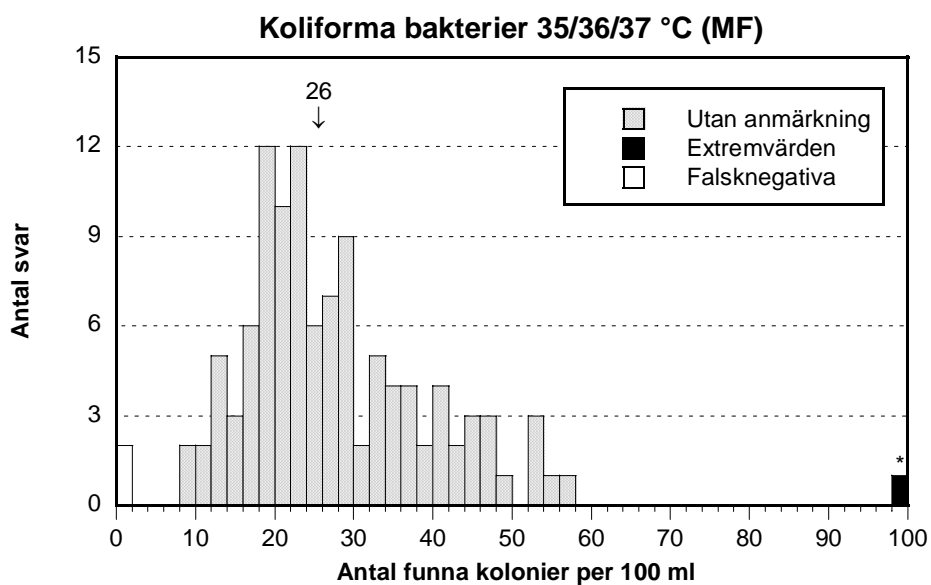


## VERKSAMHETSPROTOKOLL

### Mikrobiologi

*Dricksvatten*  
&  
*Livsmedel*



Beslut om ackreditering av verksamheten togs 2004-12-10



Första utgåvan  
2007-06-25

---

<b>Kvalifikationsprovning</b>	<i>E-postadress</i>	<i>Telefon (växel)</i>
<b>Mikrobiologi</b>	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. Verksamhetens utformning.....	2
2.2. Information om programmen på Internet (www.slv.se/absint).....	2
2.2.1. Den allmänna delen.....	2
2.2.2. Deltagarsidor som kräver inloggning.....	2
2.3. Ansvarsområden.....	3
2.4. Samrådsgrupp.....	3
2.4.1. Uppgifter.....	3
2.4.2. Medlemmar.....	3
2.5. Ackreditering.....	3
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.....	4
4.1. Generellt.....	4
4.1.1. Typ av material.....	4
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. Kvalitetskontroller.....	6
4.2.3.1. Provmängd.....	6
4.2.3.2. Haltkontroll.....	7
4.2.3.3. Homogenitet.....	7
4.2.3.4. Vakuumtest.....	7
4.2.3.5. Stabilitet.....	7
4.3. Förvaring och användning.....	8
4.3.1. Hur ska materialet förvaras.....	8
4.3.2. Vad bör materialet inte användas till.....	8
4.4. Farlighet.....	8
4.4.1. Smittsamhet.....	8
4.4.2. Miljöfarlighet.....	8
4.5. Inför ett kvalifikationsprovningstillfälle.....	8
4.5.1. Randomisering av provvialer till laboratorier.....	8
4.5.1.1. Numrering av vialetiketter.....	8
4.5.1.2. Urval av provvialer till ett laboratorium.....	9
4.5.2. Paketering av provvialer.....	9
4.5.3. Transport av provvialer.....	9
4.6. Hantering av testmaterialet.....	9
4.6.1. Förvaring.....	9

4.6.2. Provberedning.....	9
4.6.3. Destruktion av provmaterial.....	10
4.6.3.1. Öppnade vialer med provmaterial.....	10
4.6.3.2. Öppnade och använda vialer.....	10
4.6.3.3. Rester av berett prov.....	10
5. Instruktioner vid utskick av provmaterial.....	10
5.1. Hålltider.....	10
5.2. Analyser.....	10
5.3. Övrigt i instruktionerna.....	10
6. Deltagaraktiviteter vid ett provtillfälle.....	11
6.1. Instruktioner och analyser.....	11
6.2. Rapportering av analysresultat.....	11
6.3. Rapportering av metoduppgifter.....	11
6.4. Ändring av inrapporterat svar.....	12
6.4.1. Deltagande laboratoriers ansvar.....	12
6.4.2. Accepterade justeringar.....	12
7. Uppföljning av analyser.....	13
8. Statistik.....	13
8.1. Allmänt.....	13
8.2. Haltbestämning och homogenitet.....	14
8.2.1. Livsmedelsprogrammet.....	14
8.2.1.1. Initial haltkontroll.....	14
8.2.1.2. Slutlig haltbestämning och homogenitetstest, kvantitativ analys.....	14
8.2.1.3. Slutlig haltbestämning och homogenitetstest, kvalitativ analys.....	15
8.2.1.4. Kriterier för homogenitet.....	15
8.2.2. Dricksvattenprogrammet.....	15
8.2.2.1. Initial haltkontroll.....	15
8.2.2.2. Slutlig haltbestämning och homogenitetstest.....	15
8.2.2.3. ANOVA.....	16
8.2.2.4. ”Index of dispersion” – kontroll av slumpmässighet.....	16
8.2.2.5. Kriterier för homogenitet.....	16
8.3. Extremvärden.....	16
8.4. Falskpositiva och falsknegativa resultat.....	17
8.4.1. Falskpositiva – definition.....	17
8.4.2. Falsknegativa – definition.....	17
8.5. Centralmått, spridningsmått och z-värden för en analys.....	17
8.5.1. Medianvärde.....	17
8.5.2. Medelvärde / Normvärde.....	18
8.5.3. Standardavvikelse.....	18
8.5.4. Variationskoefficient (CV).....	18
8.5.5. Standardvärden (z-värden).....	18
8.5.6. Tolkning av z-värden.....	19
8.6. Frekvensdiagram.....	19
8.7. Boxdiagram.....	20
9. Konfidentiellitet och användaridentitet.....	21

9.1. Konfidentiellt laboratorienummer.....	21
9.2. Konfidentiellt lösenord .....	21
9.3. Användning av laboratorienummer och lösenord.....	21
9.4. Ändring av laboratorienummer och lösenord .....	21
10. Arkivering .....	21
11. Klagomål och annan kundkontakt.....	22
11.1. Policy .....	22
11.2. Definition .....	22
11.3. Hantering av anmärkningar som inte är klagomål .....	22
11.4. Synpunkter från deltagare .....	22
12. Villkor och förpliktelser.....	23
12.1. Allmänna villkor för deltagande .....	23
12.1.1. Vilka kan delta? .....	23
12.1.2. Vilka metoder får användas?.....	23
12.1.2.1. Livsmedel.....	23
12.1.2.2. Dricksvatten .....	23
12.1.3. Avgift .....	23
12.2. Deltagande laboratoriers övriga förpliktelser.....	24
12.3. Livsmedelsverkets förpliktelser .....	24
12.4. Begränsat ansvar .....	24
13. Kostnad för deltagande .....	24
14. Detta protokoll .....	25
15. Referenser .....	25



## 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. För sådana jämförande provningar används andra begrepp på olika språk.

Dessa provningar utförs 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 sådana provningar, kallade kvalifikationsprovningar, kompetensprovningar eller interkalibreringar, inom bl. a. områdena livsmedelsmikrobiologi och dricksvattenmikrobiologi.

Syftet med detta protokoll är att ge deltagare, andra laboratorier och övriga intressenter en beskrivning av hur dessa mikrobiologiska kvalifikationsprovningar 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

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

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

*Mikrobiologiska enheten* (F/MI) inom avdelningen för Forskning och Utveckling organiserar kvalifikationsprovningarna gällande mikrobiologi.

## **2.1. Verksamhetens utformning**

Kvalifikationsprovningarna 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](http://www.slv.se/absint))**

Programmen beskrivs allmänt på webbplatsen [www.slv.se/absint](http://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.

### **2.2.1. 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 att kunna delta
- aktuella priser
- adresser för kontakt med Livsmedelsverket som organisatör, inklusive ett webbformulär för att anmäla sig som deltagare till ett program
- inloggning till sidorna som endast är tillgängliga för deltagare.

### **2.2.2. 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 vår 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 avbokning som deltagare vid kommande provtillfällen
- en sida med rapporter och deltagarinformation (bl. a. 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 och rapportering. För varje program finns också en *person som gör laboratoriearbetet* och har det specifika ansvaret för provframställning och kvalitetskontroller, liksom packning vid utskick. Som stöd till verksamheten finns dessutom en *administratör* som bl. a. sköter adressregister, kontakter angående fakturering, samt kontakter med laboratorierna angående t. ex. deltagande.

Respektive programansvarig är ansvarig för den statistiska bearbetningen.

### **2.4. Samrådsgrupp**

För varje program finns en samrådsgrupp bestående av representanter från länder med flest deltagande laboratorier, i nuläget de nordiska länderna. Samrådsgrupperna möts normalt en dag årligen i Uppsala. De möts samtidigt varvid halva dagen ägnas åt för programmen gemensamma angelägenheter. Den andra halvan används för programspecifika frågor.

#### **2.4.1. Uppgifter**

Medlemmarna ska företräda sina länder och i mindre mån de organisationer de representerar. Deras roll är huvudsakligen rådgivande men med inflytande över ingående analysparametrar, frekvens, kostnader, accepterade metoder samt rapporternas innehåll. Större förändringar inom en verksamhet bör sanktioneras av motsvarande samrådsgrupp.

#### **2.4.2. Medlemmar**

Aktuella förteckningar över gruppernas medlemmar finns som bilagor till ett årligt brev till deltagarna. Brevet läggs ut som information under fliken Info & Rapporter på den del av webbplatsen som kräver inloggning.

### **2.5. Ackreditering**

Mikrobiologiska enheten är ackrediterad för att anordna mikrobiologiska kvalifikationsprovningar sedan december 2004. Ackrediteringen utfördes av Swedac och skedde mot dokumenten ISO/IEC Guide 43-1, 1997 (2) och relevanta delar av EN ISO/IEC 17025 (1; aktuell utgåva). I praktiken kan ackrediteringen anses lyda mot guiden ILAC G:13, (3; aktuell utgåva). Det övergripande ansvaret att hålla kvalitén och kvalitetssystemet på en hög nivå ligger på enhetens chef genom den därtill utsedde kvalitetssamordnaren.

## **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.

Vilka parametrarna är framgår på sidan Allmän information, Dricksvattenprogrammet på webbplatsen [www.slv.se/absint](http://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.

Vilka parametrarna är framgår på sidan Allmän information, Livsmedelsprogrammet på webbplatsen [www.slv.se/absint](http://www.slv.se/absint).

### ***3.3. Tidsplan och analysparametrar för ett provtillfälle***

För tidsplaner och analysparametrar för aktuella provtillfällen hänvisar vi till sidan Provtillfällen på webbplatsen [www.slv.se/absint](http://www.slv.se/absint).

Som organisatör kommer vi att anstränga 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. Generellt***

#### **4.1.1. Typ av material**

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

Livsmedelsverket har valt att använda tillverkade prov för de mikrobiologiska kvalifikationsprovningarna. De utgörs av simulerade livsmedels- eller dricks-vattenprov med blandningar av organismer, där det finns ett visst syfte med varje provmaterial. 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 provmaterial produceras som innehåller protozoer eller virus.

De färdiga provmaterialen består av frystorkad serumbuljong med olika blandningar av mikroorganismer. Varje delprov består av 0,5 ml frystorkat innehåll 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, för livsmedel, homogenat som ska testas.

Frystorkat artificiellt provmaterial 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 testas vid samma tillfälle.
- + Provmaterialet 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 provmaterial kan användas till ”spikning” av naturliga prov.

#### *4.1.1.2. Nackdelar*

- Frystorkningen kräver en bra frystork där processen går att styra någorlunda.
- Organismerna kräver en skyddande substans, ”cryoprotector”, som gör att de överlever frystorkningen bra.
- Materialet måste lösas upp i vätska, vilket kräver en viss arbetsinsats där man kan göra fel.
- Upplösning av materialet kan leda till viss skumbildning. Detta gör att provet troligen går att skilja från verkliga prov, vilket innebär att analytikern vet att det är ett kontrollprov.
- För livsmedelsanalyser saknas en naturlig matris med beredning av provmaterial, endast analys av prov motsvarande ett färdigberett homogenat ingår.

## **4.2. Produktion och kontroller**

### **4.2.1. Sammansättning**

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

ISB (Inositol Serum Broth) används som ”cryoprotector” 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  $\text{MgSO}_4$  (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) Broth/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 en provblandning erhålls.

Provblandningen hålls under omrörning i isbad medan portioner (0,5 ml) av blandningen överförs till sterila glasvialer på speciella brickor. Vialerna försluts halvvägs med sterila gummiproppar innan de 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 luckan kan öppnas och vialerna tas ut. Vialerna kan som alternativ till vakuum fyllas med kvävgas innan förslutning.

Det färdiga provmaterialet placeras i kyla (kylskåp eller frys) och testas på sitt innehåll av de olika organismerna. Vialer med önskvärt innehåll vakuumtestas och förseglas med aluminiumkapsyler. Provmaterialet förvaras därefter i frys ( $-24$  alternativt  $-65$  till  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) tills de skickas. Etikettering sker i samband med provutskick.

### **4.2.3. Kvalitetskontroller**

#### *4.2.3.1. Provmängd*

Under dispenseringen av en blandning till vialer görs dispensering även till ett antal förvägda vialer. Initialt vägs dispenserad volym från 5 vialer för att se att

dispenseringen 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 (målvolymer 0,5 ml). Vägningarna görs parallellt med dispenseringen för att kunna åtgärda eller avbryta denna om skillnader i volymer blir för stora.

#### *4.2.3.2. Haltkontroll*

Haltkontroll med hjälp av en eller flera vialer av provmaterialet 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).

#### *4.2.3.3. Homogenitet*

Innan provmaterialet 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 rubriken Statistik, Homogenitet).

#### *4.2.3.4. Vakuumtest*

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

#### *4.2.3.5. 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  $-70\text{ °C}$ , 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 svampsporor i regel är opåverkade.

Vid förvaring vid normal frystemperatur ( $-18$  till  $-24\text{ °C}$ ) 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. Förvaring och användning***

#### **4.3.1. Hur ska materialet förvaras**

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

#### **4.3.2. Vad bör materialet inte användas till**

Färdigberett prov från det frystorkade materialet kan inte garanteras stabilitet längre än någon timme. Färdigberett prov bör därför inte, inte ens efter kylning, användas under en längre tidsperiod än det. Bakteriesporer kan dock vara hållbara något längre tid.

### ***4.4. Farlighet***

#### **4.4.1. 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 provmaterialet skulle kunna läcka ut under transport. Dessutom är risken för sjukdom efter intag av en vials hela innehåll ytterst liten. Livsmedelsverket har utifrån utlåtandet gjort en bedömning angående hantering och transport (8; se vidare under punkt 4.5.3.).

#### **4.4.2. 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 provmateriel.

### ***4.5. Inför ett kvalifikationsprovningstillfälle***

#### **4.5.1. Randomisering av provvialer till laboratorier**

##### *4.5.1.1. 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 provblandning. Denna entalssiffra

är slumpmässigt vald till laboratorierna för de olika blandningarna A, B, C o. s. v., och kopplingen finns i databasen.

#### *4.5.1.2. Urval av provvialer 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.

#### **4.5.2. Paketering av provvialer**

De enskilda etiketterade vialerna placeras i stötskyddande och vätskeabsorberande fickor, som i sin tur läggs i en plastpåse. Denna påse stoppas i en säkerhetsburk som får användas vid transport av infektiöst material. Burken och instruktioner för provtillfället stoppas i en skyddande kartong tillsammans med information om att proven kan betraktas som frystorkade konstgjorda livsmedelsprover och vad man bör göras om man av någon anledning kommer i kontakt med provmaterialet. På kartongen fästs etikett och eventuell tulldeklaration. Där görs även annan märkning som behövs för transporten.

#### **4.5.3. Transport av provvialer**

Baserat på den bedömning (8) Livsmedelsverket gjort utifrån Smittskydds-institutets riskanalys (7) så skickas provmaterialet, efter paketering enligt ovan, med bifogade instruktioner via vanliga posttransportmedel, det vill säga bil, tåg, båt och flyg beroende på destination. Försändelserna skickas som rekommenderade brev för att säkerställa spårning så långt det är möjligt.

### ***4.6. Hantering av testmaterialet***

#### **4.6.1. Förvaring**

Innan paketering och transport förvaras materialet kylt (se Tillverkning ovan).

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

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

#### **4.6.2. Provberedning**

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. spädningsvätska). Vätskan med testmaterial blandas sedan noggrant för att erhålla det färdiga provet till analys.

Det färdiga provet bör användas till analys inom en timme.

### **4.6.3. Destruktion av provmaterial**

#### *4.6.3.1. Öppnade vialer med provmaterial*

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 provmaterialet lämnas till en speciell destruktionsanläggning för infektiöst material.

#### *4.6.3.2. Öppnade och använda vialer*

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

#### *4.6.3.3. 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 provmaterial**

### **5.1. Hålltider**

Utskick av provmaterial 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 på webbplatsen [www.slv.se/absint](http://www.slv.se/absint).

### **5.2. Analyser**

Vilka analysparametrar som ingår vid varje provtillfälle framgår av webbplatsen [www.slv.se/absint](http://www.slv.se/absint) men anges också i de utskickade instruktionerna.

### **5.3. Övrigt i instruktionerna**

Instruktionerna som följer med provmaterialet 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 analyssvaren ska anges på den inloggade delen av webbplatsen, liksom hur de ska anges

- att metodinformation för respektive analys endast kan anges på webbplatsen
- att metodinformationen kan komma att användas för att gruppera analysresultat per metod i slutrapporter och för att kunna diskutera speciella förhållanden.

## **6. Deltagaraktiviteter vid ett provtillfälle**

### ***6.1. Instruktioner och analyser***

Deltagande laboratorier förutsätts ta hand om provmaterialet på rekommenderat sätt enligt medföljande instruktioner. De förutsätts att ta del av hela instruktionerna 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 instruktionerna.

### ***6.2. Rapportering av analysresultat***

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

För dricksvattenprogrammet anges det verkliga koloniantalet eller MPN-index avrundat till heltal, före eller efter konfirmering, för den volym som specificeras för respektive analys.

För de kvantitativa analyserna inom livsmedelsprogrammet anges det tiologaritmerade analysresultatet för specificerad provvolym. 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 6.4.).

### ***6.3. Rapportering av metoduppgifter***

Metoduppgifter 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](http://www.slv.se/absint). Det är de metodvarianter 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.

## **6.4. Ändring av inrapporterat svar**

### **6.4.1. Deltagande laboratoriers ansvar**

Det är det deltagande laboratoriets ansvar att kontrollera de egna svaren i databasen, via webbplatsen, mot vad som rapporterats in. Normalt bör inga skillnader förekomma numera när 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 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. Så länge vi anser det befogat skickar vi också en påminnelse till deltagarna, i form av ett kort, om att preliminära bearbetade resultat finns och att kontroll av de egna svaren ska göras. På detta kort anges också sista datum för ändringar.

### **6.4.2. 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 laboratorier 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 metoduppgifter som finns när bearbetningen av resultat och metoduppgifter startar. Det är normalt strax efter sista dagen för justering av inrapporterade analyssvar.

## 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. De kan kräva att laboratoriet ska uppvisa en viss kvalitet och vidta åtgärder när detta 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 slutrapporternas appendix med alla analysresultat ges däremot som hjälp data och vägledning för hur laboratorier själva ska kunna räkna ut z-värden (se nedan under Statistik) för sina analyser. Z-värden kan vara ett hjälpmedel för att utvärdera en analysparameter över tiden.

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 dock laboratoriet kunna ange vilken analysparameter i den blandningen de har misslyckats med.

## 8. Statistik

### 8.1. Allmänt

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

- Kontrollera provmaterialet med avseende på mängd, halter och homogenitet.
- 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 analys svar 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 analys svar (z-värden) med ett eget boxdiagram.

- Markera extremvärden och falska svar i tabellen med samtliga analysvar 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**

Haltbestämningar av de olika organismerna i ett provmaterial görs dels för att kontrollera att materialet har de sammantagna egenskaper som önskas och dels för att för att finnas som referensvärden vid utvärderingen av analysvar. Det är utifrån organismhalterna från flera slumpmässigt plockade vilar som homogenitetsbedömningen görs.

Homogeniteten hos det frystorkade provmaterialet kontrolleras normalt före utskicket till deltagande laboratorier. Flera delprov undersöks samtidigt av samma person. Hur mycket delproven varierar är beroende av vilken parameter som analyseras men också av vid vilken halt organismen räknas.

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. Dessa nyare idéer har ännu inte överförts till den mikrobiologiska verksamhet som beskrivs här.

### **8.2.1. Livsmedelsprogrammet**

#### *8.2.1.1. 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 spädningvätska, 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 spädningsteg som ska användas för en viss analys vid den slutliga haltbestämningen och homogenitetstesten.

#### *8.2.1.2. Slutlig haltbestämning och homogenitetstest, kvantitativ analys*

Före provutskick analyserar en och samma person 10 vialer vid samma tillfälle för slutlig haltbestämning och kontroll av provens homogenitet. Provuoplösning görs som vid initial haltkontroll. Provansättning görs för hand eller med spiralspridare. Från noll-spädningen görs en spädningsserie och två plattor används för varje analysparameter från den spädning som är lämpligast för parametern utifrån den initiala haltkontrollen. Ett genomsnittligt resultat beräknas för varje vial från de båda plattorna från använt spädningsteg. Den slutliga halten beräknas som

medelvärde 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.

#### *8.2.1.3. 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 att samma koncentration förväntas både i renkulturen och i blandkulturen. Koncentrationen kontrolleras genom analys av 10 specialvialer med renkultur, från vilka dubbelbestämningar görs. Beräkning av medelvärde och standardavvikelse görs som för de kvantitativa analyserna, liksom den primära bedömningen av homogenitet. Medelvärde anses återspegla halten i blandkulturen.

Ibland används semikvantitativ analys av blandkulturer med ansättningar av olika provvolym 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.

#### *8.2.1.4. 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  $0,5 \log_{10}$ -enheter. Standardavvikelsen skall samtidigt vara  $< 0,15 \log_{10}$ -enheter.

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

### **8.2.2. Dricksvattenprogrammet**

#### *8.2.2.1. Initial haltkontroll*

I direkt anslutning till 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 spädningssvetska. 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.

#### *8.2.2.2. Slutlig haltbestämning och homogenitetstest*

Före provutskicket testas 10 slumpmässigt valda vialer per blandning med avseende på homogenitet och halter (gäller som organisatörens rapporterade medel-

värden). Provupplösning görs som för initial haltkontroll. Dubbelanalyser utförs från de 10 vialerna från en blandning under en och samma dag. Endast en specificerad provvolym utifrån den initiala haltkontrollen används för varje parameter. Analyserna utförs under repeterbarhetsförhållanden. Variationskoefficienterna (CV; se 8.5.4.) räknas ut från de 10 medelvärdena (å 2 bestämningar) per analys.

#### 8.2.2.3. 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 används som ett preliminärt mått på om homogenitet föreligger eller inte.

#### 8.2.2.4. "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.

#### 8.2.2.5. Kriterier för homogenitet

Som riktvärde för att homogeniteten ska vara acceptabel får variationskoefficienten (CV, se 8.5.4.) 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 "under-dispersion" 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 homogen.

### 8.3. Extremvärden

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 kvadratrotransformering 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 8.5.4.) även för extremvärdena med användande av samma medelvärde och standardavvikelse för en parameter som för de inte avvikande svaren.

#### ***8.4. Falskpositiva och falsknegativa resultat***

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

##### **8.4.1. Falskpositiva – definition**

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

##### **8.4.2. Falsknegativa – definition**

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

Vid dricksvattenanalyserna förekommer ibland så låga kolonital att svaret noll kan erhållas enbart på grund av slumpen. Sådana värden är inte falsknegativa.

Vid halter högre än ca 10 kolonier per volymsenhet definieras falsknegativa resultat för dricksvattenanalyserna som nollvärden som objektivt faller ut som extremvärden vid genomfört test (även om perfekt normalfördelning inte föreligger).

När halten av den analyserade organismen är så hög att det är uppenbart att ett nollresultat är falskt används ingen extremvärdestest.

#### ***8.5. Centralmått, spridningsmått och z-värden för en analys***

Beräkningar av medelvärden, standardavvikelser och z-värden för svaren utförs i *tiologaritmerad form* eller *kvadratrotransformerad form*.

##### **8.5.1. 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.

### 8.5.2. Medelvärde / Normvärde

Normvärdet ("assigned value") utgörs av medelvärdet beräknat utifrån deltagande laboratoriers resultat efter det att extremvärden och falska svar tagits bort. Det betraktas som det sanna värdet.

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

### 8.5.3. Standardavvikelse

Variationen kring det medelvärdet för en analys skattas utifrån den verkliga variationen vid analysen och utgörs av standardavvikelsen efter det att extremvärden och falska svar tagits bort. Den anges som spridningsmått för livsmedelsanalyserna och fungerar som ett relativt mått eftersom logaritmer används.

### 8.5.4. Variationskoefficient (CV)

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

### 8.5.5. Standardvärden (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 ("sanna värdet")

$s$  = 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 då de 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 normala och hamnar i regel utanför intervallet  $[-3; +3]$ .

Z-värden utgör grunden för boxdiagrammen (se 8.7.).

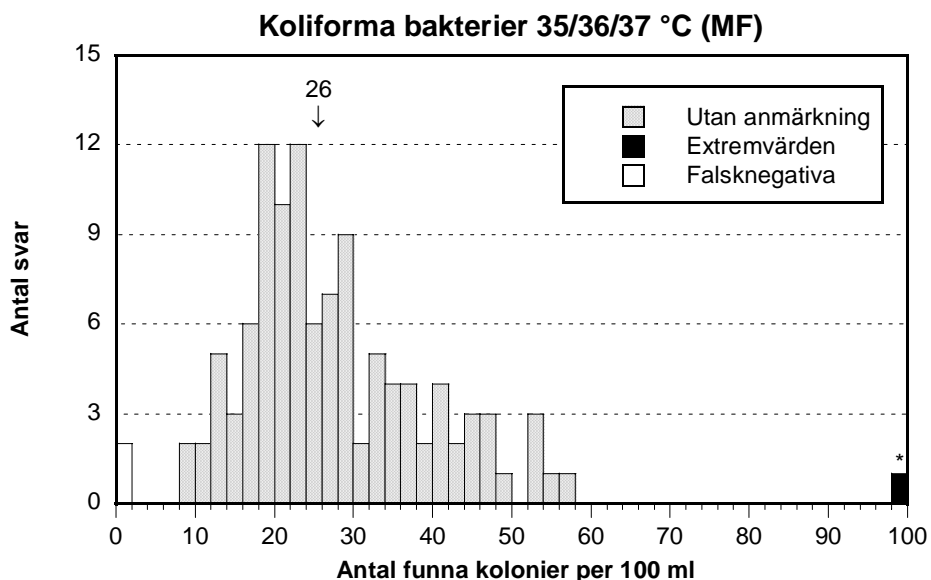
### 8.5.6. Tolkning av z-värden

Vid uppföljning av de egna analysresultaten kan följande riktlinjer användas:

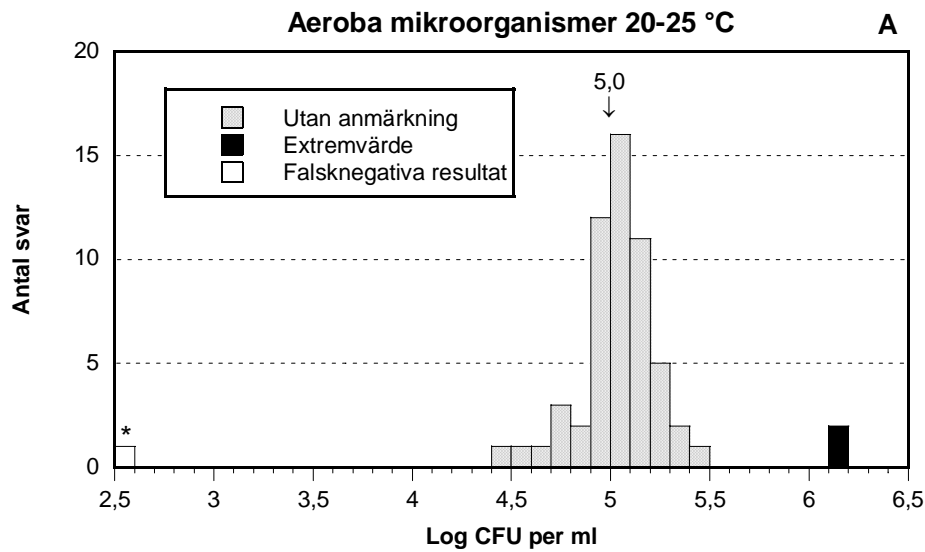
- $|z| \leq 2$  innebär att (det ursprungliga) resultatet är acceptabelt
- $2 < |z| \leq 3$  innebär att en varning gäller för att resultatet kan vara avvikande, och skulle kunna motivera en åtgärd vid uppföljning
- $|z| > 3$  innebär att resultatet betraktas som avvikande och bör föranleda en åtgärd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

## 8.6. 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.



**Figur 1** Exempel på frekvensdiagram för en dricksvattenanalys

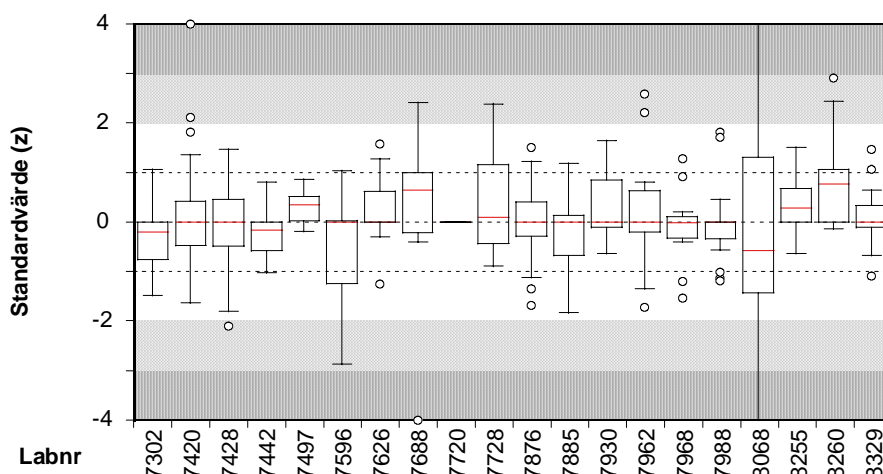


**Figur 2** Exempel på frekvensdiagram för en livsmedelsanalys

### 8.7. 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. Boxen utgörs av de 50 % mittersta värdena. De övre respektive undre 25 % av värdena visas som vertikala streck tillsammans med eventuella, i boxdiagrammet, avvikande resultat. Dessa avvikande resultat markeras med en ring och utgörs av värden:

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



**Figur 3** Exempel på boxdiagram

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.

## **9. Konfidentiellitet och användaridentitet**

### ***9.1. Konfidentiellt laboratorienummer***

Varje laboratorium får ett unikt laboratorienummer vid registrering. Laboratoriet tilldelas ett separat nummer för varje program det deltar i. 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.

### ***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 gällande ett visst program. Detta nummer använder organisatören även för att laboratoriet ska vara identifierat på webbplatsen när det är inloggat, samt i sammanställningar och slutrapporter.

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

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***

Laboratorienumret kan komma att bytas regelbundet för att minimera risken av otillbörlig 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.

## **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 upprepanande. Hur detta ska göras finns angivet i särskild instruktion utarbetad av avdelningen för Forskning och Utveckling (18).

### ***11.2. Definition***

Klagomål/avvikelse *föreligger* om anmärkningar görs då arbete som utförts vid Mikrobiologiska enheten 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 v kvalifikationsprovningarna 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 6.4.2.) 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 6.4.2.).
- 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 kvalifikationsprovningarna 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](http://www.slv.se/absint).

### ***12.1. Allmänna villkor för deltagande***

#### **12.1.1. Vilka kan delta?**

- Laboratorier som utför analyser inom programmens ramar och använder relevanta metoder.
- Laboratorier som kan hantera mikroorganismer inom riskklass 1 och 2 enligt Arbetsmiljöverkets klassificering (6).
- 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. Metoden bör användas rutinmässigt vid laboratoriet.
- Resultat från andra 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 inte aktivt har avanmält sig från.
- Avgift ska betalas separat för varje provtillfälle inom den tid som anges på fakturan (normalt 30 dagar efter utskrift).

### ***12.2. Deltagande laboratoriers övriga förpliktelser***

- Bevakning av hemsidan och aktivt göra eventuell avanmälan från deltagande vid ett 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 provmaterial på säkert sätt.
- Tillhandahållande av laboratoriernas svar för kontroll och de preliminära beräknade resultaten på webbplatsen inom angiven tidsram.
- Avisering av att kontrolluppgifter finns genom påminnelse med e-post eller ordinarie post.
- Slutrapport som pdf-fil på webbplatsen inom angiven tidsram.
- Leverans av extra provmaterial vid 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 kvalifikationsprovning.

## **13. Kostnad för deltagande**

Aktuella priser för respektive program anges på webbplatsen [www.slv.se/absint](http://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 i samband med varje provtillfälle. Kreditkortsbetalning kan komma att bli möjligt. 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](http://www.slv.se/absint). Protokollet kommer att revideras vid behov och deltagande laboratorier kan då rekvirera det i tryckt form om så önskas.

## 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-G13:2000. 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. 2<sup>nd</sup> 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<sup>®</sup>) – Organisation and analysis of data. FAPAS Secretariat, CSL – Food Science Laboratory, Norwich Research Park Colney, NORFOLK NR4 /UQ, United Kingdom. 5<sup>th</sup> 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<sup>®</sup>), 2002. – Protocol for the Organisation and Analysis of Data. Central Science Laboratory, Sand Hutton, York, YO41 1LZ / United Kingdom. 6<sup>th</sup> 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, 2<sup>nd</sup> edition, 4<sup>th</sup> 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 Verksamhetsledningssystem, F-avd. Hantering av klagomål och avvikelser. Senaste versionen på Livsmedelsverkets Intranät.



# Kvalifikationsprovningsprogram