

MIKROBIOLÓGIAI VIZSGÁLATOKKAL SZEMBEN TÁMASZTOTT ÚJABB KÖVETELMÉNYEK

Tabajdiné Pintér Vera

Országos Élelmiszervizsgáló Intézet

A XX.sz. végén az élelmiszer-mikrobiológiai vizsgálatok területén a legfontosabb feladat az élelmiszerbiztonságot és a termék minőségét veszélyeztető mikrobák kimutatási módszereinek gyorsítása, korszerűsítése, automatizálása volt, hogy a laboratórium megbízhatóan szolgálja ki a kereskedelmi, vállalati, hatósági managementet a megfelelő biztonságú döntések meghozatalához. Ehhez kellően gyors módszerekre van szükség, hiszen a laborkapacitás nem szabhat határt a biztonságos mintavételnek. A társtudományok minden eredménye robbanásszerűen vonult be a mikrobiológiába. Ezt a nagy lendületet azonban józan üteműre mérsékeltek a mikrobiológiai vizsgálatokra is egyre szigorúbban bevezetésre kerülő matematikai statisztikai megfontolások, a jó értelemben vett egységesítési törekvések. Nagy szükség is volt rá, hiszen egyes reklámanyagok néha "hamis illúziót" is ébresztettek, sőt a szakismeretet is nélkülözhetőnek tüntették fel, továbbá elhallgatták a megerősítő vizsgálatok szükségességét.

Az alternatív módszerek megjelenése jót tett a klasszikus mikrobiológiai vizsgálatoknak is, azok újragondolása szép új megoldásokat eredményezett. Különösen igaz ez a Salmonella vizsgálatokra, ahol a túlzott egységesítési törekvés megváltozott, és újra a mikroökológiai szemlélet az uralkodó a területen, ami az élelmiszervizsgálatok során elengedhetetlen.

A módszerek objektív megítélésének és az egységes vizsgálatok végzésének legfontosabb eszköze (mérőszáma) a körvizsgálat.

Az Országos Élelmiszervizsgáló Intézetben és jogelőd intézeteiben több mint 20 éve folyó körvizsgálatok során kezdetben a mikrobiológiai módszerek kiválasztása, szabványosításra történő előkészítése és a módszerek betanítása, valamint az egységes laboratóriumi hálózat biztosítása volt a célja.

Napjainkban a nemzetközi kihívásoknak való megfelelés a cél, részben a honosított ISO és EU szabványok szerinti jártasság igazolása, másrészt az akkreditálási követelményeknek való megfelelés.

1. Hatályos mikrobiológiai szabványok

1.1 Nemzetközi trendek

A szabványok jelentősége - bár alkalmazásuk nem kötelező - a kereskedelmi szerződésekben való hivatkozásuk miatt erősen felértékelődött (Petróné 2000). A WTO egészségügyi és növény-egészségügyi intézkedések alkalmazására vonatkozó egyezménye az SPS általánosságban kötelezi tagjait a nemzetközi szabványok honosítására. A Nemzetközi Szabványügyi Szervezet az ISO mellett azonban több más nemzetközi szervezet is foglakozik

élelmiszeripari vizsgálati szabványok kidolgozásával, így nem könnyű eligazodni, hogy mikor mely dokumentum figyelembevételre a legcélszerűbb.

Mikrobiológiai vizsgálati szabványokat ad ki az ISO, CEN, MSZT, továbbá egyéb nemzetközi szervezetek, amelyek közül többen speciális szakterületekre vonatkozó módszerkönyveket, ajánlásokat is kidolgoznak. Ezek közül (a teljesség igénye nélkül) a következők a legismertebbek:

AOAC (Analitikai Kémikusok Nemzetközi Szövetsége), ICUMSA (Cukorvizsgálati módszerek egységesítésének Nemzetközi Bizottsága), IDF (Nemzetközi Tejipari Szövetség), ICC (Nemzetközi Gabonatudományi és Technológiai Szövetség), IFJU (Gyümölcsle gyártók Nemzetközi Szövetsége), OICC (Csokoládé gyártók Nemzetközi Szövetsége), UNESDA/CISDA (Üdítőital gyártók Szövetsége).

Az átláthatóság, az új információk gyorsabb és hatékonyabb áramlása miatt szükséges harmonizáció elkezdődött. Mivel a WTO a szabványosítás területén az ISO-t ismerte el legfontosabb partnerének, vele együttműködve kerülnek kiadásra a jövőben például az IDF szabványok úgy, hogy a kidolgozásban az AOAC is részt vesz. EN ISO logóval jelennek meg az újabb európai szabványok, ISO szabványosításban pedig összevonják a különböző munkacsoportok mikrobiológiai szabványait, csak a tej, víz és az általános élelmiszer szabványok maradnak meg.

1.2 Hazai vonatkozások

A magyar hatályos szabványok két nagy csoportra oszthatók. Az egyikben a honosított ISO, CEN vagy közös szabványok találhatók meg (MSZ EN ISO 11 db, MSZ EN 2db, MSZ ISO 13 db), a másikban a hetvenes években elkészített hazai MSZ szabványok vannak.

Jelenleg 72 élelmiszer és tej szabvány van érvényben, amelyből 55 a vizsgálati szabvány.

Több mikrobát is tartalmaz: 7 szabvány (Cukor, liszt, sör, izoszörp, margarin, sütőipari termékek, üdítőitalok). Ez a szabványmennyiség sok is meg kevés is. 21 szabványt részben vagy egészen törölni kellett volna az átfedések miatt. Pl. egy liszt mikrobaszámának meghatározására érvényes szabványos vizsgálati módszer az MSZ ISO 7698:1993, a MSZ ISO 4833:1999 és az MSZ 6369-16:1983

Ugyanakkor ahhoz, hogy a jogszabályban előírt határértékeknek megfelelően szabványos módszerrel vizsgálhassanak a laboratóriumok, honosítani kellene kb. 10 ISO szabványt, módosítani kellene 2 MSZ szabványt és átvenni, vagy kidolgozni 8 szabványt.

2. Akkreditálási követelményeknek való megfelelés

A vizsgáló és kalibráló laboratóriumok alkalmasságának általános követelményei -t az MSZ EN ISO/IEC 17025:2001 szabvány tartalmazza, melyre az Akkreditálási Tanács határozata alapján 2002. december 31.-ig kell áttérni

E szabvány 5.4 pontja a vizsgáló módszerekkel kapcsolatban előírja, hogy elsősorban nemzetközi, regionális és nemzeti szabványokat kell alkalmazni (ezeket nem kell kiegészíteni, újra írni, mint belső eljárásokat, ha a személyzet eredeti formában használni tudja), másrészt hogy a laboratóriumban kifejlesztett, vagy átvett módszert a használatba vétel előtt validálni kell. Validálni kell a

- nem szabványos módszereket
- saját kifejlesztésű módszereket
- működési területen kívül eső szabványos módszereket
- szabványos módszerek kiegészítéseit, módosításait

A vizsgálati módszer jellemző paramétereinek meghatározására szolgáló eljárás mikrobiológiai területen az EN ISO 16140 szabványban van rögzítve mind a jelenlét/hiány

próbákra, mind a szám meghatározási módszerekre vonatkozóan. A szabvány kidolgozásához jelentősen hozzájárult az a MICROVAL (Validation of Microbiological Methods for Food and Drink in Europe) szervezet, amely az alternatív korszerű (gyors) módszerek iránti igény, a piaci nyomás és a HACCP igények valamint a nemzetközi kereskedelmi szervezetek hatására alakult meg.

Célja az alternatív mikrobiológiai módszerek validálására szolgáló szabvány kidolgozásán túl a validálási eljárás lerövidítése, hogy az alternatív módszerek mielőbb bekerüljenek az akkreditált laboratóriumok módszergyűjteményébe. Tagjai: Hollandia, Svájc, Norvégia, Anglia, Franciaország, Németország, Spanyolország, Portugália szabványosítási testületei

2.1 *Qualitatív mikrobiológiai vizsgálati módszerek validálása az EN ISO 16140:2000 szerint.*

A validálás annak igazolása, hogy az alternatív módszer (gyors, érzékeny, egyszerű, automatizált, olcsó) összehasonlítható eredményt ad a referencia módszerrel (ISO, CEN szabványokban előírt).

Lépései: 1. Alternatív és referencia módszer laboratóriumon belüli összehasonlítása

2. Körvizsgálat (minimum 10 laboratórium részvételével)

Annak a ténynek az eldöntésére, hogy egy alternatív módszer megfelelő-e meg kell határozni a módszer jellemző paramétereit és azok konfidencia intervallumait..

Jellemző paraméterek:

1. Relatív pontosság: $100 \cdot (p+n)/N \%$
2. Relatív specifikusság: $100 \cdot n / (n+f_p) \%$
3. Relatív érzékenység: $100 \cdot p / (p+f_n) \%$

	Referencia +	Referencia -
Alternatív +	p	f _p
Alternatív -	f _n	n

Ahol: f_p: fals pozitív, f_n: fals negatív, p: pozitív, n: negatív, N: összes

Az összehasonlító vizsgálatokhoz a matematikai értékelhetőségnek megfelelően elő van írva, hogy termékcsoportonként hány mintát és hány elemi mintát kell megvizsgálni, továbbá az is, hogy milyen cél mikroba törzsekkel és milyen kísérő flórával.

2.2 *Quantitatív mikrobiológiai vizsgálati módszerek validálása*

Lépései: 1. Alternatív és referencia módszer laboratóriumon belüli összehasonlítása

2. Körvizsgálat (minimum 10 laboratórium részvételével)

Annak a ténynek az eldöntésére, hogy egy alternatív módszer megfelelő-e, meg kell határozni a módszer jellemző paramétereit és azok konfidencia intervallumait.

Jellemző paraméterek:

1. Linearitás
2. Kritikus szint
3. Detekciós limit
4. Meghatározási limit
5. Relatív érzékenység
6. Relatív pontosság
7. Relatív specifikusság
8. Ismételhetség
9. Összehasonlíthatóság

Módszerválasztás szempontjai

- vizsgálat célja
- biztonsági szint
- mintavételi terv
- validálás érzékenység
 specifikusság
 pontosság
- élelmiszer összetétele
- károsodott sejtek kimutatási képessége
- vizsgálati idő
- automatizálás, adattárolás, adatelemzés
- szervíz és céginformációk
- vizsgálati költség

3. KÖRVIZSGÁLATOK TAPASZTALATAI

Szervezés

Rejtett párhuzamosok és zavaró minták
Homogén minták
Stabil minták

Vizsgálat

Módszer kiválasztás
Eszköz kiválasztás
Eredmény megadási módszer (súlyozott átlag)

Értékelés

ISO
FEPAS

Jó eredmény feltétele:

Módszereink teljesítőképességének ismerete (előnyök)
hibák, korlátok)
Mikroökológiai és technológiai ismeretek

A körvizsgálatok értékelése

Minősítés	ISO 5725 szabvány alapján	FEPAS útmutató alapján
Megfelelő ($ x - X_{\text{átl}} \leq R/2$ és $ x_a - x_b \leq r/2$	$ z \leq 1$
Bizonytalan		$1 < z \leq 2$
Nem felel meg	$ x - X_{\text{átl}} > R/2$ és $ x_a - x_b > r/2$	$ z > 2$

ahol x : a résztvevő által mért érték
 $X_{\text{átl}}$: a becsült közös átlagérték
 $x_a - x_b$: a két rejtett párhuzamos közötti különbség
 R : összehasonlíthatóság (két labor mérési eredménye között megengedhető eltérés, ugyanabból a homogén mintából mérve)
 r : ismételhetőség (két mérési eredmény között megengedett eltérés azonos laboratóriumban, azonos mintából mérve)

$\sigma: R/2$
 $z: (x - \bar{x}_{\text{atl}}) / \sigma$

FEPAS (Food Examination Performance Assessment Scheme)

SALMONELLA PROFICIENCY TEST 2000

Results Evaluation

Laboratory: **OEVI**

Annual Code:401

Sample Codes	Your Results	Expected Results
S/P00 2330	+	+
S/P00 3172	+	+
S/P00 2338	+	+
S/E00 3108	+	+
S/E00 7345	+	+
S/E00 7498	+	+
S/E00 9683	+	+
S/E00 9347	+	+
S/P00 6840	-	-
S/P00 5748	-	-
S/P00 2400	-	-
S/E00 4035	-	-

SUMMARY

	Your Correct positives Results	Expected positives Results
Environment(E)	5	5
Product(P)	3	3
Total	8	8

You Found 0 False Positive(s)

SUMMARY OF RESULTS EVALUATION:

Good performance, all of the results have been correctly reported.

3.Továbbképzés

Az Országos Élelmiszervizsgáló Intézet, mint a legtöbb és legnagyobb volumenű körvizsgálatok szervezője nemzetközi porondon való megfelelését, a legkülönbözőbb nemzetközi szervezetek által bonyolított körvizsgálatokban való részvétellel igazolja.

A szerző ismerteti a hazai körvizsgálatok tapasztalatait az élelmiszerellenőrző hálózatban és az akkreditált laboratóriumokban szervezett körvizsgálatok során, valamint négy nemzetközi szervezet által szervezett körvizsgálatok tapasztalatait.

Összehasonlításra kerülnek az ISO és a FEPAS értékelési módszerek, meghatározásra kerülnek a körvizsgálat szervezés korszerű követelményei, valamint a mikrobiológiai módszerekkel szemben támasztott növekvő igények.

Ismertetésre kerülnek a speciális mikrobiológiai szempontokat figyelembe vevő EN ISO 16140:2000 Alternatív mikrobiológiai módszerek validálásáról szóló szabvány legfontosabb momentumai, valamint az ISO 17025:1999 A vizsgáló és kalibráló laboratóriumok alkalmasságának általános követelményei, továbbá az AOAC és a MICROVAL





