

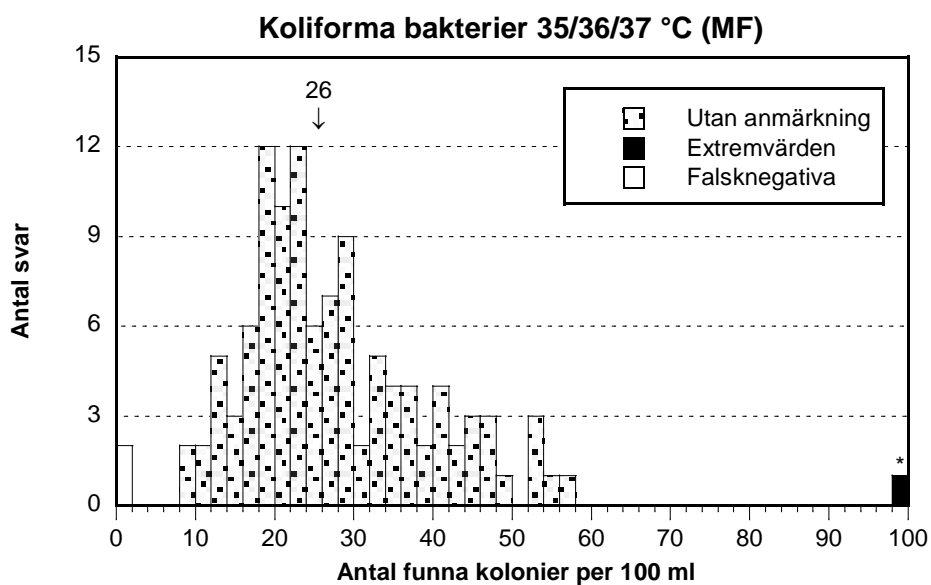
VERKSAMHETSPROTOKOLL

Mikrobiologi

Dricksvatten

&

Livsmedel



Beslut om ackreditering av verksamheten togs 2004-12-10



Andra utgåvan
2012-01-10

Ansvarig utgivare
Annika Rimland, avd.chef UN-avdelningen

Kompetensprovning	<i>E-postadress</i>	<i>Telefon (växel)</i>
Mikrobiologi	PT-micro@slv.se	+46 (0)18 17 55 00
	<i>Internet</i>	<i>Telefax</i>
	www.slv.se/absint	+46 (0)18 17 14 94

Innehåll

1. Introduktion.....	1
2. Organisation	1
2.1. Lokalisering.....	1
2.2. Information om programmen på Internet (www.slv.se/absint).....	2
2.2.1. Webbplatsens struktur.....	2
2.2.2. Den allmänna delen.....	2
2.2.3. Deltagarsidor som kräver inloggning.....	2
2.3. Ansvarsområden.....	3
2.4. Samrådsgrupp.....	3
2.4.1. Sammansättning och möten	3
2.4.2. Uppgifter	3
2.4.3. Medlemmar	4
2.5. Ackreditering.....	4
3. De två mikrobiologiska programmen.....	4
3.1. Dricksvattenprogrammet.....	4
3.2. Livsmedelsprogrammet.....	4
3.3. Tidsplan och analysparametrar för ett provtillfälle.....	4
4. Provmaterialet	5
4.1. Typ av material	5
4.1.1.1. Fördelar	5
4.1.1.2. Nackdelar	5
4.2. Produktion och kontroller	6
4.2.1. Sammansättning	6
4.2.2. Tillverkning.....	6
4.2.3. Förvaring och försegling efter tillverkning.....	7
4.2.4. Kvalitetskontroller.....	7
4.2.4.1. Provmängd	7
4.2.4.2. Haltkontroll	7
4.2.4.3. Homogenitet.....	7
4.2.4.4. Vakuumpkontroll	7
4.2.4.5. Stabilitet	8
4.3. Farlighet	8
4.3.1. Smittsamhet.....	8
4.3.2. Miljöfarlighet	8
4.4. Inför ett kompetensprovningstillfälle.....	9
4.4.1. Randomisering av testvialer till laboratorier.....	9
4.4.1.1. Numrering av vialetiketter	9
4.4.1.2. Urval av vialer till ett laboratorium.....	9
4.4.2. Paketering av testvialer	9
4.4.3. Transport av testvialer.....	9
4.5. Hantering av testmaterialet	9
4.5.1. Förvaring i samband med provutskick.....	9
4.5.2. Provberedning inför analys	10

4.5.3. Hållbarhet av berett prov	10
4.5.4. Destruktion av prov	10
4.5.4.1. Öppnade vialer med testmaterial	10
4.5.4.2. Öppnade och använda vialer.....	10
4.5.4.3. Rester av berett prov	10
5. Instruktioner vid utskick av testmaterial	11
5.1. Hålltider	11
5.2. Analysparametrar.....	11
5.3. Övrigt i instruktionerna	11
6. Vid ett provtillfälle	11
6.1. Deltagaraktiviteter	11
6.1.1. Instruktioner och analyser	11
6.1.2. Rapportering av analysresultat	12
6.1.3. Rapportering av metoduppgifter.....	12
6.2. Ändring av inrapporterat svar.....	12
6.2.1. Deltagande laboratoriers ansvar	12
6.2.2. Accepterade justeringar	13
6.3. Möjliga felkällor vid ett provtillfälle	13
6.3.1. Anmälan/Avanmälan	13
6.3.2. Testmaterialet	13
6.3.3. Utskick och transport.....	14
6.3.4. Felregistrering av analysresultat och metoduppgifter	14
6.3.5. Felaktigheter i slutrapport.....	14
7. Uppföljning av analyser	15
8. Statistik och rapportering	15
8.1. Allmänt.....	15
8.2. Haltbestämning och homogenitet	16
8.2.1. Gemensam generell information	16
8.2.2. Livsmedelsprogrammet	16
8.2.2.1. Förutsättningar och antaganden.....	16
8.2.2.2. Initial haltkontroll.....	17
8.2.2.3. Slutlig haltbestämning och homogenitetstest, kvantitativ analys..	17
8.2.2.4. Slutlig haltbestämning och homogenitetstest, kvalitativ analys...	17
8.2.2.5. Kriterier för homogenitet.....	18
8.2.2.6. ANOVA.....	18
8.2.3. Dricksvattenprogrammet	18
8.2.3.1. Förutsättningar och antaganden.....	18
8.2.3.2. Initial haltkontroll.....	19
8.2.3.3. Slutlig haltbestämning och homogenitetstest	19
8.2.3.4. ANOVA.....	19
8.2.3.5. ”Index of dispersion” – kontroll av slumpmässighet	20
8.2.3.6. Kriterier för homogenitet.....	20
8.2.4. Mätosäkerhet vid slutliga halt- och homogenitetsbestämningar	20
8.3. Stabilitet.....	20
8.4. Extremvärden vid en testomgång	21

8.5. Falskpositiva och falsknegativa resultat vid en testomgång	21
8.5.1. Antalet falska resultat.....	21
8.5.2. Falskpositiva – definition.....	22
8.5.3. Falsknegativa – definition.....	22
8.6. Statistiska mått för en testomgång	22
8.6.1. Transformerings och redovisning av olika mått.....	22
8.6.2. Medianvärde.....	22
8.6.3. Variationsbredd ("Range").....	23
8.6.4. Medelvärde.....	23
8.6.5. Åsatt värde / Normvärde (m)	23
8.6.6. Standardavvikelse till beräkning av jämförelsetal för uppföljning (s)	23
8.6.7. Variationskoefficient (CV).....	24
8.6.8. Mätosäkerhet för åsatt värde	24
8.6.9. Jämförelsetal för uppföljning (z-värden)	24
8.6.10. Tolkning av z-värden	25
8.7. Rapportering av resultat	25
8.7.1. Preliminär rapport på webbplatsen.....	25
8.7.2. Slutrapport.....	25
8.7.2.1. Allmänt.....	25
8.7.2.2. Frekvensdiagram	26
8.7.2.3. Boxdiagram	26
8.8. Bedömning av ett enskilt laboratoriums prestation.....	28
9. Konfidentiellitet och användaridentitet.....	28
9.1. Konfidentiellt laboratorienummer.....	28
9.2. Konfidentiellt lösenord.....	28
9.3. Användning av laboratorienummer och lösenord	28
9.4. Ändring av laboratorienummer och lösenord	29
10. Arkivering	29
11. Klagomål och annan kundkontakt.....	29
11.1. Policy	29
11.2. Definition	29
11.3. Hantering av anmärkningar som inte är klagomål	30
11.4. Synpunkter från deltagare	30
12. Villkor och förpliktelser.....	30
12.1. Allmänna villkor för deltagande	30
12.1.1. Vilka kan delta?.....	30
12.1.2. Vilka metoder får användas?.....	31
12.1.2.1. Livsmedel.....	31
12.1.2.2. Dricksvatten	31
12.1.3. Avgift	31
12.2. Deltagande laboratoriers övriga förpliktelser.....	31
12.3. Livsmedelsverkets förpliktelser	31
12.4. Begränsat ansvar	32
13. Kostnad för deltagande	32
14. Detta protokoll	32

15. Referenser.....	32
---------------------	----

1. Introduktion

Laboratorier som utför analyser har behov av att veta att de får rimliga resultat. De behöver också kunna visa detta för sina kunder för att vara trovärdiga. Denna kunskap kan de få genom att utföra olika typer av kontroller. Interna kontroller kan användas för att se att inga oväntade förändringar har skett inom det egna laboratoriet. Eftersom mikrobiologiska analysresultat till viss del är beroende av vilken analysmetod som används är det också viktigt att kunna jämföra sina analysresultat med andra laboratoriers. Ett sätt är då att delta i någon form av jämförande provning. För ett laboratorium som söker eller har en ackreditering för sina analyser är deltagande i sådana provningar obligatoriskt, om de finns att tillgå. Detta gäller t.ex. utifrån standarden EN ISO/IEC 17025 (1) där bl.a. det engelska begreppet Proficiency testing (översatt med kompetensprovning) används.

Dessa provningar organiseras normalt av en oberoende tredje part i förhållande till laboratorierna och deras kunder. Utvärderingarna görs då av denna tredje part och processen betecknas som en extern kontroll av laboratoriets analyskompetens.

Livsmedelsverket i Sverige anordnar kompetensprovningar – tidigare kallade kvalifikationsprovningar eller interkalibreringar – inom områdena livsmedelsmikrobiologi och dricksvattenmikrobiologi. Provingarna är framför allt till för ackrediterade laboratorier inom dessa analysområden. Provingarna passar även laboratorier som inte är ackrediterade, t ex driftlaboratorier som utför kontroller vid produktion av livsmedel respektive dricksvatten, och som vill kunna jämföra sina analysresultat med andra deltagare.

Syftet med detta protokoll är att ge deltagare, andra laboratorier och övriga intressenter en beskrivning av hur dessa mikrobiologiska kompetensprovningar är organiserade och hur de grundläggande momenten utförs. Framför allt beskrivs de delar där motsvarande information inte finns tillgänglig på annat sätt. Det gäller t.ex. tillverkning och hantering av provmaterial, samt statistisk bearbetning.

Allmän information om verksamheten och specifik information som beskriver provtillfällena finns tillgänglig på programmets webbplats.

2. Organisation

2.1. Lokalisering

Adress: Livsmedelsverket
Box 622
SE-751 26 Uppsala
Sverige
Telefon: +46 (0)18 17 55 00

Livsmedelsverket är den centrala svenska myndigheten för frågor som gäller livsmedel, inklusive dricksvatten.

Mikrobiologienheten (MI) inom Undersökningsavdelningen (UN) organiserar kompetensprovningarna gällande mikrobiologi.

Kompetensprovningarna är uppdelade i ett program för livsmedel och ett program för dricksvatten.

E-postadress för frågor och synpunkter angående programmen: *PT-micro@slv.se*

2.2. Information om programmen på Internet (www.slv.se/absint)

2.2.1. Webbplatsens struktur

Programmen beskrivs allmänt på webbplatsen www.slv.se/absint.

Webbplatsen består av två delar med vardera många sidor/flikar, en allmän del och en del för deltagare som kräver inloggning med användaridentitet.

2.2.2. Den allmänna delen

Denna del innehåller sidor som behandlar:

- verksamheten generellt, inklusive senaste utgåvan av detta protokoll som pdf-dokument
- basinformation om dricksvatten- respektive livsmedelsprogrammet, bl. a. vilka analysparametrar som de omfattar
- vad som ingår tillsammans med hålltider för varje provtillfälle
- villkor för deltagande
- aktuella priser
- adresser för kontakt med Livsmedelsverket som organisatör, inklusive ett webbformulär för att anmäla sig som deltagare till ett program
- inloggning till sidor som endast är tillgängliga för deltagare.

2.2.3. Deltagarsidor som kräver inloggning

Denna del omfattar:

- en sida för rapportering av analysresultat vid aktuellt provtillfälle
- en sida med webbformulär för att registrera uppgifter för varje metod direkt till verksamhetens databas
- en sida där rapporterade svar och beräknade resultat från tidigare provtillfällen visas på ett av tre möjliga sätt: 1) som preliminära strax efter avslutad resultat-inmatning och är främst till för att kontrollera rapporterade svar och jämföra med preliminära beräknade resultat, 2) som preliminära under resultatbearbetning då endast rapporterade svar och preliminära medianvärden visas, 3) som

- slutgiltiga när ett provtillfälle avrapporterats och visar då rapporterade svar och de slutliga beräknade resultaten motsvarande de i slutrapporten
- en sida för elektronisk på-/avbokning som deltagare vid kommande provtillfällen
 - en sida med rapporter och deltagarinformation (t.ex.. informationsbrev) i form av utskrivbara pdf-dokument.

2.3. Ansvarsområden

För varje program finns en *programansvarig person* som har det övergripande ansvaret men också specifikt ansvar för t.ex. planering, korrespondens, resultatbearbetning och rapporter. För programmen finns också *personer som gör laboriearbetet* och har det specifika ansvaret för provframställning och kvalitetskontroller, liksom förvaring av materialet. Kopplat till verksamheten finns ett *administrativt stöd* som bl. a. omfattar skötsel av adressregister, kontakter angående fakturering, kontakter med laboratorerna angående t.ex. deltagande liksom utskick av testmaterial.

Ansvarig utgivare för rapporterna och detta verksamhetsprotokoll är chefen vid Undersökningsavdelningen.

Det övergripande ansvaret att hålla kvalitén och kvalitetssystemet för verksamheten på en nödvändigt hög nivå ligger på enhetens chef genom den därtill utsedde kvalitetssamordnaren.

2.4. Samrådsgrupp

2.4.1. Sammansättning och möten

För varje program finns en samrådsgrupp bestående av experter , i nuläget huvudsakligen från de nordiska länderna. Samrådsgrupperna möts normalt en dag årligen i Uppsala. De möts samtidigt varvid de kan diskutera för programmen gemensamma angelägenheter tillsammans eller delas upp för diskussion av programspecifika frågor.

2.4.2. Uppgifter

Experterna kan representera olika organisationer och länder och företräder i viss mån både dessa och sig själva. Deras roll är huvudsakligen rådgivande med synpunkter på t.ex. utformning, analysparametrar, frekvens, , accepterade metoder samt rapporternas innehåll. Större förändringar inom en verksamhet bör sanktioneras av motsvarande samrådsgrupp.

2.4.3. Medlemmar

Förteckning över gruppernas medlemmar finns som ett pdf-dokument under rubriken Verksamhetsinformation under fliken Info & Rapporter på den del av webbplatsen som kräver inloggning.

2.5. Ackreditering

Mikrobiologiska enheten är ackrediterad för att anordna mikrobiologiska kompetensprovningar sedan december 2004. Ackrediteringen utfärdades av Swedac och gjordes mot dokumenten ISO/IEC Guide 43-1, 1997 (2) och relevanta delar av EN ISO/IEC 17025 (1). Från och med 2012 gäller standarden EN ISO/IEC 17043:2010 (19) som kravdokument för ackrediteringen.

3. De två mikrobiologiska programmen

3.1. Dricksvattenprogrammet

Dricksvattenprogrammet har pågått med deltagare från flera länder sedan 1992.

Programmet omfattar 2-4 provmaterial 2 gånger per år. Det innehåller ca 10 st. kvantitativa analysparametrar i form av bakterier samt mögel- och jästsvampar, med inriktning på indikatororganismer, inklusive några som kan vara patogena.

Vissa parametrar förekommer vid båda provtillfällena. Resterande parametrar fördelas på de båda tillfällena. Vilka parametrarna är framgår på sidan Allmän information, Dricksvattenprogrammet på webbplatsen www.slv.se/absint.

3.2. Livsmedelsprogrammet

Livsmedelsprogrammet har pågått med deltagare från flera länder sedan 1988.

Programmet omfattar 3-4 provmaterial 3 gånger per år. Det innehåller ca 25 st. olika kvantitativa och kvalitativa analysparametrar i form av bakterier, samt mögel- och jästsvampar, och inkluderar de i livsmedel förekommande analyserna av patogena bakterier.

Några parametrar förekommer vid samtliga provtillfällen. Resterande parametrar fördelas på de tre tillfällena. Vilka parametrarna är framgår på sidan Allmän information, Livsmedelsprogrammet på webbplatsen www.slv.se/absint.

3.3. Tidsplan och analysparametrar för ett provtillfälle

Tidsplaner och analysparametrar för aktuella provtillfällen hänvisas till sidan Provtillfällen på webbplatsen www.slv.se/absint.

Som organisatör anstränger vi oss för att hålla tidsplanerna. Om ändå något oförutsett skulle inträffa, förbehåller vi oss rätten att skjuta upp provtillfället. Deltagarna kommer att informeras om sådan åtgärd innan det ordinarie provtillfälle skulle ha ägt rum.

4. Provmaterialet

4.1. Typ av material

Vid provningsjämförelser kan naturliga prov eller för ändamålet tillverkat testmaterial användas. Ett mellanting där testanalyten tillförs ett naturligt eller behandlat prov ("spikning") kan också förekomma.

Livsmedelsverket har valt att använda tillverkat material för de mikrobiologiska kompetensprovningarna. Materialet används till simulerade livsmedels- eller dricksvattenprov med blandningar av organismer, där det finns ett visst syfte med varje testmaterial. Beroende på syftena kan de inkludera både bakterier och svampar (mögel och jäst). I vissa provblandningar finns patogena bakterier medan andra består enbart av organismer med specifika indikativa egenskaper. Inget testmaterial produceras som innehåller protozoer eller virus.

De färdiga testmaterialen består av frystorkad serumbuljong med olika blandningar av mikroorganismer. Varje delprov består av 0,5 ml blandning som frystorkats i en vial (ampull) av glas som rymmer 2 ml. Materialet tillverkas i princip enligt beskrivning av Peterz och Steneryd (4). När innehållet löses upp i en specifik volym av lämplig vätska erhålls det prov eller som ska testas.

Frystorkat testmaterial utan matris i vialer har ett antal fördelar gentemot naturliga prov men också en del nackdelar.

4.1.1.1. Fördelar

- + Vialerna tar liten plats vilket underlättar förvaring, packning och transporter.
- + Vialerna är ganska oömma och går därför bra att transportera.
- + Flera organismgrupper (analysparametrar) kan samtidigt testas med samma material.
- + Testmaterialet har lång hållbarhet utan förändringar av organismhalterna.
- + Ett stort antal likadana delprover går att tillverka vars organismhalter följer Poisson-fördelningar eller vid högre koncentrationer lognormal fördelning.
- + Omkostnader hålls nere genom en standardiserad och relativt enkel tillverkningsprocedur.
- + Upplöst testmaterial kan användas till "spikning" av naturliga prov.

4.1.1.2. Nackdelar

- Frystorkningen kräver en bra frystork där processen går att styra.

- Organismerna kräver en skyddande substans, ”kryoprotektor”, som gör att de överlever frystorkningen bra.
- Testmaterialet måste lösas upp i vätska, vilket kräver en viss arbetsinsats där man kan göra fel.
- Upplösning av testmaterialet kan leda till viss skumbildning. Detta gör att provet oftast går att skilja från verkliga prov, vilket innebär att analytikern vet att det är ett kontrollprov.
- För livsmedelsanalyser saknas en naturlig matris och beredning av prov eftersom endast analys av prov motsvarande en vätska eller ett färdigberett homogent ingår.

4.2. Produktion och kontroller

4.2.1. Sammansättning

I provmaterialet används mikroorganismer som isolerats från livsmedel och vatten eller köpts från en allmän kultursamling. Organismerna förvaras i ett stamförråd vid UN/MI i frystorkad och fryst ($-70\text{ }^{\circ}\text{C}$) form.

ISB (Inositol Serum Broth) används som ”kryoprotektor” för att skydda organismerna vid frystorkning. ISB består av sterilfiltrerat hästserum blandat med inositol, samt en viss mängd näringsbuljong. Efter tvättning och spädning av de näringsrika odlingskulturerna tillsätts komponenten SPG (Saccharose Phosphate Glutamate) som också har organismskyddande egenskaper vid frystorkning. Vid spädningen och tvättningen används peptonvatten eller en kaliumfosfatbuffert innehållande MgSO_4 (se t.ex. ISO 8199:2005; 5). Samma lösningar kan lämpligen användas vid upplösning av färdigt material inför analys.

4.2.2. Tillverkning

Varje organism odlas upp för sig i lämpligt näringssubstrat, oftast TSB (Tryptone Soya Broth) eller BHI (Brain Heart Infusion) buljong/agar för bakterier och (MEA) maltextraktagar för svampar. Efter förutbestämd uppodlingstid används erhållna kulturer. Det näringsrika odlingssubstratet tvättas eller späds bort från en bestämd uttagen volym av kulturen (eller för mögelsvamp hopskakad sporsuspension). Bestämda volymer av de tvättade eller spädda kulturerna överförs till en bestämd volym iskall ISB, varvid materialets organismblandning erhålls.

Blandningen hålls under omrörning i isbad medan portioner (0,5 ml) av den överförs till sterila glasvialer på speciella brickor. Vialerna försluts halvvägs med sterila gummiproppar innan brickorna placeras på kylda hyllor i frystorken. Själva frystorkningsproceduren startas efter att samtliga vialer som ska fyllas har placerats på hyllorna. Proceduren tar drygt 20 timmar och förlöper enligt ett bestämt program. När den avslutas försluts alla vialerna samtidigt i frystorken medan de är under vakuum. Därefter sker tryckutjämning genom luftinsläpp så att

frystorken kan öppnas och vialerna tas ut. Vialerna kan som alternativ till vakuum fyllas med kvävgas innan förslutning.

4.2.3. Förvaring och försegling efter tillverkning

Det färdiga testmaterialet placeras i kyla (kylskåp eller frys) och kontrolleras på sitt innehåll av de olika organismerna. Vialer med önskvärt innehåll vakuumkontrolleras innan de förseglas med aluminiumkapsyler. Vialerna förvaras därefter i frys (–24 alternativt –65 °C) tills de skickas. Etikettering sker i samband med provutskick.

4.2.4. Kvalitetskontroller

4.2.4.1. Provmängd

Under dispensereringen av en blandning till vialer görs dispenserering även till ett antal förvägda vialer. Initialt vägs dispenserad volym från 5 vialer för att se att dispensereringen i stort kan påbörjas. Därefter vägs volymerna från minst en vial i början och en i slutet av varje använt ställ om 144 vialer. Totala variationsbredden och spridningsmått i form av variationskoefficient beräknas. Variationsbredden får vara högst 0,015 g mellan de dispenserade volymerna, vilket motsvarar ca 3,0 % av den genomsnittligt dispenserade massan (målvolymen 0,5 ml). Vägningarna görs parallellt med dispensereringen för att kunna åtgärda eller avbryta denna om skillnader i volymer blir för stora.

4.2.4.2. Haltkontroll

Haltkontroll med hjälp av en eller flera vialer av testmaterialet genomförs efter frystorkningen. För nya stammar görs haltkontroll ofta även före frystorkningen. När analyser görs både före och efter frystorkningen kan de enskilda stammarnas avdödning vid frystorkningsprocessen bestämmas (reduktionsfaktor).

4.2.4.3. Homogenitet

Innan testmaterialet skickas ut till användarna görs en homogenitetsbedömning. I regel görs dublettanalyser, av 10 slumpmässigt utvalda vialer, med metoder för de parametrar som ska testas. För att materialet ska anses homogent ska vissa kriterier vara uppfyllda vad gäller spridning inom och mellan vialer (se under 8.2 Haltbestämning och homogenitet).

4.2.4.4. Vakuumkontroll

För att vara hållbart ska det frystorkade materialet förbli under vakuum efter att vialerna förslutits. Varje enskild vial genomgår vakuumkontroll före lagring eller leverans. Vialer utan vakuum kasseras, eftersom inert miljö är nödvändig för bevarad livsduglighet och därmed stabila halter. Normalt behöver ingen vial kasseras.

4.2.4.5. Stabilitet

Stabiliteten av många organismers halter har undersökts i många olika frystorkade blandningar. Varje blandning testas däremot inte i detta avseende. Framför allt finns kunskap från likartat material (referensmaterial) som har tillverkats på samma sätt. Det har förvarats under minst 2 år och testats regelbundet. Då materialet förvaras fryst vid låg temperatur, såsom -65 °C , är flertalet testade bakterier och svampar stabila åtminstone under denna tid. Gram-negativa bakterier har dock ofta en tendens att minska något i kolonibildningsförmåga med tiden medan Gram-positiva bakterier och svampsporer i regel är opåverkade.

Vid förvaring vid normal frystemperatur (-18 till -24 °C) är innehållet stabilt minst ett år, med samma anmärkning för Gram-negativa bakterier som ovan.

Vid förvaring i kylskåp ($5\pm 3\text{ °C}$) är innehållet stabilt åtminstone några månader, oftast betydligt längre.

Vid förvaring i rumstemperatur är innehållet normalt stabilt åtminstone någon månad, oftast längre.

4.3. Farlighet

4.3.1. Smittsamhet

I programmen används mikroorganismer inom riskklass 1 och 2 enligt Arbetsmiljöverkets klassificering (6). En riskbedömning har gjorts av Smittskyddsinstitutet i Sverige gällande smittrisk med de organismer vi använder utifrån den hantering som görs (7). Slutsatsen är att det är osannolikt att testmaterialet skulle kunna läcka ut under transport. Dessutom bedöms risken för sjukdom efter intag av en vials hela innehåll vara ytterst liten. Livsmedelsverket har utifrån utlåtandet gjort en bedömning angående hantering och transport (8; se vidare under punkt 4.4.3).

4.3.2. Miljöfarlighet

Materialet i sig består av hästserum, inositol och mikroorganismer, samt ofta lite näringsbuljong, SPG, pepton, kaliumfosfat och magnesiumsulfat. Behållaren består av glas, gummi och aluminium. Då detta inte inkluderar några speciellt klassade eller på annat sätt potentiellt farliga kemiska ämnen kan det tas omhand i vanlig sophantering efter att mikroorganismerna oskadliggjorts genom avdödning. Se nedan under Destruktion av prov.

4.4. Inför ett kompetensprovningstillfälle

4.4.1. Randomisering av testvialer till laboratorier

4.4.1.1. Numrering av vialetiketter

Inför utskick till deltagande laboratorier vid ett provtillfälle numreras vialetiketterna. Numreringen sker automatiskt och sparas i vår databas. Numren består av laboratoriets specifika och konfidentiella laboratorienummer, ett bindestreck och en entalssiffra som ger en koppling till en testblandning. Denna entalssiffra är slumpmässigt vald till laboratorierna för de olika blandningarna A, B, C o.s.v., och kopplingen finns i databasen.

4.4.1.2. Urval av vialer till ett laboratorium

Inför packningen blandas vialer från varje provblandning omsorgsfullt i en behållare. För varje laboratorium tas vid packningen en slumpmässigt vald vial upp från behållaren och etiketteras med laboratoriets etikett för blandningen. Detta sker vid en separat arbetsstation för varje blandning för att undvika felaktigheter.

4.4.2. Paketering av testvialer

De enskilda etiketterade vialerna placeras i stötskyddande och vätskeabsorberande material som stoppas i ett säkerhetsrör eller en säkerhetsburk för transport av infektiöst material. Röret eller burken och instruktioner för provtillfället stoppas i ett skyddande ytteremballage tillsammans med information om att materialet kan betraktas som frystorkade konstgjorda livsmedelsprover och vad man bör göra om man av någon anledning kommer i kontakt med det. På ytteremballaget fästs etikett och eventuell tulldeklaration. Där görs även annan märkning som behövs för transporten.

4.4.3. Transport av testvialer

Baserat på den bedömning (8) Livsmedelsverket gjort utifrån Smittskyddsinstitutets riskanalys (7) så skickas materialet, efter paketering enligt ovan, med bifogade instruktioner via vanliga posttransportmedel, det vill säga bil, tåg, båt och flyg beroende på destination. Försändelserna skickas som vanliga brev eller då behov av möjlighet till spårning finns som rekommenderade brev.

4.5. Hantering av testmaterialet

4.5.1. Förvaring i samband med provutskick

Innan paketering och transport förvaras materialet kylt (se 4.2.3).

Vid paketering och transport hålls materialet i rumstemperatur eller annan rådande omgivningstemperatur. Detta har under normala omständigheter inte visat sig ha någon effekt på provmaterialet.

När testmaterialet ska användas inom en kort tidsperiod efter leverans, som vid kompetensprovningar, är behovet av lång hållbarhet litet. Förvaring i kylskåp efter leverans är därför fullt tillräckligt. Förvaring i rumstemperatur är i regel heller inte kritiskt några veckor. Materialet ska dock alltid förvaras i mörker.

Mottagande laboratorier uppmanas därför att förvara erhållet material mörkt och i kyl eller fryser tills det används.

4.5.2. Provberedning inför analys

För deltagande laboratorier framgår provberedningen av de medskickade instruktionerna. Dessa innefattar bilder med förklarande text. Tillvägagångssättet innebär att testmaterialet överförs till en på förhand uppmätt volym (t.ex. 250 eller 800 ml) av upplösningsvätskan (t.ex. spädningssätska). Vätskan med testmaterial blandas sedan noggrant för att erhålla det färdiga provet till analys.

4.5.3. Hållbarhet av berett prov

Färdigberett prov från det frystorkade materialet kan inte garanteras stabilitet i halter längre än någon timme, inte ens efter kylning. Det färdiga provet bör därför användas till analys inom en timme.

Vissa bakteriesporer kan dock vara hållbara under betydligt längre tid, såsom flera veckor.

4.5.4. Destruktion av prov

4.5.4.1. Öppnade vialer med testmaterial

Innan materialet kan kastas i vanliga sopor måste mikroorganismerna avdödas genom t.ex. autoklivering vid 121 °C under så lång tid (t.ex. 50 minuter) att allt hinner uppnå rätt temperatur. Ett alternativ är att vialerna med testmaterialet lämnas till en speciell destruktionsanläggning för infektiöst material.

4.5.4.2. Öppnade och använda vialer

Glasvial som innehåller/innehållit testmaterial och gummiproppen kan lämpligen kastas i behållare för infektiöst material som ska destrueras i speciell anläggning. Aluminiumkapsylen kan kastas med vanliga sopor.

4.5.4.3. Rester av berett prov

Rester av det färdiga provet bör avdödas genom autoklivering vid 121 °C under minst 15 minuter eller på annat likvärdigt sätt.

5. Instruktioner vid utskick av testmaterial

5.1. Hålltider

Utskick av testmaterial och instruktioner sker 1-2 veckor före provtillfällets startdatum. I instruktionerna framgår bl. a. när provtillfället startar och sista svarsdag för analysresultaten. Dessa tider liksom övriga hålltider för respektive provtillfälle anges även på webbplatsen www.slv.se/absint.

5.2. Analysparametrar

Vilka analysparametrar som ingår vid varje provtillfälle framgår av webbplatsen www.slv.se/absint men anges också i de utskickade instruktionerna.

5.3. Övrigt i instruktionerna

Instruktionerna som följer med testmaterialet innehåller också information om:

- provberedning
- speciella förhållanden som kan gälla för de olika analyserna, såsom vilka spädningar eller volymer som bör testas eller vilka metoder som kan användas
- rapportering av resultat och metoduppgifter
- att analysvaren ska anges i webbformuläret på den inloggade delen av webbplatsen, liksom hur de ska anges (ett utskrivet formulär med aktuella analysparametrar och enheter bifogas instruktionerna att använda om det skulle vara problem med webbformuläret)
- att detaljer om använd metod för respektive analys måste anges på webbplatsen för att analysresultat ska kunna lämnas
- att metodinformationen kan komma att användas för att gruppera analysresultat per metod i slutrapporter och för att kunna diskutera speciella förhållanden.

6. Vid ett provtillfälle

6.1. Deltagaraktiviteter

6.1.1. Instruktioner och analyser

Deltagande laboratorier förutsätts ta hand om testmaterialet på rekommenderat sätt enligt medföljande instruktioner. De förutsätts att ta del av hela instruktionen och utföra analyserna på rekommenderat sätt. Dock bör de i så stor utsträckning som möjligt utföra analyserna som för ett rutinprov, men med de begränsningar eller tillägg som finns i instruktionen.

6.1.2. Rapportering av analysresultat

Hur analysresultaten ska rapporteras skiljer sig åt mellan programmen men beskrivs noggrant i instruktionen som följer med testmaterialet. Formerna som resultaten anges i skiljer sig åt mellan programmet för dricksvatten och det för livsmedel.

För dricksvattenprogrammet ska det verkliga koloniantalet eller MPN-index anges avrundat till heltal, före eller efter konfirmering, för den volym som specificeras för respektive analys. Från noll upp till 10000 CFU (kolonibildande enheter) kan förekomma för den specificerade volymen.

För de kvantitativa analyserna inom livsmedelsprogrammet ska det tiologaritmerade analysresultatet anges med 2-3 decimaler för specificerad provvolym. Från ingen upp till 7 i tiologaritmerat koloniantal per ml kan förekomma (0 till $9,9 \times 10^6$ cfu/ml). För de kvalitativa analyserna anges Pos (positivt; påvisades) eller Neg (negativt; påvisades inte).

För att resultaten från ett deltagande laboratorium ska tas med och bedömas i slutrapporten för ett provtillfälle måste dessa ha rapporterats inom föreskriven tid. Eventuella rättelser måste också ha inkommit till organisatören inom den tid som anges för dessa (se nedan under 6.2.1).

6.1.3. Rapportering av metoduppgifter

Obligatoriska metoduppgifter för en analysparameter måste lämnas för att kunna rapportera analysresultat. De kan endast lämnas på webbplatsen och gäller tills vidare. De kan lämnas och ändras när som helst efter inloggning, alltså även efter sista svarsdatum för analysresultat och mellan provtillfällen. Adressen är: www.slv.se/absint. Det är den metodvariant som används för att få fram de rapporterade analysresultaten som ska anges.

När det i rapporter finns behov av att redovisa möjliga metodskillnader kommer metoduppgifterna att användas för att gruppera resultaten. De kommer normalt att användas så som de är inlagda strax efter att tiden för justering av inrapporterade svar är över. Även om skillnader kan vara svåra att statistiskt visa kommer trender och tänkbara skillnader att diskuteras, som hjälp för att tolka laboratoriers olika resultat. Metodskillnader bakom svaren kommer inte att diskuteras varje gång en viss analysparameter finns med, utan olika parametrar kommer att behandlas vid olika tillfällen.

6.2. Ändring av inrapporterat svar

6.2.1. Deltagande laboratoriers ansvar

Det är det deltagande laboratoriets ansvar att kontrollera de egna svaren i databasen, via webbplatsen, mot vad som rapporterats in. Normalt förekommer inga konstigheter eftersom inrapporteringen sker digitalt direkt till databasen via

Internet. Om laboratoriet har blivit tvunget att skicka in resultaten på annat sätt såsom brev, e-post eller fax, är det däremot extra viktigt att göra en noggrann kontroll. Då har nämligen organisatören matat in svaren i databasen.

Kontroll och återrapportering till organisatören måste göras inom den tid som anges. Efter detta datum garanteras inte att justeringar görs, eftersom slutlig bearbetning kan ha påbörjats. Detta datum finns angivet för aktuellt provtillfälle på den webbsida som beskriver de olika provtillfällena. Vi skickar en påminnelse till deltagarna, i form av ett e-postmeddelande, när preliminära bearbetade resultat finns och att kontroll av de egna svaren bör göras. I detta meddelande anges också sista datum för ändringar.

6.2.2. Accepterade justeringar

Normalt godtas endast ändringar av inrapporterade analyssvar om det blivit fel på grund av tekniska orsaker (datafel) eller om vi som organisatör rapporterat in fel. Om felet orsakats av att våra instruktioner varit otydliga eller svåra att förstå kan ändringar godtas efter särskild prövning.

Felaktigheter i svaren som beror på att det deltagande laboratoriet gjort något misstag ändras normalt inte. Fel som inte ändras är inmatningsfel, svar rapporterat för fel prov, svar rapporterat för fel analys, svar orsakat av beräkningsfel, svar angivet för fel spädning, svar angivet på annat sätt än vad instruktionen anger och annat liknande.

Metoduppgifter kan däremot ändras när som helst av deltagaren. Det kan göras även mellan provtillfällena. I en enskild rapport återspeglas de metoduppgifter som finns när bearbetningen av resultat och metoduppgifter startar. Det är normalt strax efter sista dagen för justering av inrapporterade analyssvar.

6.3. Möjliga felkällor vid ett provtillfälle

6.3.1. Anmälan/Avanmälan

För att minimera risken att registrerade laboratorier som önskar delta inte ska vara anmälda till ett provtillfälle och få testmaterial, eller tvärt om, så ombeds laboratorierna att själva av- och påanmäla sig till provtillfällena via en sida för deltagare på webbplatsen www.slv.se/absint. Där kan de också anmäla sig som prenumerant, vilket innebär att de är påanmälda för kommande tillfällen tills de själva ändrar sin status.

6.3.2. Testmaterialet

Vid tillverkning kontrolleras volymen vid vialfyllning systematisk genom stickprov. Efter frystorkning kontrolleras att varje enskild vial har erhållit vakuum, vilket är nödvändigt för organismernas överlevnad. Stickprovskontroll av vakuum sker på nytt i ca 10 % av vialerna strax innan de skickas ut.

Organismerna som används i testmaterialet skulle kunna ändra eller förlora egenskaper. För att motverka detta accepteras endast en omstrykning av använda organismstammar efter att de tagits upp ur det egna stamförrådet. Vid lagring i förrådet ska minimalt antal omstrykningar från en spårbart typad stamkultur göras.

6.3.3. Utskick och transport

Förväxling av prov till olika laboratorier vid utskick är en möjlig risk. Såsom beskrevs i kapitel 4.4.1 sker dock paketering av vialer så att detta ska undvikas.

Adresser uppdateras kontinuerligt efter att adressändringar erhållits för att minimera feladressering.

Teoretiskt skulle testmaterialet kunna skadas under transport om det utsätts för mycket hög temperatur eller om det utsätts för kraftig röntgenstrålning. Hittills tycks dessa risker inte ha inneburit några problem, inte ens vid mycket långväga transporter till mycket varma länder. Uppgifter från Posten i Sverige angående inrikes och utrikes försändelser vid Stockholms internationella flygplats, Arlanda, gör gällande att som mest endast mycket låga doser av röntgenstrålning används (<1/100 av doser vid tandröntgen). Eftersom inga generella negativa effekter av transporter kunnat noteras är sannolikt de strålningsdoser som förekommer oskadliga för de frystorkade mikroorganismer som skickas.

6.3.4. Felregistrering av analysresultat och metoduppgifter

Registrering av analysresultat sker i normalfallet av deltagarna själva via ett webbformulär på en sida för deltagare på webbplatsen. De resultat som hamnar i databasen blir på så sätt de som deltagarna själva lämnar utan någon mellanhand som kan orsaka felregistrering. Om deltagande laboratorium själv matar in ett felaktigt resultat betraktas det inte som ett fel som kan justeras, utan ingår i själva kompetensprovningsen (se 6.2.2).

Vid speciella situationer som problem med webbsidan eller i Internet-trafiken kan en deltagare skicka sina resultat till organisatören för inmatning. I samband med att preliminära beräknade resultat redovisas ombeds deltagarna att även kontrollera sina egna resultat. Då kan fel gjorda vid inmatningen upptäckas. Fel som organisatören orsakat rättas till efter påpekande från deltagare.

Webbformuläret för metoduppgifter är alltid tillgängligt för ändringar och tillägg. Det innebär att deltagarna själva gör nödvändiga justeringar där.

6.3.5. Felaktigheter i slutrapport

Om betydelsefullt fel skulle uppstå i slutrapporten meddelas deltagarna om detta via e-post. Rapporten justeras och en ny version läggs ut på webbsidan för rapporter och information. Mindre betydelsefulla fel kan rättas till direkt i e-postmeddelandet utan att en ny version av rapporten ges ut.

7. Uppföljning av analyser

Livsmedelsverket ställer inga krav på att ett deltagande laboratorium följer upp erhållna resultat och vidtar lämpliga åtgärder. Sådana krav kan endast ställas av laboratoriet själv eller av en tredje part som laboratoriet underställt sig, t.ex. ett ackrediteringsorgan. Detta kan kräva att laboratoriet ska uppvisa en viss kvalitet och vidta åtgärder när den kan ifrågasättas. Hur uppföljning ska ske utformas därför av laboratoriet själv eller i samverkan med den tredje parten.

Livsmedelsverket tar inget ansvar för om och hur uppföljningen görs.

I ett appendix i slutrapporterna redovisas z-värden (se nedan under Statistik) som hjälp för laboratorier att utvärdera sina analyser. Z-värden är ett bra hjälpmedel för att utvärdera en analysparameter över tiden utifrån flera provtillfällen i t.ex. ett kontrolldiagram.

Som organisatör underlättar vi också uppföljning genom att gratis leverera extra vialer från provblandningarna, så långt lagret räcker, till laboratorier som ber om det. Varje laboratorium kan få en extra vial per blandning. För att få en vial från en viss provblandning måste laboratoriet i princip kunna ange vilken analysparameter i den blandningen de anser sig ha misslyckats med.

8. Statistik och rapportering

8.1. Allmänt

De statistiska bearbetningarna vid kompetensprovningarna av mikrobiologiska livsmedels- och dricksvattenlaboratorier består av nedanstående punkter.

- Kontrollera provmaterialet med avseende på substansmängd, halter, homogenitet och stabilitet.
- Transformera analysvarens koloniantal (CFU) före beräkningar, för att erhålla bra normalfördelningar och likformig varians inom resultatens variationsbredd för respektive analys. För livsmedelsprogrammet används *tiologaritmering* (\log_{10}) och för dricksvattenprogrammet används *kvadratrottransformering*.
- Identifiera avvikande analysvar i form av falskpositiva och falsknegativa svar, samt låga och höga extremvärden ("outliers").
- Redovisa samtliga svar lämnade av deltagande laboratorier i en tabell, tillsammans med robust summastatistik (avvikande svar borttagna) och antal avvikande svar per analysparameter.
- Åskådliggöra resultaten för varje relevant kvantitativ analys med frekvensdiagram (histogram) för respektive provblandning.
- Beskriva varje enskilt laboratoriums standardiserade analysvar (z-värden) med ett eget boxdiagram.

- Markera extremvärden och falska svar i tabellen med samtliga analys svar och ange antalet av dessa för varje laboratorium under respektive boxdiagram.

Svar som är uppenbart felaktiga (t.ex. otvetydigt falska), utifrån kunskap om provinnehållet, avlägsnas utan statistisk prövning innan test av extremvärden görs.

8.2. Haltbestämning och homogenitet

8.2.1. Gemensam generell information

Vid bestämningar av halter och homogenitet i ett testmaterial används ackrediterade analysmetoder. Vid test av en ny parameter och i speciella fall kan metoder som inte är ackrediterade användas. Detta nämns i sådana fall.

Haltbestämningar av de olika organismerna i ett testmaterial görs dels för att kontrollera att materialet har de sammantagna egenskaper som önskas och dels för att finnas som referensvärden vid utvärderingen av analys svaren. Det är utifrån organismhalten från flera slumpmässigt plockade vialer som även homogenitetsbedömningen görs.

Homogeniteten hos det frystorkade materialet kontrolleras normalt före packning och utskick till deltagande laboratorier. Packningen anses inte påverka homogeniteten. Delprover från flera vialer undersöks samtidigt av samma person. Hur mycket variation som föreligger mellan och inom vialer är beroende av vilken parameter som analyseras men också av organismhalten. Större variation innebär oftast även större variation av deltagarnas resultat. Detta kompenseras för genom att standardavvikelsen för beräkning av z-värden (se 8.6.6) inte är fixerad, utan är ett robust mått baserat på deltagarnas resultat.

Homogenitetskriterierna skiljer sig åt mellan de två programmen men baserar sig i båda fallen i viss mån på vad som angivits i internationella protokoll (9, 10). Dessa protokoll är huvudsakligen utarbetade för kvantitativa kemiska analyser och kan i vissa avseenden därför inte följas strikt inom mikrobiologi. I de senaste utgåvorna av dessa protokoll (11, 12) behandlas bestämning av homogenitet något annorlunda. Detta tillvägagångssätt har dock inte ansetts helt tillämpligt för den mikrobiologiska verksamhet som beskrivs här och därför inte använts.

8.2.2. Livsmedelsprogrammet

8.2.2.1. Förutsättningar och antaganden

Kvantitativa analysresultat, såväl haltkontroller som deltagarnas resultat, erhålls genom manuell räkning av kolonier som därefter i regel räknas om till en förutbestämd analysvolym med hänsyn tagen till gjorda spädningar. Koloniantal från ett och samma steg i en spädningsserie anses i princip vara Poisson-fördelade. På grund av att flera spädningsslag ibland avläses och att beräkning görs tillbaka till en ursprungsvolym kan en strikt Poisson-fördelning inte anses gälla fullt ut. Variansen ökar mera än vad Poisson-fördelningen förutsätter och därför används

en lognormal fördelning som approximation. Användandet av tiologaritmerade resultat är dessutom praxis vad gäller mikrobiologiska livsmedelsanalyser.

Slutligt beräknade analysresultat används därför tiologaritmerade och betraktas som någorlunda normalfördelade efter den transformerings. Det är resultaten i denna form som används för haltberäkningar, homogenitetsbedömning och detektion av extremvärden.

Beroende på provtillfälle och analysparameter så varierar antalet kvantitativa analysresultat från ca 40 till fler än 200 (i enstaka fall även < 40).

8.2.2.2. Initial haltkontroll

I direkt anslutning till frystorkning av en blandning kontrolleras en vial med avseende på innehåll och koncentrationer. Innehållet i varje vial löses upp och förs över till en bestämd volym spädningssväska, vilket betraktas som noll-spädningen. Enkelanalyser görs från de olika stegen i en spädningsserie. Denna haltkontroll används för att få en tidig indikation på om provblandningen verkar acceptabel med avseende på de olika ingående organismerna. Denna initiala haltkontroll används också för att avgöra vilket spädningsssteg som ska användas för en viss analys vid den slutliga haltbestämningen och homogenitetstesten.

8.2.2.3. Slutlig haltbestämning och homogenitetstest, kvantitativ analys

Före provutskick analyserar en och samma person 10 slumpmässigt utplockade vialer vid samma tillfälle för slutlig haltbestämning och kontroll av provens homogenitet. Provuupplösning görs som vid initial haltkontroll. Provansättning görs för hand eller med spiralspridare. Från noll-spädningen görs två spädningsserier och en platta per spädningsserie används för varje analysparameter från den spädning som är lämpligast för parametern utifrån den initiala haltkontrollen. De två spädningsserierna från de 10 vialerna kan inte analyseras i slumpmässig ordning på grund av att oönskade förändringar i halten av organismer kan ske i det upplösta och spädda provet om det tar alltför lång tid till analys. De två spädningsserierna från samma vial analyseras därför direkt efter varandra, vilket kan leda till så kallad underspridning ("under dispersion"). Analyserna utförs under repeterbarhetsförhållanden. Ett genomsnittligt resultat beräknas för varje vial från de två spädningsseriernas plattor från använt spädningsssteg. Den slutliga halten beräknas som medelvärdet från dessa 10 värden i *tiologaritmerad form* efter omräkning till ursprunglig koncentration med hänsyn taget till gjorda spädningar. Standardavvikelsen, som också beräknas i tiologaritmerade form för dessa 10 värden, jämförs med kriterierna för homogenitet.

8.2.2.4. Slutlig haltbestämning och homogenitetstest, kvalitativ analys

För haltbestämningar vid kvalitativa undersökningar (t.ex. Salmonella) frystorkas separata vialer med renkulturer (s.k. specialvialer) samtidigt med blandkulturerna. Sådana provmängder av den specifika organismen används så att samma koncentration kan förväntas både i renkulturen och i blandkulturen. Koncentrationen kontrolleras genom analys av 10 specialvialer med renkultur, från vilka

dubbelbestämningar görs som för kvantitativ analys. Beräkning av medelvärde och standardavvikelse görs också som för de kvantitativa analyserna, liksom den primära bedömningen av homogenitet. Medelvärdet anses återspegla halten i blandkulturen.

Ibland används semikvantitativ analys av blandkulturer med ansättningar av olika provvolymen av buljong med haltbestämning utifrån MPN-tabeller.

Listeria och Campylobacter kan dessutom ibland kvantifieras från blandkulturer genom direkt ansättning på selektiva agarmedier. Detta kan dock på grund av stress och konkurrens leda till att koloniantalet blir något lägre än den verkliga halten i vialerna. Spridningen blir då ofta också större.

8.2.2.5. Kriterier för homogenitet

Vid kvantitativ analys gäller i enlighet med Peterz, 1992 (13) att variationsbredden för de *tiologaritmerade värdena* av de 10 vialernas genomsnittliga resultat inte får överstiga 0,5 log₁₀-enheter. Standardavvikelsen skall samtidigt vara < 0,15 log₁₀-enheter.

Vid kvalitativ analys gäller samma kriterier samt att målorganismen skall kunna påvisas från samtliga 10 använda vialer.

8.2.2.6. ANOVA

Som komplement görs en envägs variansanalys för resultaten från den utvalda spädningen vid homogenitetstesten av de 20 (10×2) spädningsserierna. Analysen utförs med de från spädningen faktiskt erhållna *resultaten i tiologaritmerad form*. Ett F-test görs som stödjande, men inte avgörande, test för att se att spridningen mellan vialer inte är markant större än inom. Den ”poolade” standardavvikelsen ur analysen används som mätosäkerhetsmått på den samtidigt erhållna haltbestämningen (se 8.2.4).

8.2.3. Dricksvattenprogrammet

8.2.3.1. Förutsättningar och antaganden

Kvantitativa analysresultat, såväl haltkontroller som deltagarnas resultat, erhålls genom manuell räkning av kolonier. Resultat kan erhållas från en eller flera olikstora volymer av ett prov (upplöst testmaterial) men räknas i regel om till en förutbestämd analysvolym av samma prov. Koloniantal från de olika volymerna av provet anses i princip vara Poisson-fördelade. Eftersom oftast inga spädningsteg ingår betraktas Poisson-fördelning approximativt gälla även för beräknade resultat. Strikt gäller den dock endast för de volymer som avlästs. Vid Poisson-fördelning gäller att variansen är numeriskt lika med antalet kolonier.

Som konsekvens av antagandet om Poisson-fördelning används, på teoretiska grunder (15), kvadratrottransformering för att approximera normalfördelning. Initiala studier när programmet var nystartat visade också att även deltagarnas

resultat i flertalet fall uppvisade bäst normalfördelning när de var kvadratrottransformerade jämfört med logtransformerade eller inte transformerade alls.

Vid haltberäkningar, homogenitetsbedömning genom variansanalys och detektion av extremvärden som förutsätter någorlunda normalfördelning används erhållna analysresultat kvadratrottransformerade. Vid andra tester som bygger på Poissonfördelning av erhållna resultat används de utan transformering.

Beroende på provtillfälle och analysparameter så varierar antalet kvantitativa analysresultat från ca 40 till fler än 100.

8.2.3.2. Initial haltkontroll

Så kort tid som möjligt efter att en provblandning frystorkats kontrolleras 5 slumpvis valda vialer från olika faser (början, mitten, slutet) av vialfyllningsprocessen. Innehållet i varje vial löses upp och förs över till en bestämd volym spädningsvätska. Endast enkelanalyser utförs för några olika provvolym. Denna haltkontroll används för att få en tidig indikation på om provblandningen verkar acceptabel och kan *antas* vara homogen med avseende på de olika ingående organismerna. Denna initiala haltkontroll används också för att avgöra vilken provvolym som ska användas vid den slutliga haltbestämningen och homogenitetstesten.

8.2.3.3. Slutlig haltbestämning och homogenitetstest

Före provutskicket testas 10 slumpmässigt valda vialer per blandning med avseende på homogenitet och halter (gäller som organisatörens rapporterade medelvärden). Provupplösning görs som för initial haltkontroll. Dubbelanalyser utförs från de 10 vialerna från en blandning under en och samma dag. Delproverna från de 10 vialerna kan inte analyseras i slumpmässig ordning på grund av att oönskade förändringar i halten av organismer kan ske i det upplösta provet om det tar alltför lång tid till analys. De två delproverna från samma vial analyseras därför direkt efter varandra, vilket kan leda till så kallad underspridning ("under dispersion"). Endast en specificerad provvolym utifrån den initiala haltkontrollen används för varje parameter. Analyserna utförs under repeterbarhetsförhållanden. Variationskoefficienterna (CV; se 8.6.7) räknas ut från de 10 medelvärdena (å 2 bestämningar) per analys.

8.2.3.4. ANOVA

Envägs variansanalys utförs på resultaten från de 10 vialerna med dubbelbestämningar. Analysen utförs med *resultaten i kvadratrottransformerad form*. Ett F-test görs för att se att spridningen mellan vialer inte är markant större än inom.

Dessutom bestäms standardavvikelsen mellan vialer och jämförs mot en fiktiv men lämplig målstandardavvikelse i enlighet med protokollet från IUPAC (9). Denna bestämning med bestämd målstandardavvikelse används som ett preliminärt mått på om homogenitet föreligger eller inte.

8.2.3.5. "Index of dispersion" – kontroll av slumpmässighet

Som komplement till variansanalysen används tester av "Index of dispersion" för att kontrollera att erhållna analysresultat både inom vialer (10 dubbelanalyser) och mellan vialer (10 vialer) inte avviker markant från vad som kan förväntas utifrån relevanta Poisson-fördelningar (14, 15). Vid dessa tester används de ursprungliga, *icke-transformerade koloniantalen* från den specifika provvolym som valts för analys av en parameter. Testet är något haltberoende i avseendet att det är lättare att få acceptans för slumpmässighet (motsäger inte Poisson-fördelning) vid låga koloniantal jämfört med höga.

8.2.3.6. Kriterier för homogenitet

Som riktvärde för att homogeniteten ska vara acceptabel får variationskoefficienten (CV, se 8.6.7.) inte överstiga 25 % då det genomsnittliga innehållet är minst 10 CFU per undersökt analysvolym. Med färre kolonier i genomsnitt (< 10; ofta mindre bra normalfördelning även efter transformering) accepteras högre CV än 25 % om fördelningen av koloniantalen är såsom förväntad. Det innebär att test med "Index of dispersion" (med 95 % konfidens) inte får motsäga att Poisson-fördelning kan föreligga, samt att variansanalysen inte visar på signifikant F-test utan att samtidigt betydande underspridning (χ^2 -testparametern/antal frihetsgrader < 0,3) inom vialer föreligger vid test av "Index of dispersion".

Beräkningar utifrån ANOVA och "Index of dispersion" används som vägledning och inte i sig själva för att avgöra om en omgång med testmaterial är homogent.

8.2.4. Mätosäkerhet vid slutliga halt- och homogenitetsbestämningar

När ett tillverkat material bedöms som homogent, i avseendet att där inte föreligger signifikant större spridning mellan vialer än inom, betraktas de enskilda analyserna som 10×2 (20) oberoenda analyser. Variansanalysens totala "*poolade standardavvikelse*" används då som mått på mätosäkerheten för den haltbestämning som genomförts under repeterbarhetsförhållanden.

Vid dessa bestämningar används analysresultaten i den form vid vilken variansanalysen genomförs, det vill säga *kvadratrottransformerad form* för dricksvattenanalyserna och *tiologaritmerad form* för livsmedelsanalyserna.

8.3. Stabilitet

Varje frystorkad blandning av mikroorganismer testas inte med avseende på stabilitet. Däremot görs haltkontroll och homogenitetskontroll oftast med en viss tidsrymd mellan, vilket visar på om någon oväntad förändring har skett i halter (t.ex. på grund av att vakuum försvunnit i vialerna). För övrigt förlitar vi oss på många års erfarenhet av frystorkat material och de långtidsuppföljningar som görs regelbundet med liknande organismblandningar i de referensmaterial (RM) som tillverkas och tillhandahålls för interna kontroller.

Långtidsuppföljningen innebär regelbundna analyser under minst 2 års tid för material som förvarats vid -65 °C och i många fall även vid ca -20 °C . Analyser görs normalt efter ca 1 månad, 6, 12, 18 och 24 månader. Dessutom görs vid behov, om någon tveksamhet föreligger, analyser efter ca 3 och 9 månader. Uppföljning sker i stabila blandningar ofta även efter ca 36 och 48 månader.

Analyserna utförs som en halv homogenitetskontroll, det vill säga innehållet i 5 vialer analyseras i duplikat (två volymer för dricksvatten respektive 2 spädningsserier för livsmedel). Motsvarande statistiska analyser som vid homogenitetstesten görs för de 5×2 analysresultaten.

För att lättare se förändringar plottas resultaten över tiden för respektive analysparameter och referensmaterial för den temperatur vid vilken materialet förvarats.

Om ett större antal vialer av en blandning tillverkats till kompetensprovning så att den används vid mer än ett provtillfälle utförs en ny kombinerad stabilitets- och homogenitetstest. Den utförs med minst 5 slumpmässigt plockade vialer som vid en stabilitetstest.

8.4. Extremvärden vid en testomgång

Extremvärden är resultat som skiljer sig så mycket från de övriga att de inte kan förklaras av den normala variationen som förekommer. Extremvärden kan objektivt identifieras på olika sätt. I både dricksvatten- och livsmedelsprogrammet används Grubbs test (16), modifierad av Kelly (17). Nivån 1 % används som risk att felaktigt utpeka ett värde som extremvärde. En förutsättning för ett korrekt test är att värdena är normalfördelade.

För att utgå från så bra normalfördelningar som möjligt används alltid resultaten efter transformeringar. För dricksvatten används kvadratrottransformering och för livsmedel används resultaten i tiologaritmerad form. Testet används som ett ”objektivt instrument” för att identifiera avvikande värden även då resultaten inte är normalfördelade. Antagandet om normalfördelning är i de fallen inte uppfyllda.

Extremvärden exkluderas innan slutliga medianvärden, medelvärden och spridningsmått beräknas för de olika analyserna. Däremot beräknas ”z-värden” (se 8.6.9.) även för extremvärdena med användande av samma medelvärde och standardavvikelse för en parameter som för de inte avvikande svaren.

8.5. Falskpositiva och falsknegativa resultat vid en testomgång

8.5.1. Antalet falska resultat

Antalet rapporterade falska resultat varierar kraftigt beroende på vilken analys som utförs liksom provets sammansättning och svårighetsgrad, t.ex. koncentration och/eller bakgrundsflora.

8.5.2. Falskpositiva – definition

Falskpositivt resultat är ett analysvar där en organism anses påvisad utan att den fanns i provet.

8.5.3. Falsknegativa – definition

Falsknegativt resultat är ett analysvar där målorganismen inte kunnat påvisas i en relevant provvolym fast den fanns i provet.

Vid dricksvattenanalyserna förekommer ibland så låga kolonital (t.ex. < 10 CFU) att svaret noll kan erhållas enbart på grund av slumpen. Sådana värden är inte falsknegativa.

Vid medianhalter lägre än ca 20 kolonier per volymenhet definieras falsknegativa resultat för dricksvattenanalyserna som nollvärden som objektivt faller ut som extremvärden vid genomfört test (även om perfekt normalfördelning inte föreligger).

När medianhalten av den analyserade organismen är så hög (≥ 20 kolonier per volymenhet) att det är uppenbart att ett nollresultat är falskt används inte extremvärdestesten för att fälla avgörandet.

8.6. Statistiska mått för en testomgång

8.6.1. Transformerings och redovisning av olika mått

Beräkningar av medelvärden, standardavvikelse och z-värden för svaren utförs i *tiologaritmerad form* respektive *kvadratrottransformerad form* (se 8.1).

För dricksvatten redovisas medelvärdet, liksom medianvärdet, i den normala CFU-skalan (återtransformerad form) medan tiologaritmerade värden behålls för livsmedel.

De olika måtten baserade på normalfördelning (alla utom medianvärde och variationsbredd) redovisas inte för färre än 20 svar totalt efter att extremvärden och falska svar tagits bort utan att detta nämns explicit. Vid grupperingar baserat på metod används dock 6 svar som gräns för att ange spridningsmått. Medianvärde och variationsbredd anges när antalet resultat är för få och för presumtiva analyser där inga tester görs för att eliminera eventuella extremvärden.

8.6.2. Medianvärde

Medianvärden anges för laboratoriers preliminära resultat i stället för medelvärden. De anges också parallellt med medelvärdena i den slutliga rapporten. Medianvärdet är mera robust än medelvärdet, alltså påverkas mindre av extremvärden och fördelning.

8.6.3. Variationsbredd ("Range")

Ett intervall som inkluderar lägsta till högsta värde. Beroende på om analysen ska bedömas eller inte bedömas används intervallet efter respektive före exkluderande av extremvärden och falska svar. När dessa avvikande svar exkluderats kan variationsbredden kallas för acceptansintervall.

8.6.4. Medelvärde

Medelvärde beräknas utifrån deltagande laboratoriers resultat efter det att extremvärden och falska svar tagits bort.

8.6.5. Åsatt värde / Normvärde (m)

Det åsatta värdet ("assigned value") utgörs, för parametrar som utvärderas, av medelvärdet (8.6.4). Detta betraktas som det sanna, normerande värdet. I vissa fall kan olika åsatta värden vara relevant baserat på gruppering utifrån använd metod. För parametrar som inte utvärderas statistiskt anges medianvärde som åsatt värde.

Det finns ett antal skäl till att medelvärdet av deltagarnas resultat ("consensus value") används som åsatt värde istället för ett värde bestämt av expertlaboratorier.

- a. Mikrobiologiska kvantitativa resultat är starkt metodberoende och inget "rätt svar" finns. Rätt svar är till viss del en definitionsfråga och beror på metoden som används. Svar med en viss metod på ett eller flera expertlaboratorier behöver inte var mera generellt rätt än ett med annan metod på ett deltagande laboratorium.
- b. Olika fabrikat eller partier av dehydrerade odlingsmedier tillverkade enligt relevant metodstandard kan ge olika koloniutseende och utbyte. Ett systematiskt specifikt utbyte ("bias") beroende på odlingsmedium bör inte få påverka utfallet för deltagare med annat medium.

8.6.6. Standardavvikelse till beräkning av jämförelsetal för uppföljning (s)

Variationen kring deltagarnas medelvärde för en analys skattas utifrån den verkliga variationen av deras resultat vid analysen och utgörs av standardavvikelsen efter det att extremvärden och falska svar tagits bort. Denna standardavvikelse används även som nämnare vid beräkning av z-värden (se 8.6.9). Den anges även som spridningsmått för livsmedelsanalyserna eftersom den är ett relativt mått (oberoende av koncentrationen) när logaritmer används.

Ett alternativ till denna standardavvikelse, som kan variera från provomgång till provomgång för en parameter, vore att ha en fixerad standardavvikelse för varje parameter. Denna skulle t ex kunna bestämmas som genomsnitt från lämpliga tidigare provomgångar. Med ett sådant – ofta rekommenderat – förfaringssätt anses z-värden bli direkt jämförbara från en provomgång till en annan. För att detta ska vara relevant förutsätts att testblandningarna för olika provomgångar har samma svårighetsgrad. En svår blandning med stor spridning bland resultaten leder annars till fler "fällande" z-värden. Svårighetsgraden har dock orsakats av tillverkaren och kan ses som något ett enskilt laboratorium in ta ska drabbas av.

Svårighetsgraden för ett korrekt resultat - även för samma analysparameter - varierar mellan testmaterial, både inom och mellan provomgångar. Livsmedelsverket har därför valt att använda en standardavvikelse som varierar med testmaterialets svårighetsgrad, alltså den faktiska standardavvikelsen för det aktuella materialet. Detta leder i princip till lika många "fällande" z-värden för svaren inom accepterade gränser vid varje provomgång. Därtill kommer olika många "fällande" z-värden för aktuella extremvärden (resultat utanför accepterade gränser som inte ingår vid beräkning av medelvärde eller standardavvikelse).

Detta förfaringssätt ger mer rättvisande z-värden för prestationen även över tiden, eftersom kompensering för svårighetsgraden görs. Sättet anses därför vara det mest lämpliga för jämförelse av de mikrobiologiska analyserna inom verksamhetens ram.

8.6.7. Variationskoefficient (CV)

Variationskoefficienten (CV) är ett relativt mått och utgörs av standardavvikelsen (8.6.6) i procent av medelvärdet. Den anges som spridningsmått för dricksvattenanalyserna.

8.6.8. Mätosäkerhet för åsatt värde

Mätosäkerheten för ett åsatt värde beräknas som standardavvikelsen från provomgången dividerad med kvadratroten ur antalet korrekta svar ("standard error").

Ju fler rapporterade svar som ingår i beräkningarna desto mindre inflytande har mätosäkerheten i förhållande till standardavvikelsen till beräkning av jämförelsetalet för uppföljning (se nedan). Redan med 10 resultat utgör mätosäkerheten endast ca 30 % av den standardavvikelsen och sjunker till mindre än 10 % med mer än 100 resultat.

Noggrannhet bestående av riktighet (systematisk skillnad) och precision (spridning) anges inte för resultaten. Olika utbyte beroende på olika metoder och/eller substrat är en problematisk del av mikrobiologiska analyser. Detta innebär att systematiska skillnader från ett sant värde inte kan kvantifieras eller behöver vara felaktiga. Noggrannheten redovisas därför här endast som precision i form av mätosäkerhet.

8.6.9. Jämförelsetal för uppföljning (z-värden)

Alla svar (också extremvärdena) utom de falska resultaten transformeras till standardvärden (z-värden) enligt formeln:

$$z = \frac{x - m}{s}$$

x = det enskilda laboratoriets svar (i transformerad form)

m = deltagande laboratoriers medelvärde (åsatta värdet)

s = deltagarnas gemensamma standardavvikelse runt m

Efter denna transformering har standardvärdena, förutom de från extremvärdena, ett medelvärde lika med noll (0) och en standardavvikelse lika med ett (1), och utgör en fördelning som kan jämföras med en standardiserad normalfördelning. Z-värden gör det möjligt att jämföra de olika analyserna med varandra eftersom dessa värden är oberoende av koncentrationen och anges i en och samma skala.

Efter transformeringen kommer ett enskilt z-värde, förutom de från extremvärdena, att i 95 % av fallen ligga inom intervallet [-2; +2]. Sannolikheten att hamna utanför dessa gränser är mindre än 5 %. Sannolikheten att hamna utanför intervallet [-3; +3] är mindre än 0,3 %.

Z-värdena som beräknas för extremvärdena kan betraktas som artificiella, inte helt sanna, z-värden, eftersom extremvärdena inte ingår vid beräkningen av det gemensamma medelvärdet och den gemensamma standardavvikelsen för en analys. Dessa "artificiella" z-värdena finns utöver de verkliga z-värdena och hamnar i regel utanför intervallet [-3; +3].

Z-värden utgör grunden för boxdiagrammen (se 8.7.2.3.).

8.6.10. Tolkning av z-värden

Vid uppföljning av de egna analysresultaten kan följande riktlinjer användas:

- $|z| \leq 2$ innebär att (det ursprungliga) resultatet är acceptabelt
- $2 < |z| \leq 3$ innebär att en varning gäller för att resultatet kan vara avvikande, och skulle kunna motivera en åtgärd vid uppföljning
- $|z| > 3$ innebär att resultatet betraktas som avvikande och bör föranleda en åtgärd vid uppföljning.

8.7. Rapportering av resultat

8.7.1. Preliminär rapport på webbplatsen

En preliminär rapport kommer ut i två delar, ca 1 vecka efter sista svarsdag på en laboratoriespecifik resultatflik på den del av webbplatsen som är till för deltagare (se kapitel 2.2.3). Den första delen utgörs av en återrapportering av laboratoriets svar tillsammans med preliminära beräknade resultat för alla deltagare i form av medianvärde och preliminärt relativt spridningsmått. Där visas också under ca två veckor preliminära acceptansgränser. Efter denna tid, när fortsatt utvärdering av resultaten tar vid, visas endast de egna resultaten och medianvärdena tills de slutliga resultaten offentliggörs på sidan i samband med att slutrapporten är klar.

Den andra delen utgörs av ett pdf-dokument med kommentarer på nämnda resultatsida. Dokumentet ska läsas ihop med resultaten och utgörs av en kortfattad beskrivning av provblandningarnas innehåll och om något speciellt kunde noteras angående de olika analysparametrarna. En kortfattad beskrivning av hur utfallet bör tolkas gentemot de preliminära acceptansgränserna ges också. För dricks-vattenprogrammet innehåller rapporten också ett fotoannex som visar utfall och utseende på de olika selektiva medierna.

8.7.2. Slutrapport

8.7.2.1. Allmänt

En slutrapport kommer ut inom 2 månader efter sista dag för analyssvar. Rapporten innehåller en diskussion av utfallet för de olika provblandningarna gentemot förväntningar och belyser då utfall och prestation generellt. Avvikande resultat uppmärksammas då särskilt liksom om en analysparameter är omöjlig att utvärdera i en provblandning av någon orsak. Resultaten för varje relevant parameter åskådliggörs i histogram (se 8.7.2.2). Dessutom finns tabellsammanställningar av hur resultatutfallet blev med olika metoder. Eventuella metodskillnader diskuteras i anslutning till dessa. I ett appendix finns samtliga deltagares (med kodad beteckning) samtliga resultat med markeringar av extremvärden och falska svar. Denna tabell avslutas med summastatistik av utfallet. I ett annat appendix

finns de beräknade z-värden från laboratoriernas resultat att använda t.ex. till egen uppföljning. Dessa z-värden finns också grafiskt summerande i ett box-diagram per laboratorium för att ge en helhetsbedömning av ett dess prestation (se 8.7.2.3). Rapporten avslutas med ett appendix med foton av utfallet på de olika selektiva medierna.

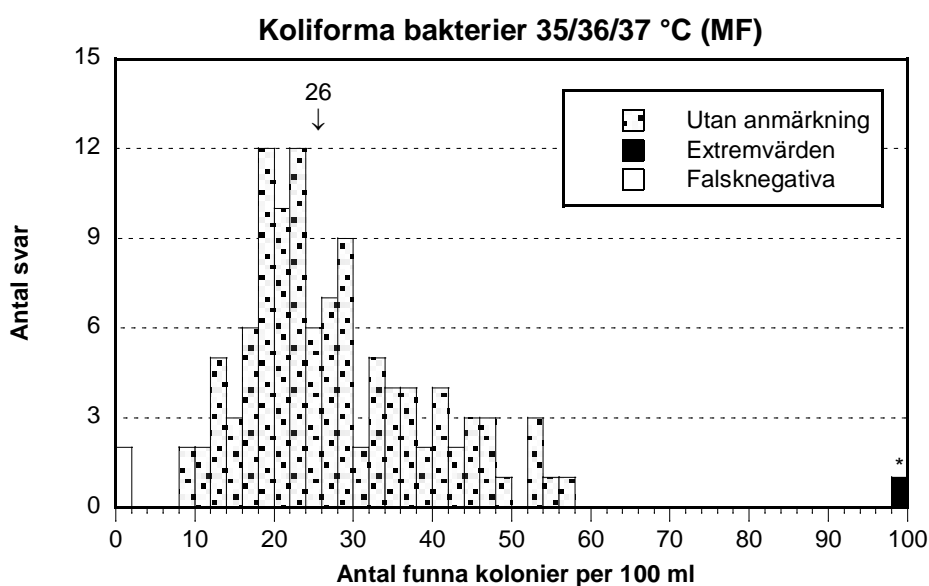
Rapporten finns att hämta för deltagarna som pdf-dokument på programmets webbplats för deltagare (se 2.2.3). Den finns dessutom som öppen publikation på Livsmedelsverkets allmänna webbplats under endera eller flera av rubrikerna Rapporter, Kvalitetssäkring laboratorier och Livsmedelsverkets rapportserie.

8.7.2.2. Frekvensdiagram

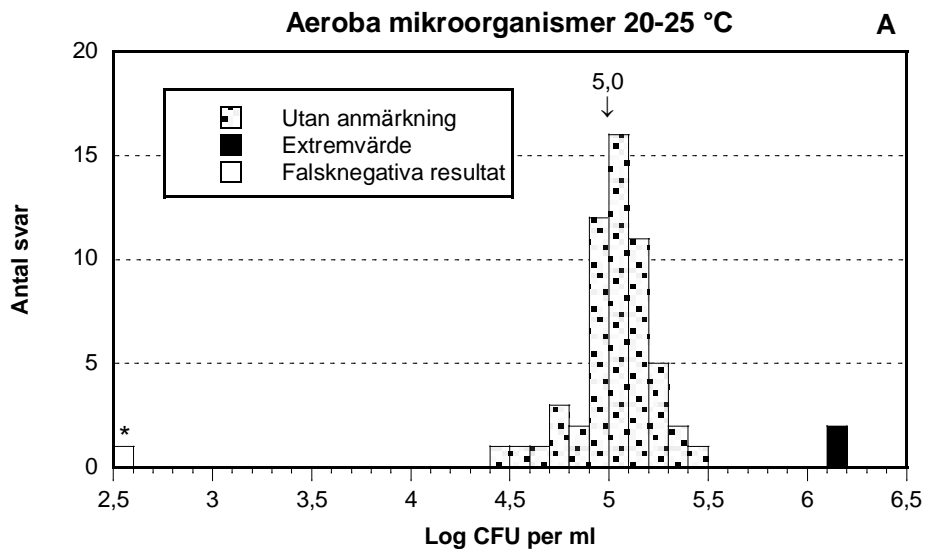
Ett frekvensdiagram (histogram) görs för varje analys och åskådliggör fördelningen av analysvaren. Frekvensdiagrammen för dricksvatten bygger på ursprungliga koloniantal och frekvensdiagrammen för livsmedel bygger på tiologaritmerade värden. Exempel ges i figur 1 och 2. En asterisk anges då värdena egentligen ligger till vänster eller höger om intervallet som gäller för axeln med koloniantal.

8.7.2.3. Boxdiagram

Varje boxdiagram är baserat på ett enskilt laboratoriums z-värden och synliggör hur dessa standardiserade resultat som grupp och som medianvärde ligger i förhållande till det gemensamma, "sanna", medelvärdet noll. Laboratoriets medianvärde anges med ett heldraget horisontellt streck i boxen. Boxen utgörs av de 50 % mittersta värdena. De resterande övre respektive undre 25 % av värdena visas som vertikala streck tillsammans med eventuella, i boxdiagrammet,



Figur 1 Exempel på frekvensdiagram för en dricksvattenanalys

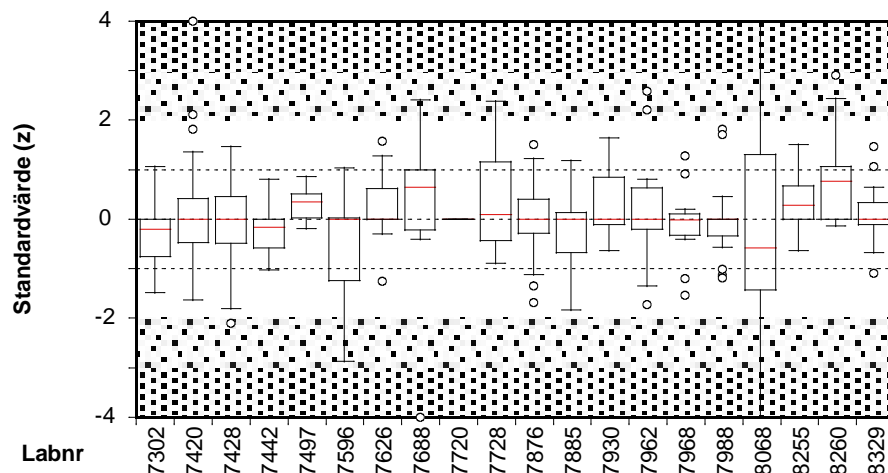


Figur 2 Exempel på frekvensdiagram för en livsmedelsanalys

avvikande resultat. Dessa avvikande resultat markeras med en ring och utgörs av värden:

$$\begin{aligned}
 &< [(\text{Boxens minsta värde}) - 1,5 (\text{Boxens största värde} - \text{Boxens minsta värde})] \text{ eller} \\
 &> [(\text{Boxens största värde}) + 1,5 (\text{Boxens största värde} - \text{Boxens minsta värde})]
 \end{aligned}$$

Z-värden som är högre än +4 eller lägre än -4 sätts i diagrammen till värdena +4 respektive -4. Ett exempel på boxdiagram ges i figur 3.



Figur 3 Exempel på boxdiagram

8.8. Bedömning av ett enskilt laboratoriums prestation

Ett enskilt laboratoriums prestation bedöms inte direkt i slutrapporten. Däremot ges underlag för bedömning. De kriterier som bedömningen bör göras ifrån är främst antalet falsknegativa och falskpositiva resultat tillsammans med antalet extremvärden (se 8.4 och 8.5). Antalen av dessa anges per laboratorium i tabellform under respektive laboratoriums box-diagram (8.7.2.3). Dessa resultat tydliggörs också med fetstil i ett färgat (skuggat) fält i appendix med alla laboratoriers resultat i slutrapporten, så att resultat lätt kan kopplas till laboratorium. I samma appendix markeras berörda provnummer genom överstrykning om det kan anses uppenbart utifrån många analysresultat att prov blandats ihop.

Inga summerande mått för prestationen anges och laboratorierna rangordnas inte heller utifrån prestation. Det är således upp till varje deltagande laboratorium att vid sin uppföljning själva tolka utfallet. Som hjälp vid denna finns samtliga laboratoriets z-värden (se 8.6.9) i ett appendix och dessutom grafiskt åskådliggjorda i ett box-diagram (se 8.7.2.3). Extremvärden återspeglas i numeriskt höga z-värden (+ eller -), medan de falska svaren inte ger några z-värden alls. Z-värden är främst till för att kunna jämföra olika analysparametrar och för att kunna jämföra en parameters resultat mellan olika provtillfällen.

Box-diagrammet tillsammans med antalet falska svar och extremvärden i tabellen under diagrammet är det enklaste sättet för ett ackrediteringsorgan eller annan intressent att få en överblick över ett laboratoriums prestation vid ett provtillfälle.

9. Konfidentiellitet och användaridentitet

9.1. Konfidentiellt laboratorienummer

Varje laboratorium får ett unikt laboratorienummer vid registrering. Numret gäller för det eller de program laboratoriet registrerats för. Det erhållna numret är konfidentiellt. Det innebär att det från organisatörens sida görs känt enbart för laboratoriet det tillhör. Det utlämnas inte av organisatören till någon tredje part utan laboratoriets medgivande.

9.2. Konfidentiellt lösenord

Förutom laboratorienummer tilldelas laboratoriet även ett lösenord vid registreringen. Lösenordet är konfidentiellt liksom laboratorienumret.

9.3. Användning av laboratorienummer och lösenord

Laboratoriet bör uppge sitt laboratorienummer vid kommunikation med organisatören när det handlar om programspecifika frågor. Detta nummer använder

organisatören även för att laboratoriet ska vara identifierat på webbplatsen när det är inloggat, samt i sammanställningar och slutrapporter. Skrivelser som kommer till organisatören från deltagare som gäller deras deltagande är sekretessbelagda.

Lösenordet ska användas tillsammans med laboratorienumret vid inloggning på den del av webbplatsen som är till enbart för deltagare (se 2.2.3).

Laboratorienummer och lösenord anges på en etikett på ett dokument som bifogas provmaterialet vid varje provtillfälle tillsammans med instruktionerna.

9.4. Ändring av laboratorienummer och lösenord

Laboratorienumren kan komma att bytas generellt av organisatören för att minimera risken av oönskad användning efter att t.ex. personal har bytt från en arbetsgivare till en annan. Lösenordet och ett enskilt laboratorienummer kan även bytas efter skriftligt önskemål från en deltagare eller om någondera parten använt ett nummer så att konfidentielliteten brutits.

10. Arkivering

Alla resultat som kommer in vid programmens provtillfällen sparas i databasen Absint under den tid laboratoriet är registrerad deltagare. Dokument vid korrespondens eller som genererats av resultaten sparas i minst 4 år.

11. Klagomål och annan kundkontakt

11.1. Policy

Klagomål och avvikelser på arbete utfört vid Mikrobiologiska enheten ska dokumenteras och utredas. Åtgärder ska, om det är befogat, vidtas för att förhindra ett upprepande. Hur detta ska göras finns angivet i särskild instruktion (18) utarbetad av Undersökningsavdelningen.

11.2. Definition

Klagomål/avvikelse *föreligger* om anmärkningar görs där arbete som utförts vid Mikrobiologienheten i något avseende har brutit så att avtal och rutiner inte följts. En kunds anmärkning mot hur dess resultat eller andra sakförhållanden behandlats i ett avslutat provtillfälle ska behandlas som klagomål.

Under ett pågående provtillfälle gällande kompetensprovningarna anses däremot klagomål *inte föreligga* vid specifika anmärkningar på försändelser, resultat och metodsvar m.m. under bearbetning.

11.3. Hantering av anmärkningar som inte är klagomål

En anmärkning som inte kan definieras som klagomål hanteras enligt följande:

- Om anmärkningen gäller en felaktighet angående analysresultat eller metoduppgift som organisatören orsakat inom ett provtillfälle, behandlas den inom ramen för accepterade justeringar (se 6.2.2.) inom aktuellt provtillfälle.
- Om anmärkningen gäller en felaktighet angående analysresultat eller metoduppgift som laboratoriet själv orsakat inom ett provtillfälle, vidtas inga åtgärder utanför den ram som gäller för accepterade justeringar (se 6.2.2.).
- Om anmärkningen är synpunkter på något som inte utlovats eller kunnat förväntas, betraktas den som ett diskussionsinlägg. Om anmärkningen kan anses allmängiltig sparas den bland frågor som kan tas upp vid kommande samrådsgruppsmöten och/eller användarmöten.
- Om anmärkningen kan betraktas som en specifik synpunkt som bör besvaras i detalj, eller är en fråga av principiellt intresse, diarieförs den och besvaras inom ramen för ärendehantering.
- Om anmärkningen kan betraktas som en specifik synpunkt av litet principiellt intresse tas den emot och läggs till handlingarna utan vidare åtgärder.

11.4. Synpunkter från deltagare

Deltagare får gärna ta kontakt med oss som organisatör och diskutera sakförhållanden som har med kompetensprovningarna att göra. Däremot kan vi inte vara konsulter eller ägna oss åt specifika utredningar som har med ett enskilt laboratorium att göra.

För frågor som gäller vilka metoder som bör eller får användas, och hur de ska användas, hänvisas till berörda myndigheter i det land laboratoriet kommer ifrån.

12. Villkor och förpliktelser

Villkor för att delta och förpliktelser för både deltagande laboratorier och organisatör anges här och på webbplatsen www.slv.se/absint.

12.1. Allmänna villkor för deltagande

12.1.1. Vilka kan delta?

- Laboratorier som utför analyser inom programmets ramar och använder relevanta metoder.
- Laboratorier som kan hantera mikroorganismer inom riskklass 1 och 2 enligt Arbetsmiljöverkets klassificering (6) eller annan nationell klassificering som utgår från EG-direktivet 2000/54/EG (20).

- Laboratorier dit provmaterial kommer fram i tid med ordinarie postgång och som kan leverera analysresultat och betala fakturor inom angivna tidsramar.
- Laboratorier som har tillgång till Internet och är beredda att använda verksamhetens webbplats.

12.1.2. Vilka metoder får användas?

12.1.2.1. Livsmedel

- Metoder avsedda för den analys som kontrolleras. Metoden bör användas rutinmässigt vid laboratoriet.

12.1.2.2. Dricksvatten

- Metoder avsedda för den analys som kontrolleras, i första hand de ISO och EN-metoder som används inom Europeiska gemenskapen, i andra hand andra metoder med motsvarande analysprinciper (membranfiltrering, ingjutning, enzymatiska "snabbmetoder" etc.). Metoden bör användas rutinmässigt vid laboratoriet.
- Resultat från andra enskilda metoder garanteras inte bli utvärderade om de kan misstänkas ge systematiskt avvikande resultat. Laboratoriet får då själv jämföra sina resultat med övrigas.

12.1.3. Avgift

- Avgift faktureras för de provtillfällen som laboratoriet har varit anmält till.
- Avgift ska betalas mot faktura för det eller de provtillfällen som anges på fakturan (normalt 30 dagar efter utskrift).

12.2. Deltagande laboratoriers övriga förpliktelser

- Bevakning av hemsidan och att aktivt ta ställning till sitt deltagande för varje provtillfälle.
- Analys av provmaterial enligt medföljande instruktioner inom angiven tidsram.
- Rapportering av resultat enligt instruktion.
- Granska kontrolluppgifter och rapportera eventuella felaktigheter inom angiven tidsram.
- Uppföljning av sina prestationer – om det krävs av annan part (t.ex. ackrediteringsorgan).

12.3. Livsmedelsverkets förpliktelser

- Hålla laboratoriets laboratorienummer och lösenord konfidentiella.
- Hålla information på webbplatsen aktuell angående provtillfällen, analyser, tider och priser.
- Leverans av relevanta och homogena testmaterial på säkert sätt.

- Tillhandahållande av laboratoriernas svar och de preliminära beräknade resultaten för kontroll på webbplatsen inom angiven tidsram.
- Avisering av att kontrolluppgifter finns genom påminnelse med e-post.
- Slutrapport som pdf-fil på webbplatsen inom angiven tidsram.
- Leverans av extra provmaterial för uppföljning.
- Upprätthålla sin ackreditering som organisatör.

12.4. Begränsat ansvar

- Livsmedelsverket frånskriver sig ansvar för olägenheter som kan drabba ett laboratorium gentemot tredje part utifrån dess deltagande i något av de av verket organiserade mikrobiologiska programmen för kompetensprovning.

13. Kostnad för deltagande

Aktuella priser för respektive program anges på webbplatsen www.slv.se/absint. Vi förbehåller oss rätten att ändra priserna om detta blir nödvändigt för att fortsatt kunna bedriva verksamheten utifrån ställda krav.

Avgiften för deltagande betalas i nuläget mot faktura efter deltagande vid ett eller flera provtillfällen under ett halvår. Arbete med att möjliggöra kreditkortsbetalning pågår. Priserna anges i svenska kronor (SEK) men betalning kan göras även i valutorna US\$ och Euro (€).

14. Detta protokoll

Den senaste versionen av detta verksamhetsprotokoll finns som pdf-dokument på webbplatsen www.slv.se/absint. Protokollet kommer att revideras vid behov och deltagande laboratorier kommer att uppmärksammas på att ny utgåva finns som de kan ladda ner eller skriva ut.

15. Referenser

1. EN ISO/IEC 17025:2005. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
2. ISO /IEC Guide 43-1, 1997. Proficiency testing by interlaboratory comparison. Part 1: Development and operation of laboratory proficiency testing schemes.
3. ILAC-G13:2007. Guidelines for the requirements for the competence of providers of Proficiency Testing Schemes.

4. Peterz, M. & Steneryd, A.C. 1993. Freeze-dried mixed cultures as reference samples in quantitative and qualitative microbiological examinations of food. *J. Appl. Bacteriol.* 74:143-148.
5. International Standard, ISO 8199:2005. Water quality – General guidance on the enumeration of micro-organisms by culture. 2nd ed., 2005-06-15.
6. Arbetsmiljöverkets författningssamling, 2005. Mikrobiologiska arbetsmiljörisker – smitta, toxinpåverkan, överkänslighet. AFS 2005:1.
7. Kallings, I. & Ljungdahl Ståhle, E. Smittskyddsinstitutet, 2002. Utlåtande om risker beträffande referens- och interkalibreringsprov från Livsmedelsverket. Smittskyddsinstitutets Dnr. 527/2002-18. Livsmedelsverkets Dnr. 2509/02.
8. Frändberg, E. & Anér, G. Livsmedelsverket, 2002. Bedömning av mikrobiologiskt kontrollmaterial. Livsmedelsverkets Dnr. 2509/02.
9. Thompson, M. & Wood, R. 1993. The international harmonized protocol for the proficiency testing of (chemical) analytical laboratories. *Pure & Appl. Chem.*, Vol. 65, No. 9 2123-2144. (Also published 1993 in: *J. AOAC International* 76, 926-940)
10. Central Science Laboratory, 1997. Food analysis Performance Assessment Scheme (FAPAS[®]) – Organisation and analysis of data. FAPAS Secretariat, CSL – Food Science Laboratory, Norwich Research Park Colney, NORFOLK NR4 /UQ, United Kingdom. 5th edition, April 1997.
11. Thompson, M., Ellison, S. & Wood, R. 2006. The international harmonized protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories. *Pure & Appl. Chem.*, Vol. 78, 145-196.
12. Food analysis Performance Assessment Scheme (FAPAS[®]), 2002. – Protocol for the Organisation and Analysis of Data. Central Science Laboratory, Sand Hutton, York, YO41 1LZ / United Kingdom. 6th edition, September 2002.
13. Peterz, M. 1992. Interkalibrering: extern utvärdering av analyskompetensen på mikrobiologiska livsmedelslaboratorier. SLV rapport nr 21, 1992, 15 sid.
14. BCR Information, Chemical analysis. 1993. Statistical analysis of certification trials for microbiological reference material. Commission of the European Communities, EUR 15008 EN.
15. Elliott, J. M. 1977. Some methods for statistical analysis of samples of benthic invertebrates. Freshwater Biological Association, Scientific publication no. 25, 2nd edition, 4th impression 1993.
16. Grubbs, F. & Beck, G. 1972. Extension of sample sizes and percentage points for significance tests of outlying observations. *Technometrics* 14:847-854.
17. Kelly, P. 1990. Outlier detection in collaborative studies. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 73:58.64.
18. Livsmedelsverkets styrande dokument (LSDok), UN-avd. Hantering av klagomål och avvikelser. Senaste versionen på Livsmedelsverkets Intranät.

19. SS-EN ISO/IEC 17043:2010. Allmänna krav för kompetensprövning av laboratorium (ISO/IEC 17043:2010, IDT) *Conformity assessment – General requirements for proficiency testing (ISO/IEC 17043:2010, IDT)*.
20. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work. Official Journal L262, 17/10/2000, p 0021-0045.

Kompetensprovningensprogram



**LIVSMEDELS
VERKET**

NATIONAL FOOD
ADMINISTRATION