

Mikrobiologi – Livsmedel

Oktober 2017

Jonas Ilbäck



Utgåva
Version 1 (2017-12-05)

Ansvarig utgivare
Hans Lindmark, avdelningschef, Biologiavdelningen, Livsmedelsverket

Programansvarig
Jonas Ilbäck, mikrobiolog, Biologiavdelningen, Livsmedelsverket

PT Oktober 2017 har diarienummer 2017/01743 vid Livsmedelsverket.

Kompetensprovning
Mikrobiologi – Livsmedel

Oktober 2017



Akcred. nr. 1457
Kompetensprovning
ISO/IEC 17043

Kvantitativa analyser

- Aeroba mikroorganismer, 30 °C
- Aeroba mikroorganismer, 20 °C
- Främmande mikroorganismer i mejeriprodukter
- Enterobacteriaceae
- Koliforma bakterier 30 °C
- Koliforma bakterier 37 °C
- Termotoleranta koliforma bakterier
- *Escherichia coli*
- Presumtiv *Bacillus cereus*
- Koagulaspositiva stafylokocker
- Enterokocker

Kvalitativa analyser

- Gramnegativa bakterier i pastöriserad mjölk och grädde

Förkortningar

Substrat

| | |
|---------|---|
| BA | Blodagar |
| CBC | Oxoid Brilliance™ <i>Bacillus cereus</i> agar |
| GEA | Galla-esculin-agar |
| BcsA | <i>Bacillus cereus</i> -selektiv-agar |
| BGLB | Briljantgrön-galla-laktos-buljong |
| BP | Baird-Parker-agar |
| COMPASS | COMPASS <i>Enterococcus</i> -agar |
| EC | <i>E. coli</i> -buljong |
| ENT | Slanetz & Bartley <i>Enterococcus</i> -agar |
| JA | Järnagar |
| KEAA | Kanamycin-esculin-azid-agar |
| LSB | Laurylsulfat-buljong |
| LTLSB | Laktos-trypton-laurylsulfat-buljong |
| MPCA | Milk Plate Count Agar |
| MYP | Mannitol-äggula-Polymyxin-agar |
| PCA | Plate Count Agar |
| RPF | Kanin-plasma-fibrinogen |
| SFA | Socketfri totalantalagar |
| TBX | Trypton-galla-X-glukuronid-agar |
| TGE | Trypton-glukosextrakt-agar |
| TSA | Trypton-soja-agar |
| VRG | Violettröd-galla-agar |
| VRGG | Violettröd-galla-glukos-agar |

Organisationer

| | |
|---------|--|
| ISO | International Organization for Standardization |
| NMKL | Nordisk Metodikkomité for Næringsmidler |
| SLV/NFA | Livsmedelsverket/National Food Agency, Sweden |

Innehåll

| | |
|--|----|
| Allmän information om utvärdering av resultaten | 4 |
| Analysresultat från provtillfället oktober 2017 | 5 |
| - Generellt utfall | 5 |
| - Aeroba mikroorganismer, 20 °C och 30 °C..... | 6 |
| - Främmande mikroorganismer..... | 9 |
| - Enterobacteriaceae | 11 |
| - Koliforma bakterier 30 °C och 37 °C | 13 |
| - Termotoleranta koliforma bakterier och <i>Escherichia coli</i> | 16 |
| - Presumtiv <i>Bacillus cereus</i> | 19 |
| - Koagulaspositiva stafylokocker | 21 |
| - Enterokocker | 23 |
| - Gramnegativa bakterier i pastöriserad mjölk och grädde | 24 |
| Utfall av enskilda laboratoriers analysresultat – bedömning | 26 |
| - Boxdiagram..... | 27 |
| Testmaterial och kvalitetskontroll | 33 |
| - Testmaterial | 33 |
| - Kvalitetskontroll | 34 |
| Referenser..... | 35 |
| Bilaga 1 – Deltagarnas analysvar | |
| Bilaga 2 – z-värden | |

Allmän information om utvärdering av resultaten

Statistisk utvärdering av resultaten

Värden som ligger utanför en strikt normalfördelning efter \log_{10} -transformering identifieras som extremvärden (Grubbs' test med modifiering av Kelly (1)). I en del gränfall görs subjektiva justeringar för att sätta rätt gräns utifrån den kunskap som finns om innehållet i blandningarna. Falska svar och extremvärden inkluderas inte i beräkningarna av medelvärden och standardavvikelser. Resultat som har rapporterats "> värde" kan inte utvärderas. Resultat som rapporterats "< värde" betraktas som noll (negativt utfall). I de fall när "Pos" och "Neg" rapporterats för kvantitativa analyser behandlas dessa som >1 respektive <1. Alla rapporterade resultat finns i bilaga 1.

Enligt EN ISO/IEC 17043, som Livsmedelsverkets kompetensprovningar är ackrediterade mot, är det obligatoriskt för deltagande laboratorier att rapportera metodinformation för alla analyser som de utför. Metoduppgifterna kan ibland vara svåra att tolka, eftersom många laboratorier uppger substrat som inte ingår i den refererade standarden. Resultat från laboratorier med sådana motsägelsefulla eller på annat sätt svårtydda metoduppgifter har antingen exkluderats från metodjämförelsen eller lagts till gruppen "Övriga", tillsammans med resultat från metoder och substrat som endast använts av enstaka laboratorier.



Medelvärden och standardavvikelser redovisas normalt för de olika analyserna. I de fall när det totala antalet rapporterade resultat för en analys är färre än 20, redovisas istället medianvärde. För metodgrupper som innehåller färre än 5 resultat redovisas varken medelvärde eller medianvärde, utan endast antalet falska resultat och extremvärden.

Mätosäkerhet för åsatt värde

Mätosäkerhet för ett åsatt värde beräknas som standardavvikelsen från provomgången dividerat med kvadratroten ur antal korrekta svar. Åsatt värde är medelvärdet av deltagarnas resultat för en parameter.




Förklaringar till tabeller och figurer

Tabeller

| | |
|---|--|
| N | antal laboratorier som utförde analysen |
| n | antal laboratorier med godkänt resultat (falska och extrema värden ingår inte) |
| m | medelvärde i \log_{10} cfu/ml (falska och extrema värden ingår inte) |
| s | standardavvikelse (falska och extrema värden ingår inte) |
| F | antal falskpositiva eller falsknegativa resultat |
| < | antal låga extremvärden |
| > | antal höga extremvärden |
|  | totalt resultat för analysen |
|  | värden som diskuteras i text |

Figurer

Frekvensdiagram visar fördelningen av deltagarnas resultat för var blandning. Analysens medelvärde anges ovanför staplarna.

| | |
|---|---|
|  | värden inom accepterat intervall (bilaga 1) |
|  | extremvärden |
|  | falsknegativa resultat |
| * | värden utanför X-axelns intervall |

Analysresultat av provtillfälle oktober 2017

Generellt utfall

Provmaterial sändes ut till 189 laboratorier, varav 49 i Sverige, 123 i övriga Europa och 17 laboratorier i övriga världen. Av de 176 laboratorier som rapporterade utvärderade svar hade 68 (39 %) minst ett analys svar med anmärkning. Vid det senaste provtillfället med ungefär samma parametrar (oktober 2016) var andelen 50 %.

Individuella resultat för varje analys visas i bilaga 1 och finns även på hemsidan efter inloggning www2.slv.se/absint.

Tabell 1: Mikroorganismer i varje blandning och % av avvikande resultat (N: antal rapporterade resultat, F%: falskpositiv / falsknegativ, X%: extremvärden).

| | | Blandning A | | | | Blandning B | | | | Blandning C | | | |
|------------------------------------|------|---|----------|-----------|-----------|---|----------|-----------|-----------|--|----------|-----------|-----------|
| % deltagare med | | | | | | | | | | | | | |
| Mikroorganismer | | <i>Enterococcus hirae</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Micrococcus</i> sp. | | | | <i>Escherichia coli</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Staphylococcus hyicus</i> | | | | <i>Bacillus cereus</i> <i>Providencia alcalifaciens</i> <i>Staphylococcus aureus</i> | | | |
| Analys | | Målorganism | N | F% | X% | Målorganism | N | F% | X% | Målorganism | N | F% | X% |
| Aeroba mikroorganismer | 30°C | Alla | 167 | 1 | 6 | Alla | 167 | 0 | 3 | Alla | 168 | 0 | 2 |
| | 20°C | Alla | 28 | 0 | 0 | Alla | 28 | 0 | 0 | Alla | 28 | 0 | 0 |
| Främmande mikroorganismer | | Alla | 17 | 0 | 6 | Alla | 17 | 0 | 6 | Alla | 17 | 0 | 6 |
| Enterobacteriaceae | | <i>K. pneumoniae</i> | 142 | 2 | 4 | <i>E. coli</i> <i>S. marcescens</i> | 140 | 1 | 4 | <i>P. alcalifaciens</i> | 142 | 3 | 4 |
| Koliforma bakterier | 30°C | <i>K. pneumoniae</i> | 55 | 2 | 5 | <i>E. coli</i> | 54 | 2 | 6 | (<i>P. alcalifaciens</i>) | 55 | 16 | 0 |
| | 37°C | <i>K. pneumoniae</i> | 93 | 1 | 0 | <i>E. coli</i> | 93 | 2 | 0 | (<i>P. alcalifaciens</i>) | 91 | 16 | 0 |
| Termotoleranta koliforma bakterier | | <i>K. pneumoniae</i> | 47 | 4 | 0 | <i>E. coli</i> | 47 | 0 | 4 | - | 47 | 4 | 0 |
| <i>E. coli</i> | | - | 115 | 3 | 0 | <i>E. coli</i> | 113 | 2 | 6 | - | 115 | 0 | 0 |
| Presumtiv <i>B. cereus</i> | | - | 117 | 2 | 0 | (<i>S. marcescens</i>) (<i>S. hyicus</i>) | 116 | 2 | 0 | <i>B. cereus</i> | 117 | 3 | 3 |
| Koagulaspositiva stafylokocker | | - | 107 | 0 | 0 | (<i>S. hyicus</i>)* | 106 | 16 | 0 | <i>S. aureus</i> | 107 | 2 | 8 |
| Enterokocker | | <i>E. hirae</i> | 72 | 1 | 13 | - | 71 | 1 | 0 | - | 71 | 0 | 0 |
| Gramnegativa bakterier i mjölk | | <i>K. pneumoniae</i> | 11 | 0 | 0 | <i>E. coli</i> <i>S. marcescens</i> | 11 | 0 | 0 | <i>P. alcalifaciens</i> | 11 | 0 | 0 |

- saknar målorganism; (mikroorganism) falskpositiv före konfirmering

* resultaten utvärderas inte.

Aeroba mikroorganismer, 20 °C och 30 °C

Blandning A

Stammarna av *Micrococcus* sp., *Klebsiella pneumoniae* och *Enterococcus hirae* var målorganismer för analysen vid såväl 20 °C som vid 30 °C. Analyserna utfördes utan större problem för laboratorierna, och resultaten var fördelade kring en tydlig topp vid bägge temperaturerna. Inga extremvärden eller falsknegativa resultat rapporterades för analysen vid 20 °C, men för analysen vid 30 °C rapporterades fyra låga och sex höga extremvärden. Ett laboratorium rapporterade falsknegativt resultat vid 30 °C.

Blandning B

Stammarna av *Escherichia coli*, *Serratia marcescens* och *Staphylococcus hyicus* var målorganismer för analysen vid såväl 20 °C som vid 30 °C. Analyserna utfördes utan större problem för laboratorierna, och resultaten var fördelade kring en tydlig topp vid bägge temperaturerna. För analysen vid 20 °C rapporterades inga extremvärden eller falsknegativa resultat. För analysen vid 30 °C rapporterades två låga och tre höga extremvärden, men inga falsknegativa resultat.

Blandning C

Stammarna av *Providencia alcalifaciens*, *Staphylococcus aureus* och *Bacillus cereus* var målorganismer för analysen vid såväl 20 °C som vid 30 °C. Analyserna utfördes utan större problem för laboratorierna, och resultaten var fördelade kring en tydlig topp vid bägge temperaturerna. För analysen vid 20 °C identifierades inga extremvärden eller falsknegativa resultat. För analysen vid 30 °C rapporterades tre låga och ett högt extremvärde, men inga falsknegativa resultat.

Allmänt om analyserna

Analyserna utfördes som helhet utan större problem för laboratorierna. Val av metod eller substrat påverkades inte resultatet för någon av blandningarna. Extremvärden och falsknegativa resultat kunde inte kopplas till någon specifik metod eller substrat.

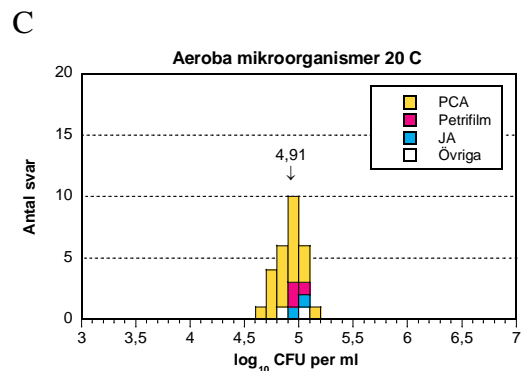
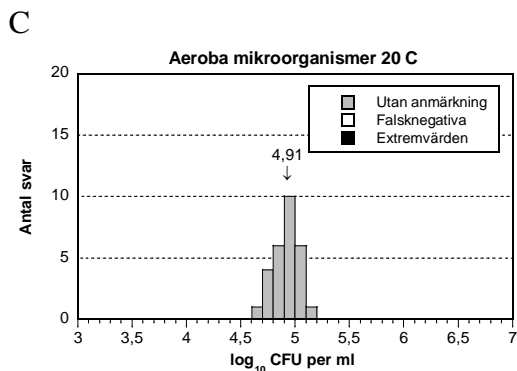
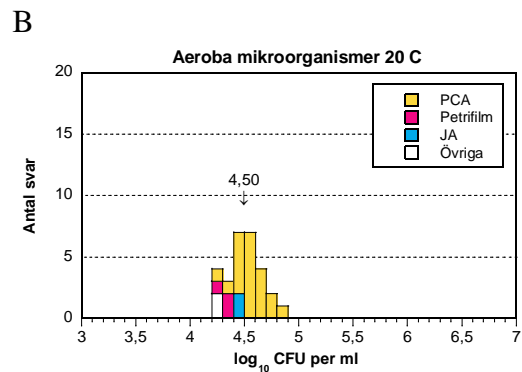
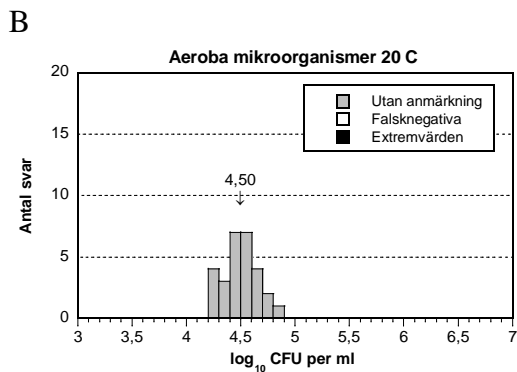
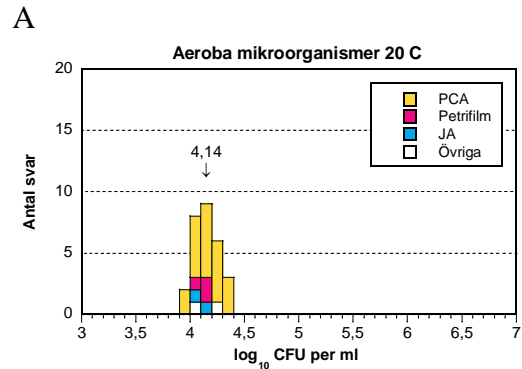
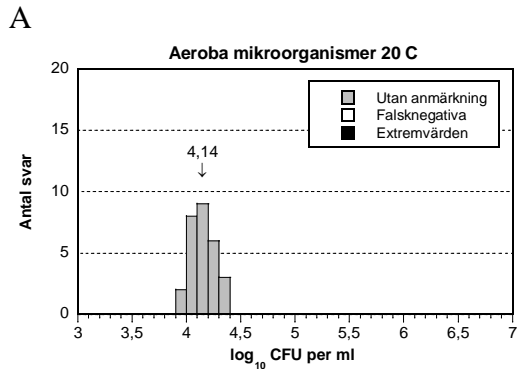
Som vid tidigare kompetensprovningar följde de flesta laboratorier antingen NMKL 86 eller ISO 4833. Bägge dessa metoder rekommenderar användning av Plate Count Agar (PCA), vilket också var det vanligaste angivna substratet, följt av 3M™ Petrifilm™ Aerobic Count (Petrifilm AC), Milk Plate Count Agar (MPCA) och tryptonsoja-agar (TSA). Flertalet laboratorier följde de äldre versionerna NMKL 86:2006 och ISO 4833:2003, vilka har ersatts av NMKL 86:2013 respektive ISO 4833-1:2013. NMKL- och ISO-metoderna är annars snarlika, och båda föreskriver inkubering i 72 h vid 30 °C. För användare av Petrifilm AC kan det däremot finnas en viss variation beroende på vilken metod som följs – till exempel föreskriver AFNOR 3M 01/1-09/89 72 h vid 30 °C, medan AOAC® 990.12 istället föreskriver inkubering i 48 h vid 35 °C.

För analysen vid 20 °C angav två laboratorier att de följde NMKL 184, vilket är en metod för aeroba mikroorganismer och förruttnelsebakterier i fisk och fiskprodukter, där inkubering sker på järnagar (JA).

För analysen vid 30 °C använde sig tre laboratorier av analyser med TEMPO® (bioMérieux® SA, Marcy l'Etoile, France), antingen TEMPO® AC eller TEMPO® TVC. Med dessa metoder inkuberas provet i ett kort som innehåller brunnar med olika volymer. Ett substrat i kortet avger fluorescens när det hydrolyseras av mikroorganismerna. Bestämningen av antalet mikroorganismer sker via den avgivna fluorescensen och är baserad på MPN (Most Probable Number).

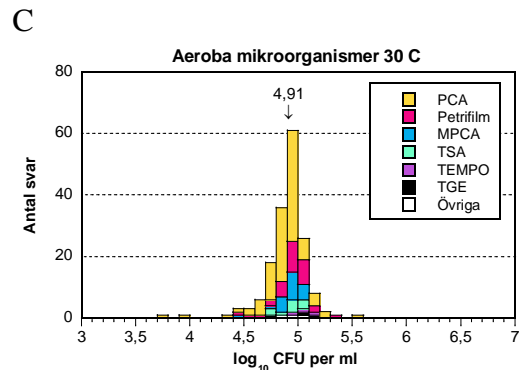
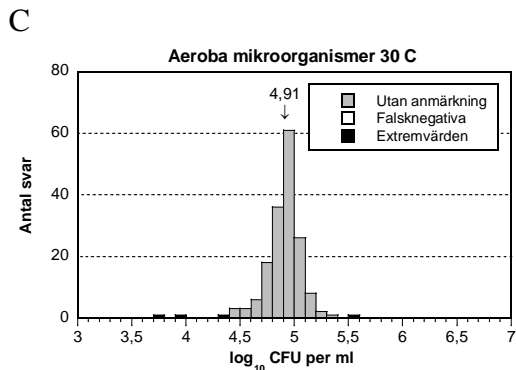
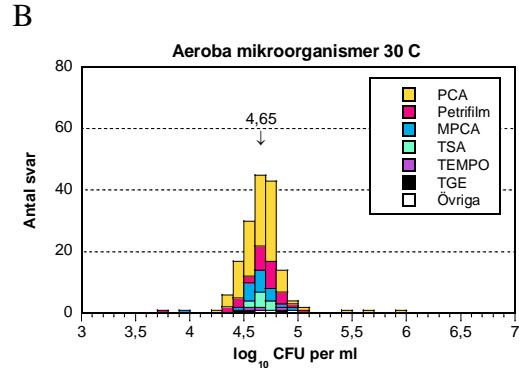
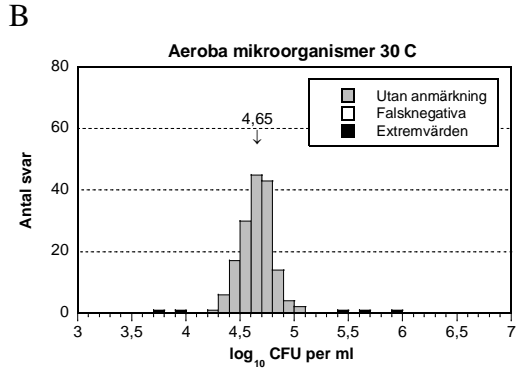
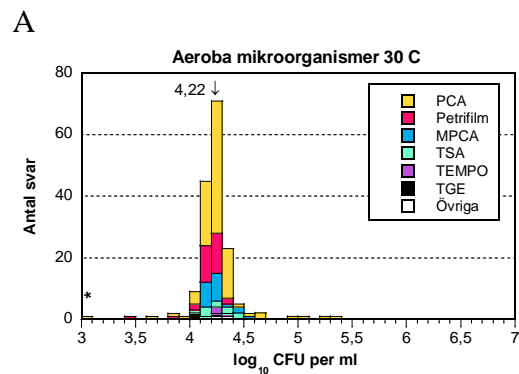
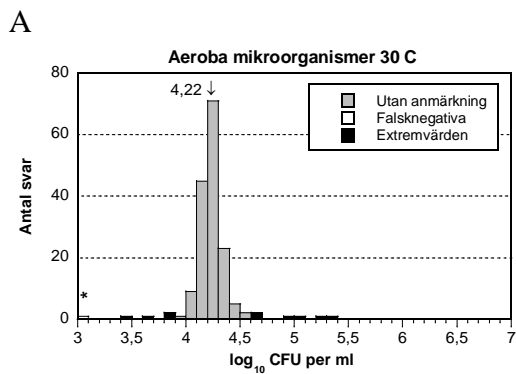
Resultat från analys av aeroba mikroorganismer, 20 °C

| Substrat | N | Blandning A | | | | | Blandning B | | | | | Blandning C | | | | | | | |
|--------------|----|-------------|------|------|---|---|-------------|----|------|------|---|-------------|---|----|------|------|---|---|---|
| | | n | m | s | F | < | > | n | m | s | F | < | > | n | m | s | F | < | > |
| Alla svar | 28 | 28 | 4,14 | 0,11 | 0 | 0 | 0 | 28 | 4,50 | 0,15 | 0 | 0 | 0 | 28 | 4,91 | 0,12 | 0 | 0 | 0 |
| PCA | 21 | 21 | 4,15 | 0,12 | 0 | 0 | 0 | 21 | 4,55 | 0,14 | 0 | 0 | 0 | 21 | 4,89 | 0,13 | 0 | 0 | 0 |
| Petrifilm AC | 3 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 |
| JA | 2 | 2 | - | - | 0 | 0 | 0 | 2 | - | - | 0 | 0 | 0 | 2 | - | - | 0 | 0 | 0 |
| Övriga | 2 | 2 | - | - | 0 | 0 | 0 | 2 | - | - | 0 | 0 | 0 | 2 | - | - | 0 | 0 | 0 |



Resultat från analys av aeroba mikroorganismer, 30 °C

| Substrat | N | Blandning A | | | | | Blandning B | | | | | Blandning C | | | | | | | |
|--------------|-----|-------------|------|------|---|---|-------------|-----|------|------|---|-------------|---|-----|------|------|---|---|---|
| | | n | m | s | F | < | > | n | m | s | F | < | > | n | m | s | F | < | > |
| Alla svar | 167 | 156 | 4,22 | 0,09 | 1 | 4 | 6 | 162 | 4,65 | 0,14 | 0 | 2 | 3 | 164 | 4,91 | 0,14 | 0 | 3 | 1 |
| PCA | 96 | 87 | 4,22 | 0,09 | 1 | 2 | 6 | 93 | 4,63 | 0,14 | 0 | 0 | 3 | 93 | 4,89 | 0,14 | 0 | 3 | 1 |
| Petrifilm AC | 31 | 29 | 4,19 | 0,07 | 0 | 2 | 0 | 30 | 4,67 | 0,17 | 0 | 1 | 0 | 31 | 4,93 | 0,17 | 0 | 0 | 0 |
| MPCA | 21 | 21 | 4,23 | 0,10 | 0 | 0 | 0 | 20 | 4,66 | 0,12 | 0 | 1 | 0 | 21 | 4,91 | 0,13 | 0 | 0 | 0 |
| TSA | 10 | 10 | 4,25 | 0,11 | 0 | 0 | 0 | 10 | 4,66 | 0,08 | 0 | 0 | 0 | 10 | 4,93 | 0,11 | 0 | 0 | 0 |
| TEMPO | 3 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 |
| TGE | 3 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 |
| Övriga | 3 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 |



Främmande mikroorganismer i mejeriprodukter

Blandning A

Liksom vid analysen av aeroba mikroorganismer vid 20 °C och 30 °C utgjorde stammar av *Micrococcus* sp., *Klebsiella pneumoniae* och *Enterococcus hirae* målorganismer för analysen. Resultaten var fördelade kring en förhållandevis tydlig topp. Resultatet från ett laboratorium var uppenbart lägre än övriga och betraktas som extremvärde. Det rapporterades inte några falsknegativa resultat.

Blandning B

Liksom vid analysen av aeroba mikroorganismer vid 20 °C och 30 °C var stammarna av *Escherichia coli*, *Serratia marcescens* och *Staphylococcus hyicus* målorganismer för analysen. Resultaten var fördelade kring en förhållandevis tydlig topp. Resultatet från ett laboratorium var uppenbart lägre än övriga och betraktas som extremvärde. Det rapporterades inte några falsknegativa resultat.

Blandning C

Liksom vid analysen av aeroba mikroorganismer vid 20 °C och 30 °C var stammarna av *Providencia alcalifaciens*, *Staphylococcus aureus* och *Bacillus cereus* målorganismer för analysen. Resultaten var fördelade kring en tydlig och smal topp. Resultatet från ett laboratorium var uppenbart lägre än övriga och betraktas som extremvärde. Det rapporterades inte några falsknegativa resultat.

Allmänt om analyserna

Endast 17 laboratorier utförde analysen, som därför inte utvärderades statistiskt. Medianvärde redovisas därför också istället för medelvärde i figurer och tabeller nedanför. Resultaten är dock som helhet i överensstämmelse med de halter som uppmätts vid Livsmedelsverkets egna analyser (Tabell 3).

Målet med analysen är att identifiera potentiella kontaminerande bakterier i mejeriprodukter. Här angav nio av de 17 laboratorerna (53 %) att de följde standardmetoden ISO 13559:2002 / IDF 153:2002, medan ett laboratorium använde sig av den äldre IDF 153:1991. Övriga laboratorier följde antingen interna metoder, eller angav inte närmare vilket metod som använts. Samtliga 17 laboratorier angav dock att de använde sockerfri totalantalsagar (SFA) som substrat.

Till främmande mikroorganismer i mejeriprodukter räknas enligt ISO 13559:2002 / IDF 153:2002 inte mjölksyrabakterier, vilka är katalasnegativa, och som därför kan särskiljas med katalastest. Katalastest ingår dock inte i ISO 13559:2002 / IDF 153:2002, utan metoden specificerar endast bestämning av antalet ”karaktäristiska kontaminerande mikroorganismer”. Fem av de nio laboratorier som följde ISO 13559/IDF 153 uppgav att de utförde konfirmering med katalastest. Inga andra laboratorier uppgav att de utförde konfirmering. Ingen uppenbar skillnad kan dock ses i resultaten mellan laboratorier som konfirmerat och de som inte gjort det.

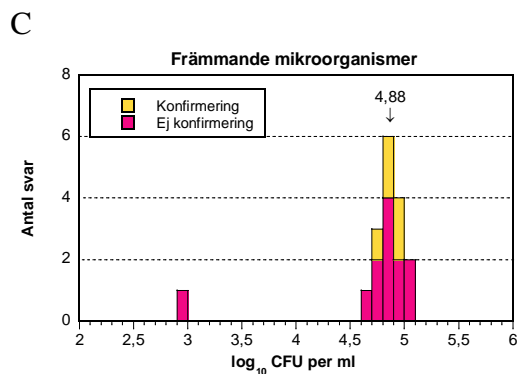
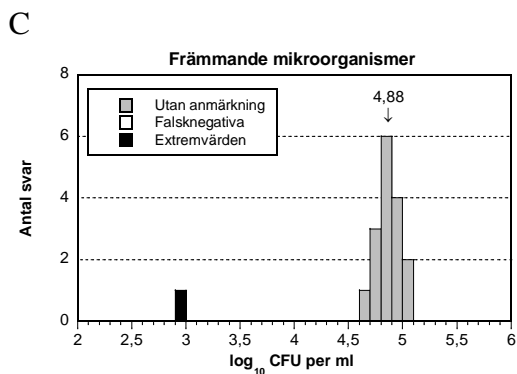
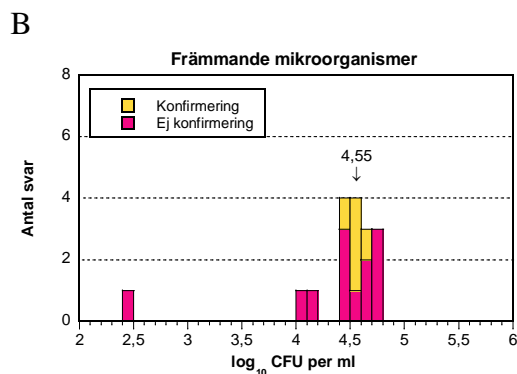
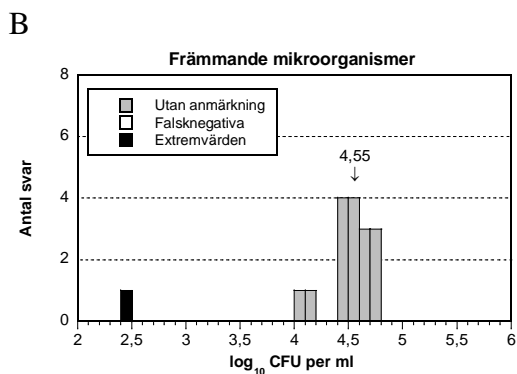
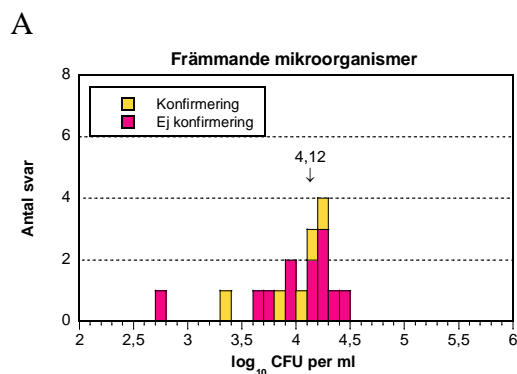
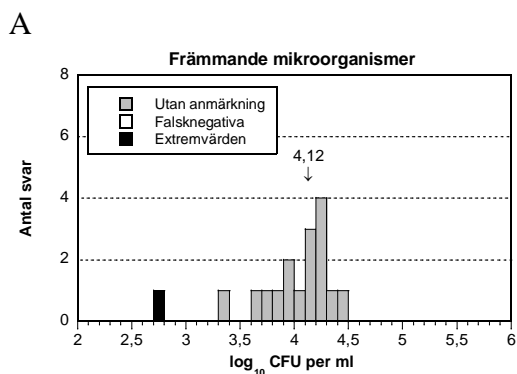
Samtliga tre låga extremvärden, ett för varje blandning, rapporterades av ett och samma enskilda laboratorium. Enligt ISO 13559:2002 / IDF 153:2002 ska små kolonier (pin-point) exkluderas vid räkningen. Det är möjligt att laboratorier tolkar denna formulering i metoden olika strikt, vilket skulle kunna ge upphov till lägre resultat för laboratorier som gör en mer restriktiv tolkning.

Resultat från analys av främmande mikroorganismer

| Metod | N | Blandning A | | | | | Blandning B | | | | | Blandning C | | | | | | | |
|------------------|----|-------------|------|---|---|-----|-------------|-----|------|---|-----|-------------|-----|----|------|-----|---|---|---|
| | | n | Med | s | F | < > | n | Med | s | F | < > | n | Med | s | F | < > | | | |
| Alla svar | 17 | 16 | 4,12 | - | 0 | 1 | 0 | 16 | 4,55 | - | 0 | 1 | 0 | 16 | 4,88 | - | 0 | 1 | 0 |
| Konfirmering | 5 | 5 | 4,09 | - | 0 | 0 | 0 | 5 | 4,54 | - | 0 | 0 | 0 | 5 | 4,86 | - | 0 | 0 | 0 |
| Ej konfirmering* | 12 | 11 | 4,18 | - | 0 | 1 | 0 | 11 | 4,55 | - | 0 | 1 | 0 | 11 | 4,89 | - | 0 | 1 | 0 |

Med: medianvärde.

* I "Ej konfirmering" ingår två laboratorier för vilka det är oklart om de utförde konfirmering eller inte.



Enterobacteriaceae

Blandning A

Stammen av *Klebsiella pneumoniae* var målorganism för analysen. Resultaten var fördelade kring en tydlig topp och det rapporterades tre låga och två höga extremvärden. Tre laboratorier rapporterade falsknegativa resultat.

Blandning B

Stammarna av *Escherichia coli* och *Serratia marcescens* var målorganismer för analysen. Resultaten var fördelade kring en tydlig topp och det rapporterades fyra låga och ett högt extremvärde. Ett laboratorium rapporterade falsknegativa resultat.

Blandning C

Stammen av *Providencia alcalifaciens* var målorganism för analysen. Resultaten var fördelade kring en tydlig topp och det rapporterades fem låga extremvärden. Fyra laboratorier rapporterade falsknegativa resultat.

Allmänt om analyserna

Analyserna utfördes som helhet utan större problem för de 142 laboratorierna. Oavsett val av metod eller substrat, erhöles liknande resultat för alla tre blandningar. Förekommande extremvärden och falsknegativa resultat kunde inte kopplas till någon specifik metod eller substrat.

De flesta laboratorier angav att de följde antingen NMKL 144:2005 (50 %), 3M Petrifilm (21 %) eller ISO 21528-2:2004 (17 %). Två laboratorier angav att de följde ISO 21528-1:2004, vilket är en metod baserad på MPN (Most Probable Number) för analys av Enterobacteriaceae. Såväl ISO 21528-1:2004 som ISO 21528-2:2004 har under året ersatts av ISO 21528-1:2017 respektive ISO 21528-2:2017. MPN-metoden ISO 21528-1:2017 rekommenderas när den förväntade halten Enterobacteriaceae är lägre än 100 cfu/gram.

Enterobacteriaceae är Gram-negativa och oxidasnegativa bakterier, som fermenterar glukos under syrabildning. På violetteröd-galla-glukosagar (VRGG) – vilket används i såväl NMKL 144 som ISO 21528-2 – bildar de rosa/röda kolonier, med eller utan utfällningszon av gallsalter. Utseendet är snarlikt på 3M™ Petrifilm™ Enterobacteriaceae (Petrifilm EB), som även inkluderar en färgindikator för detektion av sura biprodukter och vars plastfilm påvisar gasproduktion.

NMKL 144:2005 stipulerar att presumtiva kolonier på VRGG ska konfirmeras med oxidastest. ISO 21528-2:2004 anger däremot att presumtiva kolonier ska konfirmeras med såväl oxidastest som med test av glukosfermentering. I den reviderade ISO 21528-2:2017 har konfirmeringssteget ändrats något. I den nya metoden har glukosagar ersatts av glukos-oxidation/fermentering(Ox-F)-medium. Kolonier som är oxidasnegativa och som producerar syra från glukos i Ox-F-mediumet bedöms som Enterobacteriaceae.

Generellt angav 90 av de 142 laboratorierna (63 %) att de utförde någon typ av konfirmering, varvid oxidastest var klart dominerade. Utförande av konfirmering ser inte ut att ha påverkat utfallet i stort. Tvärtom har laboratorier som angivit att de inte konfirmerat sammantaget rapporterat färre antal falsknegativa resultat och extremvärden än de som angivit att de konfirmerat.

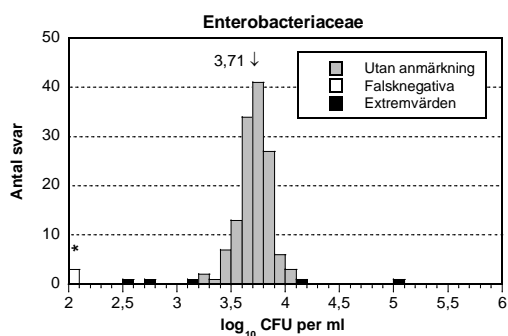
Liksom vid analysen av aeroba mikroorganismer använde ett mindre antal laboratorier metoder baserade på detektion av fluorescens (TEMPO® Enterobacteriaceae). Resultaten för denna metod såg visserligen ut att vara något högre jämfört med VRGG och Petrifilm EB, men användare av metoden rapporterade varken

extremvärden eller falsknegativa resultat. Antalet användare är samtidigt för få för att utvärderas närmare i denna rapport.

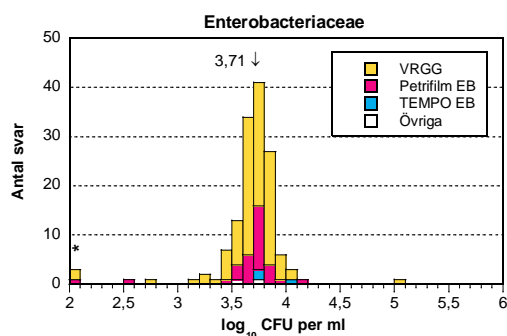
Resultat från analys av Enterobacteriaceae

| Substrat | N | Blandning A | | | | | | Blandning B | | | | | | Blandning C | | | | | |
|--------------|-----|-------------|------|------|---|---|---|-------------|------|------|---|---|---|-------------|------|------|---|---|---|
| | | n | m | s | F | < | > | n | m | s | F | < | > | n | m | s | F | < | > |
| Alla svar | 142 | 134 | 3,71 | 0,14 | 3 | 3 | 2 | 134 | 4,20 | 0,19 | 1 | 4 | 1 | 133 | 4,77 | 0,16 | 4 | 5 | 0 |
| VRGG | 106 | 101 | 3,70 | 0,15 | 2 | 2 | 1 | 99 | 4,18 | 0,19 | 1 | 3 | 1 | 102 | 4,78 | 0,16 | 1 | 3 | 0 |
| Petrifilm EB | 31 | 28 | 3,71 | 0,10 | 1 | 1 | 1 | 30 | 4,23 | 0,21 | 0 | 1 | 0 | 26 | 4,75 | 0,13 | 3 | 2 | 0 |
| TEMPO® EB | 3 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 |
| Övriga | 2 | 2 | - | - | 0 | 0 | 0 | 2 | - | - | 0 | 0 | 0 | 2 | - | - | 0 | 0 | 0 |

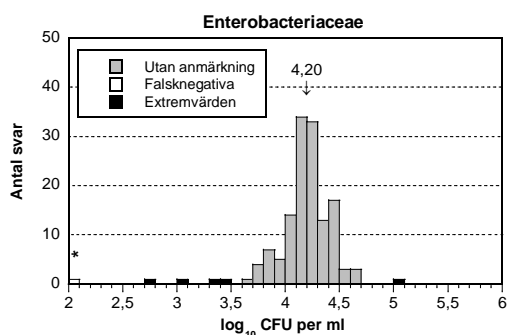
A



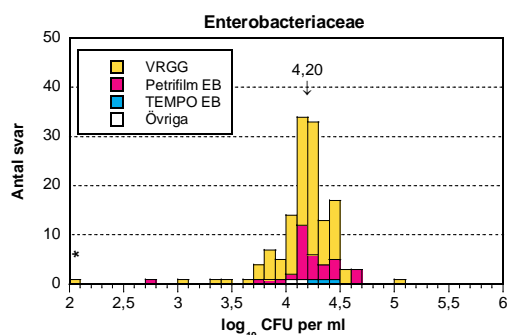
A



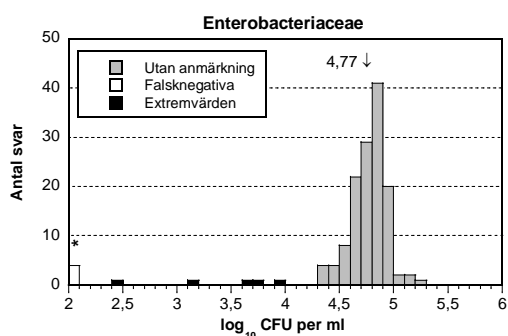
B



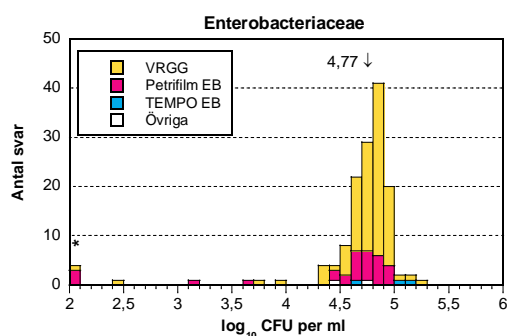
B



C



C



Koliforma bakterier, 30 °C och 37 °C

Blandning A

Stammen av *Klebsiella pneumoniae* var målorganism för analysen vid såväl 30 °C som vid 37 °C. Resultaten för analysen vid 30 °C var fördelade kring en tydlig topp och det rapporterades ett lågt och två höga extremvärden. Ett laboratorium rapporterade falsknegativt resultat.

Även resultaten vid 37 °C var fördelade kring en tydlig topp. Vid denna temperatur kunde inga extremvärden identifieras, men ett laboratorium rapporterade falsknegativt resultat.

Blandning B

Stammen av *Escherichia coli* var målorganism för analysen vid såväl 30 °C som vid 37 °C. Resultaten för analysen vid 30 °C var fördelade kring en tydlig men något bred topp. Det rapporterades två låga och ett högt extremvärde. Ett laboratorium rapporterade falsknegativt resultat.

Även resultaten för analysen vid 37 °C var fördelade kring en förhållandevis bred topp, i vilken det eventuellt kunde ses en antydning till en mindre topp för resultat med lägre koncentrationer. Inga extremvärden kunde dock identifieras. I blandningen fanns förutom *E. coli* även en stam av *Staphylococcus hyicus*, samt en stam av *Serratia marcescens*. *S. hyicus* är Grampositiv och bör normalt inte växa fram på violetteröd-galla-agar (VRG) som var det vanligaste substratet i analysen. *S. marcescens* fermenterar laktos långsamt och kan därför eventuellt växa fram med små kolonier på VRG. Stammen fanns i blandningen i en koncentration motsvarande den för den mindre toppen (cirka \log_{10} 3,7 cfu/ml). På Livsmedelsverket observerades på VRB två typer av kolonier; större typiska kolonier av *E. coli* och något mindre kolonier av sannolika *S. marcescens*. De mindre kolonierna förekom i lägre antal, och särskiljdes vid konfirmering genom att de inte bildade gas i briljantgrön-laktos-buljong (BGLB). Resultaten i den mindre toppen rapporterades dock av såväl laboratorier som uppgav att de utförde konfirmering som av de som inte gjorde det. Två laboratorier rapporterade falsknegativt resultat för analysen vid 37 °C.

Blandning C

Ingen målorganism för analysen fanns i blandning C, men däremot en stam av *Providencia alcalifaciens* vilken är falskpositiv för analysen. Totalt nio av 55 laboratorier rapporterade falskpositiva resultat vid 30 °C och totalt 15 av 91 laboratorier vid 37 °C. Merparten av de falskpositiva resultaten var för koncentrationer kring \log_{10} 4,7 cfu/ml, det vill säga motsvarande koncentrationen för *P. alcalifaciens* i blandningen. Ej utförd konfirmering verkar vara en bidragande orsak till att laboratorier rapporterade falskpositiva resultat. Som helhet angav 73 % (30 °C) och 48 % (37 °C) av laboratorierna att de utförde någon form av konfirmering. Bland de som rapporterade falskpositiva resultat var däremot motsvarande siffror 33 % (30 °C) och 27 % (37 °C).

Allmänt om analyserna

Koliforma bakterier är gramnegativa stavar som fermenterar laktos och därvid bildar gas och sura biprodukter. På VRB bildar de karaktäristiska röda kolonier till följd av upptag av kristallviolett och neutralrött från substratet. Kring kolonierna bildas också vanligen en röd/rosa utfällningszon bestående av gallsalter som faller ut när pH sjunker

i substratet. Förekomst av gallsalter och kristallviolett i VRG hämmar samtidigt tillväxt av Grampositiva mikroorganismer.

De flesta laboratorier följde antingen NMKL 44:2005 (28 %), ISO 4832:2006 (26 %), eller använde 3M™ Petrifilm™ (24 %). Såväl NMKL 44:2005 som ISO 4832:2006 anger inkubering på VRG, men konfirmeringsstegen skiljer sig något åt. NMKL 44:2004 föreskriver att alla presumtiva kolonier på VRG ska konfirmeras i BGLB, medan ISO 4832:2006 anger att endast atypiska kolonier behöver konfirmeras vidare. Vid misstanke om förekomst av stressade koliforma bakterier i provet rekommenderar NMKL 44:2004 dessutom förinkubering på trypton-soja-agar (TSA). Även 3M™ Petrifilm™ Coliform Count (Petrifilm CC) är baserad på VRB, och har dessutom en plastfilm som möjliggör direkt detektion av gasprodukten.

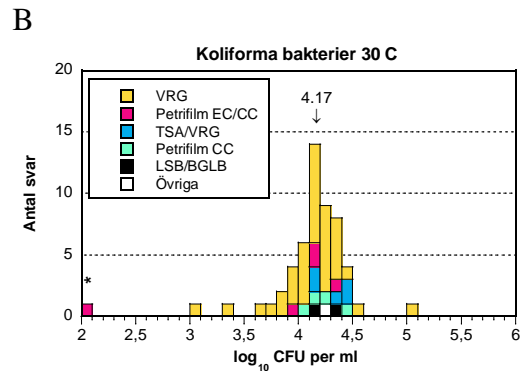
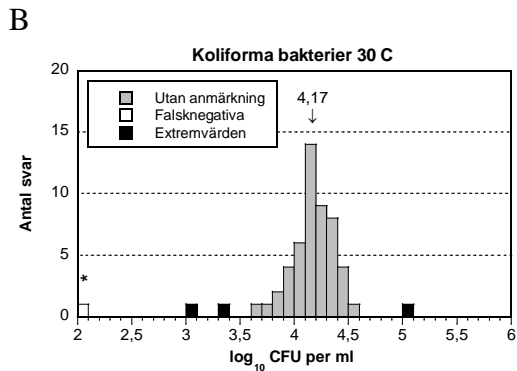
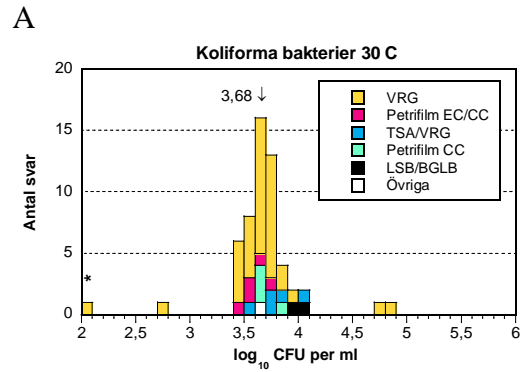
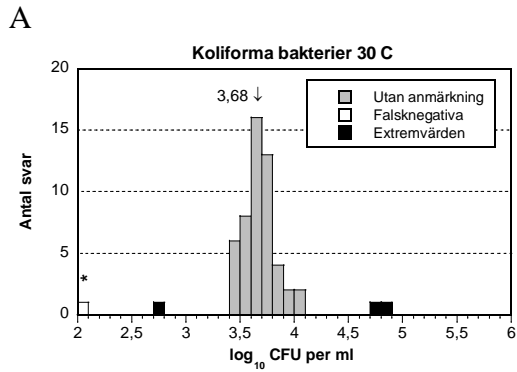
Laurylsulfat-buljong (LSB) i kombination med BGLB användes av laboratorier som följde ISO 4831:2006 och NMKL 96 (olika versioner). ISO 4831:2006 är baserad på MPN (Most Probable Number) och är anpassad för att användas när den förväntade halten koliforma bakterier är lägre än eller lika med 100 CFU/g. Även NMKL 96 är MPN-baserad och är anpassad för analys av koliforma bakterier i fisk och skaldjur. Metoden rekommenderas när den förväntade halten av mikroorganismer är lägre än eller lika med 300 CFU/g.

För analysen vid 37 °C använde tre laboratorier RAPID'E. coli 2 agar, vilket är ett kromogent substrat som detekterar aktivitet från β -glukuronidas och β -galaktosidas. På detta substrat bildar därför koliforma bakterier (Gal+/Gluc-) blå/gröna kolonier, medan E. coli (Gal+/Gluc+) bildar rosa/lila kolonier. Vid samma temperatur använde två laboratorier Brilliance™ E. coli/coliform selective agar (Brilliance).

Medelvärdena för TSA/VRG (30 °C och 37 °C) och LSB/BGLB (37 °C) skiljde sig något från övriga substrat. Dessa substrat användes dock endast av fem laboratorier vardera, varför det inte kan uteslutas att det rör sig om en slumpmässig skillnad. Förinkubering på TSA kan dock ha bidragit till de något högre medelvärdena för TSA/VRG.

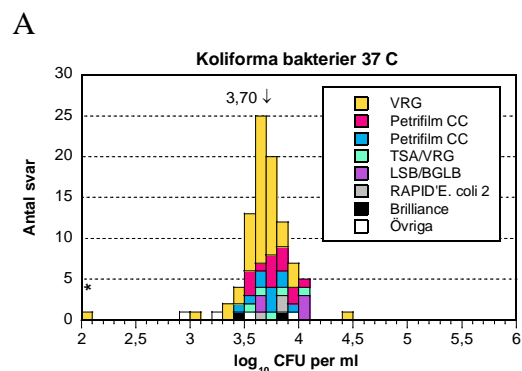
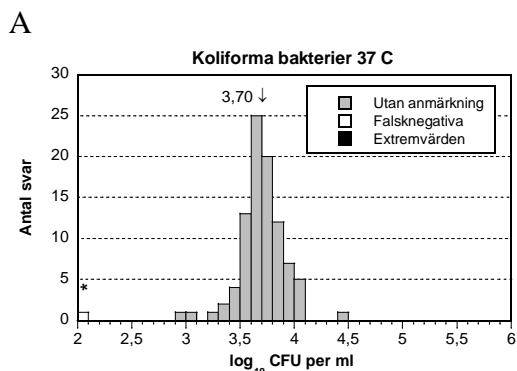
Resultat från analys av koliforma bakterier, 30 °C

| Substrat | N | Blandning A | | | | | Blandning B | | | | | Blandning C | | | | | | | |
|-----------------|----|-------------|------|------|---|-----|-------------|----|------|------|-----|-------------|---|----|---|-----|---|---|---|
| | | n | m | s | F | < > | n | m | s | F | < > | n | m | s | F | < > | | | |
| Alla svar | 55 | 51 | 3,68 | 0,15 | 1 | 1 | 2 | 50 | 4,17 | 0,18 | 1 | 2 | 1 | 46 | - | - | 9 | - | - |
| VRG | 38 | 34 | 3,65 | 0,13 | 1 | 1 | 2 | 34 | 4,14 | 0,19 | 0 | 2 | 1 | 34 | - | - | 4 | - | - |
| Petrifilm EC/CC | 5 | 5 | 3,58 | 0,12 | 0 | 0 | 0 | 4 | 4,14 | 0,13 | 1 | 0 | 0 | 3 | - | - | 2 | - | - |
| TSA/VRG | 5 | 5 | 3,78 | 0,17 | 0 | 0 | 0 | 5 | 4,30 | 0,16 | 0 | 0 | 0 | 5 | - | - | 0 | - | - |
| Petrifilm CC | 4 | 4 | - | - | 0 | 0 | 0 | 4 | - | - | 0 | 0 | 0 | 1 | - | - | 3 | - | - |
| LSB/BGLB | 2 | 2 | - | - | 0 | 0 | 0 | 2 | - | - | 0 | 0 | 0 | 2 | - | - | 0 | - | - |
| Övriga | 1 | 1 | - | - | 0 | 0 | 0 | 1 | - | - | 0 | 0 | 0 | 1 | - | - | 0 | - | - |

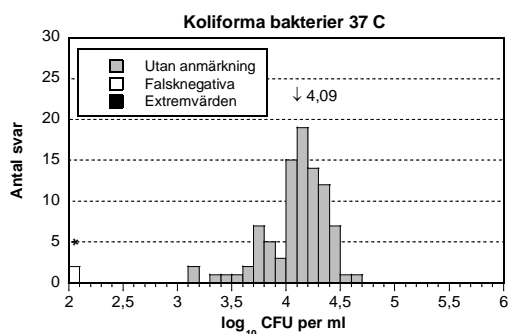


Resultat från analys av koliforma bakterier, 37 °C

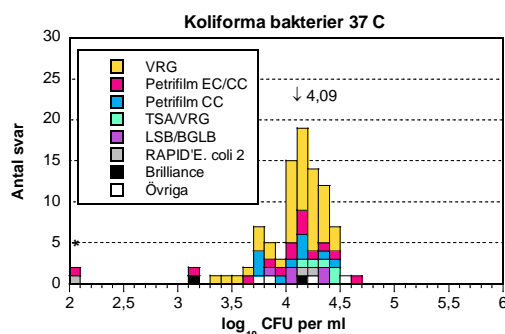
| Substrat | N | Blandning A | | | | | Blandning B | | | | | Blandning C | | | | | | | |
|-----------------|----|-------------|------|------|---|---|-------------|----|------|------|---|-------------|---|----|---|---|----|---|---|
| | | n | m | s | F | < | > | n | m | s | F | < | > | n | m | s | F | < | > |
| Alla svar | 93 | 92 | 3,70 | 0,21 | 1 | 0 | 0 | 91 | 4,09 | 0,28 | 2 | 0 | 0 | 76 | - | - | 15 | - | - |
| VRG | 50 | 49 | 3,67 | 0,20 | 1 | 0 | 0 | 50 | 4,10 | 0,25 | 0 | 0 | 0 | 38 | - | - | 11 | - | - |
| Petrifilm EC/CC | 14 | 14 | 3,76 | 0,16 | 0 | 0 | 0 | 13 | 4,06 | 0,36 | 1 | 0 | 0 | 13 | - | - | 0 | - | - |
| Petrifilm CC | 10 | 10 | 3,73 | 0,14 | 0 | 0 | 0 | 10 | 4,05 | 0,25 | 0 | 0 | 0 | 7 | - | - | 3 | - | - |
| TSA/VRG | 5 | 5 | 3,75 | 0,19 | 0 | 0 | 0 | 5 | 4,32 | 0,17 | 0 | 0 | 0 | 5 | - | - | 0 | - | - |
| LSB/BGLB | 5 | 5 | 3,89 | 0,21 | 0 | 0 | 0 | 5 | 4,14 | 0,23 | 0 | 0 | 0 | 5 | - | - | 0 | - | - |
| RAPID'E. coli 2 | 3 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 | 2 | - | - | 1 | 0 | 0 | 3 | - | - | 0 | - | - |
| Brilliance | 2 | 2 | - | - | 0 | 0 | 0 | 2 | - | - | 0 | 0 | 0 | 2 | - | - | 0 | - | - |
| Övriga | 4 | 4 | - | - | 0 | 0 | 0 | 4 | - | - | 0 | 0 | 0 | 3 | - | - | 1 | - | - |



B



B



Termotoleranta koliforma bakterier och *Escherichia coli*

Blandning A

Stammen av *Klebsiella pneumoniae* var målorganism för analysen av termotoleranta koliforma bakterier. Resultaten var fördelade kring en tydlig topp. Inga extremvärden kunde identifieras, men två laboratorier rapporterade falsknegativt resultat.

Ingen målorganism för analysen av *E. coli* fanns i blandning A. Trots detta rapporterade tre laboratorier falskpositiva resultat.

Blandning B

Stammen av *Escherichia coli* var målorganism för analysen av såväl termotoleranta koliforma bakterier som för *E. coli*. Resultaten för termotoleranta koliforma bakterier var fördelade kring en tydlig topp och det rapporterades två låga extremvärden. Inga falsknegativa resultat rapporterades.

Resultaten för analysen av *E. coli* var fördelade kring en tydlig men förhållandevis bred topp, med en svans av låga extremvärden. Totalt rapporterades sex låga och ett högt extremvärde, samt två falsknegativa resultat. Extremvärdena kunde inte kopplas till någon specifik metod eller substrat. Extremvärden och falsknegativa resultat rapporterades även av såväl laboratorier som utförde konfirmering som av de som inte utförde sådan. Inte heller valet av inkuberingstemperatur (framförallt 37 °C eller 44 °C) ser ut att ha haft någon avgörande påverkan på utfallet.

Blandning C

Ingen målorganism fanns i blandning C, varken för analysen av termotoleranta koliforma bakterier eller för *E. coli*. Trots detta rapporterades två falskpositiva resultat för termotoleranta koliforma bakterier. Samtliga laboratorier som utförde analysen av *E. coli* rapporterade däremot korrekt negativa resultat.

Allmänt om analyserna

Analyserna utfördes som helhet utan större problem för laboratorier. Inga uppenbara skillnader baserade på användning av en specifik metod eller substrat kunde observeras för analysen av termotoleranta koliforma bakterier. Inte heller utförande av konfirmering ser ut att ha påverkat resultaten i stort, varken för termotoleranta koliforma bakterier eller för *E. coli*. Precis som vid tidigare kompetensprovning (oktober 2016) angav däremot flera laboratorier otydlig/tvetydig metodinformation för analysen av *E. coli*. För denna analys fanns det samtidigt många substrat som endast användes av två eller färre laboratorier, varför gruppen "Övriga" blir förhållandevis

stor. Detta innebär också att metod- och substratjämförelserna för analysen av *E. coli* endast har gjorts mer övergripande.

Den mest använda metoden vid bägge analyserna var NMKL 125:2005. Metoden beskriver både analysen av termotoleranta koliforma bakterier och av *E. coli*. I metoden definieras termotoleranta koliforma bakterier som de som bildar typiska mörkröda kolonier omgivna av en röd utfällningszon på VRG efter 24 h vid 44 °C. Konfirmering av presumtiva kolonier sker genom inokulering i antingen *E. coli*-buljong (EC) eller laktos-trypton-laurylsulfat-buljong (LTLBSB). I dessa båda substrat ger termotoleranta koliforma bakterier upphov till gasproduktion till följd av laktosfermentering. *E. coli* definieras sedan som de termotoleranta koliforma bakterier som även producerar indol i antingen LTLBSB eller tryptonbuljong.

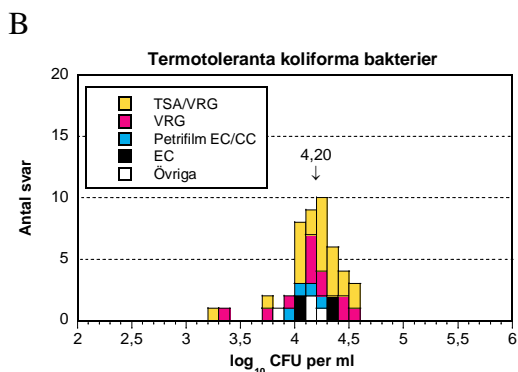
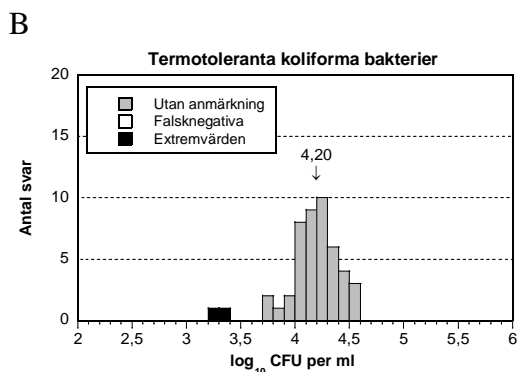
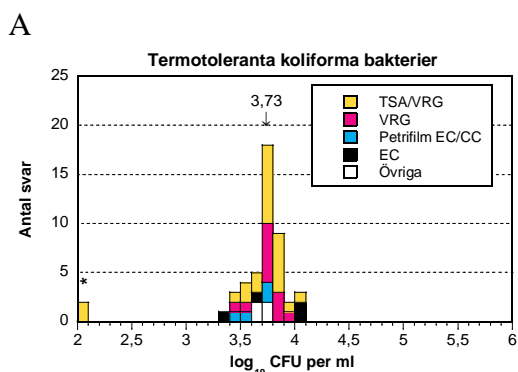
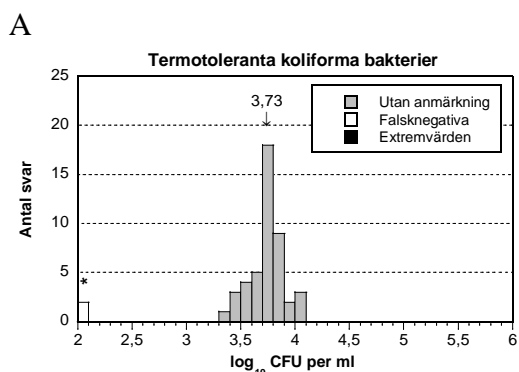
Även för analysen av *E. coli* var NMKL 125:2005 den mest använda metoden, följd av 3M™ Petrifilm™ och ISO 16649-2:2001. Med ISO 16649-2:2001 definieras *E. coli* som de bakterier som bildar typiska blå kolonier på trypton-galla-X-glukuronid-agar (TBX) vid 44 °C efter 18-24 h. Den blå färgen på kolonierna kommer här från att β -glukuronidas hos *E. coli* reagerar med en indikator i substratet. Någon ytterligare konfirmering av β -glukuronidaspositiva kolonier görs inte enligt ISO 16649-2:2001. Även 3M™ Petrifilm™ EC/CC och 3M™ Petrifilm™ SEC använder substrat som detekterar β -glukuronidas hos *E. coli*. Plastfilmen i Petrifilm EC/CC och Petrifilm SEC möjliggör dessutom detektion av gasproduktion till följd av laktosfermentering. I sammanhanget bör det också nämnas att NMKL 125 är under revidering, och den nya versionen är tänkt att bättre harmonisera med ISO 16649-2.

Vid analysen av *E. coli* fanns det även flera metoder som endast användes av ett mindre antal laboratorier. Fyra laboratorier använde metoder baserade på detektion av fluorescens (TEMPO® *E. coli*). Tre laboratorier följde NMKL 96 (olika versioner) som är en MPN-baserad metod anpassad för analys av koliforma bakterier, termotoleranta koliforma bakterier och *E. coli* i fisk och skaldjur. Tre laboratorier följde ISO 7251:2005, vilken även det är en MPN-baserad metod för detektion av *E. coli*.

Som vid tidigare kompetensprovningar var resultaten vid analysen av *E. coli* något lägre för TBX, och något högre för TSA/VRG, jämfört med övriga substrat. En möjlig förklaring till detta skulle kunna vara om förinkubering utförts eller inte. Vid misstanke om förekomst av stressade mikroorganismer i provet anger ISO 16649-2:2001 att en förinkubering ska utföras vid 37 °C under 4 h, innan den slutliga inkuberingen vid 44 °C under 18-24 h. Som jämförelse utförs i NMKL 125:2005 motsvarande förinkubering rutinmässigt (1-2 h på TSA vid 20-25 °C) före slutlig inkubering på VRG. Skillnaderna var dock små och som tidigare nämnts var metoddata även ottydligt angiven för många laboratorier. Resultaten var samtidigt ganska utspridda för flera substrat, framförallt för Petrifilm EC/CC och TBX.

Resultat från analys termotoleranta koliforma bakterier

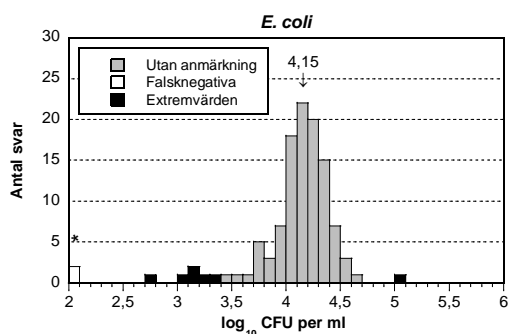
| Substrat | N | Blandning A | | | | | Blandning B | | | | | Blandning C | | | | | | | |
|-----------------|----|-------------|------|------|---|---|-------------|----|------|------|---|-------------|---|----|---|---|---|---|---|
| | | n | m | s | F | < | > | n | m | s | F | < | > | n | m | s | F | < | > |
| Alla svar | 47 | 45 | 3,73 | 0,15 | 2 | 0 | 0 | 45 | 4,20 | 0,19 | 0 | 2 | 0 | 45 | - | - | 2 | - | - |
| TSA/VRG | 23 | 21 | 3,75 | 0,13 | 2 | 0 | 0 | 22 | 4,22 | 0,17 | 0 | 1 | 0 | 22 | - | - | 1 | - | - |
| VRG | 12 | 12 | 3,74 | 0,14 | 0 | 0 | 0 | 11 | 4,21 | 0,23 | 0 | 1 | 0 | 12 | - | - | 0 | - | - |
| Petrifilm EC/CC | 4 | 4 | - | - | 0 | 0 | 0 | 4 | - | - | 0 | 0 | 0 | 3 | - | - | 1 | - | - |
| EC | 4 | 4 | - | - | 0 | 0 | 0 | 4 | - | - | 0 | 0 | 0 | 4 | - | - | 0 | - | - |
| Övriga | 4 | 4 | - | - | 0 | 0 | 0 | 4 | - | - | 0 | 0 | 0 | 4 | - | - | 0 | - | - |



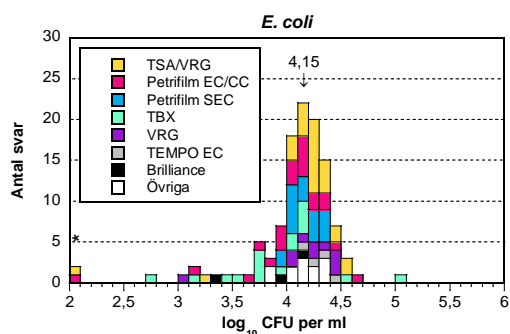
Resultat från analys av Escherichia coli

| Substrat | N | Blandning A | | | | | Blandning B | | | | | Blandning C | | | | | | | |
|-----------------|-----|-------------|---|---|---|---|-------------|-----|------|------|---|-------------|---|-----|---|---|---|---|---|
| | | n | m | s | F | < | > | n | m | s | F | < | > | n | m | s | F | < | > |
| Alla svar | 115 | 112 | - | - | 3 | - | - | 104 | 4,15 | 0,21 | 2 | 6 | 1 | 115 | - | - | 0 | - | - |
| TSA/VRG | 26 | 26 | - | - | 0 | - | - | 24 | 4,24 | 0,14 | 1 | 1 | 0 | 26 | - | - | 0 | - | - |
| Petrifilm EC/CC | 22 | 21 | - | - | 1 | - | - | 20 | 4,10 | 0,23 | 1 | 1 | 0 | 22 | - | - | 0 | - | - |
| Petrifilm SEC | 19 | 19 | - | - | 0 | - | - | 19 | 4,15 | 0,13 | 0 | 0 | 0 | 19 | - | - | 0 | - | - |
| TBX | 18 | 18 | - | - | 0 | - | - | 14 | 3,93 | 0,29 | 0 | 2 | 1 | 18 | - | - | 0 | - | - |
| VRG | 10 | 8 | - | - | 2 | - | - | 9 | 4,29 | 0,17 | 0 | 1 | 0 | 10 | - | - | 0 | - | - |
| TEMPO EC | 4 | 4 | - | - | 0 | - | - | 4 | - | - | 0 | 0 | 0 | 4 | - | - | 0 | - | - |
| Brilliance | 3 | 3 | - | - | 0 | - | - | 2 | - | - | 0 | 1 | 0 | 3 | - | - | 0 | - | - |
| Övriga | 13 | 13 | - | - | 0 | - | - | 12 | 4,15 | 0,18 | 0 | 0 | 0 | 13 | - | - | 0 | - | - |

B



B



Presumtiv *Bacillus cereus*

Blandning A

Ingen målorganism för analysen fanns i blandning A. Två laboratorier rapporterade falskpositiva resultat.

Blandning B

Ingen målorganism för analysen fanns i blandning B. Två laboratorier rapporterade falskpositiva resultat. Troligen har dessa laboratorier detekterat antingen *Serratia marcescens* (cirka log₁₀ 3,7 cfu/ml i blandningen) eller *Staphylococcus hyicus* (cirka log₁₀ 4,3 cfu/ml i blandningen).

Blandning C

Stammen av *Bacillus cereus* var målorganism för analysen. Resultaten för de 117 laboratorier som utförde analysen var fördelade kring en tydlig topp och det rapporterades fyra låga extremvärden och fyra falsknegativa resultat.

Allmänt om analyserna

Analyserna utfördes som helhet utan större problem för laboratorier. Undantagen var de låga extremvärdena och de falsknegativa resultaten för blandning C. Ingen tydlig förklaring kunde hittas till de falsknegativa resultaten. Det kan däremot noteras att samtliga fyra låga extremvärden rapporterades av laboratorier som angav att de inte utförde någon konfirmering. Utförande av konfirmering såg samtidigt inte ut att ha påverkat resultaten för blandning A och B.

De flesta laboratorier följde antingen NMKL 67:2010 (56 %) eller ISO 7932:2004 (22 %). Ett laboratorium använde den äldre NMKL 67:2003. Resterande metoder var antingen interna metoder, metoder som inte specificerades närmare, eller metoder som endast användes av enstaka laboratorier.

Den vanligast förekommande metoden NMKL 67:2010 baseras på odling på blodagar (BA). På detta substrat växer *B. cereus* med stora oregelbundna gråa kolonier, omgivna av en kraftig hämolyszon. Misstänkta kolonier på BA konfirmeras genom utstryk på antingen *Bacillus cereus*-selektiv agar (BcsA) eller Cereus-Ident-Agar (kromogent substrat). På BcsA bildar presumtiva *B. cereus* blåaktiga kolonier, vilka är omgivna av en utfällningszon till följd av enzymet lecitas aktivitet på äggula i substratet. På Cereus-Ident-agar bildar presumtiva *B. cereus* blå/turkos kolonier som eventuellt omges av en blå ring. Färgen kommer av att enzymet fosfatidylinositol phospholipase C (PI-PLC) i *B. cereus* klyver det kromogena substratet X-myoinositol-

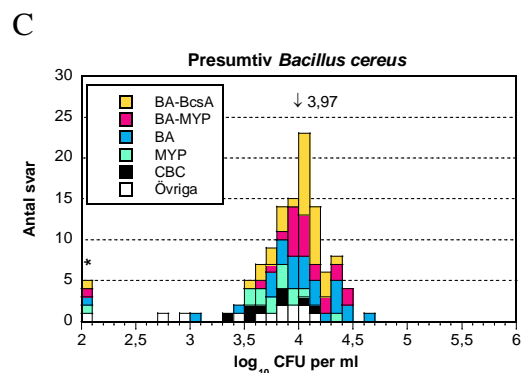
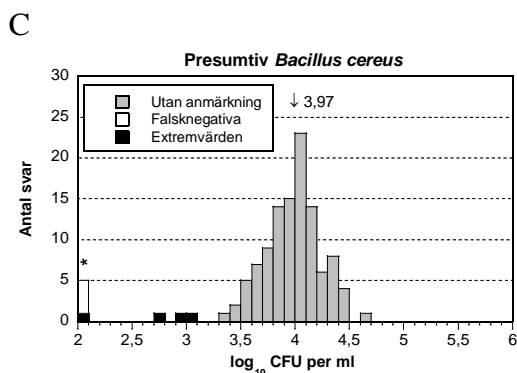
1-fosfat som finns i Cereus-Ident-agar. Som jämförelse föreskriver ISO 7932:2004 utstryk på Mannitol-äggula-Polymyxin-agar (MYP). På MYP bildar presumtiva *B. cereus* stora rosa kolonier som vanligen är omgivna av en utfällningszon, även här till följd av lecitinas-aktivitet. Konfirmering sker sedan genom positivt utslag för hämolysaktivitet på BA.

Som vid tidigare kompetensprovningar var rapporteringen av metoduppgifter för *Bacillus cereus* i flera fall oklar. Bland annat angav flera laboratorier att samma substrat användes för bägge stegen i analysen. Andra laboratorier angav kombinationer av metod/substrat som inte stämmer överrens. Generellt redovisas i denna rapport den av laboratoriet angivna metod/substrat-kombinationen, oavsett om dessa inte stämmer överrens inbördes. I vissa fall har det dock antagits att laboratoriet använt det substrat som specificeras enligt metoden. Laboratorier som endast angivit ”kromogent substrat” för hela analysen har lagts till gruppen ”Övriga”.

Trots oklarheterna i metodrapporteringen är medelvärdena för de olika redovisade substratgrupperna väldigt lika, med två undantag. Oxoid Brilliance™ *Bacillus cereus* agar (CBC) användes av en grupp av åtta laboratorier. CBC är i likhet med Cereus-Ident-agar ett kromogent substrat. Substratet X-Gluc i CBC klyvs av β -glukuronidas i *B. cereus*, vilket resulterar i vita kolonier med ett blått/grönt centrum. Användare av CBC fick något lägre medelvärde jämfört med övriga metoder, men rapporterade samtidigt inte några falsknegativa resultat eller extremvärden. Även medelvärdet för laboratorier som använde MYP var något lägre än för övriga substrat. Avvikelserna för såväl CBC som MYP är samtidigt i paritet med de variationer mellan substratgrupper som observerats vid tidigare kompetensprovningar vid analysen av *B. cereus* (t.ex. april 2017 och april 2016).

Resultat från analys av presumtiv *Bacillus cereus*

| Substrat | N | Blandning A | | | | | Blandning B | | | | | Blandning C | | | | | | | |
|-----------|-----|-------------|---|---|---|---|-------------|-----|---|---|---|-------------|---|-----|------|------|---|---|---|
| | | n | m | s | F | < | > | n | m | s | F | < | > | n | m | s | F | < | > |
| Alla svar | 117 | 115 | - | - | 2 | - | - | 114 | - | - | 2 | - | - | 109 | 3,97 | 0,25 | 4 | 4 | 0 |
| BA-BcsA | 31 | 31 | - | - | 0 | - | - | 30 | - | - | 0 | - | - | 30 | 4,01 | 0,19 | 1 | 0 | 0 |
| BA-MYP | 23 | 23 | - | - | 0 | - | - | 23 | - | - | 0 | - | - | 22 | 4,06 | 0,22 | 1 | 0 | 0 |
| BA | 28 | 27 | - | - | 1 | - | - | 26 | - | - | 2 | - | - | 26 | 4,06 | 0,28 | 1 | 1 | 0 |
| MYP | 14 | 14 | - | - | 0 | - | - | 14 | - | - | 0 | - | - | 13 | 3,81 | 0,21 | 1 | 0 | 0 |
| CBC | 8 | 8 | - | - | 0 | - | - | 8 | - | - | 0 | - | - | 8 | 3,74 | 0,26 | 0 | 0 | 0 |
| Övriga | 13 | 12 | - | - | 1 | - | - | 13 | - | - | 0 | - | - | 10 | 3,86 | 0,21 | 0 | 3 | 0 |



Koagulaspositiva stafylokocker

Blandning A

Ingen målorganism för analysen fanns i blandning A. Samtliga 107 laboratorier som utförde analysen rapporterade korrekt negativa resultat.

Blandning B

Ingen målorganism för analysen fanns i blandning B. Trots detta rapporterade 17 laboratorier positiva resultat. Merparten av dessa har rapporterat koncentrationer motsvarande *Staphylococcus hyicus* som fanns med en koncentration av cirka \log_{10} 4,3 cfu/ml i blandningen. På Livsmedelsverket växte stammen fram med grå/vita kolonier utan utfällningszon på Baird-Parker-agar med tillsats av kanin-plasma-fibrinogen (BP + RPF). Den aktuella stammen uppvisar vid efterföljande konfirmering ingen, eller endast svag koagulasaktivitet.

Blandning C

Stammen av *Staphylococcus aureus* var målorganism för analysen. Resultaten var fördelade kring en tydlig topp och det rapporterades sex låga och tre höga extremvärden. Två laboratorier rapporterade falsknegativa resultat.

Allmänt om analyserna

Som vid tidigare kompetensprovningar angav de flesta laboratorier (44 %) att de följde NMKL 66:2009. Övriga laboratorier följde antingen ISO 6888-1:1999 (17 %), använde 3M™ Petrifilm™ Staph Express (15 %) eller följde ISO 6888-2:1999 (9 %). Tre laboratorier använde fluorescensbaserad detektion med TEMPO® STA.

NMKL 66:2009 föreskriver inkubering på BP och/eller BP + RPF. Metoden tillåter även att blodagar (BA) används som komplement till dessa substrat. På BP bildar *S. aureus* karaktäristiska konvexa, blanka kolonier, som har en grå/svart färg till följd av reduktion av tellurit i substratet. Dessa omges vanligen av en klar zon, till följd av proteolys av äggulan i substratet (lecitinasaktivitet). Det kan även bildas en opak ring närmast kolonierna, genom utfällning orsakad av lipasaktivitet. Med NMKL 66 sker konfirmering genom positivt utslag på koagulastest. När BP + RPF används testas koagulasaktiviteten direkt i substratet, och ingen ytterligare konfirmering behöver då göras enligt metoden. I likhet med NMKL 66 stipulerar ISO 6888-1 utstryk på BP följt av konfirmering med koagulastest, medan ISO 6888-2 använder ingjutning i BP + RPF. 3M™ Petrifilm™ Staph Express (Petrifilm Staph) använder modifierad Baird-Parker-agar som substrat, och innehåller även en kromogen indikator som färgar kolonier av *S. aureus* röda/lila.

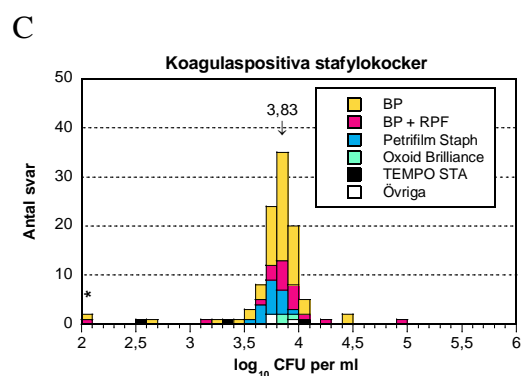
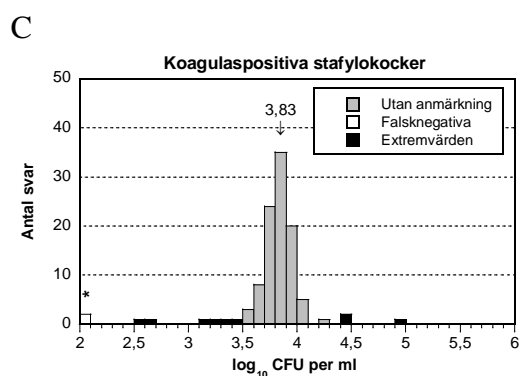
Analyserna genomfördes som helhet utan problem för laboratorierna. Undantaget var det höga antalet positiva resultat för blandning B, vilket sannolikt hör samman med den aktuella stammens egenskaper. *S. hyicus* räknas normalt till koagulaspositiva stafylokocker, men stammen i blandning B är däremot vid tester på Livsmedelsverket koagulasnegativ, eller endast svagt koagulaspositiv. Traditionellt konfirmeras koagulaspositiva stafylokocker genom detektion av extracellulärt eller bundet koagulas (koagulastest i rör respektive på objektsglas). Det är även vanligt att utföra konfirmering med latexagglutinationstest. Sådant test baseras på latexpartiklar till vilka fästs antingen fibrinogen, och/eller IgG som binder till protein A på bakteriecellytan. En del av dessa test använder även antikroppar specifika mot polysackarider på bakteriecellytan. Majoriteten av de positiva resultaten i blandning B rapporterades av laboratorier som

använde Petrifilm Staph, varav flertalet angav att de utförde konfirmering med 3M™ Petrifilm™ Staph Express Disk (Petrifilm Disk). Denna bygger på detektion av extracellulära DNAs, vilket produceras av majoriteten av koagulaspositiva *S. aureus*, men även av *S. intermedius* och *S. hyicus*. Toluidinblå O i diskarna visualiserar DNAs-aktivitet som rosa zoner kring kolonierna. Den aktuella stammen av *S. hyicus* är på Livsmedelsverket endast karakteriserad med substrat och konfirmeringsmetoder baserade på kaninplasma, och det kan därför inte uteslutas att den finns en variation i hur den uppträder på andra substrat och med andra konfirmeringsmetoder. Sammanfattningsvis bör därför såväl negativa resultat baserade på konfirmering med koagulastest, som positiva resultat baserade på konfirmering med Petrifilm Disk anses korrekta. På grund av den aktuella stammens egenskaper utvärderas analysresultaten för blandning B inte närmare och inga z-värden beräknas för analysen. Resultaten tas heller inte med i tabellerna under boxdiagrammen.

Resultat från analys av koagulaspositiva stafylokocker

| Substrat | N | Blandning A | | | | | | Blandning B* | | | | | | Blandning C | | | | | |
|---------------------------|-----|-------------|---|---|---|---|---|--------------|---|---|----|---|---|-------------|------|------|---|---|---|
| | | n | m | s | F | < | > | n | m | s | F | < | > | n | m | s | F | < | > |
| Alla svar | 107 | 107 | - | - | 0 | - | - | 89 | - | - | 17 | - | - | 96 | 3,83 | 0,11 | 2 | 6 | 3 |
| BP | 60 | 60 | - | - | 0 | - | - | 55 | - | - | 4 | - | - | 54 | 3,83 | 0,10 | 1 | 3 | 2 |
| BP + RPF | 20 | 20 | - | - | 0 | - | - | 20 | - | - | 0 | - | - | 17 | 3,87 | 0,13 | 1 | 1 | 1 |
| Petrifilm Staph | 18 | 18 | - | - | 0 | - | - | 6 | - | - | 12 | - | - | 18 | 3,74 | 0,09 | 0 | 0 | 0 |
| Oxoid Brilliance Staph 24 | 3 | 3 | - | - | 0 | - | - | 3 | - | - | 0 | - | - | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 |
| TEMPO® STA | 3 | 3 | - | - | 0 | - | - | 3 | - | - | 0 | - | - | 1 | - | - | 0 | 2 | 0 |
| Övriga | 3 | 3 | - | - | 0 | - | - | 2 | - | - | 1 | - | - | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 |

* Resulten för blandning B utvärderas inte



Enterokocker

Blandning A

Stammen av *Enterococcus hirae* var målorganism för analysen. Resultaten för de 72 laboratorier som utförde analysen var fördelade kring en tydlig och smal topp och det rapporterades tre låga och sex höga extremvärden. Ett laboratorium rapporterade falsknegativt resultat.

Blandning B

Ingen målorganism för analysen fanns i blandning B. Ett laboratorium rapporterade falskpositivt resultat.

Blandning C

Ingen målorganism för analysen fanns i blandning C. Samtliga laboratorier som utförde analysen rapporterade korrekt negativa resultat.

Allmänt om analyserna

Analysen utfördes som helhet utan större anmärkningar, med undantag för ett något högt antal extremvärden för blandning A. Inga skillnader baserat på användning av någon specifik metod eller substrat kunde dock identifieras. Utförande av konfirmering verkar heller inte ha haft någon påverkan på utfallet.

Metoden NMKL 68:2011 var klart dominerande och användes av majoriteten av laboratorierna (71 %). I övrigt användes IDF 149A:1997 av fyra laboratorier (6 %) och ISO 7899-2:2000 av tre laboratorier (4 %). Övriga laboratorier använde antingen interna/udda metoder eller specificerade inte närmare vilken metod de använde.

Enterokocker definieras enligt NMKL 68:2011 som Grampositiva, katalasnegativa och ovala kocker, med förmåga att hydrolysera eskulin vid 44 °C. Metoden föreskriver inkubering på Slanetz & Bartley *Enterococcus*-agar (ENT). På detta substrat reducerar enterokocker det färglösa substratet 2,3,5-trifenyltetrazoliumklorid till röd formazan och växer fram som något upphöjda kolonier med rosa/röd/rödbrun färg. De kan även ibland ha en ofärgad kant. Vid misstanke om stressade enterokocker (t.ex. i frysta livsmedel) rekommenderas förinkubering på TSA i 2 timmar, följt av övergjutning med ENT. Tydligt mörkröda kolonier med typisk morfologi räknas som enterokocker utan vidare konfirmering. Kolonier med endast svag rosa/röd färg konfirmeras genom utstryk på galla-eskulin-agar (GEA). I GEA hydrolyseras substratet eskulin av β -glukosidas hos enterokocker vilket resulterar i bildandet av eskuletin och glukos. Eskuletin ger sedan tillsammans med järnjoner som finns i substratet upphov till en svart utfällning. Inkubering på GEA sker vid 44 °C och kolonier som efter 2-24 timmar ger upphov till svärtning i substratet räknas som enterokocker. Fyra laboratorier analyserade enligt vattenmetoden ISO 7899-2:2000, vilken påminner om NMKL 68:2001. Metoden är baserad på membranfiltrering följt av inkubering på ENT. Konfirmering utförs liksom i NMKL-metoden på GEA (eventuellt med tillsats av azid), men med inkubering endast i två timmar.

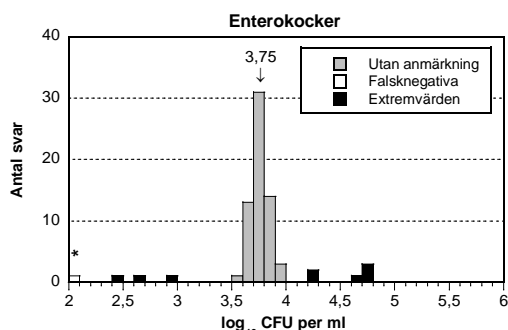
Förutom ENT så användes kanamycin-eskulin-azid-agar (KEAA) och COMPASS® *Enterococcus* Agar av tre laboratorier vardera. KEAA användes av laboratorier som följde IDF 149A:1997 och med detta substrat testas eskulinhydrolys direkt i substratet. Två av de tre laboratorierna har även angivit att de gjort fortsatt konfirmering, men har inte specificerat denna närmare. Metoden IDF 149:A:1997 har också enligt ISO ersatts av ISO 27205:2010/IDF 149:2010. COMPASS® *Enterococcus* Agar detekterar liksom

GEA β -glukosidasaktivitet, men använder istället X-Gluc som substrat, vilket ger upphov till blå kolonier.

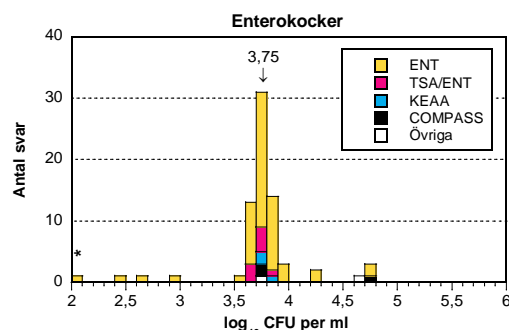
Resultat från analys av enterokocker.

| Substrat | N | Blandning A | | | | | Blandning B | | | | | Blandning C | | | | | | | |
|-----------|----|-------------|------|------|---|---|-------------|----|---|---|---|-------------|---|----|---|---|---|---|---|
| | | n | m | s | F | < | > | n | m | s | F | < | > | n | m | s | F | < | > |
| Alla svar | 72 | 62 | 3,75 | 0,08 | 1 | 3 | 6 | 70 | - | - | 1 | - | - | 71 | - | - | 0 | - | - |
| ENT | 56 | 48 | 3,75 | 0,09 | 1 | 3 | 4 | 54 | - | - | 1 | - | - | 55 | - | - | 0 | - | - |
| TSA/ENT | 8 | 8 | 3,72 | 0,06 | 0 | 0 | 0 | 8 | - | - | 0 | - | - | 8 | - | - | 0 | - | - |
| KEAA | 3 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 | 3 | - | - | 0 | - | - | 3 | - | - | 0 | - | - |
| COMPASS | 3 | 2 | - | - | 0 | 0 | 1 | 3 | - | - | 0 | - | - | 3 | - | - | 0 | - | - |
| Övriga | 2 | 1 | - | - | 0 | 0 | 1 | 2 | - | - | 0 | - | - | 2 | - | - | 0 | - | - |

A



A



Gramnegativa bakterier i pastöriserad mjölk och grädde. Påvisande av återkontamination.

Blandning A

Stammen av *Klebsiella pneumoniae* var målorganism för analysen. Samtliga laboratorier rapporterade korrekt positiva resultat.

Blandning B

Stammarna av *Escherichia coli* och *Serratia marcescens* var målorganismer för analysen. Samtliga laboratorier rapporterade korrekt positiva resultat.

Blandning C

Stammen av *Providencia alcalifaciens* var målorganism för analysen. Samtliga laboratorier rapporterade korrekt positiva resultat.

Allmänt om analyserna

Analysen gav inte upphov till några problem för laboratorierna. Samtliga elva laboratorier angav att de använde violetteröd-galla-glukos-agar (VRGG) som substrat och nio laboratorier att de följde NMKL 192:2011.

Metoden i NMKL 192:2011 används för att påvisa återkontamination av gramnegativa bakterier i pastöriserad mjölk och grädde. Gramnegativa bakterier överlever inte pastörisering vid hög temperatur/kort tid (HTST), vilket innebär att

temperaturen höjs till 72 °C i minst 15 sekunder. Förekommer dessa mikroorganismer likväl i förpackningen indikerar detta att återkontamination skett, vilket kan påverka mjölkens hållbarhet. Med NMKL 192:2011 inkuberas den förslutna förpackningen med mjölk/grädde vid 25 °C / 24 h alternativt vid rumstemperatur i 28 h. Därefter sprids 10 respektive 100 µl på VRGG vid 30 °C / 24 h. Förekomst av 5 eller fler kolonier räknas som positivt svar. Konfirmering kan vid behov utföras med kaliumhydroxid (KOH). Kolonier förs då över med ögla till ett objektglas med KOH och de kolonier som efter 5-10 sekunders omrörning åtföljs av en slemtråd när ögla lyfts upp räknas som gramnegativa.

Resultat från analys av Gramnegativa bakterier i pastöriserade mejeriprodukter .

| Metod | N | Blandning A | | Blandning B | | Blandning C | |
|---------------|----|-------------|---|-------------|---|-------------|---|
| | | n | F | n | F | n | F |
| Alla svar | 11 | 11 | 0 | 11 | 0 | 11 | 0 |
| NMKL 192:2011 | 9 | 9 | 0 | 9 | 0 | 9 | 0 |
| Övriga | 2 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |

Utfallet av enskilda laboratoriers analysresultat – bedömning

Redovisning och bedömning av inrapporterade resultat

Alla laboratoriers samtliga inrapporterade svar redovisas i Bilaga 1, där även lägsta och högsta accepterade värde för varje analys anges. Svar med anmärkning (falska svar och extremvärden) utmärks genom gulmarkering och fetstil.

Ansvaret att rapportera in resultat på korrekt sätt åligger det enskilda laboratoriet utifrån de givna instruktionerna. I fall när laboratorier rapporterat in resultat på felaktigt sätt, till exempel genom att ange ”pos” eller ”neg” för kvantitativa analyser, kan dessa inte bearbetas på rätt sätt. Sådana resultat exkluderas i normalfallet. Inkludering och vidare behandling av sådana resultat kan dock ske, efter manuell bedömning i varje enskilt fall.

Z-värden (se nedan) för enskilda analyser redovisas i bilaga 2 och används med fördel vid laboratoriernas egen uppföljning av resultaten.

Laboratorierna är i redovisningen inte grupperade eller rangordnade utifrån sina resultat. Ett laboratoriums prestation kan som helhet endast bedömas utifrån antalet falska svar och extremvärden som anges i Bilaga 1 och under boxdiagrammen.

Verksamhetsprotokollet (2) beskriver hur analysresultaten är bearbetade och ger kortfattade rekommendationer om hur resultaten kan följas upp. Extra prov för uppföljning av analyser med avvikande svar kan beställas utan kostnad via webbsidan www.livsmedelsverket.se/PT-extra

Z-värden, box-diagram och avvikande svar

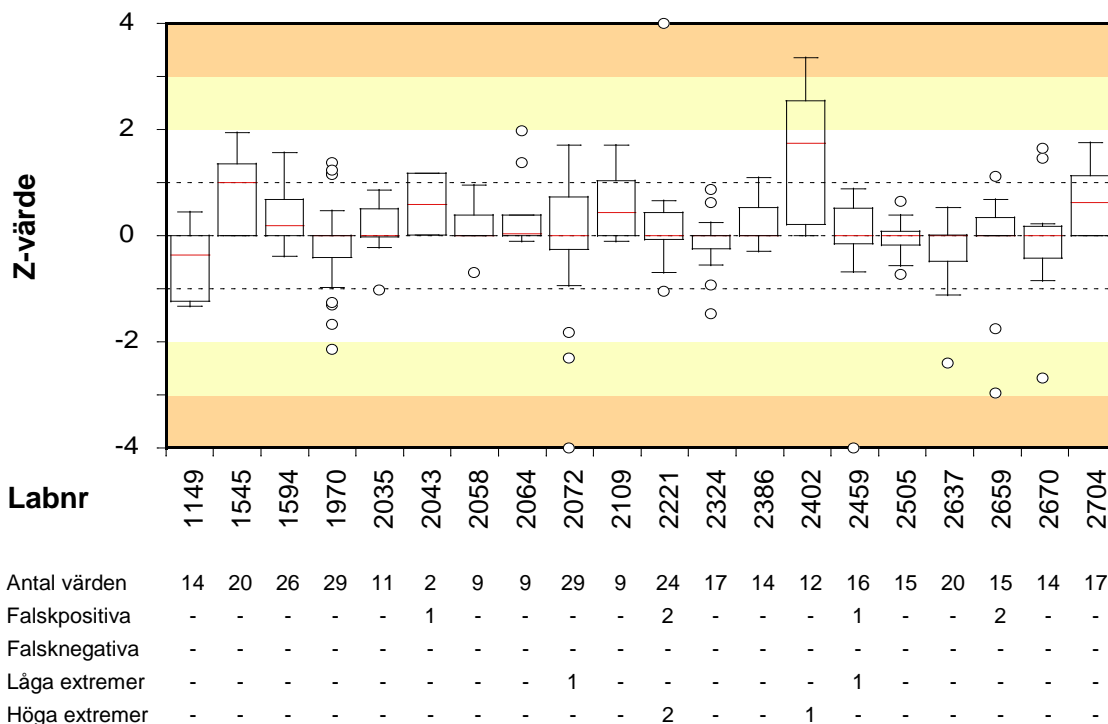
För att möjliggöra jämförelser av resultat från olika analyser och provblandningar med varandra omräknas laboratoriernas resultat från samtliga analyser till standardvärden (z-värden). För kvantitativa analyser blir standardvärdet positivt eller negativt beroende på om resultatet ligger över eller under laboratoriernas gemensamma medelvärde.

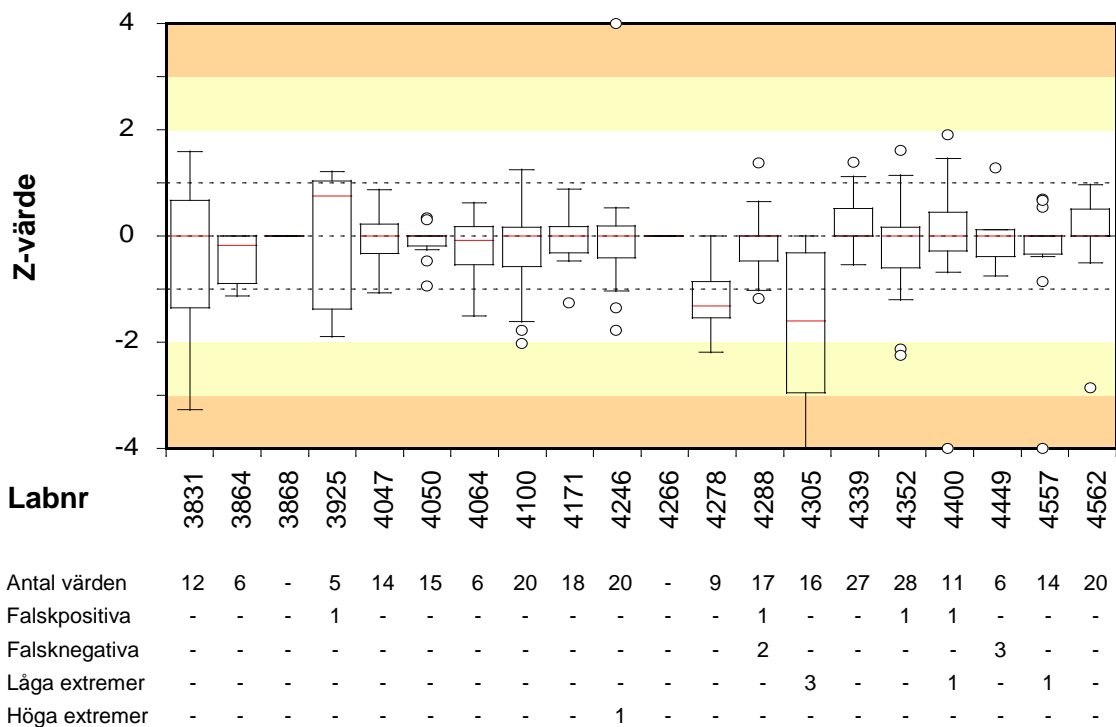
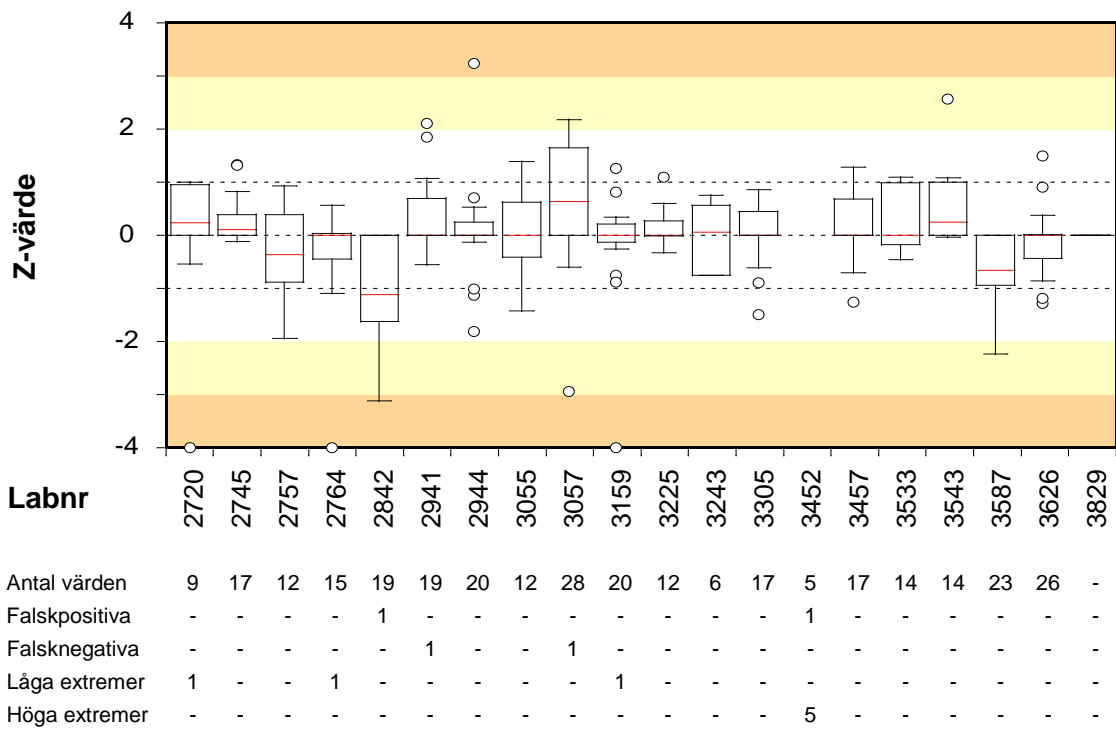
Boxdiagrammen baseras på z-värdena i bilaga 2, och ger en sammanfattande bild över varje enskilt laboratoriums resultat. En liten box, centrerad kring noll, indikerar att det individuella laboratoriets resultat, med falska resultat exkluderade, ligger nära medelvärdena av samtliga laboratoriers svar. Variationsbredden indikeras av storleken på boxen, samt för de flesta laboratorier även genom från boxen utstickande streck och/eller ringar. För varje enskilt laboratorium listas dessutom antalet falska svar och extremvärden i tabellerna under boxdiagrammen.

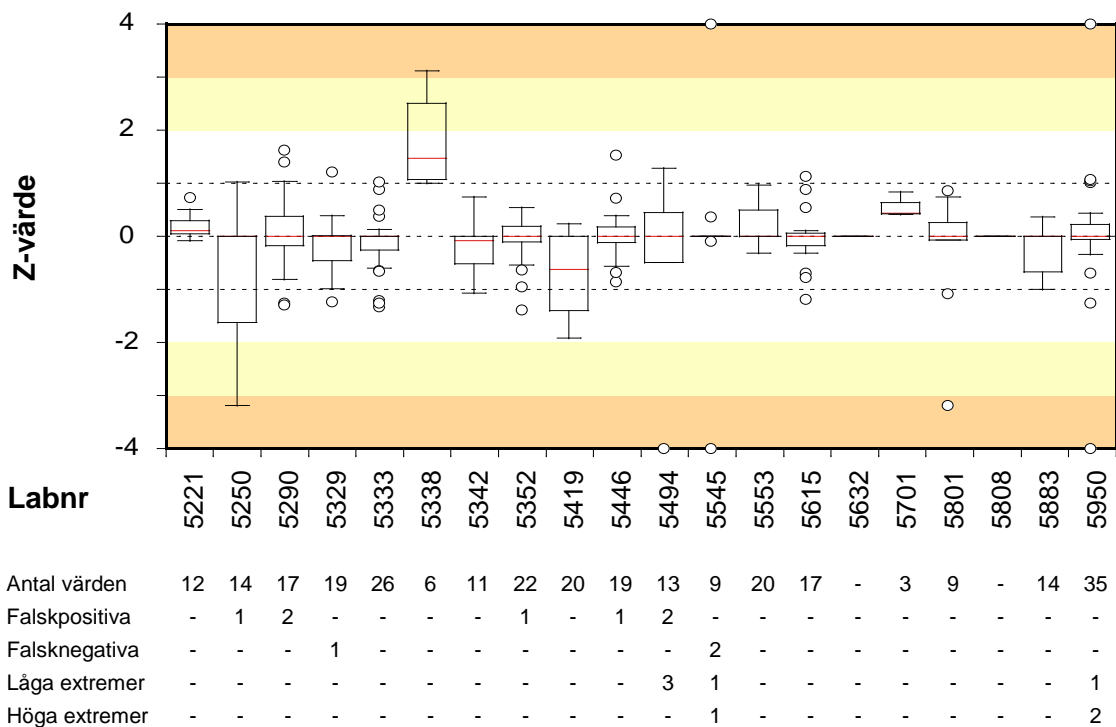
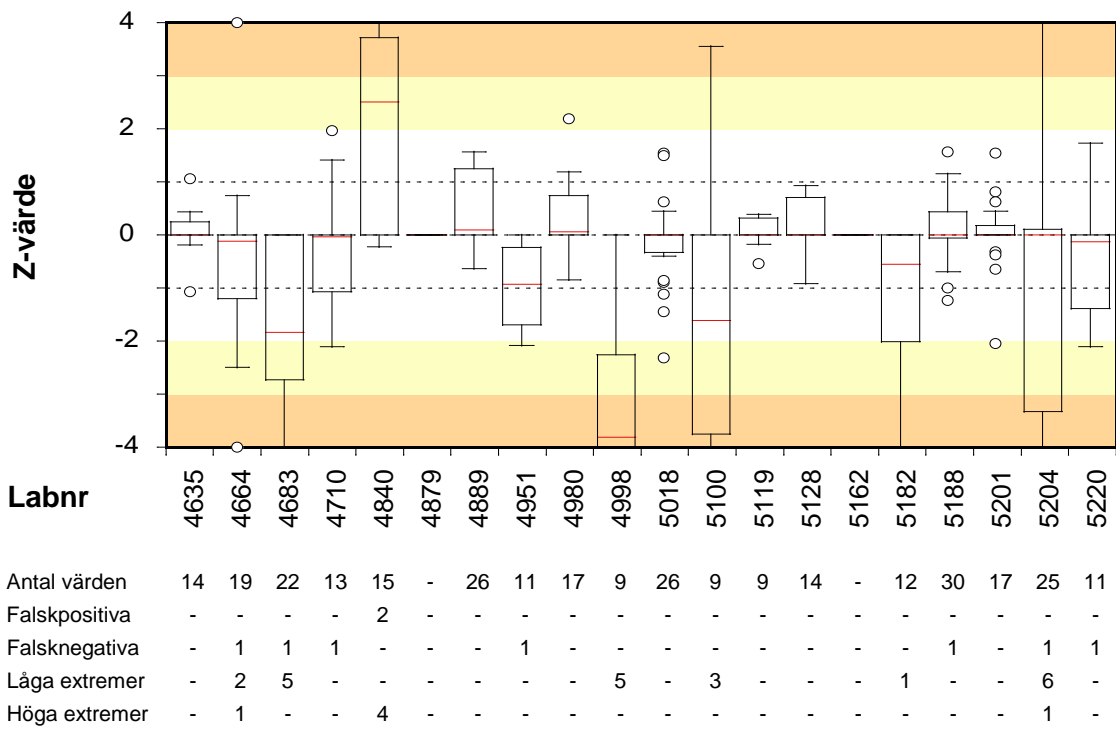
Box-diagram och antal avvikande värden för varje deltagande laboratorium

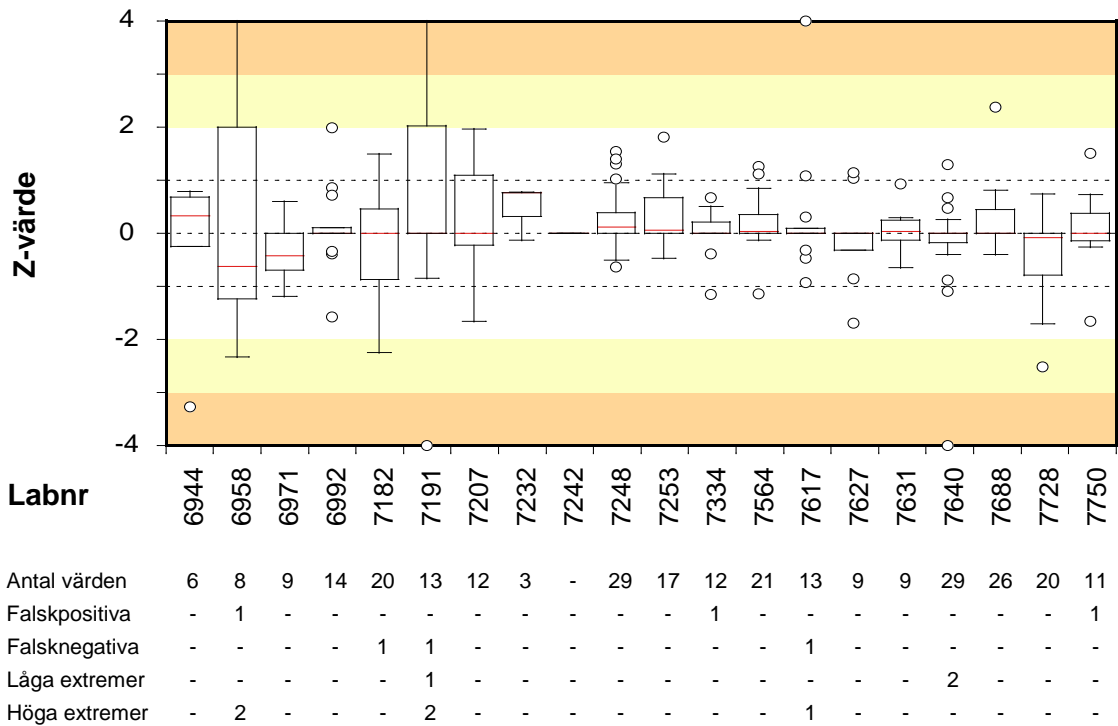
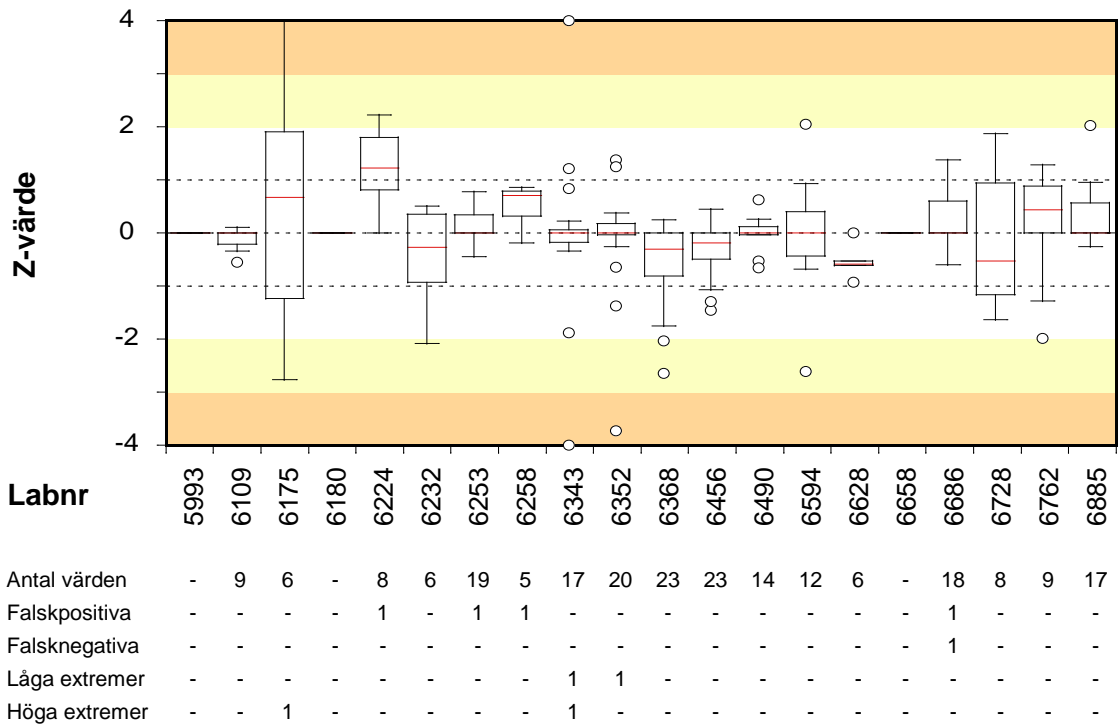
- Z-värden beräknas enligt formeln: $z = (x - m)/s$, där x är enskilt laboratoriums resultat, m är medelvärde beräknat från deltagande laboratoriers svar och s är standardavvikelse beräknad från deltagande laboratoriers svar, med extremvärden och falska svar borttagna.
- Extremvärden ingår i diagrammen efter att de räknats om till z-värden på samma sätt som övriga resultat.
- Falska svar genererar inte några z-värden och bidrar heller inte till "Antal värden".
- Korrekta resultat för kvalitativa analyser och korrekta negativa resultat för kvantitativa analyser utan målorganism har erhållit z-värdet noll.
- Laboratoriets medianvärde markeras med ett horisontellt rött streck i boxen.
- Boxens volym innesluter 25 % av svaren över medianvärdet och 25 % av svaren under medianvärdet. Resterande 50 % av svaren innesluts av de från boxen utskjutande strecken och/eller ringarna.
- En ring visas i diagrammet på teknisk grund då ett värde är i viss grad avvikande* från de övriga. Detta innebär inte i sig att värdet är ett extremvärde.
- Z-värden $>+4$ och <-4 anges i boxdiagrammen som $+4$ respektive -4 .
- Bakgrunden i boxdiagrammen är uppdelad med linjer och i olika skuggade fält för att lättare visa inom vilket intervall ett laboratoriums värden hamnade.

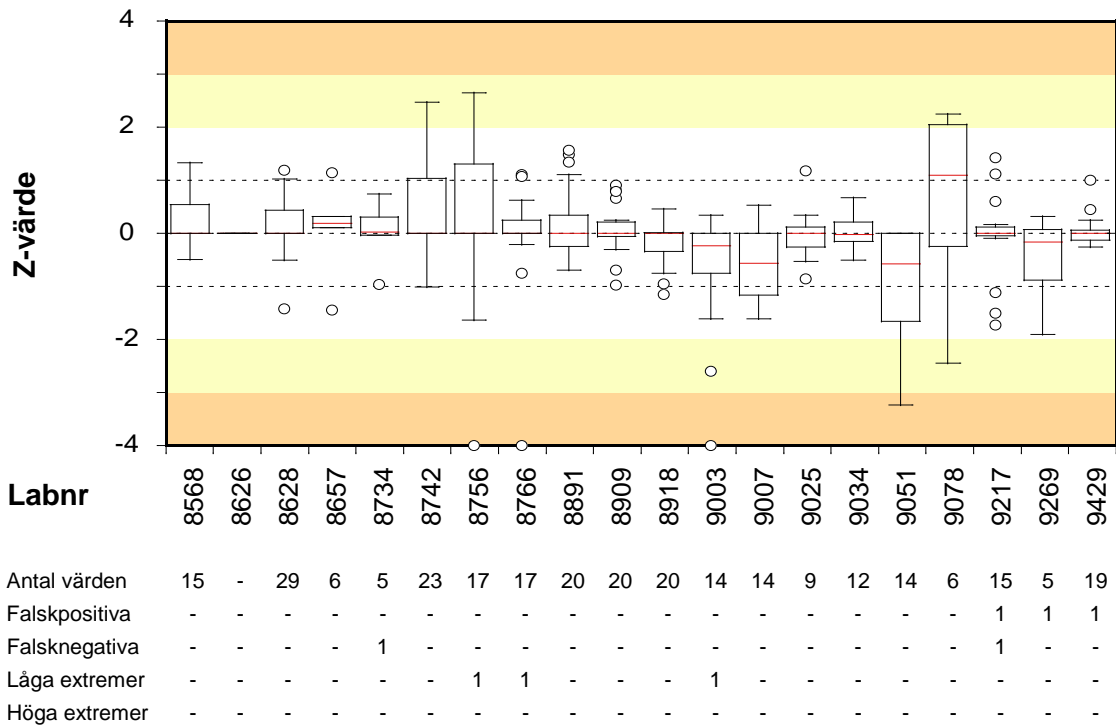
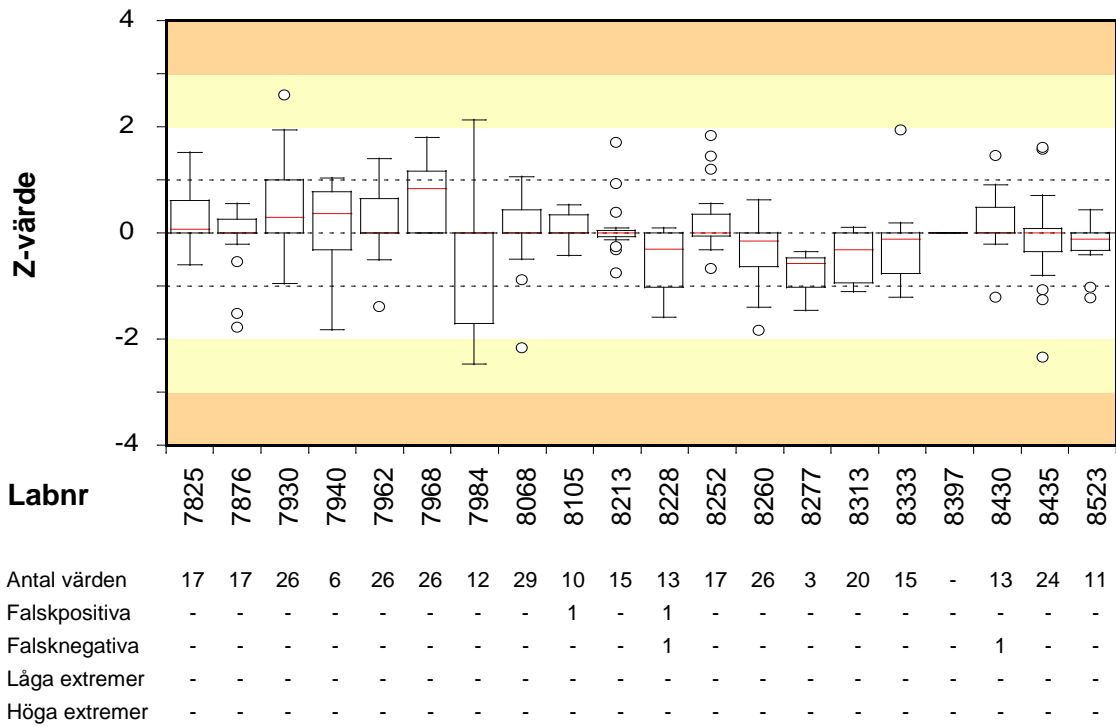
* $< [\text{boxens minsta värde} - 1,5 \times (\text{boxens största värde} - \text{boxens minsta värde})]$ eller $> [\text{boxens största värde} + 1,5 \times (\text{boxens största värde} - \text{boxens minsta värde})]$.

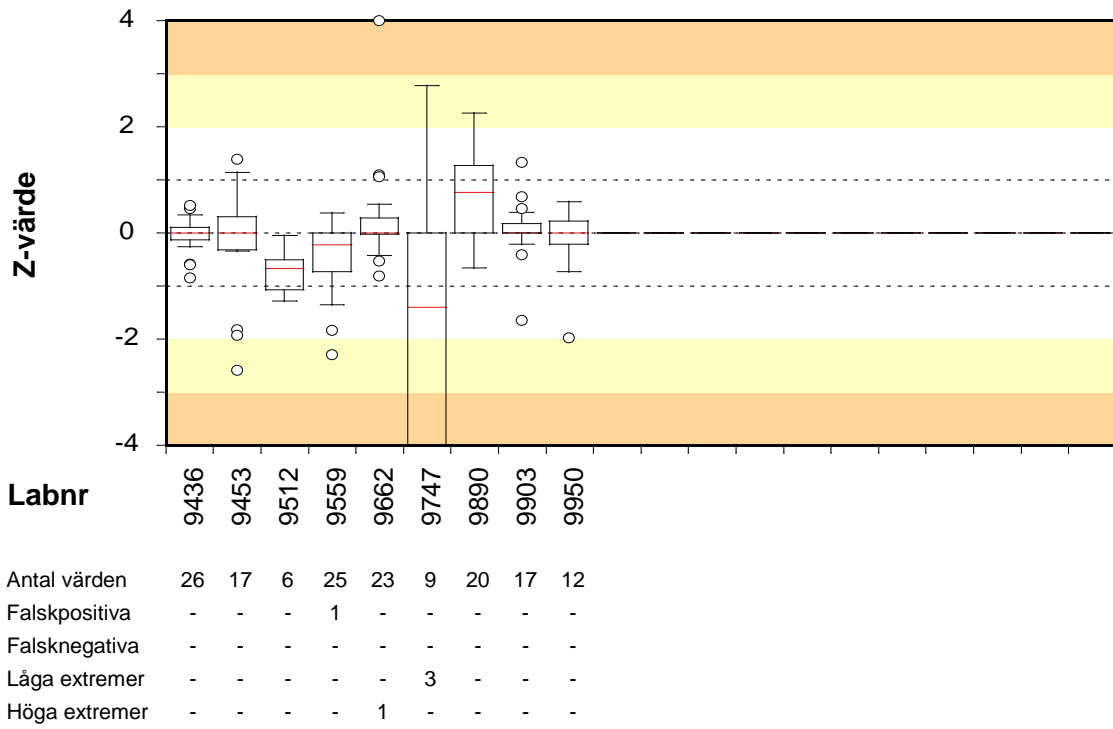












Testmaterial och kvalitetskontroll

Testmaterial

Testmaterialet bestod av tre frystorkade mikroorganismblandningar, A-C, som tillverkades och frystorkades portionsvis (0,5 ml) i vialer enligt beskrivning av Peterz och Steneryd (3). Före provansättning ska innehållet i en vial lösas upp i 254 ml steril spädningssväska. Innehållet i provblandningarna framgår av tabell 2.

Tabell 2. Mikroorganismer i respektive provblandning

| Blandning ¹ | Mikroorganism | Stambeteckning | |
|------------------------|----------------------------------|----------------------|-----------------------|
| | | SLV-nr. ² | Referens ³ |
| A | <i>Enterococcus hirae</i> | SLV-536 | CCUG 46536 |
| | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | SLV-186 | CCUG 45102 |
| | <i>Micrococcus sp.</i> | SLV-055 | ATCC 9341 |
| B | <i>Escherichia coli</i> | SLV-477 | CCUG 43601 |
| | <i>Serratia marcescens</i> | SLV-040 | ATCC 13880 |
| | <i>Staphylococcus hyicus</i> | SLV-546 | Kyckling |
| C | <i>Bacillus cereus</i> | SLV-160 | CCUG 45098 |
| | <i>Providencia alcalifaciens</i> | SLV-045 | CCUG 44809 |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> | SLV-350 | CCUG 45099 |

¹ För koppling av slumpad provbeteckning till respektive provblandning hänvisas till bilaga 1.

² Internt stamnummer på Livsmedelsverket.

³ Ursprung eller stamsamling (CCUG: Culture Collection University of Gothenburg, Sweden ; ATCC: American Type Culture Collection)

Kvalitetskontroll av provblandningarna

Homogena provblandningar och lika volym i varje vial är nödvändigt för att samtliga tillverkade frystorkade prov från en provblandning ska vara jämförbara. Kvalitetskontroll av provblandningarna utförs på 10 vialer i samband med tillverkningen eller på 5 vialer om en ”gammal” blandning används och den sista kvalitetskontrollen utfördes för mer än 6 månader sedan. Kriteriet för homogenitet för samtliga analyser är att värdena vid test av reproducerbarhet (T) och vid test med "Index of dispersion" mellan vialer (I₂) inte samtidigt överskrider gränsvärdena 2,6 respektive 2,0. (För definitioner av T och I₂, se referenserna 4 respektive 5.)

Tabell 3: Medelvärden av halter (m), T och I₂ värde från kvalitetskontroll av blandningarna; m anges i log₁₀ cfu (colony forming units) per ml prov.

| Analys och metod | A ¹ | | | B ¹ | | | C ² | | |
|---|----------------|------|----------------|----------------|------|----------------|----------------|------|----------------|
| | m | T | I ₂ | m | T | I ₂ | m | T | I ₂ |
| Aeroba mikroorganismer, 30 °C NMKL-metod nr. 86 | 4,300 | 1,16 | 1,13 | 4,659 | 1,29 | 0,68 | 4,919 | 1,61 | 4,96 |
| Aeroba mikroorganismer, 20 °C NMKL-metod nr. 86 | 4,287 | 1,17 | 1,20 | 4,597 | 1,69 | 2,74 | 4,948 | 1,74 | 5,62 |
| Främmande mikroorganismer ISO-metod nr. 13559 IDF-metod nr. 153:2002 | 4,296 | 1,87 | 2,21 | 4,706 | 1,27 | 0,76 | 5,135 | 1,33 | 2,75 |
| Enterobacteriaceae NMKL-metod nr. 144 | 3,858 | 1,58 | 3,37 | 4,336 | 1,21 | 1,01 | 4,690 | 1,36 | 1,21 |
| Koliforma bakterier 30 °C NMKL-metod nr. 44 | 3,822 | 1,38 | 1,66 | 4,168 | 1,35 | 1,54 | - | - | - |
| Koliforma bakterier 37 °C NMKL-metod nr. 44 | 3,853 | 1,45 | 2,66 | 4,200 | 1,45 | 2,59 | - | - | - |
| Termotoleranta koliforma bakterier NMKL-metod nr.125 | 3,845 | 1,23 | 0,71 | 4,234 | 1,62 | 0,54 | - | - | - |
| <i>Escherichia coli</i> NMKL-metod nr. 125 | - | - | - | 4,234 | 1,62 | 0,54 | - | - | - |
| Presumtiv <i>Bacillus cereus</i> NMKL-metod nr. 67 | - | - | - | - | - | - | 4,184 | 1,78 | 1,14 |
| Koagulaspositiva stafylokocker NMKL-metod nr. 66 | - | - | - | - | - | - | 3,923 | 1,03 | 0,02 |
| Enterokocker NMKL-metod nr. 68 | 3,691 | 1,20 | 0,42 | - | - | - | - | - | - |
| Gramnegativa bakterier i pastöriserad mjölk och grädde. Detektion av återkontamination NMKL-metod nr. 192 | Pos. | - | - | Pos. | - | - | Pos. | - | - |

- Ingen målorganism och därför inget värde

¹ n = 10 vialer med dubbelanalyser

² n = 5 vialer med dubbelanalyser

Referenser

1. Kelly, K. 1990. Outlier detection in collaborative studies. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 73:58-64.
2. Anonym, 2015. Verksamhetsprotokoll. Mikrobiologi. Dricksvatten & Livsmedel, Livsmedelsverket.
3. Peterz, M., Steneryd. A.C. 1993. Freeze-dried mixed cultures as reference samples in quantitative and qualitative microbiological examinations of food. *J. Appl. Bacteriol.* 74:143-148.
4. Mooijman, K.M., During, M. & Nagelkerke, N.J.D. 2003. MICROCRM: Preparation and control of batches of microbiological materials consisting of capsules. RIVM report 250935001/2003. RIVM, Bilthoven, Holland.
5. Heisterkamp, S.H., Hoekstra, J.A., van Strijp-Lockefeer, N.G.W.M., Havelaar, A.H., Mooijman, K.A., in't Veld, P.H., Notermans, S.H.W., Maier, E.A. ; Griepink, B. 1993. Statistical analysis of certification trials for microbiological reference materials. Luxembourg: Commission of the European Communities, Report EUR 15008 EN

| Lab nr. | Provnr. | Aeroba mikroorg. 30 °C | | | Aeroba mikroorg. 20 °C | | | Främmande mikroorganismer | | | Enterobacteriaceae | | | Kolliforma bakterier 30 °C | | | Kolliforma bakterier 37 °C | | | Termotoleranta kolif. bakterier | | | Escherichia coli | | | Presumtiv Bacillus cereus | | | Koagulaspositiva stafylokocker | | | Enterokocker | | | Gramneg. bakt. i past. mejeriprod. | | | Lab nr. |
|---------|---------|------------------------|------|------|------------------------|-----|------|---------------------------|------|------|--------------------|------|------|----------------------------|------|----|----------------------------|------|----|---------------------------------|------|----|------------------|------|------|---------------------------|----|------|--------------------------------|----|------|--------------|----|----|------------------------------------|---|---|---------|
| | | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | |
| 9662 | 2 3 1 | 4,18 | 4,64 | 4,83 | - | - | - | - | - | - | 3,86 | 4,22 | 4,83 | 4,84 | 4,16 | <1 | 3,81 | 4,22 | <1 | - | - | - | <1 | 4,19 | <1 | <1 | <1 | 3,77 | <1 | <1 | 3,95 | 3,72 | <1 | <1 | - | - | - | 9662 |
| 9747 | 1 3 2 | 4,14 | 4,45 | 4,51 | - | - | - | - | - | - | 3,11 | 3,04 | 3,99 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | <1 | <1 | 4,67 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 9747 |
| 9890 | 3 1 2 | 4,43 | 4,74 | 5,03 | 4,15 | 4,7 | 5,08 | - | - | - | 3,88 | 4,45 | 4,98 | - | - | - | 3,94 | 4,34 | 0 | - | - | - | 0 | 4,34 | 0 | 0 | 0 | 3,81 | 0 | 0 | 3,82 | - | - | - | - | - | - | 9890 |
| 9903 | 2 1 3 | 4,2 | 4,71 | 4,93 | - | - | - | - | - | - | 3,72 | 4,27 | 4,88 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | <1 | 4,43 | <1 | <1 | <1 | 3,87 | <1 | <1 | 3,64 | 3,75 | <1 | <1 | - | - | - | 9903 |
| 9950 | 1 3 2 | 4,22 | 4,66 | 4,8 | - | - | - | 4,22 | 4,55 | 4,91 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 3,78 | 4,12 | <1 | - | - | - | <1 | <1 | 3,48 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 9950 |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|------|-------|-------|------|------|-------|-----|------|------|-------|-----|------|-------|-------|------|----|-----|-----|-----|------|-----|
| N | | 167 | 167 | 168 | 28 | 28 | 28 | 17 | 17 | 17 | 142 | 140 | 142 | 55 | 54 | 55 | 93 | 93 | 91 | 47 | 47 | 47 | 115 | 113 | 115 | 117 | 116 | 117 | 107 | 106 | 107 | 72 | 71 | 71 | 11 | 11 | 11 | N | |
| Min | | 0 | 3,72 | 3,7 | 3,91 | 4,26 | 4,63 | 2,7 | 2,48 | 2,98 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3,2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - | - | Min |
| Max | | 5,35 | 5,98 | 5,53 | 4,32 | 4,80 | 5,11 | 4,47 | 4,75 | 5,04 | 5,03 | 5,03 | 5,28 | 4,84 | 5,08 | 4,97 | 4,44 | 4,61 | 4,85 | 4,04 | 4,53 | 4,71 | 3,71 | 5,02 | 0 | 3,90 | 4,23 | 4,67 | 0 | 4,45 | 4,94 | 4,74 | 4,50 | 0 | - | - | - | Max | |
| Med | | 4,21 | 4,64 | 4,92 | 4,17 | 4,49 | 4,91 | 4,12 | 4,55 | 4,88 | 3,72 | 4,20 | 4,79 | 3,65 | 4,18 | 0 | 3,69 | 4,12 | 0 | 3,75 | 4,20 | 0 | 0 | 4,17 | 0 | 0 | 0 | 4,00 | 0 | 0 | 3,84 | 3,76 | 0 | 0 | - | - | - | Med | |
| m | | 4,219 | 4,646 | 4,905 | 4,140 | 4,497 | 4,911 | 4,054 | 4,519 | 4,879 | 3,706 | 4,195 | 4,770 | 3,675 | 4,173 | 0 | 3,696 | 4,094 | 0 | 3,730 | 4,197 | 0 | 0 | 4,147 | 0 | 0 | 0 | 3,974 | 0 | 0 | 3,829 | 3,751 | 0 | 0 | pos | pos | pos | m | |
| s | | 0,093 | 0,140 | 0,144 | 0,113 | 0,153 | 0,120 | 0,281 | 0,201 | 0,103 | 0,141 | 0,190 | 0,160 | 0,148 | 0,177 | 0 | 0,209 | 0,280 | 0 | 0,153 | 0,185 | 0 | 0 | 0,213 | 0 | 0 | 0 | 0,250 | 0 | 0 | 0,115 | 0,080 | 0 | 0 | - | - | - | s | |
| F+ | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 0 | 0 | 15 | 0 | 0 | 2 | 3 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | 17 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | F+ |
| F- | | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 1 | 4 | 1 | 1 | 0 | 1 | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | F- |
| < | | 4 | 2 | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 6 | 3 | 0 | 0 | - | - | - | < |
| > | | 6 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 6 | 0 | 0 | - | - | - | > | |
| < OK | | 3,93 | 4,20 | 4,47 | 3,91 | 4,26 | 4,63 | 3,38 | 4,00 | 4,68 | 3,25 | 3,68 | 4,31 | 3,40 | 3,69 | 0 | 2,97 | 3,18 | 0 | 3,32 | 3,77 | 0 | 0 | 3,46 | 0 | 0 | 0 | 3,32 | 0 | 0 | 3,53 | 3,54 | 0 | 0 | - | - | - | < OK | |
| > OK | | 4,54 | 5,08 | 5,30 | 4,32 | 4,80 | 5,11 | 4,47 | 4,75 | 5,04 | 4,08 | 4,64 | 5,28 | 4,06 | 4,53 | 0 | 4,44 | 4,61 | 0 | 4,04 | 4,53 | 0 | 0 | 4,61 | 0 | 0 | 0 | 4,67 | 0 | 0 | 4,20 | 3,94 | 0 | 0 | - | - | - | > OK | |

N = antal utförda analyser
Min = lägsta rapporterade resultat

Max = högsta rapporterade resultat
Median = medianvärde

m = medelvärde
s = standardavvikelse

F+ = falskpositiv
F- = falsknegativ

< = låga extremvärden
> = höga extremvärden

< OK = lägsta accepterade värde
> OK = högsta accepterade värde

 Resultaten utvärderas inte

| Lab nr. | Provnr. | Aeroba mikroorganismer 30 °C | | | Aeroba mikroorganismer 20 °C | | | Främmande mikroorganismer i mjölkprodukter | | | Enterobacteriaceae | | | Koliforma bakterier 30 °C | | | Koliforma bakterier 37 °C | | | Termotoleranta koliforma bakterier | | | <i>Escherichia coli</i> | | | Presumtiv <i>Bacillus cereus</i> | | | Koagulaspositiv a stafylokocker | | | Enterokocker | | | Gramneg. bakterier i past. mjölk | | | Lab nr. |
|---------|---------|------------------------------|--------|--------|------------------------------|--------|--------|--|--------|--------|--------------------|--------|--------|---------------------------|--------|-------|---------------------------|--------|---|------------------------------------|--------|---|-------------------------|--------|---|----------------------------------|--------|--------|---------------------------------|--------|--------|--------------|---|---|----------------------------------|------|------|---------|
| | | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | | | | |
| 8523 | 3 2 1 | -0,209 | -0,112 | -1,219 | | | | | | | 0,242 | -1,027 | 0,436 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 8523 | | |
| 8568 | 3 1 2 | 0,866 | 0,246 | -0,176 | | | | | | | 1,090 | 1,337 | -0,378 | | | | 0,450 | 0,629 | 0 | | | 0 | -0,409 | 0 | 0 | 0 | -0,496 | 0 | -0,249 | 0,244 | 0 | 0 | | | 8568 | | | |
| 8626 | 1 3 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 8626 | | |
| 8628 | 2 1 3 | 1,189 | -0,327 | -0,037 | 0,883 | -1,416 | 0,827 | | | | 1,020 | -0,029 | 0,499 | 0,776 | 0,433 | 0 | 0,976 | 0,021 | 0 | 0,391 | 0,179 | 0 | 0 | 0,390 | 0 | 0 | 0 | 0,303 | 0 | -0,511 | -0,133 | 0 | 0 | | | 8628 | | |
| 8657 | 3 1 2 | 0,114 | 0,318 | 1,146 | | | | | | | 0,242 | 0,129 | -1,442 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 8657 | |
| 8734 | 3 1 2 | -0,962 | 0,747 | -0,037 | | | | | | | 0,312 | 0,024 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 8734 | |
| 8742 | 1 2 3 | -0,209 | -0,756 | -1,011 | | | | | | | 0,242 | -0,449 | -0,002 | 2,470 | 1,167 | 0 | 1,646 | 1,022 | 0 | 2,026 | 0,989 | 0 | 0 | 1,096 | 0 | 0 | 0 | -0,376 | 0 | 1,058 | -1,639 | 0 | 0 | | | 8742 | | |
| 8756 | 2 1 3 | -0,209 | 1,320 | 1,424 | | | | | | | 2,646 | 1,127 | 1,438 | | | | | | | | | | 0 | 0,061 | 0 | 0 | 0 | 1,303 | 0 | -4,000 | -1,639 | 0 | 0 | | | 8756 | | |
| 8766 | 2 3 1 | -0,209 | 1,105 | -4,000 | | | | | | | -0,748 | 1,074 | 0,186 | | | | | | | | | | 0 | 0,249 | 0 | 0 | 0 | 0,103 | 0 | 0,622 | 0,621 | 0 | 0 | | | 8766 | | |
| 8891 | 2 3 1 | -0,531 | -0,255 | 0,311 | | | | 1,481 | 1,103 | 1,563 | -0,253 | -0,081 | 0,374 | -0,105 | -0,697 | 0 | | | | | | | 0 | -0,409 | 0 | 0 | 0 | 1,343 | 0 | -0,249 | | | | | | 8891 | | |
| 8909 | 2 3 1 | -0,101 | 0,175 | 0,659 | | | | | | | 0,807 | -0,134 | 0,061 | 0,912 | -0,301 | 0 | | | | | | | 0 | -0,692 | 0 | 0 | 0 | -0,976 | 0 | 0,796 | 0,244 | 0 | 0 | | | 8909 | | |
| 8918 | 3 2 1 | -0,209 | 0,461 | -0,385 | | | | 0,235 | 0,107 | -1,151 | 0,171 | -0,239 | -0,753 | | | | 0,019 | -0,516 | 0 | | | 0 | 0,014 | 0 | 0 | 0 | -0,296 | 0 | -0,946 | | | | | | 8918 | | | |
| 9003 | 2 1 3 | -0,209 | -0,255 | -0,593 | | | | | | | -0,748 | -1,604 | -4,000 | | | | -0,507 | 0,342 | 0 | | | 0 | 0,202 | 0 | | | | 0 | -2,602 | | | | | | | 9003 | | |
| 9007 | 1 3 2 | -1,607 | 0,532 | 0,450 | | | | | | | -0,890 | -0,239 | -1,191 | | | | -1,033 | -1,339 | 0 | | | | 0 | -1,162 | 0 | | | 0 | -0,946 | | | | | | | 9007 | | |
| 9025 | 3 1 2 | -0,854 | 1,176 | -0,524 | | | | | | | -0,253 | 0,339 | 0,123 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 9025 | | |
| 9034 | 1 3 2 | -0,209 | -0,327 | -0,037 | 0,530 | 0,669 | -0,089 | | | | -0,041 | -0,501 | 0,186 | | | | | | | | | | 0 | 0,249 | 0 | | | | | | | | | | | 9034 | | |
| 9051 | 3 2 1 | -0,531 | -1,901 | -1,846 | | | | | | | -0,607 | -1,657 | -1,129 | | | | | | | | | | 0 | -3,231 | 0 | 0 | 0 | -0,137 | 0 | -1,469 | | | | | | | 9051 | |
| 9078 | 1 3 2 | 2,049 | 2,250 | -0,246 | | | | | | | 0,807 | 1,390 | -2,444 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 9078 | |
| 9217 | 3 1 2 | -1,499 | -1,114 | 1,424 | | | | | | | 0,171 | 0,602 | 0,061 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 9217 | |
| 9269 | 3 2 1 | -0,166 | -1,901 | -0,886 | | | | | | | | | | | | 0,320 | 0,071 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 9269 | |
| 9429 | 2 3 1 | -0,209 | -0,183 | 0,242 | | | | | | | 0,100 | 0,024 | 0,249 | | | | -0,077 | -0,051 | | -0,198 | -0,253 | 0 | 0 | -0,174 | 0 | | | 0 | 0,448 | 0,997 | 0 | 0 | | | | 9429 | | |
| 9436 | 3 2 1 | 0,221 | 0,461 | 0,102 | | | | | | | 0,030 | 0,339 | -0,252 | -0,240 | 0,094 | 0 | -0,172 | 0,521 | 0 | -0,590 | -0,846 | 0 | 0 | 0,202 | 0 | 0 | 0 | 0,103 | 0 | -0,598 | -0,133 | 0 | 0 | | | 9436 | | |
| 9453 | 1 3 2 | -1,822 | -0,255 | -0,315 | | | | -0,335 | -2,583 | -1,926 | 0,312 | 1,390 | 0,687 | | | | | | | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 1,143 | 0 | 0,012 | 0,370 | 0 | 0 | | | | 9453 | | |
| 9512 | 2 1 3 | -1,284 | -0,613 | -0,732 | | | | | | | -0,041 | -0,501 | -1,066 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 9512 | |
| 9559 | 2 3 1 | -0,747 | -0,613 | 0,381 | -1,147 | -1,351 | -0,339 | -0,228 | -1,836 | 0,109 | 0,242 | -2,287 | -0,252 | | | | -0,364 | -0,731 | | | | 0 | -1,068 | 0 | 0 | 0 | -0,616 | 0 | 0,186 | | | | | 0 | 0 | 0 | 9559 | |
| 9662 | 2 3 1 | -0,424 | -0,040 | -0,524 | | | | | | | 1,090 | 0,129 | 0,374 | 4,000 | -0,076 | 0 | 0,545 | 0,450 | 0 | | | | 0 | 0,202 | 0 | 0 | 0 | -0,816 | 0 | 1,058 | -0,384 | 0 | 0 | | | 9662 | | |
| 9747 | 1 3 2 | -0,854 | -1,400 | -2,750 | | | | | | | -4,000 | -4,000 | -4,000 | | | | | | | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 2,782 | | | | | | | | | | 9747 | |
| 9890 | 3 1 2 | 2,264 | 0,675 | 0,868 | 0,089 | 1,320 | 1,409 | | | | 1,232 | 1,337 | 1,313 | | | | 1,167 | 0,879 | 0 | | | | 0 | 0,908 | 0 | 0 | 0 | -0,656 | 0 | -0,075 | | | | | | 9890 | | |
| 9903 | 2 1 3 | -0,209 | 0,461 | 0,172 | | | | | | | 0,100 | 0,392 | 0,687 | | | | | | | | | | 0 | 1,331 | 0 | 0 | 0 | -0,416 | 0 | -1,643 | -0,007 | 0 | 0 | | | 9903 | | |
| 9950 | 1 3 2 | 0,006 | 0,103 | -0,732 | | | | 0,591 | 0,157 | 0,303 | | | | | | | | | | 0,325 | -0,415 | 0 | | | | | 0 | -1,976 | | | | | | | | 9950 | | |

Resultaten utvärderas inte

Intern och extern kontroll av dricksvatten- och livsmedelsanalyser

I all analysverksamhet är det viktigt att arbetet håller en dokumenterat hög standard. För detta ändamål har de flesta laboratorier någon form av internt system för kvalitetssäkring. Hur väl analyserna fungerar måste dock även utvärderas av oberoende part. Genom deltagande i kompetensprovningar (PT) får laboratorierna en extern kvalitetskontroll av sin kompetens, vilket ackrediteringsorganen vanligen kräver.

Vid en kompetensprovning analyseras likadana prov av ett antal laboratorier med sina rutinmetoder. Organisatören sammanställer och utvärderar resultaten i form av en rapport.

Livsmedelsverkets kompetensprovningar ger

- Extern och oberoende utvärdering av laboratoriers analyskompetens.
- Ökad kunskap om analysmetoder för olika typer av organismer.
- Expertstöd.
- Underlag för bedömning av ackreditering.
- Extra material för uppföljning av resultat utan kostnad.

För mer information, besök vår webbplats: www2.slv.se/absint

Livsmedelsverkets referensmaterial

Som ett komplement till kompetensprovningarna, men utan specifik ackreditering, tillverkar och säljer Livsmedelsverket även ett antal olika referensmaterial (RM) för interna kontroller av livsmedels- och dricksvattenanalyser, inklusive analyser av patogener.

För mer information, besök vår webbplats: www.livsmedelsverket.se/RM-micro