

**Raad voor Accreditatie (RvA)**

**Specifiek Accreditatie  
Protocol (SAP) voor  
accreditatie van  
challengetesten *Listeria  
monocytogenes***

Documentcode:

RvA-SAP-L007-NL

Versie 1.0, 21-03-2022

Een Specifiek Accreditatieprotocol (SAP) omschrijft het beoordelingsproces voor een specifieke accreditatie. De algemene RvA-Reglementen, Beleidsdocumenten en Toelichtingen zijn van toepassing op dit SAP. De actuele versie van dit SAP en andere genoemde RvA documenten zijn te vinden op de website van de RvA. ([www.rva.nl](http://www.rva.nl)).

## Inhoud

<b>1 Relevante documenten</b>	<b>4</b>
1.1 Norm die voor accreditatie gebruikt wordt	4
1.2 Aanvullende norm	4
1.3 Aanvullende documenten	4
<b>2 Scope van accreditatie</b>	<b>4</b>
<b>3 Accreditatiebeoordelingen</b>	<b>5</b>
3.2 Aard en inhoud van de beoordelingen	5
<b>4 Specifieke aandachtspunten voor de RvA-beoordeling</b>	<b>5</b>
<b>5 Wijzigingen ten opzichte van de voorgaande versie</b>	<b>7</b>
<b>Bijlage 1: Aandachtspunten m.b.t. de technisch inhoudelijke aspecten van de opzet en uitvoering van <i>L. monocytogenes</i> challengetesten</b>	<b>8</b>

## INLEIDING

Dit SAP dient in samenhang met SAP-L000 te worden gelezen. In dit SAP zijn alleen aanvullende of afwijkende aspecten opgenomen. Dit betekent dat paragraafnummers kunnen ontbreken als de informatie al is opgenomen in SAP-L000.

### 1 Relevante documenten

#### 1.1 Norm die voor accreditatie gebruikt wordt

- EN-ISO/IEC 17025; Algemene eisen voor de competentie van test- en kalibratielaboratoria, nadien aangeduid als: ISO/IEC 17025

#### 1.2 Aanvullende norm

- NEN-EN-ISO 20976-1:  
Microbiologie van de voedselketen – Eisen en richtlijnen voor het uitvoeren van challengetesten voor voedsel- en diervoederproducten – Deel 1: Challengetesten voor het onderzoek naar de groeipotentie, lag-tijd en maximale groeisnelheid

#### 1.3 Aanvullende documenten

- EURL *Lm* Technical Guidance Document (TGD):  
on challenge tests and durability studies for assessing shelf-life of ready-to-eat foods related to *Listeria monocytogenes*
- Informatieblad 85 interpretatiedocument microbiologische criteria:  
toelichting van NVWA op de Europese Verordening (EG) Nr. 2073/2005 over microbiologische criteria voor levensmiddelen

De actuele versie van deze documenten kan worden gedownload van de website van de respectievelijke organisaties: NEN ([www.nen.nl](http://www.nen.nl)), de Europese Commissie ([www.ec.europa.eu](http://www.ec.europa.eu)) en NVWA ([www.nvwa.nl](http://www.nvwa.nl)).

## 2 Scope van accreditatie

Specifiek voor deze accreditatie wordt de scope geformuleerd zoals hieronder weergegeven.

Nr.	Materiaal of product	Verrichting/ Onderzoeksmethode	Intern referentienummer	Locatie
1	Kant-en-klare voedingsmiddelen (gekoeld en niet-gekoeld)*	Het bepalen van de groeipotentie van <i>Listeria monocytogenes</i> ; conservering doeltreffendheidstest (challengetest)	<Interne methodecodering> ISO 20976-1, EURL <i>Lm</i> Technical Guidance Document, NVWA informatieblad 85	Locatie(s) waar test uitgevoerd wordt

\*Deze matrixomschrijving kan laboratorium-specifiek zijn.

No.	Material or product	Type of activity	Internal reference number	Location
1	Ready-to-eat foods (refrigerated and non-refrigerated)*	Determination of growth potential of <i>Listeria monocytogenes</i> ; preservative efficacy test (challenge test)	<Code of internal document> ISO 20976-1, EURL <i>Lm</i> Technical Guidance Document	Test location(s)

\*This description of the matrix might be specific for a particular laboratory

### 3 Accreditatiebeoordelingen

#### 3.2 Aard en inhoud van de beoordelingen

Het laboratorium moet aantoonbare ervaring hebben met de uitvoering van challengetesten in de relevante matrices of producten. Het laboratorium moet passend geaccrediteerd zijn. Dit wil zeggen; een kwaliteitssysteem hebben en ISO/IEC 17025 geaccrediteerd zijn voor de relevante verrichtingen. In dit geval dus zichtbaar op de scope van L-accreditatie de verrichtingen 'detectie *L. monocytogenes*' en 'telling *L. monocytogenes*'.

Derhalve is het niet mogelijk deze test(en) te beoordelen tijdens een initieel onderzoek.

	Tijdens de accreditatiecyclus	Scope-uitbreiding <sup>(1)</sup>
Documentenonderzoek	√	√
Bijwonen van de testactiviteiten middels kantooronderzoek (op het laboratorium)	√(2)	√

(1) Op basis van de aanvraag (formulier F105) zal de RvA bepalen hoe de beoordeling van de uitbreiding uitgevoerd gaat worden.

(2) In deel A van de rapportage is een beoordelingsplan over vier jaren vastgesteld.

### 4 Specifieke aandachtspunten voor de RvA-beoordeling

- Het laboratorium moet een procedure hebben met een duidelijke beschrijving van de randvoorwaarden volgens ISO 20976-1 en het TGD (wat is gebaseerd op ISO 20976-1) en moet tenminste een beschrijving bevatten van de aanpak, uitvoering, berekeningen en rapportage (e.e.a. volgens ISO/IEC 17025: par. 7.2 en 7.8).
- Het laboratorium moet voorzien in een goed onderbouwde bevoegdheidsverklaring voor zowel de medewerkers die verantwoordelijk zijn voor de opzet van de studie alsook voor de medewerkers die verantwoordelijk zijn voor de uitvoering van de diverse stappen van de challengetesten, inclusief competentie-eisen en training (e.e.a. volgens ISO/IEC 17025: par. 6.2.2, 6.2.3 en 6.2.5).
- Het laboratorium moet duidelijk aangeven welke informatie van de producent of 'Food Business Operator (FBO)' noodzakelijk is om een goede, representatieve challengetest op te zetten. Dit is ofwel onderdeel van de procedure (volgens ISO/IEC 17025: par. 7.2.1.3) ofwel moet zijn vastgelegd op een duidelijke checklist die gebruikt wordt bij elke uit te voeren challengetest (e.e.a. volgens ISO/IEC 17025: par. 7.1.7 en 7.1.8).
  - Laboratorium moet de productsamenstelling kennen en informatie hebben of kunnen afleiden over productkarakteristieken zoals pH,  $A_w$ , zoutgehalte, vetgehalte, toevoegingen als conserveringsmiddelen

- b. Laboratorium moet informatie hebben over variabiliteit tussen producties, zowel inter- als intra-batch)
  - c. Laboratorium moet kennis hebben van het productieproces, o.a. in verband met risico's op contaminatie tijdens het productieproces en de te volgen werkwijze bij de inoculatie
  - d. Laboratorium moet opslagcondities kennen gedurende de shelf-life, en daarin onderscheid kunnen maken tussen opslag bij producent (dus na productie), opslag bij retailer en opslag bij consument. Dit is inclusief kennis over de aard en wijze van verpakking van het product gedurende shelf-life en het gebruik van conserveringstechnieken als MAP (Modified Atmosphere Packaging; bijv. onder N<sub>2</sub>).
  - e. Laboratorium moet de experimentele setup van de challengetesten aantoonbaar toetsen aan de productkarakteristieken en de opslagcondities gedurende de shelf-life van het betreffende product. In geval van MAP-verpakking dient ook aandacht te worden gegeven aan het consumentengedrag, te weten de verbreking van de verpakking en het effect op de houdbaarheid (denk hier bijv. aan "3 dagen houdbaar na opening van de verpakking")  
→ "worst case scenario".
4. Belangrijke aandachtspunten bij de RvA-beoordeling zijn o.a. (e.e.a. volgens ISO/IEC 17025: par. 7.5 en 8.4):
- a. Keuze/selectie van de te gebruiken stammen (zie 6.2.2.2 van TGD)
  - b. De wijze waarop de twee *Listeria* stammen worden opgekweekt
    - i. gestandaardiseerd bij 7 °C gedurende een vaste tijd (veelal 7 – 10 dagen) tot de vroeg stationaire fase is bereikt
    - ii. aantoonbaar (registraties van groeicurve, opslag en tijdstip van inoculatie)
  - c. Goede motivering door het laboratorium voor de keuze die gemaakt wordt t.a.v. de wijze van inoculatie van de monsters (met name in geval van samengestelde producten en producten die zijn verpakt onder MAP-condities), alsook de wijze van inoculatie zelf. Betrek hierbij niet alleen het product zelf, maar ook het productieproces
  - d. De wijze van inzetten van de analyses. Met name de homogenisatie van het hele product is hierbij van belang. Het gaat hierbij altijd om een representatief monster van het gehele product/verpakking
  - e. Analyses van achtergrondflora (kiemgetal, *Lactobacillus*, gisten en schimmels, *Pseudomonas*). Motivatie van het laboratorium over de al dan niet mee te nemen achtergrondflora
  - f. Voor het meer gedetailleerde overzicht van technische aspecten volgens ISO 20976-1 en het EURL *Lm* TGD: zie bijlage 1 (Aandachtspunten m.b.t. de technisch inhoudelijke aspecten van de opzet en uitvoering van *L. monocytogenes* challengetesten).
5. Het laboratorium moet passend geaccrediteerd zijn. Dit wil zeggen; een kwaliteitssysteem hebben en ISO/IEC 17025 geaccrediteerd zijn voor de relevante verrichtingen. In dit geval dus zichtbaar op de scope van L-accreditatie de verrichtingen 'detectie *L. monocytogenes*' en 'telling *L. monocytogenes*'. Daarbij worden er eisen gesteld aan de correcte uitvoering van fysisch chemische analyses zoals pH, A<sub>w</sub> en conserveringsmiddelen, met aandacht voor het product dat geanalyseerd wordt. Bij voorkeur zal het laboratorium hiervoor geaccrediteerd zijn. Bij uitbesteding zal er op dezelfde manier mee worden omgegaan.
- Relevante eisen uit de norm zijn o.a.:

- a. Competentie en bevoegdheid personeel (ISO/IEC 17025: par 6.2)
  - b. Technische registraties (ISO/IEC 17025: par 7.5 en 8.4)
  - c. Eisen aan rapporten, inclusief wijze van verificatie van de uitvoering en de rapportage van elke studie (ISO/IEC 17025: par 7.8.3.1a en e)
  - d. Interne audit (ISO/IEC 17025: par 8.8)
6. Laboratorium moet aantoonbare ervaring hebben met de uitvoering van challengetesten in de relevante matrices of producten.
  7. Een validatierapport is niet relevant voor de vaststelling of een laboratorium competent is voor de opzet, uitvoering en rapportage van challengetesten. Validatie/verificatie van de methoden voor *L. monocytogenes* is al onderdeel van de eis dat deze analyses geaccrediteerd moeten zijn.

## **5 Wijzigingen ten opzichte van de voorgaande versie**

Niet van toepassing, dit is de eerste versie van dit document.

## Bijlage 1: Aandachtspunten m.b.t. de technisch inhoudelijke aspecten van de opzet en uitvoering van *L. monocytogenes* challengetesten

Gebaseerd op ISO 20976-1 en het EURL *L. monocytogenes* Technical Guidance Document (TGD) met de focus op de bepaling van het groeipotential.

De verwijzingen in deze bijlage hebben betrekking op het EURL *Lm* TGD.

- 1) Laboratorium is in bezit van de actuele versie van ISO 20976-1 en EURL *Lm* technical guidance document.
- 2) Laboratorium heeft een SOP voor de uitvoering challengetesten die in overeenstemming is met EURL *Lm* technical guidance document.
- 3) Laboratorium heeft in bevoegdheidsoverzichten personen competent verklaard voor opzetten en uitvoeren van de challengetesten.
- 4) Er bestaat een opleidingsplan en bevoegdheidscriteria voor bevoegdverklaring.
- 5) Laboratorium heeft diverse challengetesten uitgevoerd en voldoende ervaring alvorens de test in de scope wordt opgenomen.
- 6) Laboratorium is tenminste geaccrediteerd voor zowel detectie *L. mono* als telling *L. mono*. Aantoonbare ervaring met de bepaling van relevante analyses zoals pH,  $A_w$ , conserveringsmiddelen, gasmetingen en bepaling van nevenflora is vereist. P.S. analyses voor bepaalde componenten, zoals b.v. conserveringsmiddelen, kunnen worden uitbesteed. De competentie van het uitvoerend laboratorium moet aantoonbaar zijn.
- 7) Klant heeft laboratorium relevante informatie bezorgd over de uitvoering van de challengetest (zie par. 6.1).
  - a. Laboratorium heeft een standaard invulformulier waarop klant noodzakelijke info over het product kan opgeven'.
  - b. Informatie zoals beschrijving product, productieomstandigheden, samenstelling product, variabiliteit van de productkarakteristieken zowel tussen als binnen batch, alsook tijdens houdbaarheid, pH,  $A_w$ , conserveringsmiddelen, verpakkingsomstandigheden, bewaaromstandigheden tijdens de studie en de opgegeven houdbaarheid worden door de klant op dit invulformulier aangebracht.
- 8) Keuze aantal batches: standaard minimaal 3 – bezorgd onmiddellijk na productie – voldoende variatie tussen de 3 batches om spreiding als gevolg van verschillende ingrediënten batches en/of seizoensinvloeden mee te nemen. (par 6.2.2.1).
- 9) Keuze van *L. mono* stammen (par 6.2.2.2)
  - a. Mix van verschillende stammen (=minstens 2). Goed gekarakteriseerde stammen verkregen uit overeenstemmend type levensmiddel. Bv. EURL/NRL stam aangevuld met eigen stam.
  - b. Controle groei, biochemische en moleculaire karakterisatie van stam op regelmatige basis noodzakelijk.
  - c. Het is duidelijk traceerbaar welke stammen werden gebruikt en op basis van welke eigenschappen deze stam is geselecteerd voor de challengetest.
- 10) Uitwerken en validatie van een gestandaardiseerd protocol voor opgroei van te inoculeren stammen (par 6.2.2.3)
  - a. Onderzoeken van tijd voor opgroei tot stationaire fase bij bepaalde temperatuur is gevalideerd, of onderbouwd m.b.v. literatuur en uitvoering is aantoonbaar.
  - b. Opgroeien moet voorafgaand aan ontvangst van product gebeuren.
  - c. Duidelijke traceerbaarheid over omstandigheden (temp + tijd) voor opgroei inoculum.
  - d. Opgroei stammen houdt rekening met temperatuurtraject waarbij challengetest dient te worden uitgevoerd.
- 11) Inoculatie zo snel mogelijk na productie (par 6.2.2.4).
- 12) Inoculatie 100 cfu/g of /ml (marge 50 tot 200) (par 6.2.2.4).



- 13) Bij de wijze van inoculatie moet rekening worden gehouden met mogelijke contaminatie in de praktijk (diepte of oppervlak of beide en op welke manier het verdeeld wordt). De praktijk in deze vergt dus kennis van het productieproces en de mogelijkheden van (na)besmetting.
- 14) *L. mono* moet gelijkmatig over de subeenheden van een product geënt worden. Op tijdstip 0 mag variatie (Sd) tussen 3 herhalingen maar 0,3 log zijn (par 6.2.2.4).
- 15) Beënten van producten (par 6.2.2.4)
  - a. Enten en herverpakken (op zelfde manier en met zelfde materialen of via septum).
  - b. Bij samengestelde producten (bv. sandwich, bereide maaltijd met verschillende componenten) 1 of enkele relevante componenten beënten en/of interface tussen componenten.  
P.S. Dit moet zijn opgenomen in het plan van de challengetest.
  - c. Voorbeelden in annex 10.7.
  - d. Wijze van enten van producten moet met nodige inzichten gebeurd zijn en werkwijze moet onderbouwd zijn.
- 16) Voor producten met lage pH kan eventueel hoger geënt worden (interferentie van lage pH op aflezing agar medium) (par 6.2.2.4).
- 17) Aantal te onderzoeken units (annex 10.8)
 

Lucht of vacuüm verpakt:

  - a. Per batch: minimaal 7 test units nl. minimaal 3 test units op T=0, minimaal 1 test unit op 3 tussenliggende data en t=end (dus 5 tijdstippen).
  - b. Minimaal 1 food controle unit voor detectie *L. mono*, fysisch chemische parameters en nevenflora.
  - c. Minimaal 3 controle units waarvan minimaal 2 voor fysisch chemische parameters en nevenflora (minimaal 1 op t<sub>0</sub> en minimaal 1 op t<sub>end</sub>) en minimaal 1 voor temperatuurscontrole.
  - d. Totaal nodig voor 1 batch minimaal 11 voor 3 batches minimaal 33.  
Nog andere voorbeelden in annex 10.8: vb. 2) MAP-verpakt, vb.3) met uitbestede analyses en vb. 4) 3 test units geanalyseerd per tijdstip.
- 18) Bij bewaarcondities moet rekening worden gehouden met temp productie, temp distributie, temp consument. Aanvullend moet ook rekening worden gehouden met “temperatuurmisbruik” door de consument. Info van de FBO is hierin leidend (par 6.2.2.6).
- 19) Fysisch chemische parameters moeten gekend zijn. De basis vormt de pH en A<sub>w</sub> (alternatief voor A<sub>w</sub> is bepaling droge stof en zoutgehalte (op basis van Cl bepaald)). Deze parameters dienen gemeten te worden om na te gaan of het ontvangen product in lijn is met de standaard productie en wat klant opgegeven heeft. Metingen dienen te gebeuren volgens de ISO EN standaarden en bij voorkeur geaccrediteerd. Er moet dus nagegaan worden of de onderzochte producten representatief zijn en bij voorkeur eigenlijk eerder worst-case. Kennis van parameters zoals bewaarmiddelen zijn ook essentieel (par 6.2.2.7).  
P.S. voor het meten van de pH zijn er ook ISO normen. Deze zijn echter niet bedoeld om de pH van een product te meten die indicatief moet zijn voor de groeiomstandigheden van *L. mono*. Ook voor samengestelde producten is de pH per ingrediënt van belang.
- 20) Gasverpakking (MAP): bij herverpakking moet zekerheid zijn dat dezelfde omstandigheden weer bereikt worden. Bv. zelfde doorlaatbaarheid van de folie. Gasmetingen gedurende de houdbaarheid zijn bedoeld om het verloop te kennen en na te gaan of die overeenstemmen met de praktijk. Ook als gewerkt wordt met septum.
- 21) Microbiologische analyses: Zie ISO normen + geaccrediteerd (6.2.2.8) + nevenflora (bij voorkeur geaccrediteerd) bepalen.
- 22) Berekening groeipotential dient te gebeuren overeenkomstig 6.2.2.9 van EURL *Lm* technical guidance.
- 23) Rapportage challengetest (par 6.2.2.11)
  - a. Duidelijk aangeven welke informatie van klant is op rapport en welke van het lab.
  - b. Duidelijk aangeven dat resultaten enkel gelden voor de onderzochte producten van die betreffende batches en bij die welbepaalde bewaarcondities.

- c. Duidelijk vermelden dat bij enige verandering aan product receptuur, productieproces, bewaaromstandigheden de resultaten van de challengetesten niet meer van toepassing zijn.
- d. Extrapolatie van de resultaten binnen accreditatie is niet mogelijk.
- e. Testrapport moet voldoen aan alle eisen van de ISO/IEC 17025 norm
- f. Rapport moet o.a. bevatten (niet limitatieve lijst): gebruikte stammen, werkwijze opgroei stammen, houdbaarheidsomstandigheden, info over het product opgegeven door klant, opgeven identificatie gebruikte batches, productiedatum gebruikte batches, datum enten van onderzochte producten, bekomen fysisch chemische parameters, resultaten nevenflora, resultaten in tabelvorm per batch met per batch individuele resultaten per tijdstip, berekening groeipotential per batch en uiteindelijke groeipotential, resultaten voor blancometingen.