

Notat om "pooling" af prøver til mikrobiologiske undersøgelser

Dette notat beskriver Fødevarestyrelsens retningslinjer for undersøgelse af samleprøver ("pooling") ved mikrobiologiske laboratorieundersøgelser.

Nedenstående retningslinjer gælder ikke for undersøgelse af samleprøver ("pooling"), der allerede er godkendt i forbindelse med gældende lovgivning og tilhørende vejledninger.

Baggrund

Ved pooling af prøver forstås i denne sammenhæng en sammenblanding af prøvemateriale til mikrobiologisk undersøgelse udtaget fra samme batch/lot eller sted. Prøvematerialet kan omfatte såvel foder og fødevarer såvel som miljøprøver.

Pooling / sammenblanding af identisk prøvemateriale kan foretages med henblik på at undersøge større identiske produktmængder og/eller med henblik på at reducere antallet af analyser på laboratoriet.

Pooling / sammenblanding af prøvemateriale kan ske dels i forbindelse med selve prøveudtagningen og dels i forbindelse med forbehandling og analyse på laboratoriet.

Forudsætninger for undersøgelse af samleprøver/pooling

- Undersøgelse af samleprøver / poolede prøver kan kun anvendes til kvalitative analyser – det vil sige, hvor resultatet af en analyse angives som "påvist" eller "ikke påvist".
- Undersøgelse af samleprøver / poolede prøver må ikke medføre tab af følsomhed for undersøgelsen – det vil sige, at risikoen for falsk negative analyseresultater ikke må øges sammenlignet med undersøgelse udført på enkelt prøver.

Definitioner af prøvetyper og begreber i relation hertil er givet i standarden:

- ISO 7002:1986. Agricultural food products - Layout for a standard method of sampling from a lot samt
- NMKL Procedure nr. 12 (2014), Håndbok i prøvetaking av næringsmidler

Principper- og modeller for sammenblanding af prøvemateriale / pooling er beskrevet i standarden:

- DS/EN ISO 6887-1:2017 Mikrobiologiske undersøgelser i fødevarekæden – Forberedelse af prøvemateriale, første fortynding og tifoldsfortyndinger til mikrobiologiske undersøgelser – Del 1: Generelle regler vedrørende første fortynding og tifoldsfortyndinger, Annex A (Illustration of pooling and compositing procedures).

Af nævnte standard fremgår endvidere, at uanset hvilken model for pooling af prøvemateriale, der anvendes, skal denne verificeres med henblik på at dokumentere, at risikoen for falsk negative analyseresultater ikke øges.

Verifikation kan foretages i henhold til:

- DS/EN ISO 6887-1:2017 Mikrobiologiske undersøgelser i fødevarekæden – Forberedelse af prøvemateriale, første fortynding og tifoldsfortyndinger til mikrobiologiske undersøgelser – Del 1: Generelle regler vedrørende første fortynding og tifoldsfortyndinger, **Annex D (Verification protocol for pooling samples for qualitative tests)**

Gældende lovgivning og vejledninger om pooling af prøver

Af Kommissionens forordning (EF) Nr. 2073/2005 af 15. november 2005 om mikrobiologiske kriterier for fødevarer, artikel 5, stk. 5 fremgår det at:

- En fødevarevirksomhedsleder kan anvende andre prøveudtagnings- og undersøgelsesprocedurer, hvis vedkommende over for den ansvarlige myndighed kan dokumentere, at de pågældende procedurer mindst giver tilsvarende garantier.
- Det kan accepteres, at der anvendes alternative analysemetoder, hvis metoderne er validerede på grundlag af referencemetoden i bilag I, og hvis der anvendes en ophavsretligt beskyttet metode, der er certificeret af en tredjepart i overensstemmelse med protokollen i EN/ISO-standard 16140 eller andre internationalt anerkendte lignende protokoller.
- Hvis fødevarevirksomhedslederen ønsker at anvende andre analysemetoder end sådanne validerede og certificerede metoder, jf. afsnit 3, skal metoderne valideres i overensstemmelse med internationalt anerkendte protokoller, og den kompetente myndighed skal have givet tilladelse til anvendelsen.

Af ”Vejledning nr. 9774 af 30. juni 2022 om mikrobiologiske kriterier for fødevarer” afsnit 8.2 fremgår:

- I nogle tilfælde vil det være muligt at samle (poole) prøver, inden selve analysen. Fx for de kriterier, hvor der er krav om fravær af en bakterie, dens toksin eller nedbrydningsprodukt. Det er ikke muligt at poole prøver, når kriteriet kræver en kvantitativ undersøgelse. Hvis virksomheden vil poole prøver, skal den dokumentere, at metodens følsomhed ikke reduceres nævneværdigt ved pooling af prøverne. For salmonella i hakket kød er det accepteret, at poole prøverne således, at fem prøver af 10 g pooles til en prøve på 50 g. Det forudsætter, at man øger mængden af fortyndingsvæske ved analysen tilsvarende, så blandingsforholdet fortsat er 1:9. Herudover er kravene til dokumentation samt proceduren for godkendelse bekrævet.

Kommissionens NON-PAPER (Pooling of samples in the frame of Commission Regulation (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs) angiver følgende:

- Pooling er tilladt, hvis analyser af den specifikke kombination af fødevarematrix og mikroorganisme resulterer i ækvivalente resultater ved sammenligning af individuelle og poolede prøver. Fødevarestyrelsen skal godkende dokumentationen for disse analyser.

Både lovgivningen, vejledninger og ISO-standarderne giver således mulighed for at undersøge samleprøver/poolede prøver, men forudsætningen for pooling er, at der skal foreligge dokumentation for, at resultaterne af analysen ikke vil blive påvirket i forhold til individuelt analyserede prøveenheder.

Vurdering af verifikationsdata

Af standarden DS/EN ISO 6887-1:2017 Mikrobiologiske undersøgelser i fødevarekæden – Forberedelse af prøvemateriale, første fortynding og tifoldsfortyndinger til mikrobiologiske undersøgelser – Del 1: Generelle regler vedrørende første fortynding og tifoldsfortyndinger, Annex D (Verification protocol for pooling samples for qualitative tests) fremgår det af Annex D, pkt D.2, at verifikationsundersøgelserne skal gentages minimum fem gange, men helst otte til 10 gange.

Ved vurdering af sådanne verifikationsundersøgelser anbefaler Fødevestyrelsen, at testproceduren dokumenteres ved 10 gentagelser. Antallet af gentagelser, antallet af genfindinger samt usikkerheden ved den anvendte procedure skal indgå i den statistisk baserede vurdering af dokumentationsmaterialet.

Konklusion

Fødevestyrelsen accepterer, at kvalitative mikrobiologiske analyser udføres på samleprøver / poolede prøver under forudsætning af:

- At der fra det laboratorium, der udfører analysen, foreligger dokumentation for, at risikoen for falsk negative analyseresultater ikke øges sammenlignet med undersøgelse udført på enkelt prøver.
- Den nævnte dokumentation skal være udført i henhold til procedurerne beskrevet i DS/EN ISO 6887-1:2017 Mikrobiologiske undersøgelser i fødevarekæden – Forberedelse af prøvemateriale, første fortynding og tifoldsfortyndinger til mikrobiologiske undersøgelser – Del 1: Generelle regler vedrørende første fortynding og tifoldsfortyndinger, Annex D (Verification protocol for pooling samples for qualitative tests)
- Analysen udføres af et laboratorium, der er i henhold til DS/EN ISO/IEC 17025:2017. "Generelle krav til prøvnings- og kalibreringslaboratoriets kompetence" er akkrediteret til den ansøgte kombination af matrix og analyseparameter/metode.