



Centro Referenza Nazionale Qualità Latte Bovino
I.Z.S.L.E.R. – Brescia

PROGETTO UNIFICAZIONE CONVERSIONE
Bactoscan FC

A. Marcolini

3- COSA E' STATO FATTO (finora)

“Il seguente allegato VI *bis* sui metodi di prova relativi al latte crudo e al latte trattato termicamente è aggiunto al regolamento (CE) n. 2074/2005:”

«ALLEGATO VI BIS

**METODI DI PROVA RELATIVI AL LATTE CRUDO E AL LATTE TRATTATO
TERMICAMENTE**

CAPITOLO I

DETERMINAZIONE DELLA CONTA BATTERICA MICROBICA

1. Per la verifica dei criteri di cui all'allegato III, sezione IX, capitolo I, parte III, del regolamento (CE) n. 853/2004 vanno applicate come metodi di riferimento le seguenti norme:

a) **EN/ISO 4833 per la conta delle colonie a 30°C;**

.....

2. È accettabile l'impiego di metodi analitici alternativi:

a) per la conta delle colonie a 30°C, qualora i metodi siano convalidati in base al metodo di riferimento di cui al punto 1, lettera a), conformemente al protocollo stabilito dalla norma **EN/ISO 16140 od ad altri protocolli simili riconosciuti a livello internazionale**. In particolare, **il rapporto di conversione tra un metodo alternativo e il metodo di riferimento di cui al punto 1, lettera a), è stabilito conformemente alla norma ISO 21187;**

LE NORME DI RIFERIMENTO

ISO 16140:2003 *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Protocol for the validation of alternative methods*

ISO 21187:2004 *Milk – Quantitative determination of bacteriological quality – Guidance for establishing and verifying a conversion relationship between routine method results and anchor method results*



ISO 21187:2004 ORGANIZZAZIONE

“Caso a): ambedue i metodi di routine e di riferimento sono eseguiti completamente in un laboratorio.

Nota: a causa della instabilità e variabilità dello stato batteriologico dei campioni di latte la relazione di conversione più robusta si otterrà in queste condizioni”

“Caso b): il metodo di routine è eseguito in diversi laboratori, mentre il metodo di riferimento è condotto in un unico laboratorio. Necessità di prevedere e organizzare le modalità di trasporto dei campioni.”

“Caso c): ambedue i metodi di routine e di riferimento sono eseguiti in diversi laboratori . come per il caso b) sussiste la necessità di prevedere e organizzare le modalità di eventuale trasporto dei campioni.”



ISO 21187:2004 5.2 CAMPIONI DI PROVA (1)

5.2.1. CALCOLO DEL NUMERO DEI CAMPIONI DI PROVA

$$n = \left[\frac{t^2 \cdot (1 - r^2)}{(\delta^2 \cdot r^2)} \right] + 1$$

n = numero di campioni

t = valore distribuzione t – Student al 95%

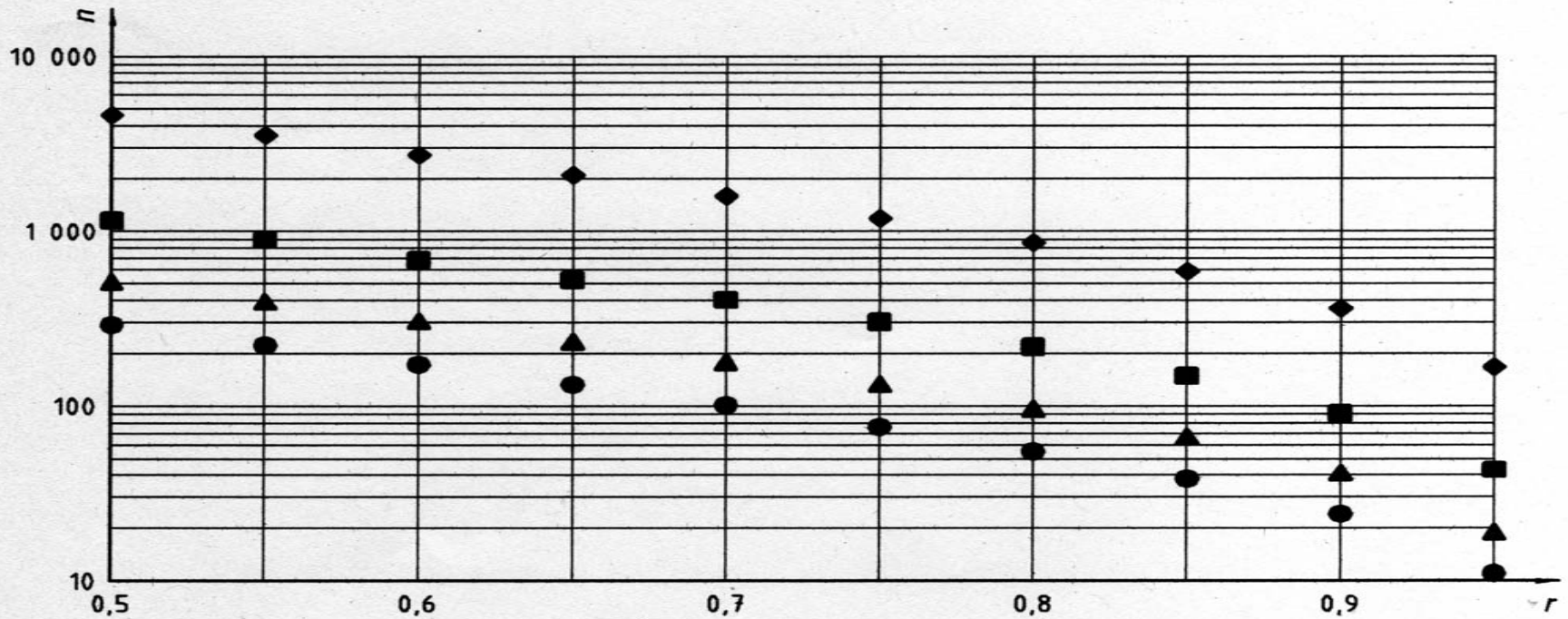
δ = errore relativo tollerabile per la stima della regressione (0,1 è considerato appropriato)

r = coefficiente di correlazione stimato



ISO 21187:2004 5.2 CAMPIONI DI PROVA (2)

5.2.1. CALCOLO DEL NUMERO DEI CAMPIONI DI PROVA



Key

- ◆ $\delta = 0,05$
- $\delta = 0,10$
- ▲ $\delta = 0,15$
- $\delta = 0,20$

where δ is the relative error of estimation

Figure A.1 — Plot of number of samples n against correlation r for $\alpha = 0,05$



ISO 21187:2004 5.2 CAMPIONI DI PROVA (3)

5.2.2. RANGE DEI CAMPIONI DI PROVA

“I livelli di determinazione devono coprire uniformemente il range di interesse per il metodo di routine in oggetto, all’interno del range di misura.”

Nel caso di trasformazione prima del trattamento statistico dei dati, le coppie di dati dovrebbero coprire uniformemente la scala di valori trasformati.”

Performance dello strumento

(Foss Italia S.p.A. P/N 1025204 1IT):

“range tipico di misura:

da 5000 a un massimo di 20 milioni di BC/mL”



ISO 21187:2004 5.2 CAMPIONI DI PROVA (4)

5.2.2. RANGE DEI CAMPIONI DI PROVA

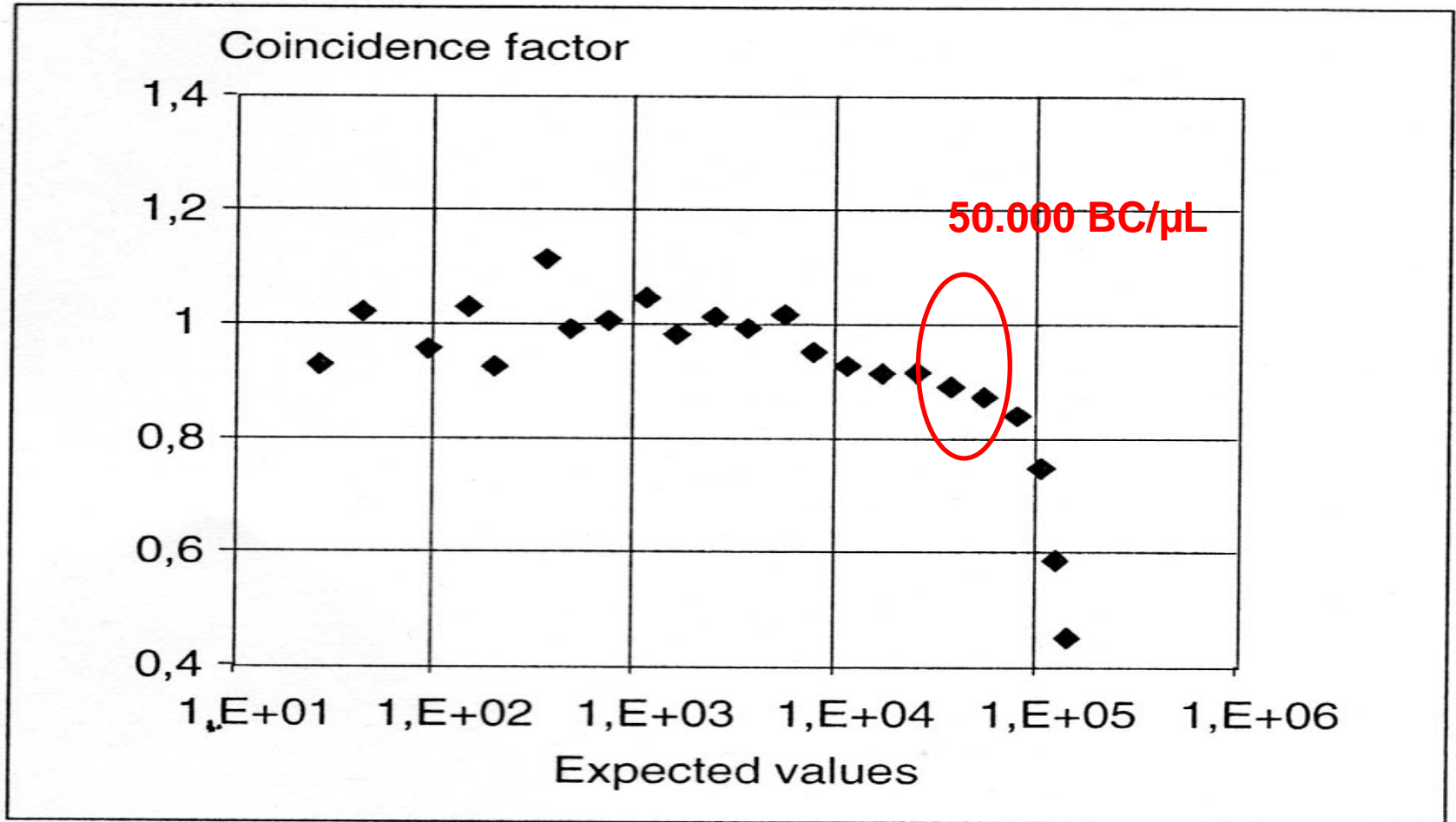


Fig. 4: Linearity: distribution of the coincidence factor

ISO 21187:2004 5.2 CAMPIONI DI PROVA (5)

5.2.3. CAMPIONI RAPPRESENTATIVI

“È di elevata priorità lavorare con campioni di prova naturali. I campioni di prova devono essere rappresentativi dei diversi livelli nella popolazione in considerazione”

“Nelle analisi per il metodo di routine dev’essere seguita la normale procedura in uso. Questo implica che le condizioni di campionamento, conservazione e trasporto dei campioni durante l’intera procedura dovranno aderire alle condizioni per le quali l’equazione di conversione dovrà essere applicata.”



ISO 21187:2004 5.4. ANALISI

*“Ogni campione di prova dev’essere
**analizzato in doppio,
sia con il metodo di routine che con quello di
riferimento,**
in stretta aderenza alle procedure standardizzate.
Quando si utilizzano diluizioni decimali nel metodo di
riferimento, queste vanno scelte in maniera da ottenere
risultati validi nel range di interesse.”*



5.5.1. NOTE GENERALI

“....Il diagramma di dispersione dovrebbe essere tale da suggerire una relazione lineare fra i due metodi nell'intero range. In caso contrario un'appropriata trasformazione dei dati dovrà essere usata per conseguire una relazione lineare.”

“..Per gli scopi della presente norma, si assume l'esistenza di una relazione lineare”



ISO 21187:2004 5.5 CALCOLI (2)

5.5.1. NOTE GENERALI

*“ In genere l’asse verticale Y viene utilizzato per il metodo di routine (variabile dipendente) e l’asse orizzontale X (variabile indipendente) per il metodo di riferimento. **Se l’errore di ripetibilità del metodo di riferimento risulta più ampio di quello del metodo di routine (rapporto >2) gli assi X e Y devono essere permutati prima di procedere alla stima della regressione (iso 16140:2003, 6.2.1.3.2.)***



RIPETIBILITA' DEL METODO DI ROUTINE (1)

LE SPECIFICHE STRUMENTALI RIPORTANO:

livello	ripetibilità		riproducibilità	
	d.s.	CR95%	d.s.	CR95%
<10	0,150	1,7	0,300	6,1
10	0,070	0,6	0,110	1,0
50	0,050	0,4	0,070	0,6
>200	0,040	0,3	0,060	0,5
1000	0,030	0,2	0,050	0,4

RIPETIBILITA' DEL METODO DI ROUTINE (2)

sulla base dei dati, utilizzando la formula indicata in ISO 8196-1:2000 punto 6.1.3. :

$$S_r = \left(\frac{1}{2q} \cdot \sum_{i=1}^q w_i^2 \right)^{\frac{1}{2}}$$

		Classe (BC FC /μL)					
		a:<10	b:10-50	c:51-200	d:201-1000	e:>1000	totale
totale	n° dati	15	273	474	347	438	1554
	Sr	0,14	0,06	0,04	0,02	0,02	0,04
Sr attesa max:			0,07	0,05	0,04		
Sr tipica:			0,06	0,04	0,02		



RIPETIBILITA' DEL METODO DI RIFERIMENTO (1)

UNI EN ISO 4833:2004 10.2.2. Ripetibilità:

*“La differenza assoluta tra due risultati di prove singole indipendenti, ottenuti utilizzando lo stesso metodo su materiale di prova identico nello stesso laboratorio dallo stesso operatore utilizzando la stessa attrezzatura entro un breve intervallo di tempo, **non dovrebbe essere maggiore del limite di ripetibilità, $r = 0.25$, in \log_{10} microrganismi per millilitro (corrispondenti a 1,8 sulla scala normale in microrganismi per millilitro)”***

$$r = S_r \cdot 2 \cdot \sqrt{2} \quad ; \quad S_r = 0.088 \log_{10}$$

RIPETIBILITA' DEL METODO DI RIFERIMENTO (2)

campione	Dati	a	b	$(a-b)^2$	lim. Inf.	lim. Sup.
03433	log10UFC UFC	6,30103 2000000	6,25527 1800000	0,00209	1125000	3557000
04060	log10UFC UFC	6,342423 2200000	6,63347 4300000	0,08471	1237000	3912000
11708	log10UFC UFC	6,39794 2500000	6,54407 3500000	0,02135	1406000	4446000
11716	log10UFC UFC	3,913814 8200	3,91908 8300	2,8E-05	5000	15000
11739	log10UFC UFC	5,792392 620000	5,86923 740000	0,0059	349000	1103000
11743	log10UFC UFC	6,041393 1100000	6,20412 1600000	0,02648	619000	1956000
11774	log10UFC UFC	4,832509 68000	5,04139 110000	0,04363	38000	121000
16629	log10UFC UFC	5,633468 430000	5,51851 330000	0,01321	242000	765000
22504	log10UFC UFC	6,041393 1100000	6,14613 1400000	0,01097	619000	1956000
37257	log10UFC UFC	6,724276 5300000	6,63347 4300000	0,00825	2980000	9425000
log10UFC totale		5,802064	5,87647	media geometrica: 691000		
media UFC totale		1532620	1808830	Sr stimata: 0,10407		
				Sr attesa: 0,088		

RIPETIBILITA' DEL METODO DI RIFERIMENTO (3)

Dettaglio delle piastre per alcuni campioni in doppio

campione	replica	Dati	dil. 10^{-2}		dil. 10^{-3}		dil. 10^{-4}		dil. 10^{-5}		dil. 10^{-6}	
		UFC	p1	p2	p1	p2	p1	p2	p1	p2	p1	p2
03433	a	2000000							21	22	1	1
	b	1800000							18	12	5	5
04060	a	2200000					239	227	12	16		
	b	4300000							32	45	9	8
11708	a	2500000					268	244	20	19		
	b	3500000							39	32	4	2
11716	a	8200	78	86	8	8						
	b	8300	79	85	13	6						
11739	a	620000					68	54	3	11		
	b	740000					80	64	6	13		
11743	a	1100000					117	96	10	17		
	b	1600000					147	164	21	12		



RIPETIBILITA' DEL METODO DI RIFERIMENTO (4)

Campione 04060a sottoposto a test G²:

DILUIZ.(10⁻)

	REPLICA 1	REPLICA 2	REPLICA 3	REPLICA 4	REPLICA 5	dispersione nei livelli				
0										
1										
2										
3										
4							239	227		ok
5							12	16		ok
6										
						dispersione fra le diluizioni : !				

media

2250000

risultato dubbio

RIPETIBILITA' DEL METODO DI RIFERIMENTO (5)

Campione 04060b sottoposto a test G²:

DILUIZ.(10⁻)

	REPLICA 1	REPLICA 2	REPLICA 3	REPLICA 4	REPLICA 5	dispersione nei livelli																				
0	1																									
1						0,1																				
2											0,01															
3																0,001										
4																					0,0001					
5																										32
6	9	8	ok																							
	dispersione fra le diluizioni : !																									

media

4300000

risultato dubbio

RIPETIBILITA' DEL METODO DI RIFERIMENTO (6)

In assenza della doppia replica per il metodo di riferimento (2 campioni trattati in modo indipendente e confronto dei risultati finali per un valore di $r < 0,25 \log_{10}$) si è operato secondo quanto indicato in FIL-IDF 169:1994 9.2.2. “controllo dell’omogeneità di semina di piastre petri: test G_p^2 ”

La selezione è stata condotta ad un livello di significatività statistica del 99% (margini di tolleranza ampi) e valutando unicamente la sovradisersione globale della serie di piastre, trascurando la sola dispersione fra diluizioni e la sottodispersione globale.



RIPETIBILITA' DEL METODO DI RIFERIMENTO (7)

situazione test G^2 prima e dopo lo screening delle diluizioni

laboratorio	< G^2	> G^2	> G^2 dil	n°dati
1	1%	0%	0%	130
2	6%	1%	1%	109
3	2%	0%	2%	96
4	0%	10%	15%	131
5	2%	24%	27%	98
6	0%	13%	13%	176
7	0%	21%	26%	73
8	6%	3%	5%	104
9	17%	3%	4%	114
10	0%	9%	9%	34
11	0%	8%	8%	106
12	1%	0%	0%	96
13	2%	2%	2%	108
14	0%	9%	11%	100
15	1%	6%	8%	79
totale	41	108	132	1554
totale %	3%	7%	8%	

laboratorio	< G^2	> G^2	> G^2 dil	n°dati
1	1	0	0	130
2	7	0	0	109
3	2	0	0	96
4	0	0	3	131
5	4	12	12	98
6	1	1	5	176
7	0	6	5	73
8	4	0	1	104
9	15	0	5	114
10	0	1	2	34
11	1	0	2	106
12	0	0	0	96
13	2	1	1	108
14	0	2	3	100
15	1	3	4	79
totale	38	26	43	1554
totale%	2%	2%	3%	

VERIFICA DEL RAPPORTO DI RIPETIBILITA' FRA METODI

$$\frac{S_r(\textit{riferimento})}{S_r(\textit{routine})} > 2 \quad ; \quad \frac{0.088}{0.04} > 2$$

Quindi: “...*gli assi X e Y devono essere permutati prima di procedere alla stima della regressione (iso 16140:2003, 6.2.1.3.2.)*”



ISO 21187:2004 5.5 CALCOLI (3)

5.5.2. VALIDITÀ DEI RISULTATI

*“...le coppie di dati per i quali i risultati del metodo di routine o i risultati del metodo di riferimento sono sotto il limite inferiore di quantificazione o sopra il limite superiore di quantificazione, per il rispettivo metodo, **devono essere esclusi dall’elaborazione**”*

*“.... i risultati duplicati che eccedono i limiti di ripetibilità stabiliti, **devono essere esclusi**. Quando applicabile, i risultati che eccedono il limite stabilito per la riproducibilità, devono essere esclusi”*

*“...Se la differenza fra i risultati duplicati è al di sotto dei limiti menzionati, **essi devono essere mediati prima della regressione.**”*

ISO 21187:2004 5.5 CALCOLI (4)

5.5.3. PRINCIPI DEL METODO DI REGRESSIONE

“...la relazione di conversione dovrebbe essere calcolata in accordo con ISO 16140:2003, 6.1.2.4., 6.2.1.3. e allegato S ”

“ .. un outlier è definito come una coppia di dati estremi, che normalmente appaiono in modo casuale per meno dell'1% dei casi. Per queste coppie di dati la deviazione assoluta differisce più di $2,58 S_{y,x}$, dove $S_{y,x}$ è la deviazione standard residua per i punti stimati dalla regressione.”

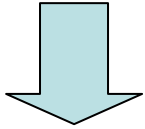
*“...**Gli outliers devono essere scartati**, dopo di che la regressione dev'essere ricalcolata.”*



Procedura di selezione dati

B.C. FC

selezione per campo di misura FC
5000 - 50000 BC/ μ L



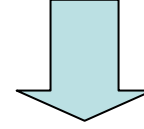
Ripetibilità e/o
Riproducibilità
BC FC

Log10

Stima della retta
Di regressione
e di Syx

U.F.C.

Screening per Diluizioni
da utilizzare



Test G per
Omogeneità delle
diluizioni

Log10



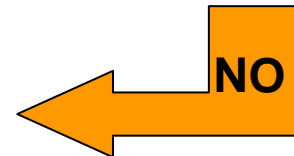
eliminazione degli
eventuali Outliers

SI

Rilevazione di
Outliers per
 $Syx > 2,58$

RETTE DI REGRESSIONE STIMATE
PER IL LABORATORIO

NO



Riepilogo selezione dati

cod.Lab.	motivo selezione dati					validi	Totale
	Altro	testG	rangeBC	ripet. BC	err.Sy,x		
1			4	1	8	117	130
2					6	103	109
3					2	94	96
4			1	2	2	126	131
5	7	10	4	2	3	72	98
6		1	1	2	5	169	176
7		5	1	2	3	62	73
8	2		3	2	5	92	104
9			4	3	5	102	114
10		1		2		31	34
11			3		5	98	106
12			1		3	92	96
13		1	4	5	1	97	108
14		2		1	4	93	100
15	1	3		1	2	72	79
Tot.	10	23	26	21	54	1420	1554



La retta di regressione (1)

Per i dati trasformati in log10....

$$\text{Log}_{10}(U.F.C.) = a + b \cdot \text{Log}_{10}(B.C.)$$

Che riportata in scala lineare diventa....

$$(U.F.C.) = 10^a \cdot (B.C.)^b$$



La retta di regressione (2)

Un caso particolare....

$$(U.F.C.) = 10^{2.435} \cdot (B.C.)^{\approx 1}$$

$$(U.F.C.) = \frac{1000}{3.67} \cdot (B.C.)$$

retta:	0,998	2,435
BC	stimaUFC1	stimaUFC2
10	3000	3000
100	27000	27000
500	134000	136000
1000	269000	272000
5000	1338000	1361000
10000	2673000	2723000
20000	5339000	5445000

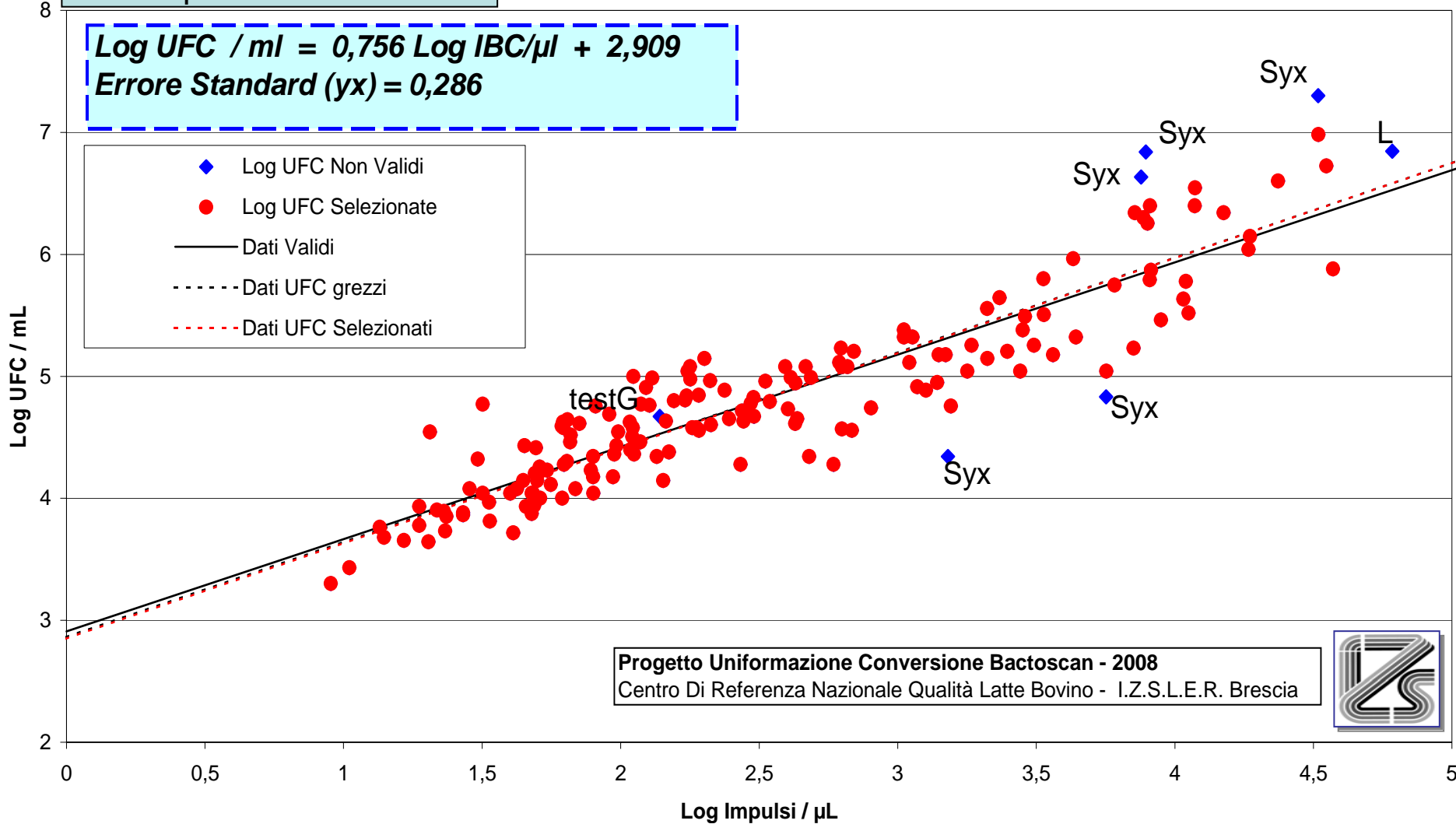
retta:	0,943	2,871
BC	stimaUFC1	stimaUFC2
10	7000	7000
100	57000	74000
500	261000	372000
1000	501000	743000
5000	2286000	3715000
10000	4395000	7430000
20000	8450000	14860000

La retta di regressione (3)

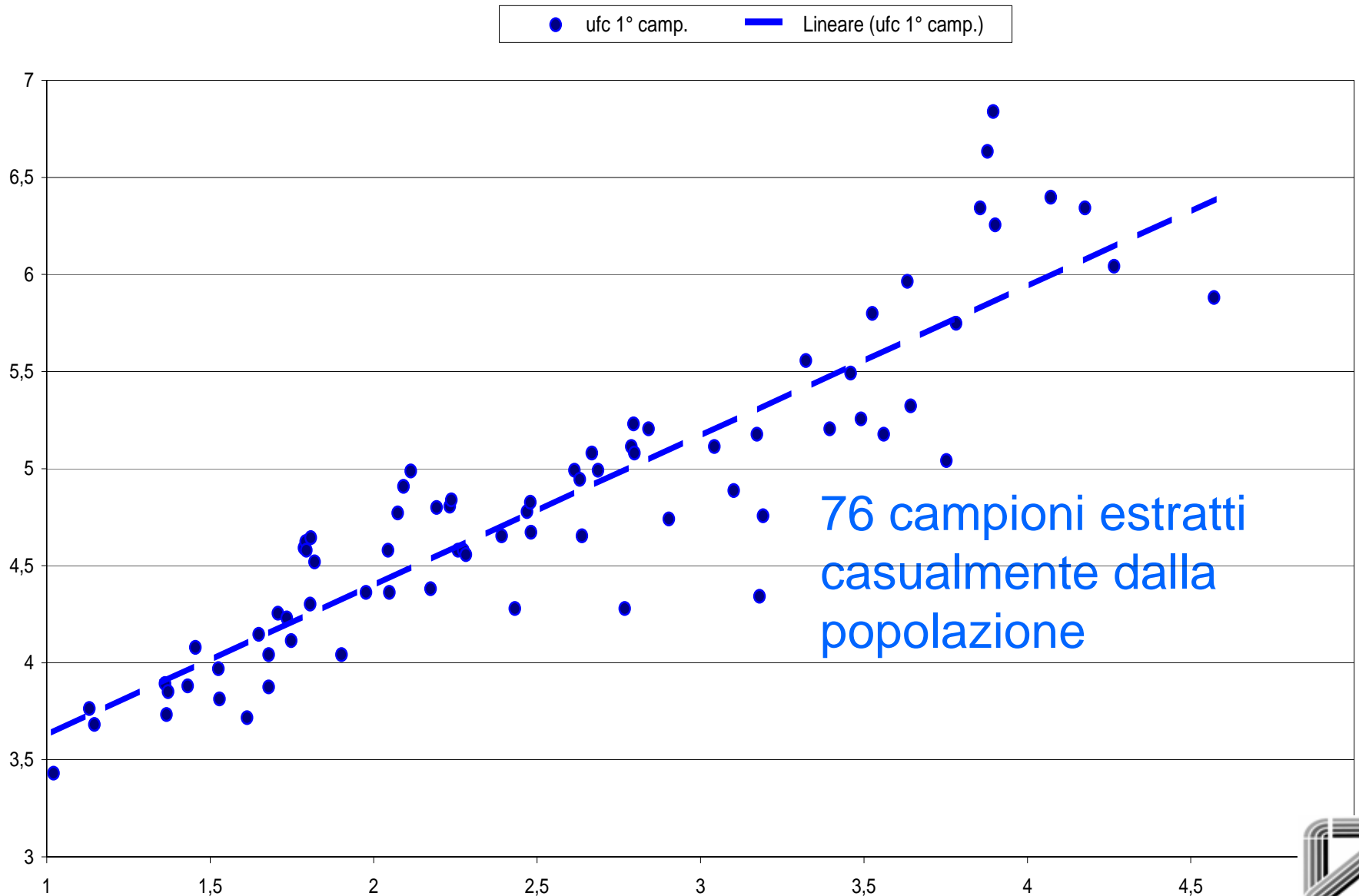
LABORATORIO XXXX

Campioni Eseguiti = 176
Campioni Validi = 169

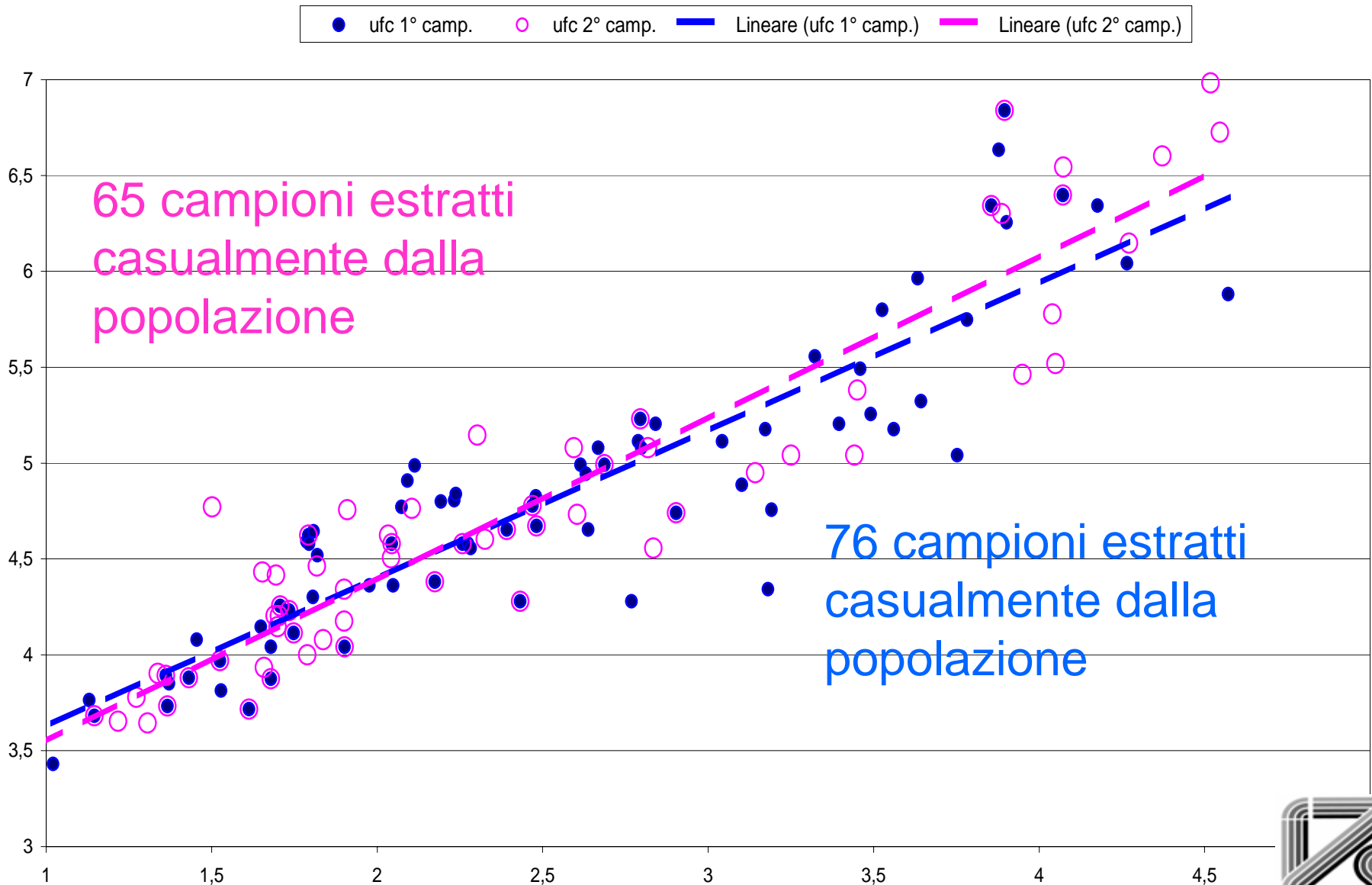
$\text{Log UFC / ml} = 0,756 \text{ Log IBC}/\mu\text{l} + 2,909$
Errore Standard (yx) = 0,286



Incertezza della retta di regressione (1)



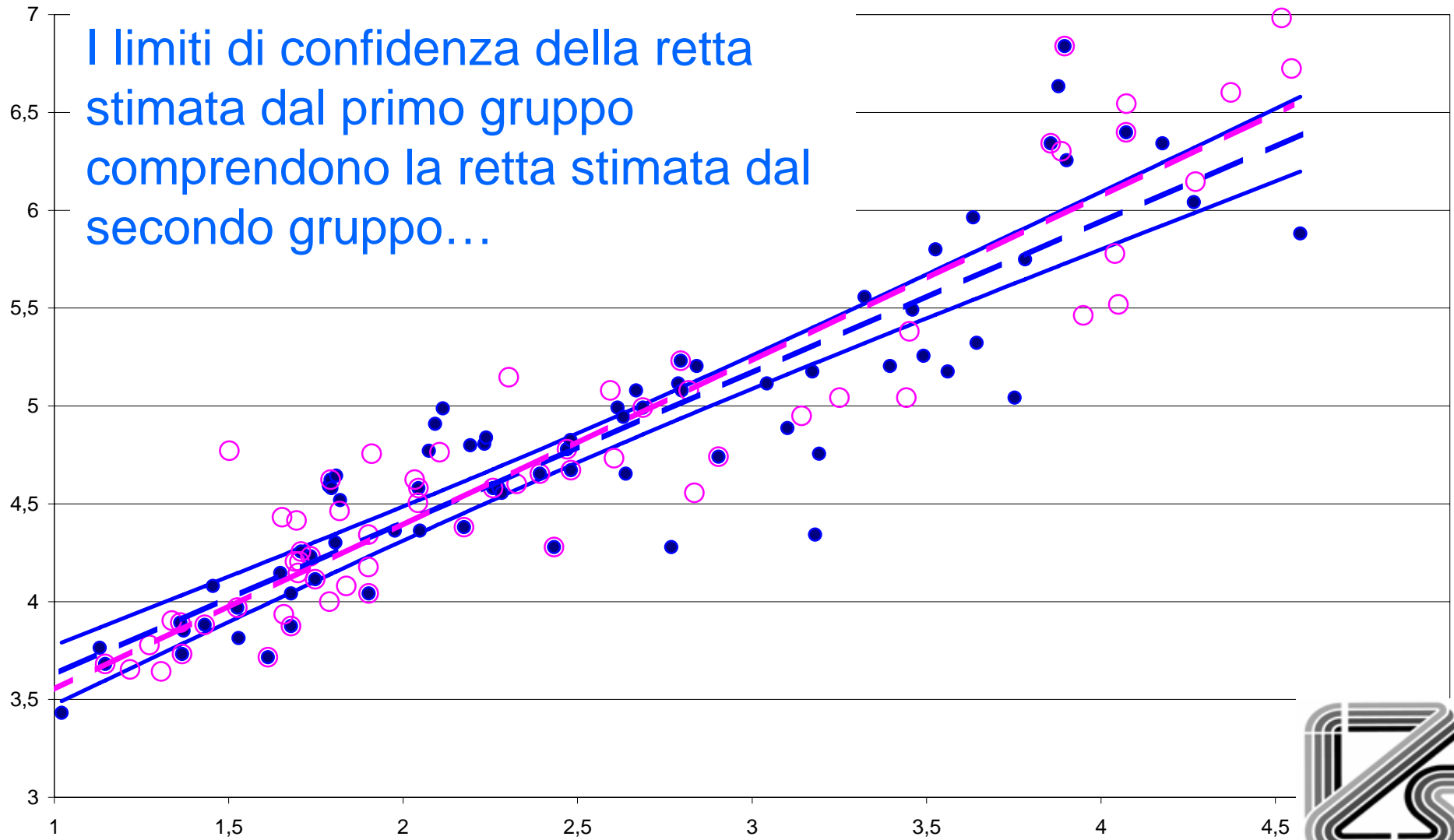
Incertezza della retta di regressione (2)



Incertezza della retta di regressione (3)

● ufc 1° camp. ○ ufc 2° camp. — lim.sup1 — lim.inf1 — Lineare (ufc 1° camp.) — Lineare (ufc 2° camp.)

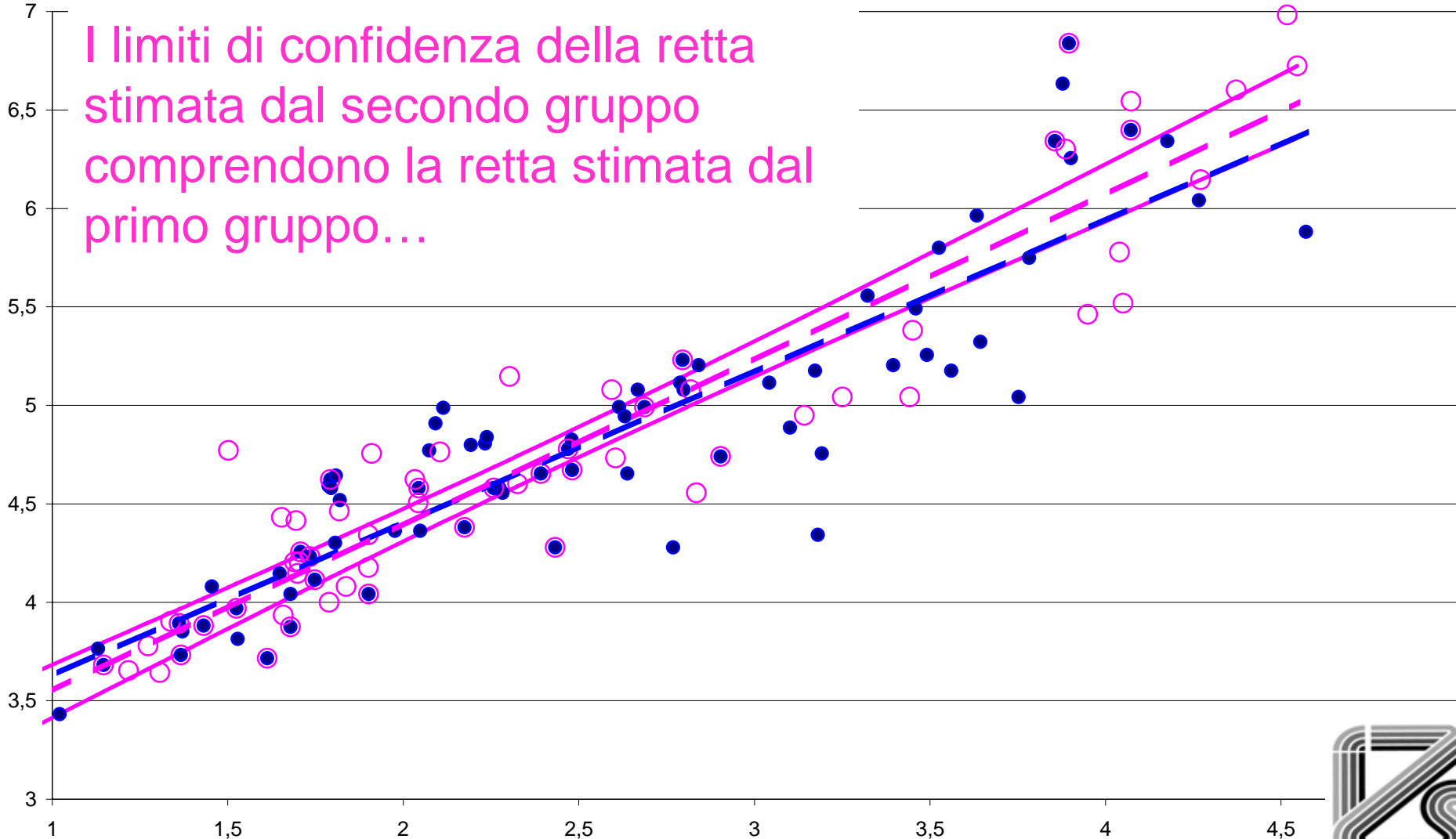
I limiti di confidenza della retta stimata dal primo gruppo comprendono la retta stimata dal secondo gruppo...



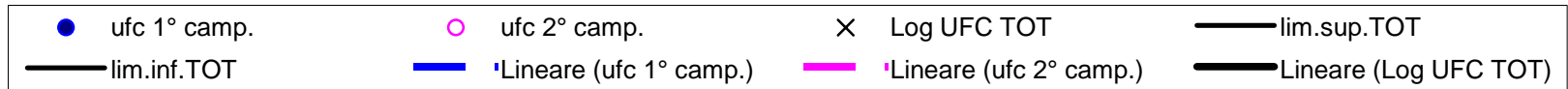
Incertezza della retta di regressione (4)

● ufc 1° camp. ○ ufc 2° camp. — lim.inf2 — lim.inf2 — Lineare (ufc 1° camp.) — Lineare (ufc 2° camp.)

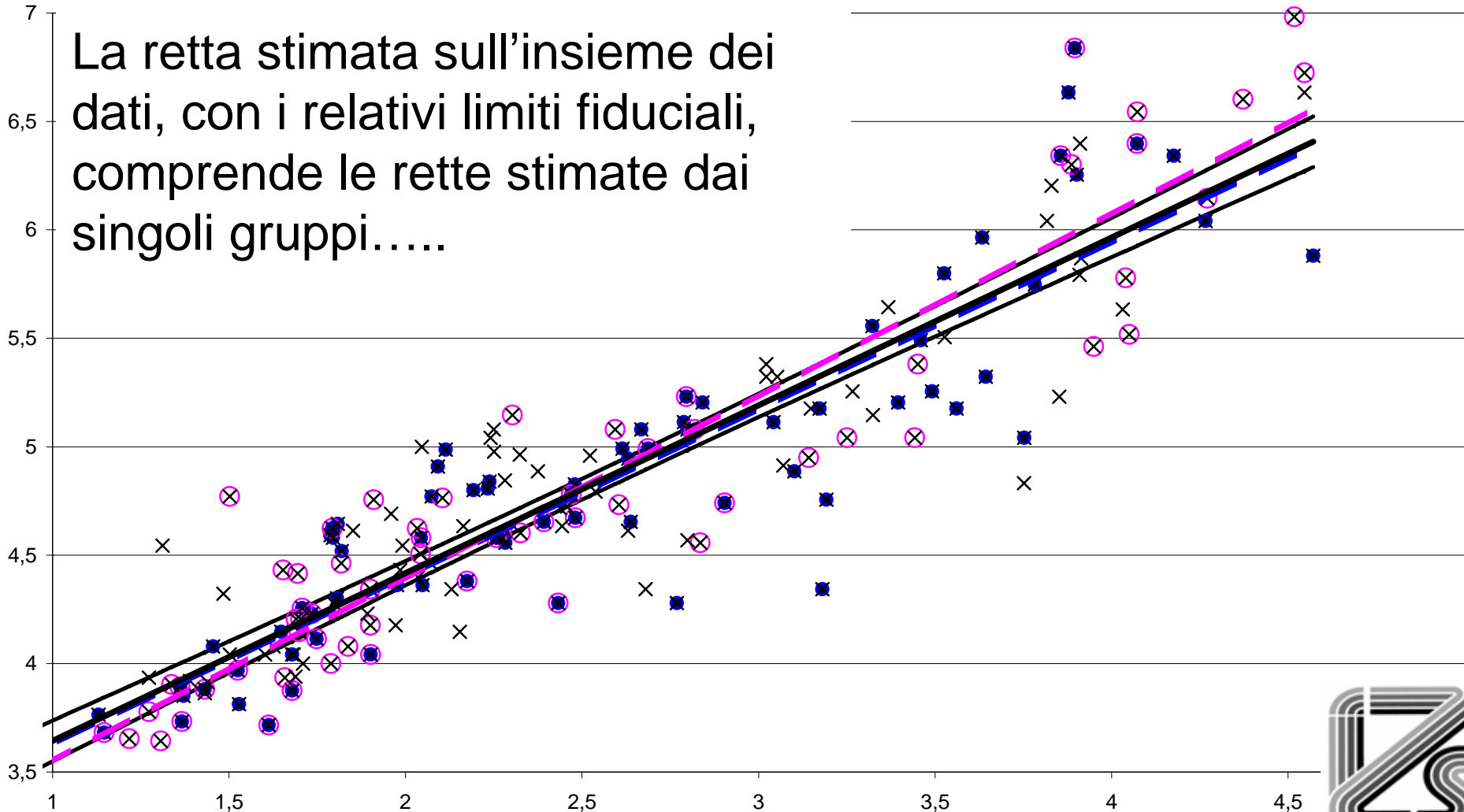
I limiti di confidenza della retta stimata dal secondo gruppo comprendono la retta stimata dal primo gruppo...



Incertezza della retta di regressione (5)



La retta stimata sull'insieme dei dati, con i relativi limiti fiduciali, comprende le rette stimate dai singoli gruppi.....



Incertezza della retta di regressione (6)

I limiti di confidenza della retta stimata sono calcolati dalla relazione seguente:

$$Y_k \pm t_{(n-2, \alpha/2)} \cdot \sqrt{S_e^2 \cdot \left(\frac{1}{n} + \frac{(X_k - \bar{X})^2}{\sum (X_i - \bar{X})^2} \right)}$$

La loro ampiezza è direttamente proporzionale all'errore residuo di stima S_e^2 ed inversamente proporzionale alla numerosità dei dati ed alla devianza in X (anch'essa funzione della numerosità dei dati oltre che della dispersione dei campioni per la variabile indipendente)



Incertezza della stima delle U.F.C. (1)

i limiti di confidenza della predizione di un valore di U.F.C. a partire da un'osservazione di BC FC in X, secondo ISO 16140:2003 allegato R punto 6.1, sono calcolati da

$$CL(< y_{U/L} >) = a + b \cdot x \pm t \cdot s(< y >)$$

con

$$s(< y >) = S_{y:x} \cdot \sqrt{1 + \frac{1}{N} + \frac{(x - \bar{x})^2}{(N-1) \cdot V_x}} > S_{y:x}$$

*con "t" = valore di t di Student per un livello di confidenza α definito (solitamente 95%) e (N-2) gradi di libertà
con N= numero di campioni utilizzati per stimare la regressione*



Incertezza della stima delle U.F.C. (2)

per N sufficientemente grande (>150) il 2° e 3° membro sotto radice tendono a diventare trascurabili, t tende a 1.96 per P=95%, e la formula si semplifica in:

$$CL(< y_{U/L} >) = a + b \cdot x \pm 1.96 \cdot S_{y:x}$$

Alcuni esempi:

lab	n° dati	t(95%, n-2)	Fattore in radice per diversi valori di X e n° dati			t*max(s(<y>))	1.96 Sy:x	Per logX= 2,5	Pari a IBC= 316	lim. Inf.
			X= 5log ₁₀	X= 0log ₁₀	X= mediaX			StimaY	lim.sup.	
4	128	1,98	1,08	1,03	1,01	0,42	0,38	169.000	442.000	65.000
5	75	1,99	1,06	1,08	1,01	0,96	0,88	41.000	373.000	4.000
6	174	1,97	1,02	1,02	1,00	0,65	0,63	64.000	286.000	14.000
10	31	2,05	1,28	1,19	1,02	0,82	0,61	75.000	491.000	11.000

ISO 21187:2004 5.6: ESPRESSIONE DEI RISULTATI (1)

“...la relazione di conversione può essere espressa da:

A) un'equazione matematica per il range di validità

B) Una tabella, con i valori equivalenti in unità di metodo di routine e unità di metodo di riferimento

C) punti equivalenti (specifici valori espressi in unità del metodo di routine che corrispondono ad esempio a valori limite normati espressi in unità di riferimento)”

Ad esempio per la relazione:

$$\log_{10}(U.F.C.) = 2.909 + 0.756 \cdot \log_{10}(B.C.)$$

BC FC/ μ L	U.F.C. stimate/mL
5	2700
50000	2900000

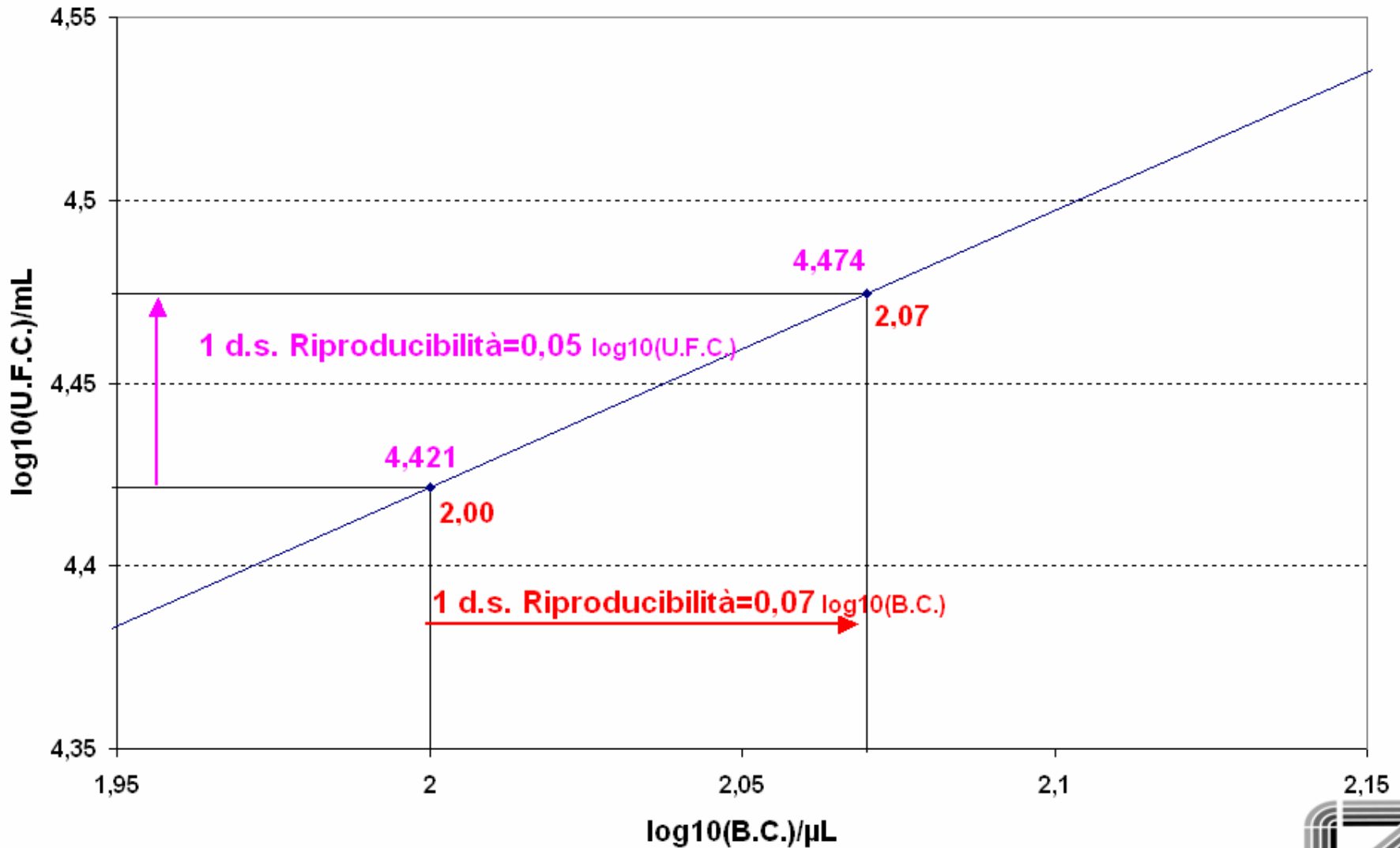


ISO 21187:2004 5.6: ESPRESSIONE DEI RISULTATI (2)

Dalla relazione possono essere derivati gli altri parametri associati al metodo di routine, espressi in unità del metodo di riferimento, come ad esempio i parametri di precisione, ottenibili moltiplicando i corrispondenti valori espressi in $\log_{10}(\text{B.C.})$ per la pendenza della retta stimata.

B.C. F.C.			U.F.C. Stimate		
livello	ripetibilità	riproducibilità	livello	ripetibilità	riproducibilità
B.C./μL	d.s.	d.s.	U.F.C./mL	d.s.	d.s.
10	0,07	0,11	4600	0,05	0,08
50	0,05	0,07	16000	0,04	0,05
>201	0,04	0,06	>45000	0,03	0,05

ISO 21187:2004 5.6: ESPRESSIONE DEI RISULTATI (3)



GESTIONE STRUMENTALE DELLA REGRESSIONE (1)

CFUprova Properties - (Sola lettura)

Identificazione Calibrazione base Uscita dati Componente CFU

	IBC	CFU
1	5	2700
2	50000	2900000
3	999999	2900000
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0
11	0	0
12	0	0

La regressione viene implementata a livello strumentale inserendo semplicemente i limiti calcolati per i corrispondenti metodi (l'ultima coppia di valori è stata inserita unicamente per evidenziare il blocco della conversione a livello di 50000 B.C.)

Help



GESTIONE STRUMENTALE DELLA REGRESSIONE (2)

Foss Integrator - Visualizza Inserimento di Predizione

File Modifica Visualizza Seleziona Aiuto

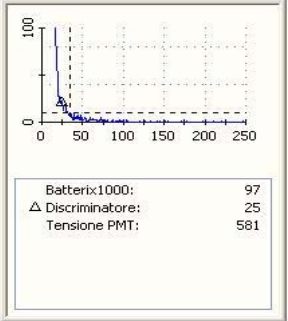
Stampa Aiuto Start Standby Stop Misura -> Standby In linea Rilascia Pipette Nuovo Job Carica jobs Export Logon Rapporto

Gestione <<< Risultati (Sessione attiva: 19/03/09 6.25.59) Visualizzazione bloccata

Info	#inWS	#inJob	ID	IBC	CFU	Remark
	240					
Job: provecfu190309 Type: Normale						
Info	#inWS	#inJob	ID	IBC	CFU	Remark
	241	1	51306	7409	682425	
	242	2	51183	129	31784	
				12	150926	
					554	
					16214	
				871	70544	
				34	11547	
				26	1839...	
				36	2098...	
				56	16811	
	251	11	51446	387	72839	
	252	12	51447	2278	279192	
	253	13	51448	7112	661629	
	254	14	51449	1510	204468	
	255	15	51441	295	59382	
			51442	19892	1442...	
			51443	7285	673788	
			99999	2	2700	
			99999	4	2700	
			99999	2	2700	

La conversione avviene a livello strumentale direttamente nell'unità di misura del metodo di riferimento impostata nella tabella (in questo caso U.F.C. / mL)

Sotto il limite inferiore la conversione è costante (come anche sopra....)



Batterix1000: 97
△ Discriminatore: 25
Tensione PMT: 581

Gestione sessioni Jobs

Incubator Wheel - BactoScan FC

Rinse 1 Rinse 2

0 1 PC: Attenzione riavvolgimento manuale. Pronto



GESTIONE STRUMENTALE DELLA REGRESSIONE (3)

Job name: provecfu190309					pendenza	0,75623437
Collection date: 19/03/09					intercetta	2,908875439
Job type: NORMAL						
#inWS	#inJob	ID	IBC	CFU	CFU stime retta	
241	1	51306	7409	682.425	684.417	
242	2	51183	129	31.784	31.987	
243	3	51694	1012	150.926	151.878	
244	4	51695	97	25.554	25.783	
245	5	51696	53	16.214	16.324	
246	6	51697	371	70.544	71.109	
247	7	51698	34	11.547	11.669	
248	8	51699	27426	1.839.802	1.841.478	
249	9	51700	32636	2.098.968	2.100.333	
250	10	51176	56	16.811	17.018	
251	11	51446	387	72.839	73.416	
252	12	51447	2278	279.192	280.526	
253	13	51448	7112	661.629	663.566	
254	14	51449	1510	204.468	205.555	
255	15	51441	295	59.382	59.792	
256	16	51442	19892	1.442.357	1.444.388	
257	17	51443	7285	673.788	675.737	
258	18	99999	2	2.700	1.369	
259	19	99999	4	2.700	2.313	
260	20	99999	2	2.700	1.369	