

# • NYTT 75

NMKL – Nordisk Metodikkomité for Næringsmidler

[nmkl.org](http://nmkl.org) • [nmkl@vetinst.no](mailto:nmkl@vetinst.no) • Nr. 75 Juni 2010

## Innhold:

Workshops i kvalitetssikring med vikt på måtosakerhet inom mikrobiologiska livsmedels- och dricksvattenanalyser.....2

Fornyet NordVal-sertifikat for **Salmonella Dublin** verifisering med real-time PCR (NordVal Certificate No 040)...3

Fornyet NordVal-sertifikat for **TRANSIA® PLATE Listeria** (NordVal Certificate No 002)....4

Fornyet NordVal-sertifikat for **Salmonella ELISA Test SELECTA /RayAI Salmonella SELECTA** (NordVal Certificate No 028).....5

Fornyet NordVal-sertifikat for **Rapid'Salmonella double enrichment protocol Rapid'Salmonella short protocol Rapid'Salmonella LATEX confirmation test** (NordVal Certificate No 032).....6

Ny NordVal-protokoll for validering av alternative proprietære kjemiske metoder.....8

## NordVals 10-års jubileumssymposium Rapid Methods

**Dato:** 20. august 2010  
**Sted:** Hotel Hilton, Kastrup, København  
**Språk:** Engelsk  
**Utstilling:** Ja  
**Dektakeravgift:** DKK 1200  
**Registrering:** innen 28. juni til [nmkl@vetinst.no](mailto:nmkl@vetinst.no)

### Program

09.00 - 09.30

Registration / Coffee

09.30 - 09.45

Introduction – the history of NordVal (Chairman of NordVal, Sven Qvist, Denmark)

09.45 - 10.15

Aspects on how and when to use rapid methods. The value of standardisation and an independent review (Mika Tuomola, Finland)

10.15 - 10.45

The NordVal validation protocols (Secretary of NordVal Hilde S Norli, Norway)

10.45 - 11.15

The importance of using rapid methods, microbiological and chemical methods, in the food industry (John Marugg, Nestlé Research Center, Switzerland)

11.15 - 12.45

Lunch and Exhibition

12.45 - 13.15

Custom-made, rapid methods in the Danish meat industry (Flemming Hansen, Technological Institute, Danish Meat Research Institute)

13.15 - 13.45

Validation and experience of rapid screening methods for analyses of veterinary drug residues (Kirsten Halkjær Lund, Danish Veterinary and Food Administration, Region East, Ringsted)

13.45 - 14.15

Experience of validation of rapid method for NordVal approval (Majbritt Karlskov Moos, Danish Veterinary Food Administration, Region West, Aalborg)

14.15 - 14.45

Coffee and Exhibition

14.45 - 15.15

Experiences, good and bad, in the use of rapid methods (allergens / mycotoxins / microorganisms) (Charlotta Engdahl Axelsson, Eurofins, Sweden)

15.15 - 15.30

New rapid technology (chemistry) Producer I

15.30 - 15.45

New rapid technology (chemistry) Producer II

15.45 - 16.00

Conclusion (Arne Højgaard Jensen, Danish Veterinary and Food Administration, Region West, Århus)

NMKLs

generalsekretariat

**ønsker alle en**

**fin sommer!**



### NMKL – Nordisk Metodikkomité for Næringsmidler

#### Adresse:

NMKL  
Veterinærinstituttet  
PB 750 Sentrum  
N-0106 Oslo  
Norge

[nmkl@vetinst.no](mailto:nmkl@vetinst.no)  
[www.nmkl.org](http://www.nmkl.org)

Generalsekretær  
Hilde Skår Norli

Tel.: +47 2321 6250  
+47 46 8888 07

Antall: 1500  
ISSN 100-5386

# Workshops i kvalitetssikring med vikt på måtosäkerhet inom mikrobiologiska livsmedels- och dricksvattenanalyser

**Målgrupp:** Personal vid mikrobiologiska livsmedels och dricksvattenlaboratorier.

14. oktober 2010

Livsmedelssäkerhetsverket (EVIRA),  
Lecture hall Kalevi, Mustialankatu 3, Helsinki



28 september 2010 i

Mariasalen, Stiftets Hus,  
Dragarbrunnsgatan 71, Uppsala



**Språk:** Finsk  
**Registrering til:** nmkl@vetinst.no  
før 17. september 2010.  
**Deltakeravgift:** 100 €

**Språk:** Svensk  
**Registrering til:** nmkl@vetinst.no  
før 1. september 2010.  
**Deltakeravgift:** SEK 1200

## Program

09.00 – 09.30 Registrering og kaffe

09.30 – 09.40 Introduksjon

09.40 – 10.05 Krav fra akkrediteringsorganisasjonene for å estimere og rapportere måleusikkerhet i mikrobiologiske undersøkelser. (Giselle Nick-Mäenpää, FINAS)

10.05 – 10.50 Måleusikkerhet i henhold til ISO/TS 19036:2006 og NMKL-prosedyre nr. 8. Et eksempel: Campylobacter. (Marjaana Hakkinen, EVIRA)

10.50 – 10.55 Kaffepause

10.55 – 11.40 Kvalitetssikring og måleusikkerhet i henhold til Niemelä, S. MIKES J04/2003. Et eksempel: vannprøver. (Tuula Laakso, HSY Helsingin seudun ympäristö-palvelut)

11.40 – 12.40 Lunsj

12.40 – 13.00 Introduksjon til arbeidsgrupper  
Øvelse I. Vannprøver. (Tuula Laakso, HSY Helsingin seudun ympäristöpalvelut)  
Øvelse II. Næringsmiddelprøver. (Sanna Raunila, KVVY)

13.00 – 14.45 Arbeidsgrupper med forskjellige tema (vann, næringsmidler og andre matrikser) - løsning av praktiske problemer

14.45 – 15.00 Kaffepause

15.00 – 16.00 Diskusjon, konklusjoner og avslutning

## For mer informasjon kontakt:

saija.hallanvuo@evira.fi eller sanna.raunila@kvvy.fi

## Program

09.00 – 09.30 Registrering og kaffe

09.30 – 09.40 Introduksjon (Ulla Edberg, Livsmedelverket, formann for NMKL)

09.40 – 10.15 Kan kvalitetskontroller på laboratoriet användas till uppskattning av måtosäkerhet? (Tommy Šlapokas, Livsmedelsverket)

10.15 – 10.30 Krav från akkrediteringsorganisationen gällande uppskattning och rapportering av måtosäkerhet (Adia Groza, SWEDAC)

10.30 – 10.45 Kaffepaus

10.45 – 11.45 Några exempel på hur uppskattning av måtosäkerhet kan göras i praktiken (Tommy Šlapokas, Livsmedelsverket)

11.45 – 13.00 Lunch

13.00 – 14.00 Några fler exempel på hur uppskattning av måtosäkerhet kan göras i praktiken (Representanter från olika laboratorier)

14.00 – 14.15 Introduksjon till arbeidsgrupper – diskussion om praktiske aspekter og erfaringer av beräkningar av måtosäkerhet

14.15 – 15.30 Diskusjon i arbeidsgrupper (inklusive kaffe)

15.30 – 16.30 Summering av gruppdiskussioner med mera, samt avslutning

## For mer informasjon kontakt:

Åsa Rosengren (asa.rosengren@slv.se)

# Fornytt NordVal-sertifikat for **Salmonella** Dublin verifisering med real-time PCR (NordVal Certificate No 040)

Denne metoden beskriver verifisering av *Salmonella* Dublin på faste media fra prøver som inneholder *Salmonella* spp.

Metoden tilfredsstiller kravene til NordVal sin valideringsprotokoll. *Salmonella* Dublin verifisering med real-time PCR er en åpen metode, som er testet i en metodesammenlikning og i en kollaborativ metodeavprøving arrangert av Teknologisk Institut – Danish Meat Research Institute. Oppdragsgiver var Ködbranchens Fællesråd, København, Danmark.

Referansemetoden er serotyping ved bruk av slide agglutinasjon i henhold til Kauffmann-White Scheme utført på det nasjonale referanselaboratoriet, Statens Serum Institut.

Den alternative metoden beskriver verifiseringen ved bruk av real-time PCR. Metoden er basert på TaqMan, targeting en sekvens av det virulente plasmidet som er spesifikk for *S. Dublin*. Prøvene til PCR analysene tas fra enkle *Salmonella* kolonier. En loop-full av kolonimaterialet fra det faste mediet resuspendes i 1 ml 0,85% saltvann. Suspensjonen sentrifugeres og supernatanten kastes. Pelleten resuspendes i 200 µl TE-buffer (pH 8,0). Fra denne endelige cellesuspensjonen, frigjøres DNA

ved lysis av cellene ved 96 °C i 10 minutter. PCR utføres på lysatet som templat.

## Metodesammenlikning

### Inklusivitet

50 isolater av *S. Dublin* ble testet to ganger av ekspertlaboratoriet. Ct-verdiene for FAM under 36 indikerer at stammene var identifisert som *S. Dublin*.

Stammene var også testet i henhold til referansemetoden: Kauffmann-White Scheme og identifisert som *S. Dublin*.

### Ekklusivitet

10 isolater av non-*Salmonella* bakterier, som kan forekomme i kjøtt og 20 isolater av *Salmonella* genus som ikke er *S. Dublin* ble testet to ganger.

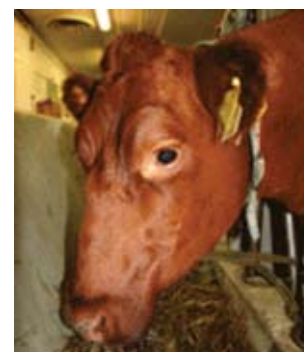
For de 20 *Salmonella* stammene, ble det ikke funnet Ct-verdiene for FAM. Ct-verdiene var under 36 for HEX, som indikerer *Salmonella* stammer. For de 10 non-*Salmonella*, ble det ikke observert noen Ct-verdiene for verken HEX eller FAM.

Åtte laboratorier deltok i den kollaborative avprøvingen. 20 kulturer av *Salmonella* (10 *S. Dublin* og 10 non-*S. Dublin* isolater) en positiv kontroll og en NTC (no template control) ble

testet.

Ingen falske negative resultater ble observert.

Ett laboratorium fikk et falskt positivt resultat. Ti av de 80 non-*S. Dublin* prøvene gav Ct-verdiene over 36 og var dermed ikke *S. Dublin* positive, men må betraktes som tvilsomme resultater. Årsaken til disse resultatene er ukjent, men fem av de tvilsomme resultatene ble observert på ett og samme laboratorium, hvilket kan skyldes uerfarenhet med PCR analyser, og kan være et resultat av krysskontaminering mellom prøver. I henhold til valideringene var det ingen signifikant forskjell mellom referansemetoden og real-time PCR verifiseringen, men det viste at det kreves erfaring for å utføre PCR analyser.



*Salmonella* Dublin er en vertstilpasset serotype tilknyttet storfe og finnes sjelden hos andre dyrearter. Bakterien kan imidlertid gi alvorlige symptomer hos menneske, av og til dødsfall.

## Vil dere delta i en metodeavprøving på metylkvikksølv med isotopfortynning-GC-ICPMS?

Metoden for bestemmelse av monometyl kvikksølv (MMHg) (10-5000 mg/kg tørrvekt) i hovedsaklig marine prøver, er godkjent i NMKL for avprøving. Det er behov for deltakende laboratorier.

Metodeprinsipp: Prøver tilsettes Hg-isotop beriket MMHg og ekstraheres med tetrametylammoniumhydroksid

(TMAH). Etter pH justering, derivatisering og ekstraksjon, analyseres den organiske fasen på GC-ICPMS. GC separerer de ulike kvikksølv spesiene før MMHg atomiseres og ioniseres i ICP. Ionene ekstraheres fra plasma og overføres til en MS hvor ionene bestemmes av en puls-teller og/eller en analog detektor. Beregning av resultatet skjer ved hjelp av isotopfor-

tynningsligningen.

Avprøvingen vil finne sted høsten 2010. Det vil være 14 prøver som skal analyseres ved hvert laboratorium. Har dere mulighet/lyst til å være med i metodeavprøvingen, ta kontakt Stig Valdernesnes, NIFES, Norge (stig.valdernesnes@nifes.no).

# Fornytt NordVal-sertifikat for **TRANSIA® PLATE Listeria** (NordVal Certificate No 002)

TRANSIA® PLATE Listeria er ELISA-kit basert på en totrinns sandwich-type reaksjon.

## Metoden beskriver:

- Oppformering på ½ Fraser-buljong i 20-26 timer ved 30°C ± 1°C
- Inokulering av 0,25 mL av den ½ Fraser-buljongen i 10 mL Fraser-buljong, inkubert ved 22-26 timer ved 30°C ± 1°C
- TRANSIA® PLATE Listeria test etter oppvarming av 1 til 2 mL av den oppformerte Fraser-buljongen ved 95-100°C (kokende vann) i 20 minutter.

Avlesningen av mikrotitrerplaten utføres ved hjelp av et spektrofotometer med en bølglengde på 450 nm.

Metoden er testet på næringsmiddelprøver og miljøprøver. Den er sammenliknet med referansemetoden:

- EN ISO 11290-1:2004: Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* -- Part 1: Detection method.

## Metodesammenlikning

Den siste valideringen av metoden ble utført i 2007 ved Institut Pasteur de Lille, Frankrike.

## Nøyaktighet, følsomhet, spesifisitet

Total 325 prøver ble analysert, 165 positive og 16 negative, som representerte følgende kategorier: kjøtt-, meieri- og sjømatprodukter, grønnsaker og miljøprøver.

Resultatene var som følger:

- ✓ Relativ nøyaktighet: 98%
- ✓ Relativ spesifisitet: 99%
- ✓ Relativ sensitivitet: 97%
- ✓ Kappa > 0,80

## Deteksjonsgrense

De forskjellige matriksene ble analysert 6 ganger ved 4 forskjellige

kontamineringsnivåer med begge metodene. Deteksjonsgrensen var 1-10 cfu per 25 g eller 25 ml prøve for alle matriksene.

## Inklusivitet / eksklusivitet

**Inklusivitet:** 55 stammer av *Listeria* (25 stammer av *Listeria monocytogenes* og 25 stammer av andre *Listeria*) gav alle positivt resultat.

**Eksklusivitet:** Undersøkelse av 30 non-*Listeria* stammer med TRANSIA® PLATE Listeria test påviste ingen kryssreaksjon.

## Kollaborativ avprøving

Kollaborativ avprøving ble utført i 2007.

Antall laboratorier: 14

Valide resultater ble mottatt fra 10 av de 14 laboratoriene. Fire laboratorier ble ekskludert på grunn av problemer med oversendelse/mottakelse av prøvene.

Analysene ble utført på pasteurisert melk, kunstig kontaminert med stammer av *Listeria innocua* på følgende nivåer:

- 0 cfu/25 ml
- 1-10 cfu/25 ml
- 10-50 cfu/25 ml

Laboratoriene analyserte 8 replikater for hvert nivå med både den alternative metoden og referansemetoden.

Følgende resultater ble oppnådd:

- Relativ følsomhet: 99%
- Relativ spesifisitet: 100%
- Relativ nøyaktighet: 100%
- Kappa: 0,99

## Konklusjon

I henhold til valideringene var det ingen statistisk signifikant forskjell i resultatene mellom TRANSIA® PLATE Listeria og referansemetoden, EN ISO 11290-1:2004, for påvisning av *Listeria* spp i næringsmidler og miljøprøver. Valideringen er utført i

henhold til NordVal-protokollen, og oppfyller de angitte kvalitetskravene.

Produsent og leverandør av metoden er BioControl, USA.  
[www.rapidmethods.com](http://www.rapidmethods.com)



**Relativ sensitivitet** er hvor egnet den alternative metoden er til å påvise analytten sammenliknet med referansemetoden.

**Relativ spesifisitet** er hvor egnet den alternative metoden er til ikke å påvise analytten når den ikke er påvist med referansemetoden.

**Relativ nøyaktighet** er graden av samsvar i oppnådde resultater med den alternative metoden og referansemetoden.

**Kappa** er graden av overensstemmelse mellom den alternative metoden og referansemetoden. En kappa på 0,80 eller høyere indikerer veldig god overenskomst.

# Fornytt NordVal-sertifikat er for **Salmonella ELISA Test SELECTA / RayAl Salmonella SELECTA** (NordVal Certificate No 028)



*Salmonella* ELISA Test SELECTA / RayAl *Salmonella* SELECTA er en immuno-enzymatisk test med en microtiter plate dekket med spesifikke antistoffer rettet imot *Salmonella*, og klar-til-bruk reagenser.

Testen påviser *Salmonella*, etter

- oppformering i bufret peptonvann i 6-10 timer ved  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$
- inkubering i SELECTA buljong i 18-24 timer ved  $41,5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$
- immuno-enzymatisk test etter oppvarming av en alikvot av SELECTA buljong

Konfirmasjon av positive prøver er ikke nødvendig, forutsatt at det ikke kreves i henhold til lovgivningen.

Metoden er testet på næringsmidler og animalske fôrprøver.

## Metodesammenlikning

*Salmonella* ELISA Test SELECTA / RayAl *Salmonella* SELECTA er sammenliknet med ISO 6579:2002, for påvisning av *Salmonella*, i valideringer utført i 2004 og 2008.

## Nøyaktighet, følsomhet, spesifisitet

Totalt 528 prøver ble testet i to studier, hvorav 225 prøver var *Salmonella* positive, 72% av disse var kunstig kontaminert og 28% var naturlig kontaminert med følgende resultat:

- ✓ Relativ nøyaktighet: 98%
- ✓ Relativ spesifisitet: 100%
- ✓ Relativ følsomhet: 97%
- ✓ Kappa > 0,80

## Deteksjonsgrense

De forskjellige matriksene ble analysert 6 ganger ved 4 forskjellige kontamineringsnivåer med begge metodene. Deteksjonsgrensen var 1-10 cfu per 25 g eller 25 ml prøve for alle matriksene.

## Inklusivitet / eksklusivitet

**Inklusivitet:** 55 stammer av *Salmonella* var påvist ut av de 55 testede stammene.

**Eksklusivitet:** 30 stammer som ikke tilhørte genus *Salmonella* var alle negative, med andre ord ingen kryssreaksjoner er påvist.

## Kollaborativ avprøving

Kollaborativ avprøving ble utført i

2008.

Antall laboratorier: 15

Analysene ble utført på pasteurisert melk, kunstig kontaminert med stammer av *Salmonella typhimurium* på følgende nivå:

- 0 cfu/25 ml
- 1-10 cfu/25 ml
- 10-50 cfu/25 ml

Laboratoriene analyserte 8 replikater for hvert nivå med både den alternative metoden og referansemotoden.

Følgende resultater ble oppnådd:

- Relativ følsomhet: 99%
- Relativ spesifisitet: 97%
- Relativ nøyaktighet: 99%
- Kappa > 0,80

## Konklusjon

I henhold til metodesammenlikningen og den kollaborative avprøvingen var det ingen statistisk signifikante forskjeller i resultatene mellom *Salmonella* ELISA Test SELECTA / RayAl *Salmonella* SELECTA og referanse metoden, ISO 6579:2002, for påvisning av *Salmonella* i næringsmidler og fôrprøver. Den alternative metoden tilfredsstiller kravene i NordVal sin valideringsprotokoll.

Produsent og leverandør av *Salmonella* ELISA Test SELECTA er Bioline Aps, Danmark. Leverandør av RayAl *Salmonella* SELECTA er RayAl Ltd, England ([www.bioline.dk](http://www.bioline.dk) og [www.rayal.com](http://www.rayal.com))

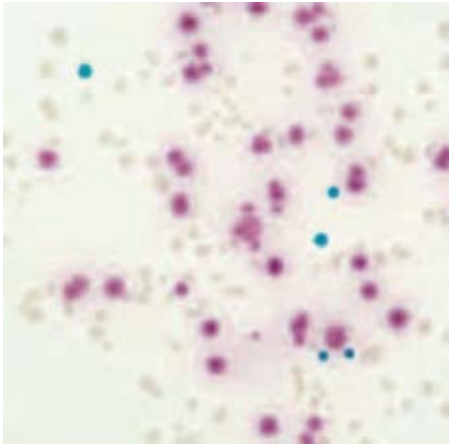
## NMKLs 64. årsmøte

Den danske nasjonalkomiteen i NMKL har invitert til NMKLs 64. årsmøte i Ebeltoft, Danmark, 21-24. august. Rundt 60 eksperter, 10-15 fra hvert nordisk land vil delta.

Fornyhet NordVal-sertifikat er for

- **Rapid' Salmonella double enrichment protocol**
- **Rapid' Salmonella short protocol**
- **Rapid' Salmonella LATEX confirmation test**

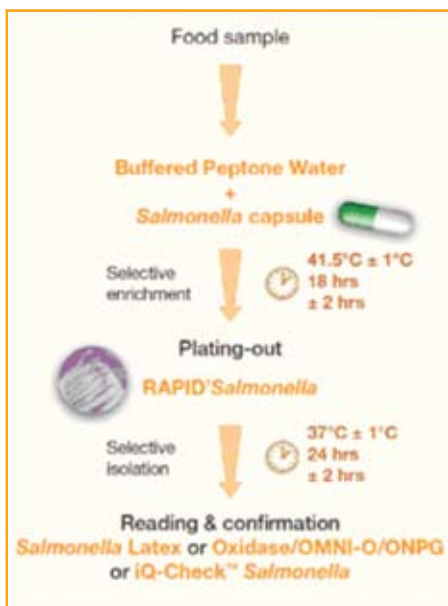
**(NordVal Certificate No 032)**



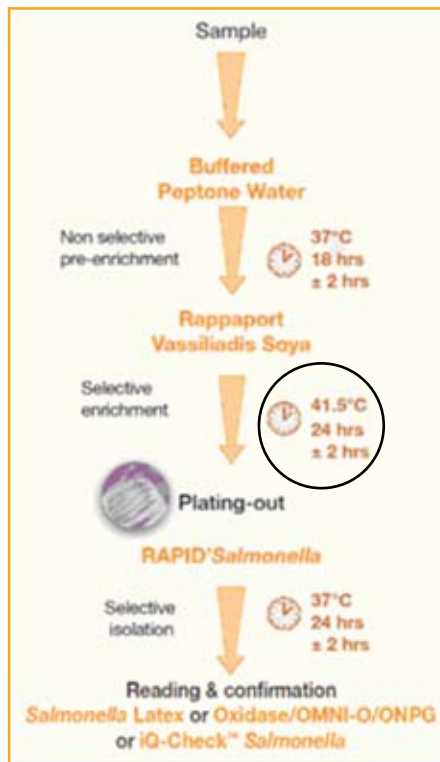
Bildet er hentet fra Bio-Rad Rapid' Salmonella.

RAPID' Salmonella er et kromogent agar medium, hvor prinsippet baseres på demonstrering av to enzymatiske aktiviteter. NordVal har godkjent RAPID' Salmonella test metoder for:

- **RAPID' Salmonella – Short protocol/enkel protokoll:**



- **RAPID' Salmonella – Double enrichment protocol /dobbel oppformeringsprotokoll:**



Salmonella spp tilstede opptrer som typiske magentarøde kolonier. Metodene er anvendelige på næringsmidler og fôr prøver.

- **RAPID' Salmonella LATEX konfirmeringstest** på isolerte kolonier. Denne er anvendelig for konfirmering av Salmonella gruppe B til E og G.

#### Metodesammenlikning

Den sammenliknende prøvingen av dobbel oppformeringsprotokoll ble utført i 2005, og valideringen av den enkle protokollen og Salmonella LATEX konfirmeringstesten ble utført i 2009.

Metodene ble sammenliknet med referansemetoden EN ISO 6579:2002: Microbiology of food and animal feed-

ing stuffs -- Horizontal method for the detection of Salmonella spp.

#### Nøyaktighet, følsomhet, spesifisitet

##### RAPID' Salmonella

##### – dobbel oppformeringsprotokoll

Totalt 408 prøver av kjøttprodukter, grønnsaker og sjømat, meieriprodukter, ovoprodukter og animalske fôrprøver ble analysert med både RAPID' Salmonella og referansemetoden.

Resultatene var som følger:

	Etter screening	Etter konfirmering
Relativ nøyaktighet	84%	94%
Relativ spesifisitet	75%	80%
Relativ følsomhet	96%	101%

- Kappa: 0,69
- Falske negative: 6%
- Falske positive: 20%

Den relative følsomheten er tilfredsstillende for alle produkter. Overensstemmelsen mellom den alternative metoden og referansemetoden, angitt som kappa, er ikke tilfredsstillende. Årsaken til denne uoverensstemmelsen skyldes det relativt høye antallet av falske positive, lav spesifisitet, med den alternative metoden. Antall falske positive er relativt høyt med 20%.

##### RAPID' Salmonella

##### – enkel protokoll

Totalt 324 prøver av kjøttprodukter, grønnsaker og sjømat, meieriprodukter, ovoprodukter og animalske fôrprøver ble analysert med både RAPID' Salmonella og referansemetoden.

Resultatene var som følger:

	Etter screening	Etter konfirmering
Relativ nøyaktighet	91%	91%
Relativ spesifisitet	91%	99%
Relativ følsomhet	91%	101%

- Kappa 0,82
- Falske negative: 9%
- Falske positive: 15%

Overensstemmelsen mellom metodene, kappa, var tilfredsstillende for alle produkter bortsett fra kjøttprodukter. I screeningen var den relative følsomheten lav da følsomheten til referansemetoden er dårligere enn den alternative metoden. Det var noen falske negative resultater med den alternative metoden, men referansemetoden var ikke bedre egnet.

#### **Konfirmering med RAPID'Salmonella LATEX test og konvensjonell test etter dobbel oppformeringsprotokoll**

118 prøver av kjøtt-, meieri- og ovo-produkter samt animalske fôrprøver ble analysert i henhold til dobbel oppformeringsprotokoll. Overensstemmelsen (kappa) mellom metodene var tilfredsstillende (kappa > 0,80). Denne *Salmonella* LATEX testen gav omkring 5% falske negative.

#### **Deteksjonsgrense**

De forskjellige matriksene ble analysert 6 ganger ved 4 forskjellige kontamineringsnivåer med begge metodene. Deteksjonsgrensen var 1-10 cfu per 25 g eller 25 ml prøve for alle matriksene.

#### **Inklusivitet / eksklusivitet**

##### **RAPID'Salmonella – dobbel oppformeringsprotokoll**

Valideringen ble utført i 2005.

**Inklusivitet:** 51 stammer av *Salmonella* ble påvist av de 52 som var testet. Den uidentifiserte stammen er en stamme av *paratyphi* A. To andre stammer av *Salmonella paratyphi* A ble testet og funnet positive. Alle

target stammene viste en Omni-0 positiv/ONPG negativ profil med unntak av *Salmonella arizonae* (laktosepositiv fenotype) gav en positiv ONPG test.

**Eksklusivitet:** Valideringen av 30 stammer som ikke tilhørte *Salmonella* genus viste atypiske kolonier på RAPID'Salmonella agar, bortsett fra en enkelt stamme av *Enterobacter sakazakii*. Denne stammen gav imidlertid en negativ Omni-0-test, som ikke er karakteristisk for *Salmonella*.

Spesielle stammer av *Escherichia hermannii* isolert i valideringen viste magentarød kolonier. Derfor ble 12 stammer av denne spesimen testet: 8 gav positive reaksjoner med Omini-0 test, men gav også positiv ONPG test, hvilket ikke er karakteristisk for *Salmonella*.

##### **RAPID'Salmonella – Enkel protokoll**

Valideringen ble utført i 2009.

**Inklusivitet:** 47 stammer av *Salmonella* ble påvist av de 51 som ble testet. Tre stammer av *Salmonella* (*Salmonella paratyphi* A ATCC 9150, *Salmonella paratyphi* B Ad 301 og *Salmonella paratyphi* C ATCC 13428) viste dårlig vekst, likeså *Salmonella galinarium* Ad 300. Fem stammer av *Salmonella* gav en negativ latex test: *Salmonella arizonae* Ad 450, *Salmonella bongori* Ad 599, *Salmonella cerro* Ad 689, *Salmonella houtenae* Ad 596 og *Salmonella veneziana adria* 233.

**Eksklusivitet:** 42 non-*Salmonella* stammer, hvorav 12 stammer av *Escherichia hermannii*, ble analysert. 11 av de *Escherichia hermannii* stammene, 1 stamme av *Citrobacter diversus adria* 140 og 1 stamme av *Serratia Salmonella* gav alle en negativ latex test.

##### **Kollaborativ avprøving**

##### **RAPID'Salmonella – Dobbelt oppformeringsprotokoll**

Den kollaborative avprøvingen ble utført i 2005.

Antall deltakende laboratorier: 15  
Analysene ble utført på prøver av

pasteurisert melk, kunstig kontaminert med stammer av *Salmonella typhimurium* på følgende nivåer:

- 0 cfu/25 ml
- 1-10 cfu/25 ml
- 10-50 cfu/25 ml

Laboratoriene analyserte 8 replikater for hvert nivå med både den alternative metoden og referansemetoden. Resultater fra fem laboratorier ble ekskludert på grunn av unormale resultater, tilsynelatende fra intern kontaminering og/eller problemer med identifikasjonstesten. Resultatene var som følger:

- Relativ følsomhet: 100%
- Relativ spesifisitet: 98%
- Relativ nøyaktighet: 99%
- Kappa > 0,80

Ingen kollaborativ avprøving er utført på RAPID'Salmonella – enkel protokoll.

#### **Konklusjon**

Metodevalideringen viste at RAPID'Salmonella dobbel oppformeringsprotokoll og enkel protokoll gir tilfredsstillende følsomhet. Falske positive kan forekomme, og konfirmering av positive prøver er derfor nødvendig.

Produsent og leverandør av RAPID'Salmonella er Bio-Rad Laboratories, Frankrike ([www.bio-rad.com](http://www.bio-rad.com)).

### **Ønsker du abonnement på NMKL-metoder?**

NMKL tilbyr metodeabonnement enten på PDF-filer, papirutgaver eller online (med bruker-ID og passord) for NOK 2500 (EUR 300) pr. år.

Er du ny abonnent, så koster online-abonnementet første året NOK 5000 (EUR 600), som tilsvarende prisen på en komplett metode-samling.

Med tilgang til metodesamlingen online, er de nyeste versjonene av NMKL-metodene kun et tastetrykk unna. Abonnentene får beskjed på e-post ved oppdateringer.



# Guide in Validation of Alternative Proprietary Chemical Methods

Den nye NordVal-protokollen beskriver validering av proprietære kjemiske metoder (testkits). Formålet med protokollen er å veilede ekspertlaboratorier, NordVals tekniske komiteer og NordVal sin styringsgruppe i validering, evaluering og sertifisering av testkits. Protokollen består av to deler:

- ✓ validering og evaluering av kvalitative proprietære metoder
- ✓ validering og evaluering av kvantitative proprietære metoder

Fortrinnsvis bør den alternative metoden valideres imot en referansemetode. Hvis det ikke finnes en egnet metode, kan valideringen utføres ved bruk av sertifiserte referansesmaterialer, kontrollmaterialer og eller "spikede" prøver på forskjellige nivåer i ulike typer matrikser.

Valideringen består av to studier: Metodesammenlikning og en intermediær validering.

### Metodesammenlikning

Metodesammenlikningen utføres kun på et ekspertlaboratorium. Den proprietære metoden testes imot en referansemetode for en rekke metodekarakteristikker. Hvis referansemetode ikke er tilgjengelig, sammenliknes resultatene imot forventede resultater av sertifisert referansesmateriale (CRM), kontrollmaterialer og / eller ulike spikede prøver.

Metodesammenlikningen bør helst utføres på reelle kontaminerte prøver, hvis prøver med relevante nivåer er tilgjengelig. Ellers utføres sammenlikningen på kunstig kontaminerte prøver. Hvis metoden skal være gjeldene for alle typer næringsmidler, testes metoden for minst 5 relevante næringsmiddelmatriser. Nivåene som testes skal være lav, medium og høy, foruten blindprøve, dvs. prøve-material som ikke inneholder den aktuelle analytten. Analysene skal utføres på omkring 10 replikater.

### Intermediær validering

Formålet med den intermediære valideringen er å konfirmere resultatene ved minst ett ytterligere laboratorium.

Minst tre relevante næringsmiddelmaterialer, kunstig kontaminert på 3 nivåer (lavt, medium og høyt) og en negativ kontroll skal benyttes. Det laveste nivået bør være omkring deteksjon/screeninggrensen. Hvis den intermediære valideringen er utført på kun ett ytterligere laboratorium må antall replikater for hver matriks være minst fem. Laboratoriet/laboratoriene skal ikke kjenne til nivået i prøvene.

NordVal-protokollen er tilgjengelig på engelsk for nedlastning på [www.nmkl.org](http://www.nmkl.org) under NordVal.

Vil dere delta i en metodeavprøving på

## Plantestanol og plantesterol

### Bestemmelse i fytosterolberiket mat med gasskromatografisk metode

Denne metoden beskriver en gasskromatografisk bestemmelse av plantestanol og -sterol i fytosterolberiket mat. Metoden kan også brukes på fytosterol-fettsyreester ingredienser, som plantestanol eller plantesterol fettsyreester. Metoden kan også brukes til å måle kolesterolinnhold av phytosterol beriket mat.

Vennligst kontakt Päivi Laakso, Raisio Nutrition Ltd, Eurofins, Finland (e-post: [PaiviLaakso@eurofins.fi](mailto:PaiviLaakso@eurofins.fi)) for mer informasjon eller hvis dere ønsker/kan delta i metodeavprøvingen.

Følgende NMKL-metode er nå også tilgjengelig på finsk: **NMKL-metode nr. 189, 2008:**

### Aerobt eller anaerob kimentall eller sporetall. Bestemmelse på blodagar

Metoden er en rutinemetode til bestemmelse av aerobt eller anaerob kimentall på blodagar. Metoden kan også anvendes til bestemmelse av antall bakteriesporer (sporetall).

Metoden kan f.eks. benyttes i forbindelse med drift- eller egenkontroll av alle typer næringsmidler, fôr og vannprøver.

### Se NMKLs hjemmeside, [www.nmkl.org](http://www.nmkl.org) for informasjon om

- NMKL-metoder
- NMKL-prosedyrer
- Sammenliknende laboratorieprøvinger
- Nasjonale referanselaboratorier i de Nordiske landene
- NordVal-protokoller
- NordVal-sertifikater
- Liste over sertifiserte NordVal-metoder
- Kommende NMKL/NordVal kurs/seminarer