnienia stosowania prawa żywnościowego i paszowego oraz zasad dotyczących zdrowia i dobrostanu zwierząt, zdrowia roślin i środków ochrony roślin (Dz. U. UE 2017 poz. L95/1)
- [5] **Ustawa z dnia 29 stycznia 2004 r.** o Inspekcji Weterynaryjnej (Dz. U. z 2024 r. poz. 12)
- [6] **Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 27 lipca 2022 r.** w sprawie krajowych laboratoriów referencyjnych (Dz. U. poz. 1667 z 2022 r. z późn. zm.)
- [7] **Dokument PCA DA-05** Polityka dotycząca uczestnictwa w badaniach biegłości lub porównaniach międzylaboratoryjnych innych niż badania biegłości, wydanie 10 z dnia 7 stycznia 2025 r.
- [8] **PN-EN ISO/IEC 17043:2023-10** Ocena zgodności – Ogólne wymagania dotyczące kompetencji organizatorów badania biegłości

II. Informacje szczegółowe

1. Wyniki badań Uczestników i dane statystyczne

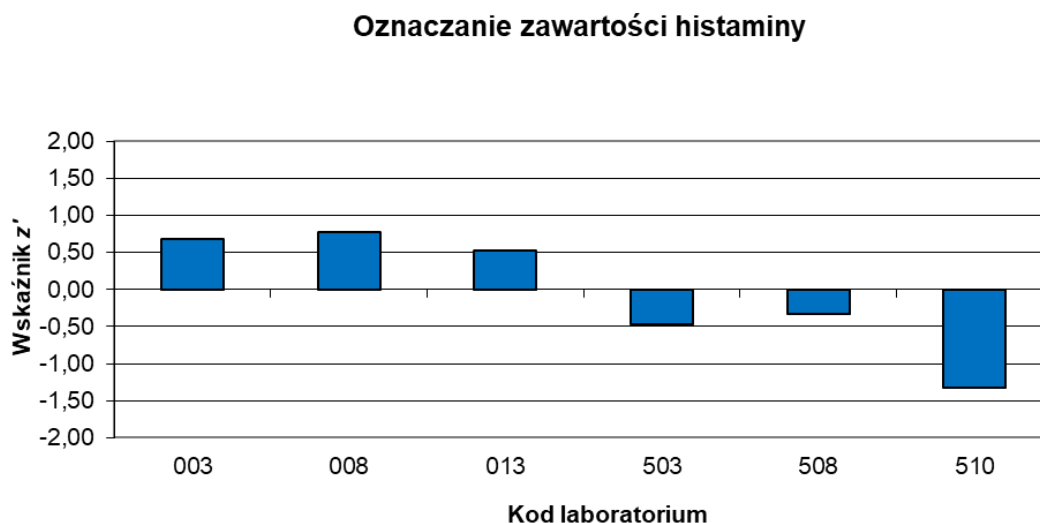
Informacje podstawowe	
Liczba Uczestników	6
Liczba Uczestników ocenianych	6
Zastosowany wskaźnik oceny biegiłości	z'
Zakres raportowanych wartości w mg/kg	(49,11 ÷ 63,19)
Zakres wartości współczynnika z'	(-1,32 do 0,78)
Wartość przypisana X_{pt} w mg/kg	57,97
Odporne odchylenie standardowe s^* ($= \sigma_{pt}$)	6,00
Niepewność standardowa u_x	3,06

Wyniki uczestników				
Kod Uczestnika	Wynik Uczestnika (mg/kg)	Wskaźnik z'	Zastosowana metoda badawcza	Akredytacja metody badawczej
003	62,55	0,68	PB-21/CH-C ed. 01 z dn. 15.05.2024 (HPLC)	Tak
008	63,19	0,78	PN-EN ISO 19343:2017 (HPLC)	Tak
013	61,54	0,53	PB-32/CHŻ wyd. 04 z dn.19.02.2024 (HPLC)	Tak
503	54,77	-0,47	PB-15/C (HPLC)	Tak
508	55,75	-0,33	Instrukcja wg PIWet-PIB Puławy 2012 (HPLC)	Tak
510	49,11	-1,32	PB-CH/03 (HPLC)	Tak
Liczba Uczestników uzyskujących wskaźnik z na poziomie:			-2,00 do +2,00	6
			-2,01 do -2,99	0
			+2,01 do +2,99	0
			≤ -3,00	0
			≥ +3,00	0

Laboratoria: 003, 008, 013, 503, 508, 510 uzyskały pozytywny wynik badań porównawczych, tzn. zadowolający wynik badań biegiłości (PT).



2. Graficzna prezentacja osiągniętych rezultatów



III. Informacje końcowe

Komentarz Organizatora badań biegłości:

Organizator badań biegłości, po przeanalizowaniu wyników Uczestników rundy nr 01/2025 oraz zastosowanych metod badawczych, przedstawia następujące komentarze:

- W badaniu udział wzięło 6 laboratoriów. Nadesłano 6 wyników poprzez portal elektroniczny *e-klient*;
- Wartość wskaźnika z' dla 6 wyników mieściła się w zakresie $|z'| \leq 2$;
- Do oceny wyników Uczestników zastosowano wskaźnik z' , ponieważ wartość niepewności przypisanej nie spełnia kryterium $u_x \leq 0,3 \sigma_{pt}$, i została uwzględniona przy interpretacji wyników badania biegłości.

Aneks 1. Zestawienie wyników jednorodności obiektu badań biegłości

Zawartość histaminy w mg/kg

Próbka	Oznaczanie zawartości histaminy w rybie wędzonej	
	P1	P2
1	57,83	57,93
2	59,87	59,83
3	59,92	59,88
4	60,94	60,91
5	61,11	61,09
6	62,39	62,26
7	61,22	61,12
8	62,01	61,97
9	62,26	62,23
10	60,93	60,97
X	60,83	
s _x	1,35	
s _w	0,05	
s _s	1,35	
σ _{pt}	6,00	
0,3 σ _{pt}	1,80	
Spełnienie kryterium s _s ≤ 0,3 σ _{pt}	TAK	

Objaśnienia: P1, P2 - powtórzenia badania, x - wartość średnia, s_x - odchylenie standardowe dla średnich z próbek, s_w - odchylenie standardowe wewnątrz próbek, s_s - odchylenie standardowe między próbkami, σ_{pt} - odchylenie standardowe dla oceny biegłości

Aneks 2. Zestawienie wyników stabilności obiektu badań biegłości

Zawartość histaminy w mg/kg

Próbka	Oznaczanie zawartości histaminy w rybie wędzonej	
	P1	P2
1	60,26	60,66
2	61,94	59,77
3	58,72	60,99
$\bar{y}_1$	60,83	
$\bar{y}_2$	60,39	
$ \bar{y}_1 - \bar{y}_2 $	0,44	
$0,3\sigma_{pt}$	1,80	
Spełnienie kryterium $ \bar{y}_1 - \bar{y}_2 \leq 0,3 \sigma_{pt}$	TAK	

Objaśnienia: P1, P2 - powtórzenia badania, $\bar{y}_1$ - wartość średnia z testu stabilności przed wysyłką próbek, $\bar{y}_2$ - wartość średnia z testu stabilności w dniu wykonania analiz, $|\bar{y}_1 - \bar{y}_2|$ - różnica bezwzględna pomiędzy wartością średnią z testu stabilności przed wysyłką próbek i wartością średnią z testu stabilności w dniu wykonania analiz, σ_{pt} - odchylenie standardowe dla oceny biegłości

Osoba przygotowująca sprawozdanie:

mgr Marzena Pawul-Gruba
dr Anna Madejska

Koordynator Programu:

mgr Marzena Pawul-Gruba

Osoba autoryzująca sprawozdanie:

prof. dr hab. Jacek Osek
Kierownik Działu Badań Mikrobiologicznych Żywności i Pasz PIWet-PIB

Data wydania sprawozdania: 28.07.2025 r.

KONIEC SPRAWOZDANIA