

# **Durchführung und Ergebnisse des Ringversuchs „Salmonella - Nachweis in Geflügelkot“ 2009**

Alexandra Friedrich, Christina Dorn,  
Christine Sommerfeld, Burkhard Malorny  
und Reiner Helmuth

# Salmonella-Ringversuch 2009: Ziel des Ringversuchs

- Kompetenznachweis der beteiligten Laboratorien
- Nachweis der Labore, dass sie in der Lage sind, mit der Methodik der **ISO 6579:2002/Amd1 2007 Annex D** Salmonellen aus Geflügelkot zu isolieren und somit an den **Bekämpfungsprogrammen gemäß VO (EG) Nr. 2160/2003** teilzunehmen.
- Ringversuche werden in VO (EG) Nr. 2160/2003 gefordert

# Gesetzliche Vorgaben zur Durchführung von Ringversuchen

- Anhang H der DIN EN ISO 16140:2003-9  
Mikrobiologie von Lebens- und Futtermitteln –  
Arbeitsvorschrift für die Validierung alternativer Verfahren
- DIN-Entwurf NA 057-01-06 N 967 Leitfaden für Laborvergleiche
- ISO/IEC 17043 Conformity assessment – General requirements for proficiency testing
- Amtliche Sammlung nach § 64 LFBG 00.00-4-20, auf Grundlage von DIN EN 12827 (Sept. 1998), die auf der ISO 6579 basiert
- SOP 064-3 des BfR (Organisierung von Ringversuchen zur Durchführung von Laborvergleichsuntersuchungen/Eignungs-prüfungstests und zur Methodenvvalidierung)
- Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung in der Mikrobiologie, Teil A und B (Dt. Ärzteblatt 91, s. 211 - 212 vom 28.1.1994)

# Vorgaben der DIN EN ISO 16140 : 2003, Anhang H

## 1. Anforderungen an die Matrix (Geflügelkot)

- *Salmonella* negativ
- homogen
- stabil nach dem Einfrieren

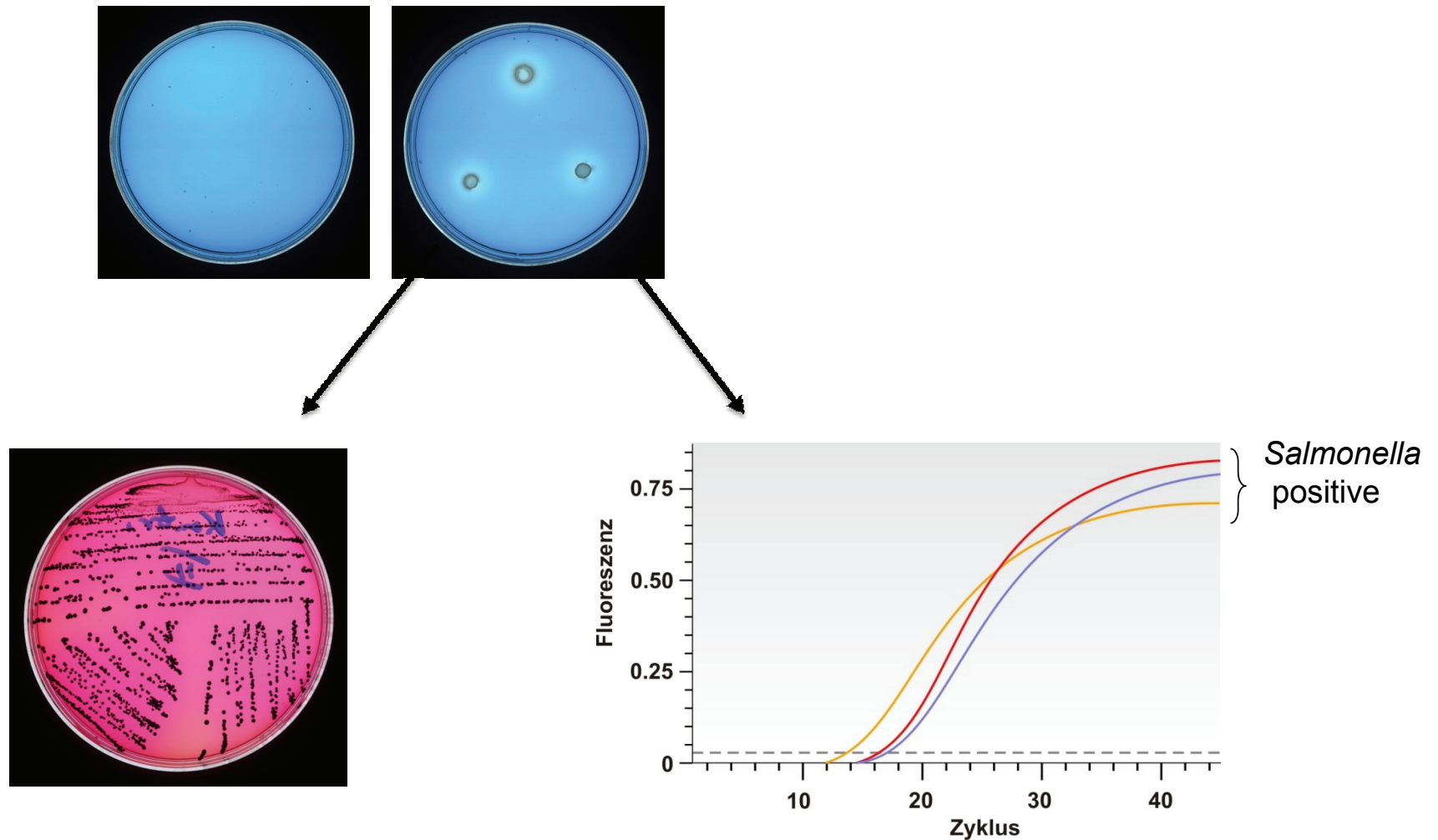
Untersuchung nach Anhang I

mindestens sechs Proben vor Versuchsbeginn und weitere Negativproben während des Versuchs werden untersucht – deren Anzahl wird durch die Versuchsvorschrift bestimmt.

Am NRL-Salm liefen seit Juli/August 2009 die Vorversuche zur Stabilität und zum negativen *Salmonella*-Status von Geflügelkot aus dem Zentrum für experimentelle Tierhaltung des BfR

# Vorversuche am NRL-Salm

ISO 6579:2002/Amd1 2007 Annex D



# Vorgaben der DIN EN ISO 16140 : 2003, Anhang H

## 2. Dotierungsmaterial (Tabletten):

- Hersteller der Tabletten: Health Protection Agency in Newcastle
- Referenzstamm: *Salmonella* Enteritidis NCTC 6676
  
- Salmonella-Gehalt:
  - 0 KBE
  - 15 KBE (8 - 23 KBE)
  - 529 KBE (500 - 590 KBE)
  
- Lieferung an das BfR am 05.08.2009 auf Trockeneis
- Lagerung erfolgte bei - 27°C

# Vorgaben der DIN EN ISO 16140 : 2003, Anhang H

## 3. Rechtzeitig versenden vor Versuchsbeginn

- Arbeitsvorschrift: entsprechend ISO 6579:2002/ A1 2007
- Auswahl der Nährmedien
- Ergebnisprotokoll

## 4. Transport

- Transport mit TNT
- Der Versand der Pakete für die Ringversuche fand am 15.10.09 statt, die Materialien wurden in einem Paket auf Trockeneis transportiert.

# Vorgaben der DIN EN ISO 16140 : 2003, Anhang H

## 5. Qualifikationsnachweis

Nachweis der Qualifikation vor dem Versuch feststellen

z.B. Akkreditierungsnachweise

## 6. Proben in den Ringversuchen

- fünffache Wiederholungen
- drei Konzentrationen (0, 15, 529 KBE) = 15 zu untersuchende Proben
- vier testinterne Kontrollen (Proben Nr. 16 bis 19)

Der Ringversuch zum Salmonellennachweis in Geflügelkot fand in der Woche vom 02.11.-13.11.2009 statt.



# Vorgaben der DIN EN ISO 16140 : 2003, Anhang H

## 7. Teilnehmerzahl

VORGABE: Anzahl der teilnehmenden Labore mindestens 10, möglichst 25

Ringversuch Salmonellennachweis in Geflügelkot:  
**51** Labore nahmen 2009 teil

## 8. Statistische Auswertung

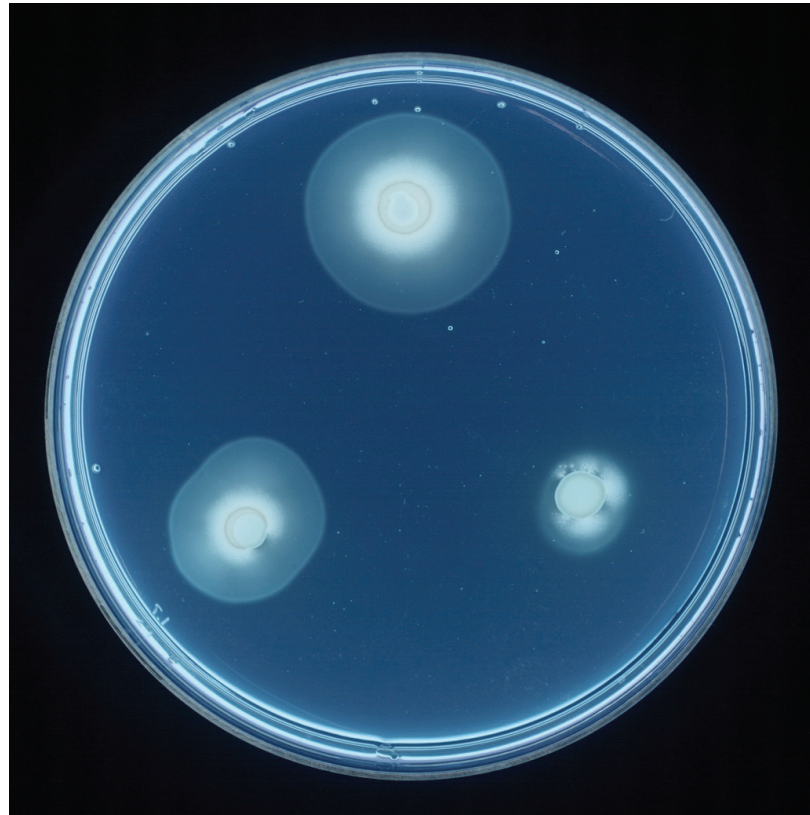
- nach Anhang L der DIN ISO 16140:2003

# Durchführung des Ringversuchs 2009

Gefordert: Selektivanreicherung mit MSRV  
(ISO 6579:2002/Amd1 2007 Annex D)

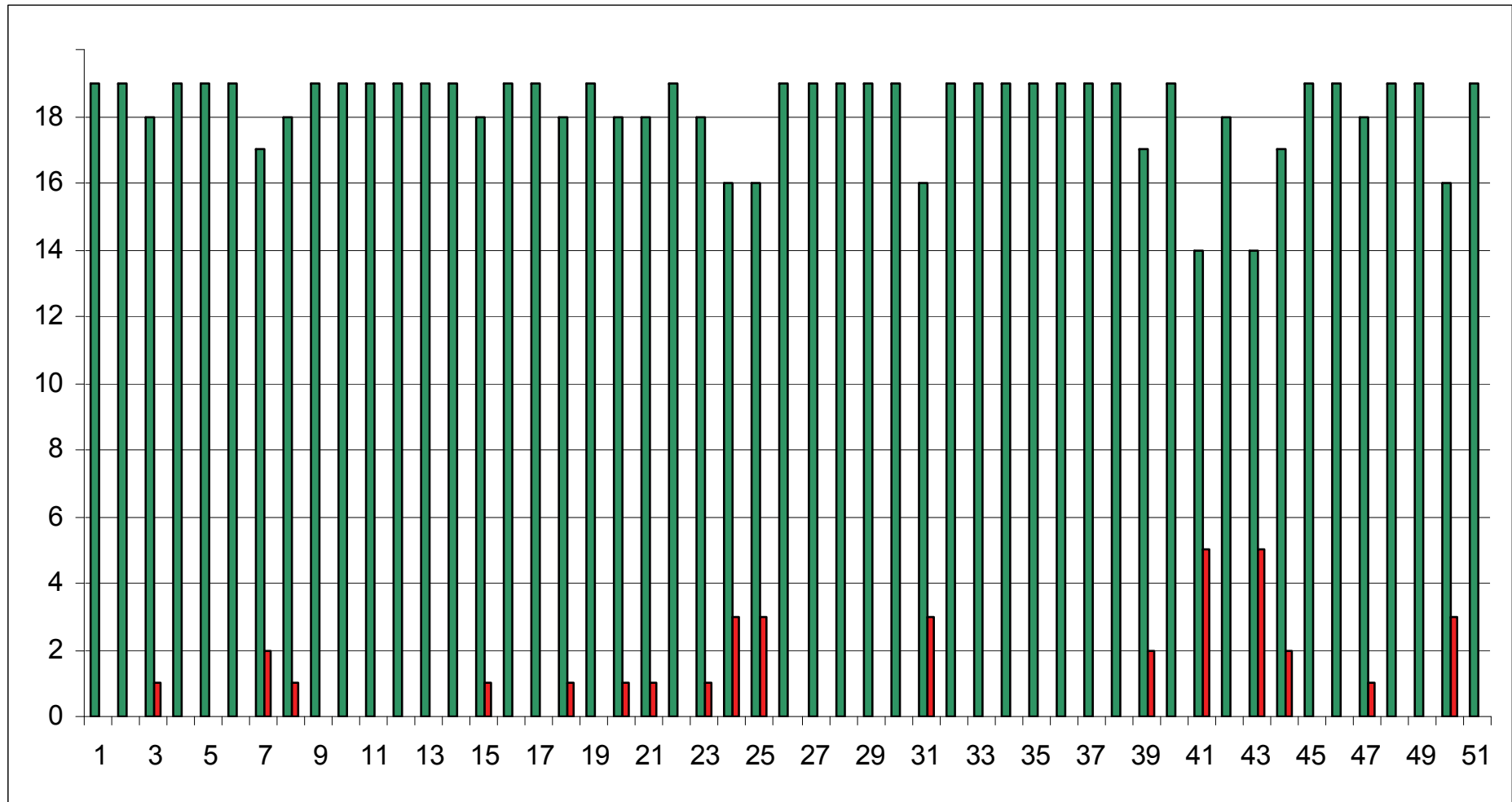
Optional zusätzlich: zweite Anreicherung (RV, MKTTn)  
PCR

# Ergebnisse nach 6579:2002/Amd1 2007 Annex D

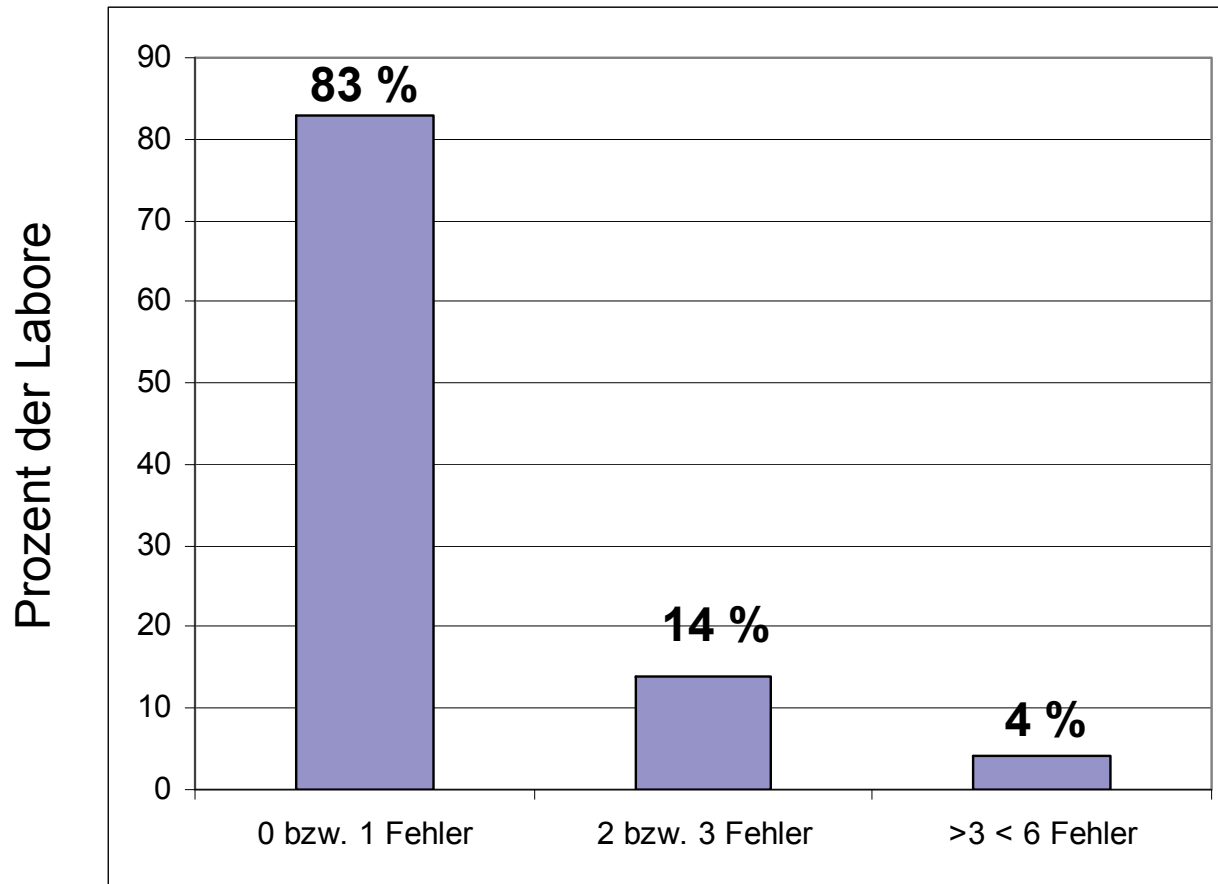


# Ergebnisse Salmonella-Ringversuch 2009 Geflügelkot (MSRV)

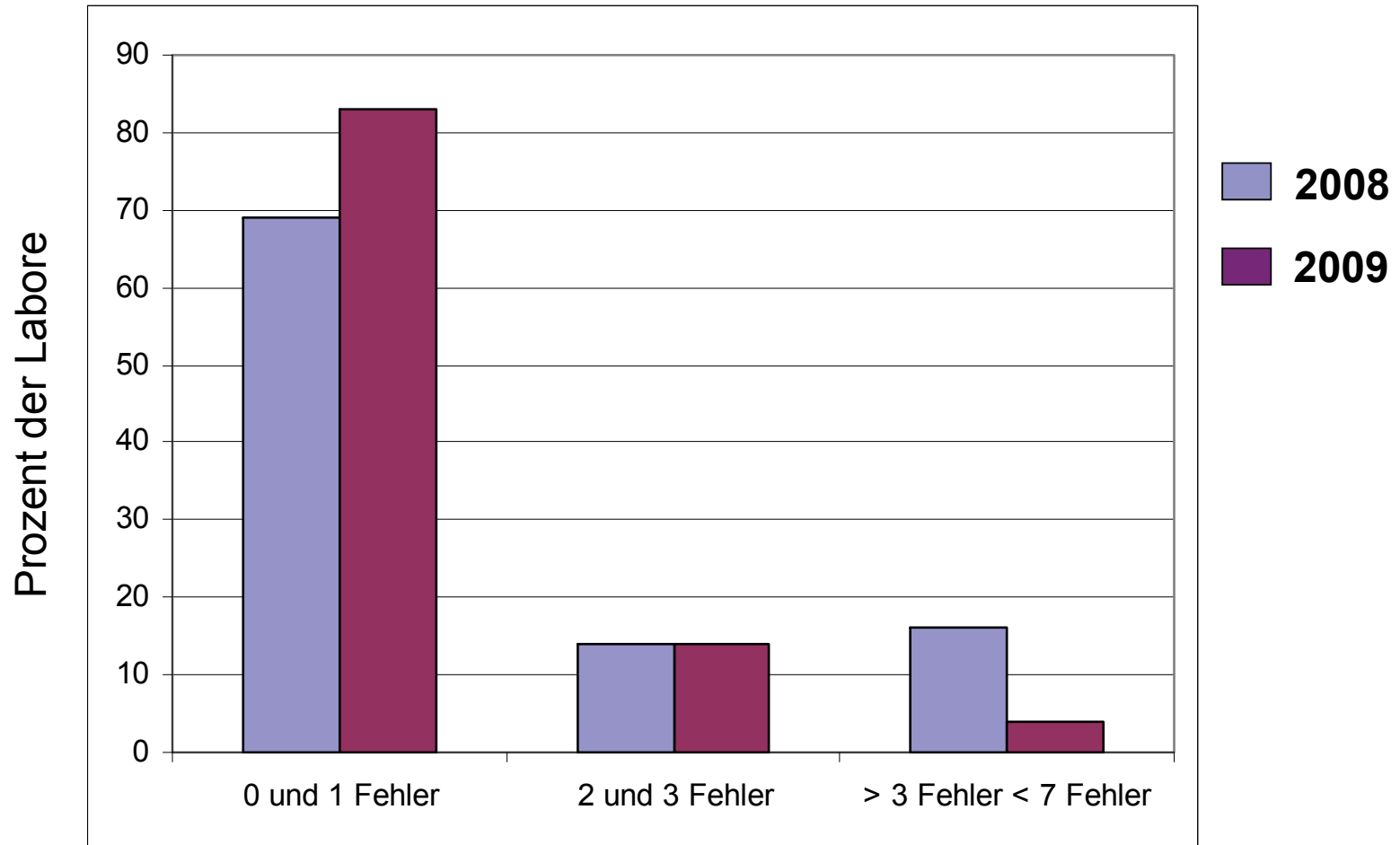
## Anzahl der richtigen (grün) und falschen (rot) Ergebnisse



# Ergebnisse des RV 2009 (MSRV)

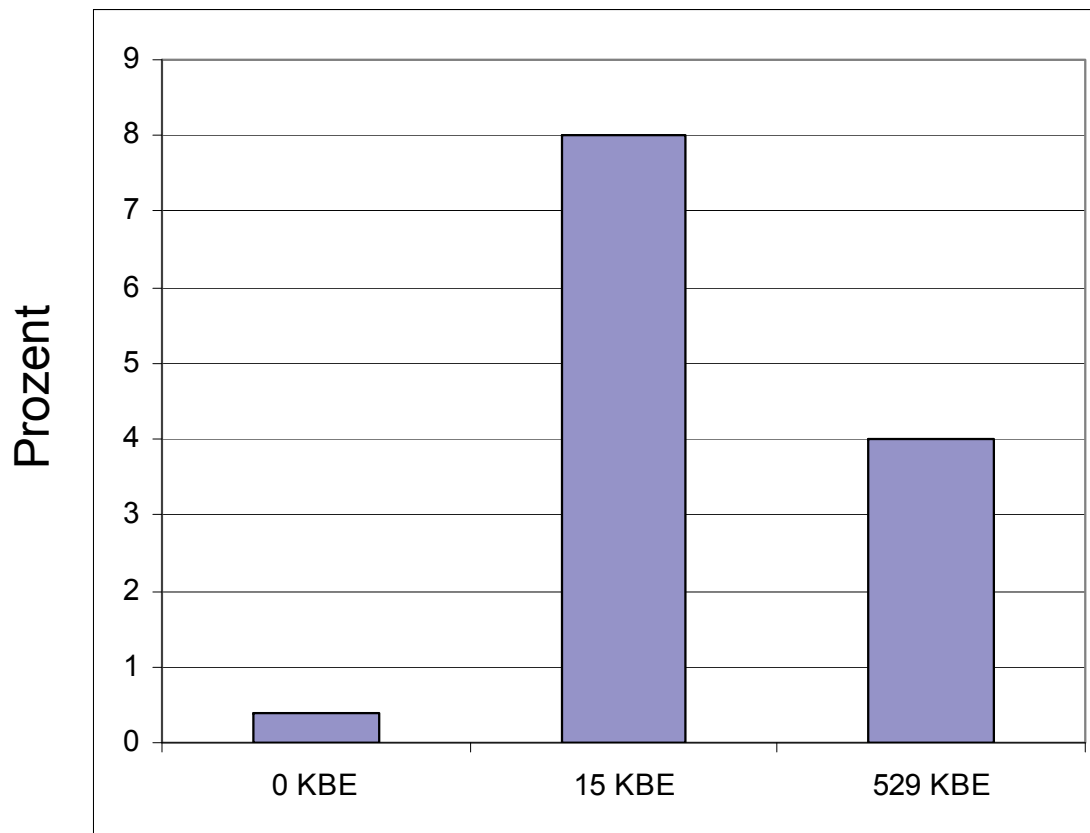


# Vergleich der Ergebnisse aus den Jahren 2008 und 2009

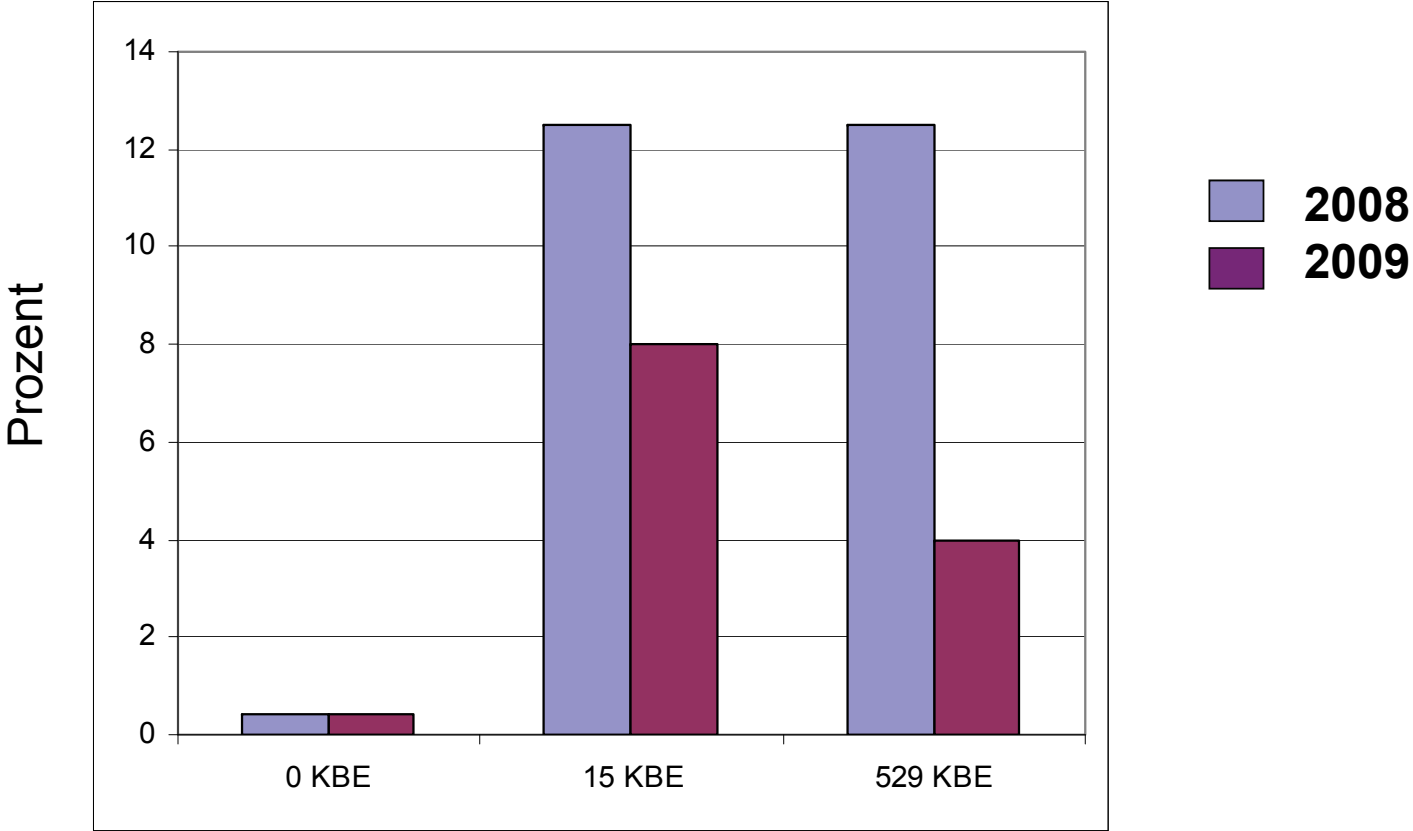


# Salmonella-Ringversuch 2009 Geflügelkot

## Fehlerquoten der Selektivanreicherungen in % je Konzentrationsstufe



# Fehlerquoten der Jahre 2008 und 2009 im Vergleich



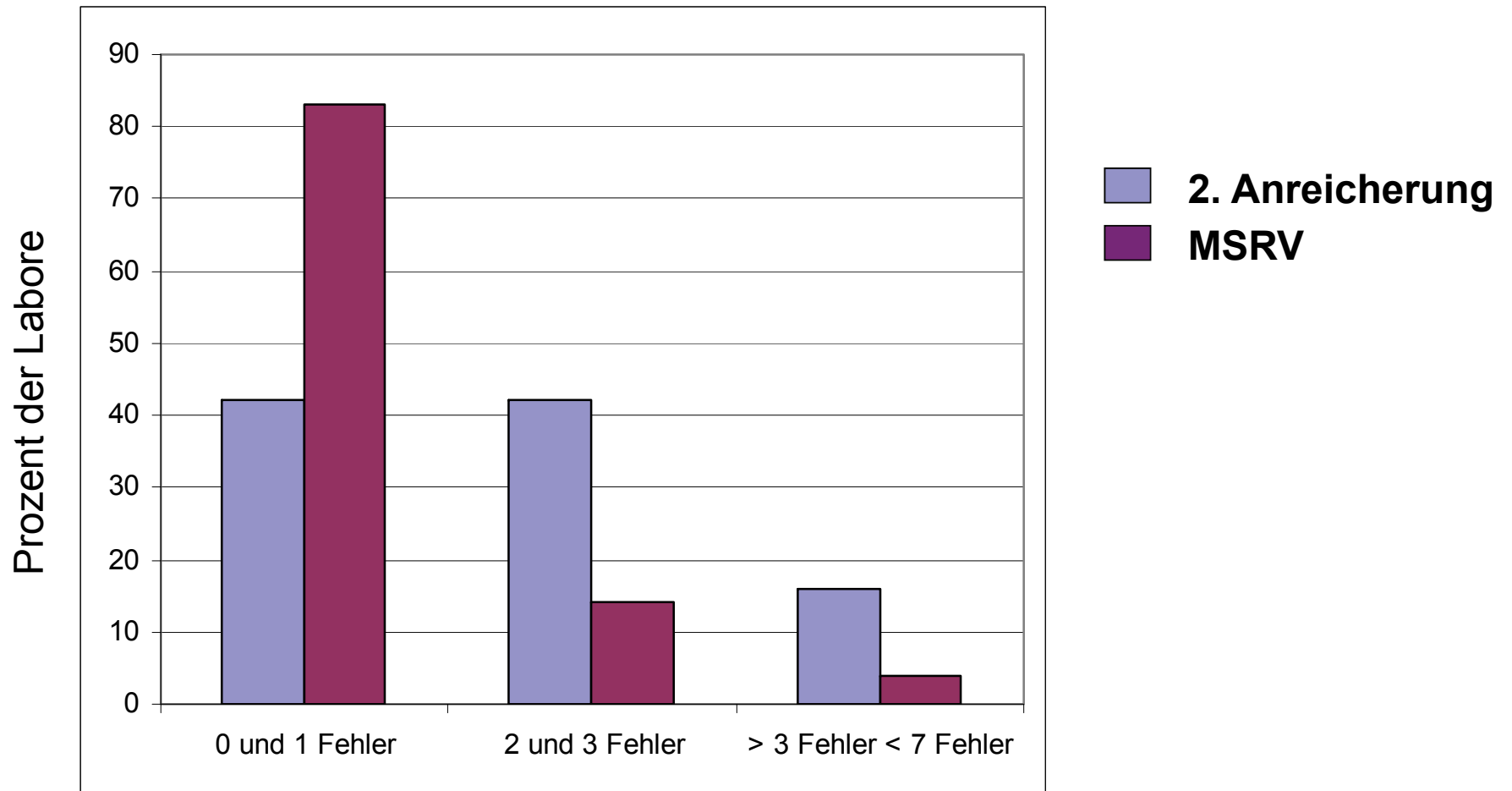


# Ergebnisse Salmonella-Ringversuch 2009 Geflügelkot mit zweiter Anreicherung bzw. PCR

**2. Anreicherung: 19 Labore**

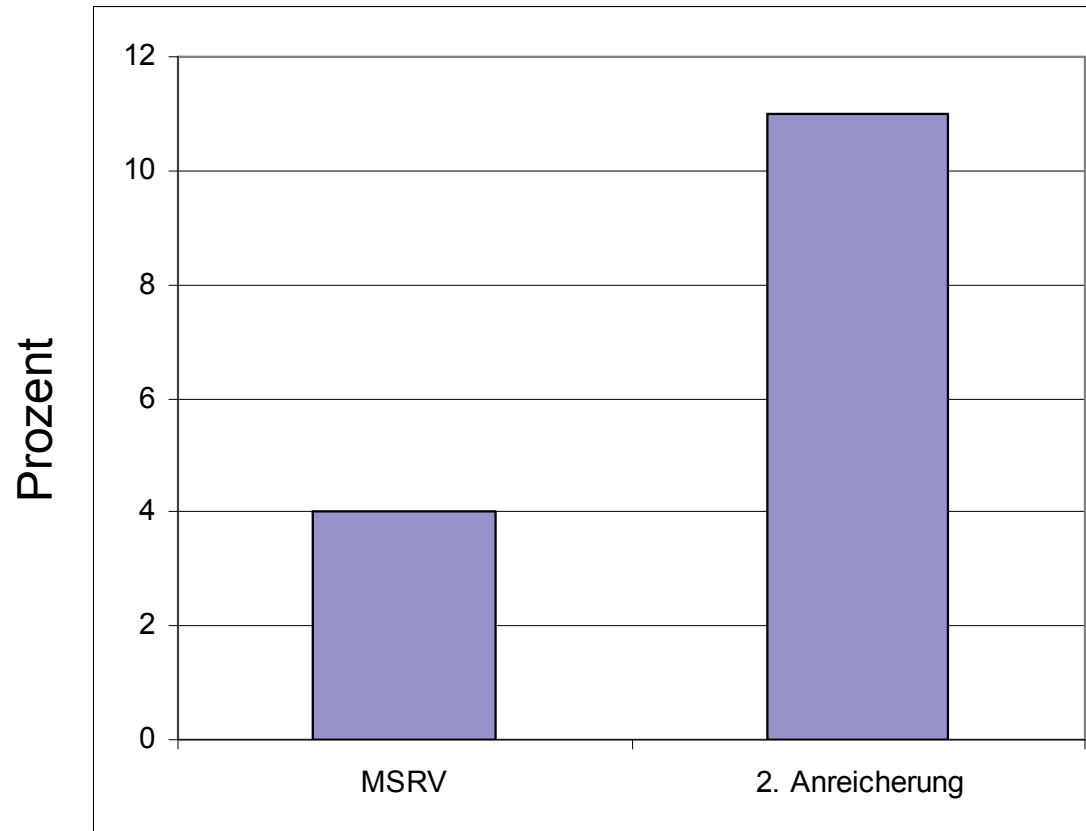
**PCR : 12 Labore**

# Vergleich der MSRV und 2. optionale Anreicherung

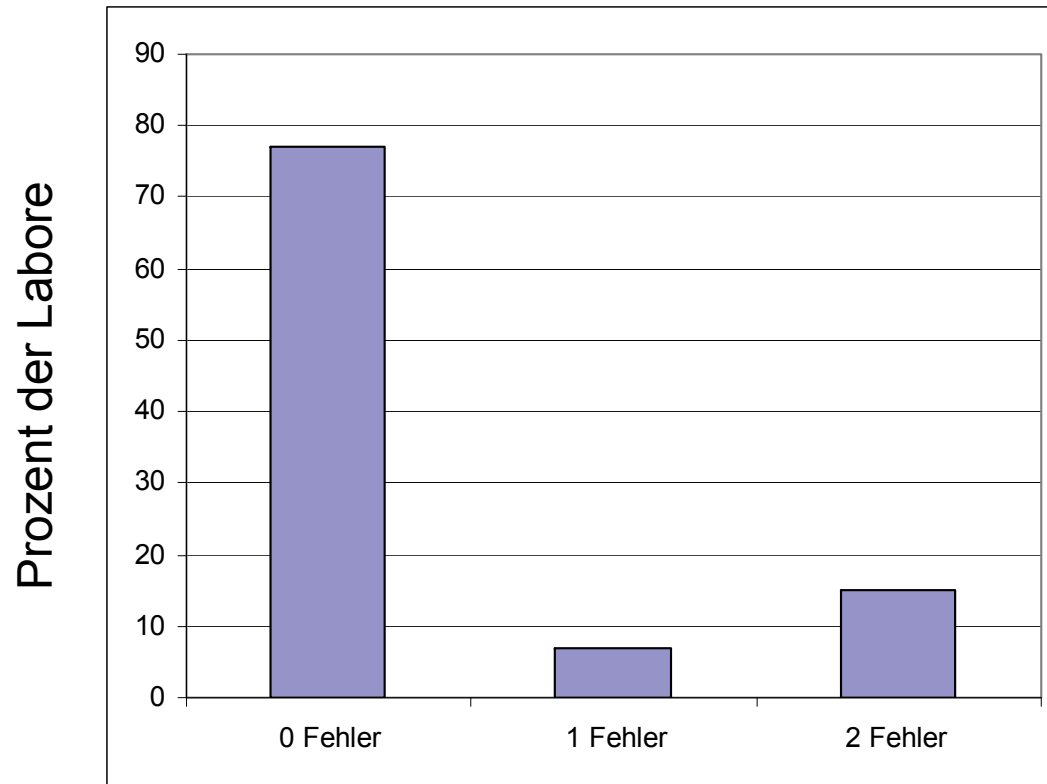


# Salmonella-Ringversuch 2009 Geflügelkot

## Fehlerquoten der Selektivanreicherungen in %



# Ergebnisse des Ringversuchs mit PCR



# Salmonella-Ringversuch 2009 Geflügelkot

## Statistische Auswertungen (Frau Sommerfeld)

Sensitivität : =  $\frac{\text{Zahl der positiv bestimmten Proben}}{\text{Zahl der real positiven Proben}} \times 100$  in %

Spezifität : =  $\frac{\text{Zahl der negativ bestimmten Proben}}{\text{Zahl der real negativen Proben}} \times 100$  in %

Genauigkeit : =  $\frac{\text{Zahl der positiv+negativ bestimmten Proben}}{\text{Gesamtzahl der Proben}} \times 100$  in %

Übereinstimmung : = Maßzahl für die Qualität der Arbeit in einem Labor

Konkordanz : = Maßzahl zum Vergleich zwischen Laboren

# Salmonella-Ringversuch 2009 Geflügelkot

## Sensitivität und Spezifität der Isolierungsmethoden in %

Anreicherung	Sensitivität „+“	Sensitivität „++“	Spezifität „0“	Genauigkeit gesamt
MSRV, gesamt	94,4		99,6	96,2
MSRV	92,2	96,7		
2. Anr., gesamt	83,4		96,5	87,8
2. Anr.	81,0	85,9		

# Salmonella-Ringversuch 2009 Geflügelkot (MSRV)

## Übereinstimmung und Konkordanz in und zwischen den Laboren in %

	<b>Übereinstimmung (innerhalb Labor)</b>	<b>Konkordanz (zwischen Laboren)</b>
<b>gesamt</b>	93,3	92,6
<b>blank</b>	99,2	99,2
<b>+</b>	88,2	85,5
<b>++</b>	94,3	93,7

# Schlussfolgerungen

- Die Labore waren in der Lage, mit der vorgegebenen Methodik nach ISO 6579 Salmonellen aus Geflügelkot zu isolieren.
- Durchschnittlich bessere Ergebnisse als 2008.
- Der Ringversuch 2009 zeigt stabile Isolierungsergebnisse, d. h. einen sicheren Umgang der Labore mit der ISO und eine gute Nachweissicherheit.



# Ausblick für 2010

- **Ringversuch Nachweis von Salmonellen im Geflügelkot:**

Durchführung 20.-24.September 2010 (38. KW)

- **Änderung im Vergleich zum Vorjahr:**

Konservierung der isolierten Salmonellen

# Wir danken folgenden Kollegen für ihre tatkräftige Mitarbeit:

NRL-Salm :                      Frau Dr. Christina Dorn  
    Frau Cornelia Bunge-Croissant  
    Frau Manuela Jaber  
    Frau Martha Brom  
    Frau Johanna Ledwolorz

Fachgebiet 95:                      Frau Heidemarie Lochotzke

## Danke für Ihre Aufmerksamkeit!



Bundesinstitut für Risikobewertung • Thielallee 88-92 • D-14195 Berlin

Tel. +49 30-8412-1450 • Fax +49 30-8412-2953

[alexandra.friedrich@bfr.bund.de](mailto:alexandra.friedrich@bfr.bund.de) • [www.bfr.bund.de](http://www.bfr.bund.de)