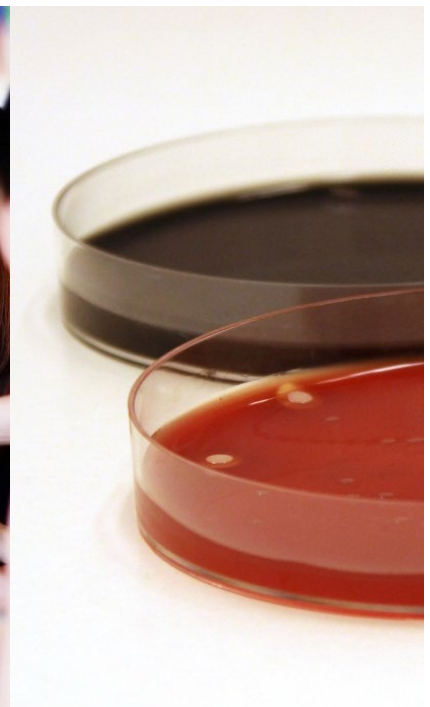


## Mikrobiologi – Livsmedel

April 2021

Jonas Ilbäck



*Utgåva*  
Version 1 (2021-06-21)

*Ansvarig utgivare*  
Maria Sitell, avdelningschef, Biologiavdelningen, Livsmedelsverket

*Programansvarig*  
Jonas Ilbäck, mikrobiolog, Biologiavdelningen, Livsmedelsverket

PT april 2021 har diarienummer 2021/00909 vid Livsmedelsverket.

*Kompetensprovning*  
**Mikrobiologi – Livsmedel**  
April 2021

**Kvantitativa analyser**

- Aeroba mikroorganismer, 30 °C
- Psykrotrofa mikroorganismer
- Enterobacteriaceae
- *Escherichia coli*
- Presumtiv *Bacillus cereus*
- Koagulaspositiva stafylokocker
- Mjölksyrabakterier
- *Clostridium perfringens*
- Anaeroba sulfitreducerande bakterier
- Aeroba mikroorganismer i fiskprodukter, 20-25 °C
- Vätesulfidproducerande bakterier i fiskprodukter
- Jäst
- Mögel

# Förkortningar

## Substrat

BA	Blodagar
BcsA	<i>Bacillus cereus</i> -selektiv-agar
BP	Baird-Parker-agar
CBC	Oxoid Brilliance™ <i>Bacillus cereus</i> agar
DG18	Dikloran-glycerol-agar
DRBC	Dikloran-Rose-Bengal-kloramfenikol-agar
EC	<i>E. coli</i> -buljong
JA	Järnagar
JSA	Järnsulfit-agar
LSB	Laurylsulfat-buljong
LTLSB	Laktos-trypton-laurylsulfat-buljong
mCP	Membran- <i>Clostridium perfringens</i> -agar
MPCA	Milk Plate Count agar
MRS	de Man, Rogosa och Sharpe-agar
MRS-aB	de Man, Rogosa och Sharpe-agar med amphotericin
MRS-S	de Man, Rogosa och Sharpe-agar med sorbinsyra
MYP	Mannitol-äggula-polymyxin-agar
OGYE	Oxytetracyklin-glukos-jästextrakt-agar
OPSP	Oleandomycin, Polymixin, Sulphadiazine, Perfringens (OPSP)-agar
PAB	Perfringens-agar-bas
PDA	Potato Dextrose Agar
PEMBA	Polymyxin-pyruvat-äggula-mannitol-bromtymolblå-agar
Petrifilm AC	3M™ Petrifilm™ Aerobic Count
Petrifilm Disk	3M™ Petrifilm™ Staph Express Disk
Petrifilm EB	3M™ Petrifilm™ Enterobacteriaceae
Petrifilm EC/CC	3M™ Petrifilm™ <i>E. coli</i> /Coliform Count
Petrifilm LAB	3M™ Petrifilm™ Lactic Acid Bacteria
Petrifilm SEC	3M™ Petrifilm™ Select <i>E. coli</i>
Petrifilm Staph	3M™ Petrifilm™ Staph Express
PCA	Plate Count Agar
RPFA	Baird-Parker-agar med kanin-plasma-fibrinogen
Saubouraud	Saubouraud-kloramfenikol-agar
SC	Sulfit-cykloserin-agar
SFP	Shahidi-Ferguson-Perfringens-agar
TBX	Trypton-galla-X-glukuronid-agar
TEMPO AC	TEMPO® Aerobic Count
TEMPO BC	TEMPO® <i>Bacillus cereus</i>
TEMPO EB	TEMPO® Enterobacteriaceae
TEMPO YM	TEMPO® Yeast/Mold
TGE	Trypton-glukos-extrakt-agar
TS	Tryptos-sulfit-agar
TSA	Trypton-soja-agar
TSC	Tryptos-sulfit-cykloserin-agar
VRG	Violettröd-galla-agar
VRGG	Violettröd-galla-glukos-agar
YGC	Jästextrakt-glukos-kloramfenikol-agar

## Organisationer

AFNOR	French National Standardization Association
AOAC	AOAC INTERNATIONAL
IDF	International Dairy Foundation
ISO	International Organization for Standardization
NMKL	Nordisk Metodikkomité for Næringsmidler
SLV/NFA	Livsmedelsverket/Swedish Food Agency, Sweden

# Innehåll

---

Allmän information om utvärdering av resultaten .....	6
Analysresultat från provtillfället april 2021 .....	7
- Generellt utfall .....	7
- Aeroba mikroorganismer, 30 °C .....	8
- Psykrotrofa mikroorganismer .....	10
- Enterobacteriaceae .....	12
- <i>Escherichia coli</i> .....	14
- Presumtiv <i>Bacillus cereus</i> .....	17
- Koagulaspositiva stafylokocker .....	18
- Mjölksyrabakterier .....	21
- <i>Clostridium perfringens</i> .....	23
- Anaeroba sulfitreducerande bakterier .....	25
- Aeroba mikroorganismer i fiskprodukter, 20–25 °C .....	26
- Vätesulfidproducerande bakterier i fiskprodukter .....	28
- Jäst och mögel .....	29
Utfall av enskilda laboratoriers analysresultat – bedömning .....	33
- Boxdiagram .....	34
Testmaterial och kvalitetskontroll .....	39
- Testmaterial .....	39
- Kvalitetskontroll av provblandningarna .....	40
Referenser .....	41
Bilaga 1 – Deltagarnas analyssvar	
Bilaga 2 – z-värden	

# Allmän information om utvärdering av resultaten

## Statistisk utvärdering av resultaten

För analyser där 20 eller fler laboratorier rapporterat resultat, identifieras extremvärden statistiskt. Värderna som efter  $\log_{10}$ -transformering ligger utanför en strikt normalfördelning identifieras då som extremvärden med Grubbs test modifierat av Kelly (1). När färre än 20 laboratorier rapporterat resultat, samt i en del gränsfall, görs istället subjektiva justeringar av gränserna för extremvärden utifrån den kunskap som finns om provinnehållet.

Medelvärden och standardavvikelser redovisas normalt för de olika analyserna. För analyser med färre än 20 rapporterade resultat redovisas istället medianvärde. För metodgrupper som innehåller färre än 5 resultat redovisas normalt varken medelvärde eller medianvärde, utan endast antalet falska resultat och extremvärden. Falska svar och extremvärden inkluderas inte i beräkningar av medelvärden och standardavvikelser. Resultat som har rapporterats som "> värde" utvärderas inte. Resultat som rapporterats som "< värde" betraktas som noll.



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, till exempel när laboratorier uppger substrat som inte ingår i den refererade standarden. Som huvudregel används då likväl det av laboratoriet angivna substratet i metodjämförelser. Resultat från laboratorier med på annat sätt motsägelsefulla eller svårtydda metoduppgifter har normalt antingen exkluderats från metodjämförelsen eller lagts till gruppen "Övriga", tillsammans med resultat från metoder och substrat som endast använts av enstaka laboratorier. Om något substrat inte har angetts, antas normalt att laboratoriet använt det av metoden föreskrivna substratet.

## Mätosäkerhet för åsatt värde

Mätosäkerheten för ett åsatt värde beräknas som standardavvikelsen dividerat med kvadratroten ur antal korrekta svar ("standard error"). Åsatt värde är medelvärdet av deltagarnas resultat för en parameter med extremvärden och falska svar exkluderade.




## 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 <sup>-1</sup> (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 varje prov och parameter. Analysens medelvärde anges ovanför staplarna.

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

# Analysresultat av provtillfälle april 2021

## Generellt utfall

Provmaterial sändes ut till 170 laboratorier, varav 39 i Sverige, 117 i övriga Europa och 14 laboratorier i övriga världen. Av de 163 laboratorier som rapporterade svar hade 112 (69 %) minst ett analys svar med anmärkning. Vid det senaste provtillfället med ungefär samma parametrar (april 2020) var andelen 75 %.

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

**Tabell 1. Sammansättning av testmaterialet och andel avvikande svar (N: antal rapporterade resultat, F: falskpositiv / falsknegativ, X: extremvärden).**

	Prov A				Prov B				Prov C			
<b>% deltagare med</b> 												
<b>Mikroorganismer</b>	<i>Bacillus cereus</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Kluyveromyces marxianus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Staphylococcus xylosum</i>				<i>Aeromonas caviae</i> <i>Candida glabrata</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Penicillium verrucosum</i> <i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Clostridium bif fermentans</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Hafnia alvei</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Staphylococcus aureus</i>			
<b>Analys</b>	<b>Målorganism</b>	<b>N</b>	<b>F</b>	<b>X</b>	<b>Målorganism</b>	<b>N</b>	<b>F</b>	<b>X</b>	<b>Målorganism</b>	<b>N</b>	<b>F</b>	<b>X</b>
Aeroba mikroorganism, 30 °C	Alla	147	0 %	2 %	Alla	149	0 %	4 %	Alla	148	0 %	3 %
Psykrotrofa mikroorganism	Alla	20	0 %	0 %	Alla	21	0 %	0 %	Alla	21	0 %	5 %
Enterobacteriaceae	<i>E. coli</i>	128	2 %	3 %	( <i>A. caviae</i> )	128	32 %	0 %	<i>E. coli</i> <i>H. alvei</i>	130	2 %	2 %
<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	113	6 %	3 %	-	116	1 %	0 %	<i>E. coli</i>	114	2 %	3 %
Presumtiv <i>B. cereus</i>	<i>B. cereus</i>	113	6 %	6 %	( <i>A. caviae</i> ) ( <i>S. aureus</i> )	115	2 %	0 %	( <i>A. hydrophila</i> ) ( <i>S. aureus</i> )	115	6 %	0 %
Koagulaspositiva stafylokocker	( <i>S. xylosum</i> )	97	7 %	0 %	<i>S. aureus</i>	99	4 %	4 %	<i>S. aureus</i>	99	5 %	7 %
Mjölksyrabakterier	<i>L. plantarum</i>	56	0 %	5 %	( <i>C. glabrata</i> ) ( <i>S. aureus</i> )	55	42 %	0 %	<i>L. plantarum</i>	56	0 %	9 %
<i>C. perfringens</i>	-	58	0 %	0 %	<i>C. perfringens</i>	59	5 %	3 %	( <i>C. bif fermentans</i> )	59	19 %	0 %
Anaerob. sulfited. bakterier	-	61	2 %	0 %	<i>C. perfringens</i>	59	2 %	2 %	<i>C. bif fermentans</i>	59	5 %	5 %
Aeroba mikroorg. i fiskprodukter	Alla	27	0 %	0 %	Alla	28	0 %	4 %	Alla	28	0 %	4 %
H2S-prod. bakterier i fiskprodukter	-	24	4 %	0 %	-	25	8 %	0 %	<i>H. alvei</i>	25	8 %	4 %
Jäst	<i>K. marxianus</i>	132	2 %	5 %	<i>C. glabrata</i>	132	2 %	6 %	-	133	5 %	0 %
Mögel	<i>C. cladosporioides</i>	129	8 %	3 %	<i>P. verrucosum</i>	129	24 %	3 %	-	130	2 %	0 %

- saknar målorganism; **mikroorganism** = huvudsaklig målorganism; (*mikroorganism*) = falskpositiv före konfirmering

Utvärderas inte

## **Aeroba mikroorganismer, 30 °C**

---

### **Prov A**

Stammarna av *B. cereus*, *L. plantarum* och *E. coli* förekom i högst koncentrationer och var därmed huvudsakliga målorganismer.

Det rapporterades tre låga extremvärden.

### **Prov B**

Stammarna av *S. aureus* och *A. caviae* förekom i högst koncentrationer och var därmed huvudsakliga målorganismer.

Det rapporterades fyra låga och två höga extremvärden.

### **Prov C**

Stammarna av *E. coli*, *L. plantarum* och *A. hydrophila* förekom i högst koncentrationer och var därmed huvudsakliga målorganismer.

Det rapporterades tre låga och två höga extremvärden.

### **Allmänt om analyserna**

Som vid tidigare provtillfällen använde laboratorierna främst NMKL 86:2013 (30 %), ISO 4833-1:2013 (22 %) eller Petrifilm AC (17 %). Även de äldre NMKL 86:2006 (7 %) och ISO 4833:2003 (4 %) förekom. Såväl NMKL 86 som ISO 4833 baseras på inkubering på PCA eller MPCA vid 30 °C i 72 h. Med Petrifilm AC kan däremot laboratorier använda olika tid/temperatur, beroende på vilken metodvalidering som följs. Exempelvis föreskriver AOAC® 990.12 inkubering vid 35 °C i 48 h medan AFNOR 3M 01/1-09/89 föreskriver 30 °C i 72 h. ISO 4833-1:2013 granskades senast av ISO år 2019 och är fortfarande aktuell.

Majoriteten av laboratorierna inkuberade på antingen PCA eller Petrifilm AC. Inkubering på MPCA gjordes främst av laboratorier inom mjölkindustrin. Inkubering på TSA skedde främst vid användning av en företagsspecifik metod.

Fem laboratorier använde TEMPO AC, som är baserad på MPN (*Most Probable Number*). Med denna metod inkuberas provet i ett kort som innehåller brunnar med olika volymer. Ett substrat i brunnarna avger fluorescens när det hydrolyseras av mikroorganismerna. Antalet mikroorganismer bestäms sedan statistiskt genom antalet och storleken på de brunnar som fluorescerar.

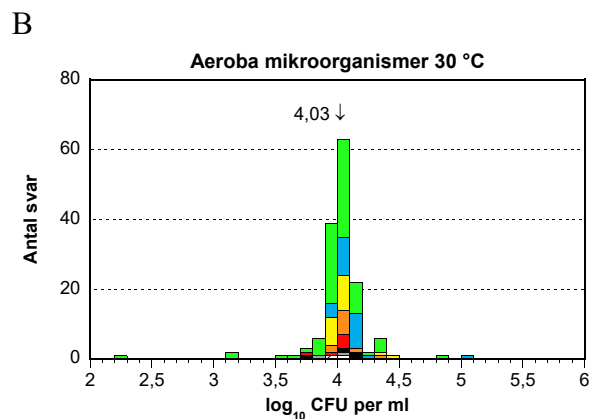
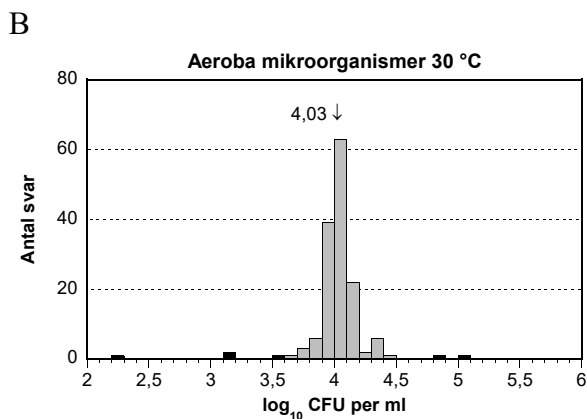
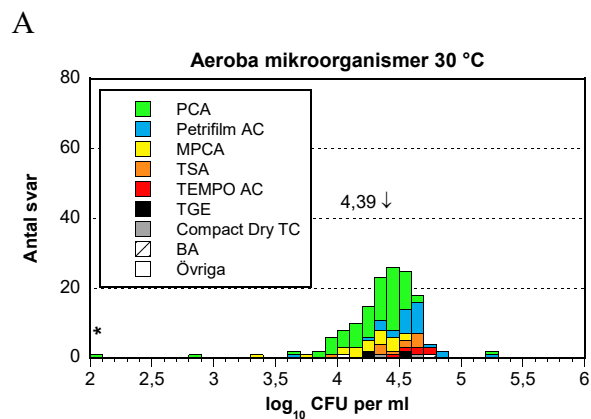
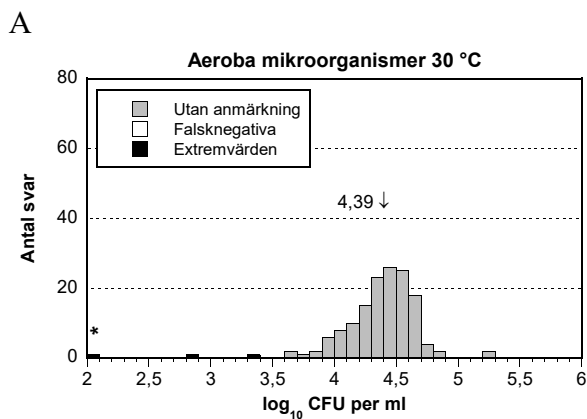
Resultaten för de olika metod- och substratgrupperarna var väldigt lika och inga signifikanta skillnader kunde identifieras.

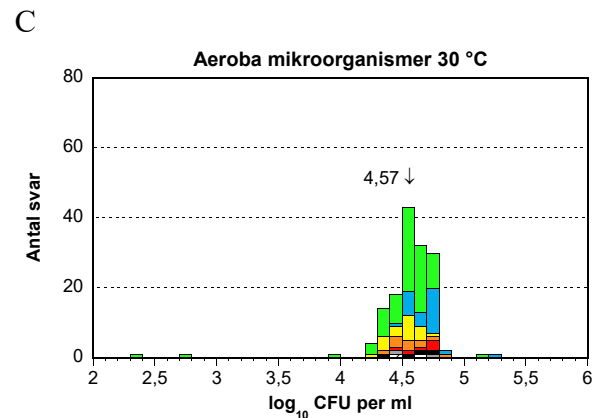
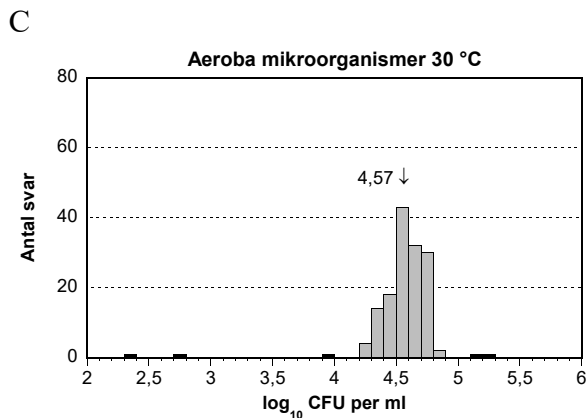
**Kommentar:** Ett laboratorium angav att man följde ISO 4832:2006 (koliforma bakterier), medan ett annat angav ISO 13559/IDF 153 (kontaminerande mikroorganismer). Båda dessa laboratorier har dock angett substrat lämpade för analysen av aeroba mikroorganismer.



Resultat från analys av aeroba mikroorganismer, 30 °C

Substrat	Prov A						Prov B						Prov C					
	N	n	m	s	F	< >	N	n	m	S	F	< >	N	n	m	s	F	< >
Alla svar	147	144	4,39	0,26	0	3 0	149	143	4,03	0,12	0	4 2	148	143	4,57	0,13	0	3 2
PCA	75	73	4,31	0,24	0	2 0	77	72	4,02	0,13	0	4 1	76	72	4,55	0,12	0	3 1
Petrifilm AC	27	27	4,57	0,27	0	0 0	27	26	4,09	0,07	0	0 1	27	26	4,67	0,10	0	0 1
MPCA	20	19	4,27	0,19	0	1 0	20	20	4,04	0,13	0	0 0	20	20	4,51	0,14	0	0 0
TSA	11	11	4,46	0,22	0	0 0	11	11	4,05	0,10	0	0 0	11	11	4,55	0,15	0	0 0
TEMPO AC	6	6	4,61	0,10	0	0 0	6	6	4,00	0,12	0	0 0	6	6	4,65	0,13	0	0 0
TGE	4	4	-	-	0	0 0	4	4	-	-	0	0 0	4	4	-	-	0	0 0
Compact Dry TC	2	2	-	-	0	0 0	2	2	-	-	0	0 0	2	2	-	-	0	0 0
BA	1	1	-	-	0	0 0	1	1	-	-	0	0 0	1	1	-	-	0	0 0
Övriga	1	1	-	-	0	0 0	1	1	-	-	0	0 0	1	1	-	-	0	0 0





## Psykrotrofa mikroorganismer

### Prov A

Stammarna av *B. cereus*, *L. plantarum* och *E. coli* förekom i högst koncentrationer och var därmed huvudsakliga målorganismer. Vid Livsmedelsverkets kontroll (tio dygns inkubering på PCA vid 6,5 °C) erhöles en större spridning i resultaten än förväntat, varför analysparametern inte uppfyllde kraven för homogenitet. Inga resultat har därför bedömts som extremvärden. Laboratorier som rapporterat resultat lägre än 3,0 log<sub>10</sub> cfu ml<sup>-1</sup> uppmanas dock att upprepa analysen.

Det rapporterades 18 positiva resultat och två nollresultat. Laboratorier som inkuberade vid 6,5 °C rapporterade lägre resultat än laboratorier som inkuberade vid högre temperaturer.

***På grund av svårigheterna med analysen är resultaten för prov A inte utvärderade. De tilldelas därför heller inte några z-värden.***

### Prov B

Stammarna av *S. aureus* och *A. caviae* förekom i högst koncentrationer och var därmed huvudsakliga målorganismer. Vid Livsmedelsverkets kontroll uppfyllde inte analysparametern kraven för homogenitet.

Det rapporterades 18 positiva resultat och tre nollresultat. Laboratoriernas resultat hade en stor spridning och det kan därför inte uteslutas att nollresultat erhöles av slumpen.

***På grund av svårigheterna med analysen är resultaten för prov B inte utvärderade. De tilldelas därför heller inte några z-värden.***

### Prov C

Stammarna av *E. coli*, *L. plantarum* och *A. hydrophila* förekom i högst koncentrationer och var därmed huvudsakliga målorganismer.

Det rapporterades ett lågt extremvärde. Laboratorier som inkuberade vid 21 °C rapporterade högre resultat än laboratorier som inkuberade vid lägre temperaturer.

## Allmänt om analyserna

Totalt 21 laboratorier utförde analysen. Majoriteten av dessa (71 %) inkuberade på PCA, men även MPCA (14 %) och Petrifilm AC (10 %) förekom. Ett laboratorium inkuberade på Long & Hammer-agar.

Som vid tidigare provtillfällen varierade inkuberingsförhållandena stort, vilket beror på skillnader i de metoder som används av laboratorierna. NMKL 86:2013 föreskriver 10 dygn vid 6,5 °C, men även 20 h vid 17 °C följt av 3 dygn vid 7 °C kan användas. För mjölk räknas med ISO 6730:2005/IDF 101:2005 psykrotrofa mikroorganismer vid 6,5 °C. Den andra metoden för mjölk, ISO 8552:2004/IDF 132:2004, ger en uppskattning av antalet psykrotrofa mikroorganismer genom en snabbmetod med inkubering vid 21 °C. Bägge dessa har dragits tillbaka och ersatts av ISO 17410:2019, vilken som huvudprincip anger inkubation vid 6,5 °C. Två laboratorier angav NMKL 74:2000, vilken har ersatts av NMKL 86:2013.

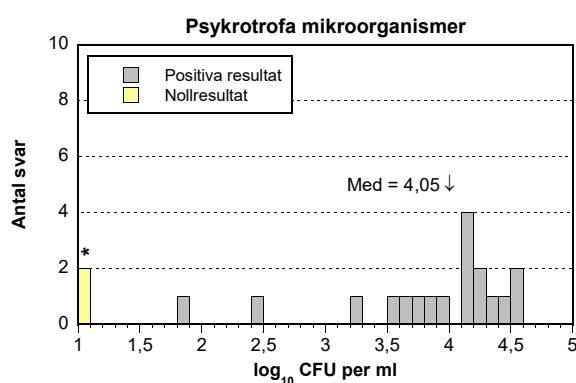
Det låga antalet deltagare gör det svårt att koppla förekommande falsknegativa resultat till någon specifik metod eller substrat. Resultaten är därför svåra att utvärdera, speciellt eftersom några laboratorier angav temperatur, inkuberingstid eller substrat som inte stämde överens med angiven metod. Majoriteten av de av laboratorierna angivna metoderna kunde dock fördelas i tre grupper. Generellt användes 21 °C tillsammans med 24 h inkubering medan 6,5 °C användes med 10 dygns inkubering. 17 °C / 7 °C användes normalt med inkubering i 20 h vid 17 °C, följt av 3 dygn vid 7 °C.

### Resultat från analys av psykrotrofa mikroorganismer

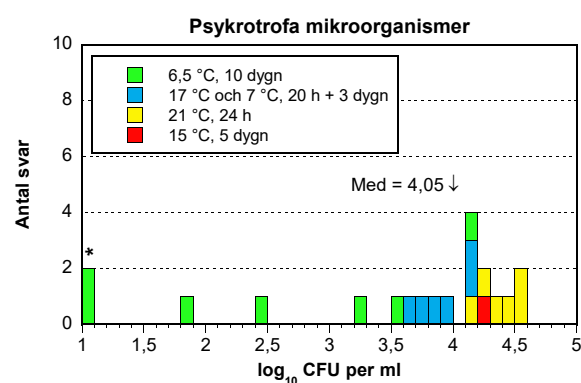
Metod	Prov A						Prov B						Prov C					
	N	n	Med*	s	F	< >	N	n	Med*	s	F	< >	N	n	m	s	F	< >
Alla svar	20	20	4,05	1,36	0	0 0 0	21	21	2,43	1,30	0	0 0 0	21	20	3,69	0,41	0	1 0
6,5 °C, 10 dygn	7	7	2,48	1,67	0	0 0 0	8	8	2,29	0,46	0	0 0 0	8	8	3,52	0,15	0	0 0 0
17 och 7 °C, 20 h + 3 dygn	6	6	3,92	0,18	0	0 0 0	6	6	1,80	1,48	0	0 0 0	6	6	3,53	0,33	0	0 0 0
21 °C, 24 h	6	6	4,39	0,15	0	0 0 0	6	6	3,37	1,93	0	0 0 0	6	5	4,15	0,49	0	1 0
15 °C, 5 dygn	1	1	-	-	0	0 0 0	1	1	-	-	0	0 0 0	1	1	-	-	0	0 0 0

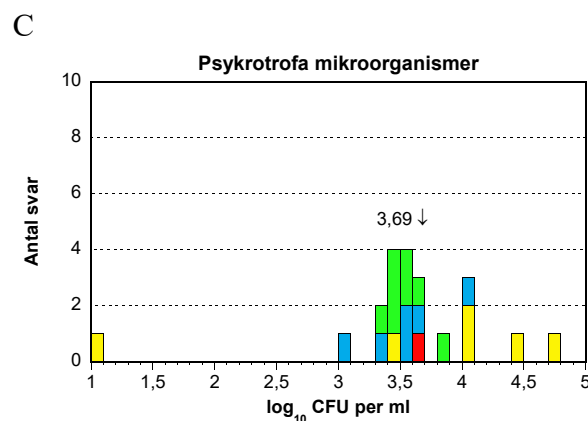
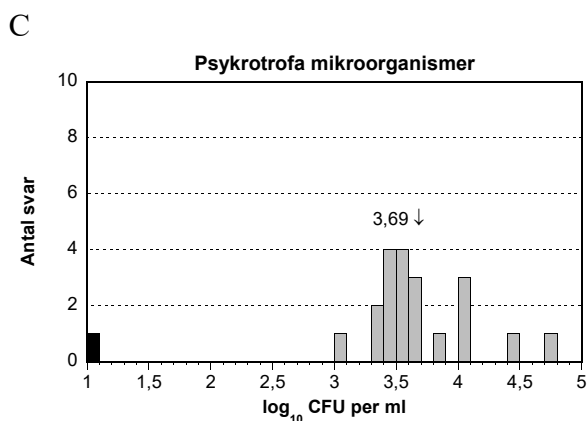
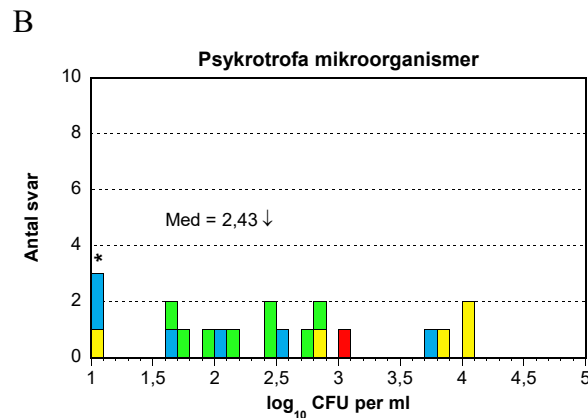
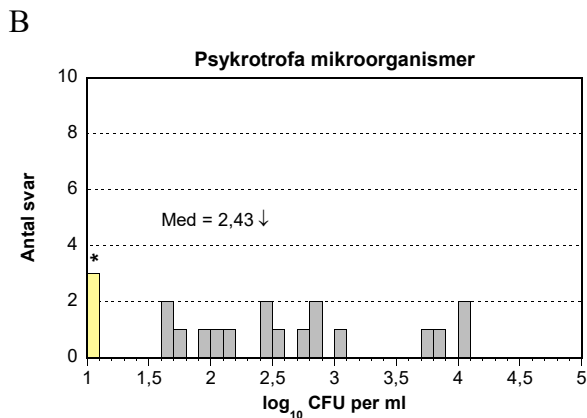
\* Med = median

A



A





## Enterobacteriaceae

### Prov A

Stammen av *E. coli* var målorganism. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll växte den fram på VRGG med typiska röda/lila kolonier med utfällningszon av gallsalter.

Det rapporterades tre låga och ett högt extremvärde, samt två falsknegativa resultat.

### Prov B

Ingen målorganism fanns i provet, men stammen av *A. caviae* kan växa fram på VRGG med röda kolonier. Den kan dock särskiljas från Enterobacteriaceae eftersom den är oxididaspositiv. Stammen av *A. caviae* förekom med cirka  $3,5 \log_{10}$  cfu ml<sup>-1</sup> i provet.

Det rapporterades 41 falskpositiva resultat, vilka fördelades förhållandevis jämnt mellan 0,3 och  $3,4 \log_{10}$  cfu ml<sup>-1</sup>, med en antydning till en topp kring  $2,0 \log_{10}$  cfu ml<sup>-1</sup>. De falskpositiva resultaten fördelade sig relativt jämnt mellan de metoder och substrat som användes, men en viss överrepresentation fanns bland laboratorier som använde TEMPO EB och Petrifilm EB.

### Prov C

Stammarna av *E. coli* och *H. alvei* var målorganismer. De växer fram på VRGG med typiska rosa/röda kolonier med utfällningszon av gallsalter.

Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll observerades på VRGG även mindre kolonier utan utfällningszon. Dessa var vid konfirmering oxididaspositiva och räknades därför inte

som Enterobacteriaceae. De kan därmed sannolikt antas vara *A. hydrophila* som också fanns i provet.

Det rapporterades två låga extremvärden, samt två falsknegativa resultat.

### Allmänt om analyserna

Enterobacteriaceae är gramnegativa och oxidasnegativa bakterier, som fermenterar glukos under syrabildning. På VRGG bildar de därför rosa/röda kolonier, med eller utan utfällningszon av gallsalter. Enterobacteriaceae har ett liknande utseende på Petrifilm EB, som även innehåller en färgindikator för detektion av sura biprodukter och vars plastfilm påvisar gasproduktion.

Som vid tidigare kompetensprovningar följde de flesta laboratorier antingen NMKL 144:2005 (43 %) eller en metod med Petrifilm EB (25 %), medan ISO-metoderna (olika versioner) totalt stod för 19 %. ISO 21528-2:2017 är baserad på koloniräkning, medan ISO 21528-1:2017 är baserad på MPN. Den senare metoden rekommenderas när den förväntade halten Enterobacteriaceae är lägre än 100 cfu g<sup>-1</sup>.

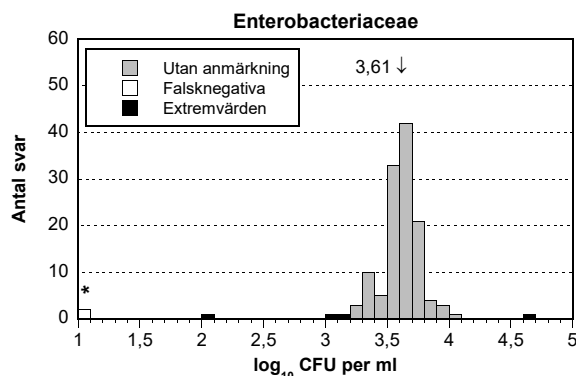
Andelen användare av ISO 21528-2:2017 var högre än ISO 21528-2:2004 (15 respektive 5 laboratorier). Som jämförelse angav fyra laboratorier den äldre ISO 21528-1:2004 medan endast ett angav den nya ISO 21528-1:2017.

NMKL 144:2005 anger konfirmering av presumtiva kolonier med oxidastest. ISO 21528-2:2017 anger konfirmering av presumtiva kolonier med både oxidastest och ett test för fermentering av glukos. Majoriteten av de laboratorier som här angav att de utförde konfirmering specificerade att denna bestod av ett oxidastest.

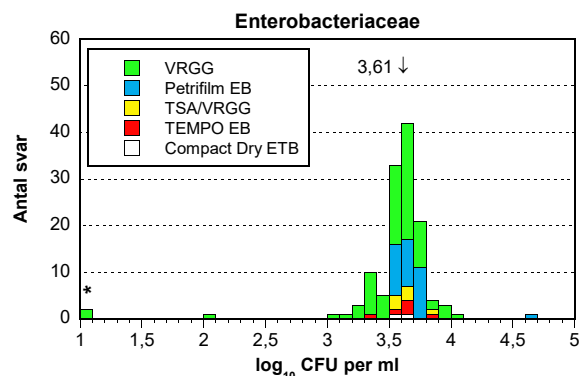
### Resultat från analys av Enterobacteriaceae

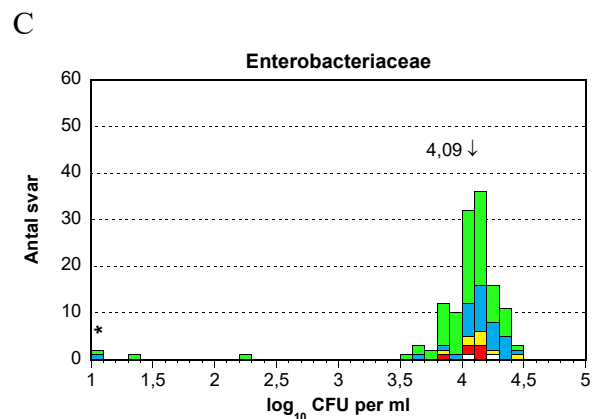
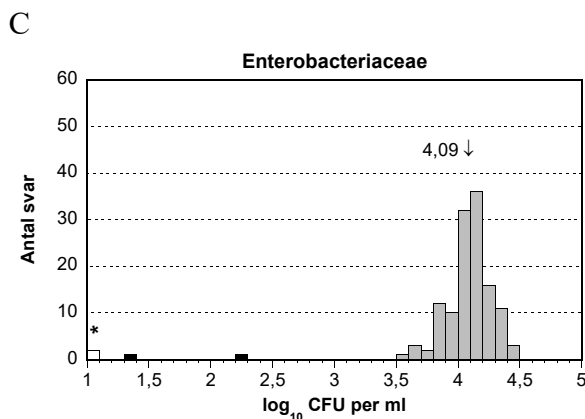
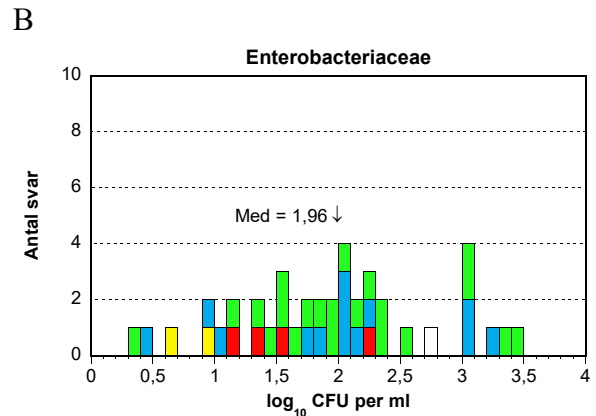
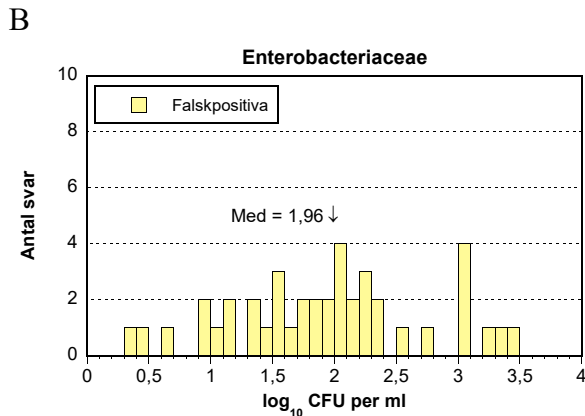
Substrat	Prov A							Prov B							Prov C						
	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>
Alla svar	128	122	3,61	0,14	2	3	1	128	87	-	-	41	-	-	130	126	4,09	0,17	2	2	0
VRGG	80	75	3,59	0,16	2	3	0	80	59	-	-	21	-	-	81	78	4,06	0,17	1	2	0
Petrifilm EB	33	32	3,64	0,08	0	0	1	32	19	-	-	13	-	-	33	32	4,15	0,16	1	0	0
TSA/VRGG	7	7	3,63	0,12	0	0	0	8	6	-	-	2	-	-	8	8	4,14	0,17	0	0	0
TEMPO EB	6	6	3,62	0,16	0	0	0	6	2	-	-	4	-	-	6	6	4,08	0,12	0	0	0
Compact Dry ETB	2	2	-	-	0	0	0	2	1	-	-	1	-	-	2	2	-	-	0	0	0

A



A





## *Escherichia coli*

### Prov A

Stammen av *E. coli* var målorganism. Den växer normalt fram på TSA/VRG med typiska mörkröda kolonier omgivna av en röd utfällningszon. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll observerades inga andra kolonier på TSA/VRG. Vid konfirmering bildar stammen av *E. coli* både gas och indol i LTLBSB. Den är även positiv för  $\beta$ -glukuronidas.

Det rapporterades två låga och ett högt extremvärde, samt sju falsknegativa resultat. De falsknegativa resultaten kunde inte uppenbart kopplas till användning av någon specifik metod eller substrat.

### Prov B

Ingen målorganism fanns i provet.

Det rapporterades ett falskpositivt resultat.

### Prov C

Stammen av *E. coli* (ej identisk med den i prov A) var målorganism för analysen. Den växer normalt fram på TSA/VRG med typiska mörkröda kolonier omgivna av en röd utfällningszon. Stammen är indolpositiv,  $\beta$ -glukuronidaspositiv, samt bildar gas i LTLBSB.

Det rapporterades två låga och ett högt extremvärde, samt två falsknegativa resultat.

### Allmänt om analyserna

Totalt 34 % av laboratorierna angav att man använde någon form av metod baserad på 3<sup>TM</sup> Petrifilm<sup>TM</sup>. NMKL 125:2005 och ISO 16649-2:2001 användes som jämförelse av 28 % respektive 15 % av laboratorierna. Här kan dock tilläggas att några av de laboratorier som följde NMKL 125:2005 och ISO 16649-2:2001 samtidigt angav att de inkuberade på Petrifilm EC/CC eller Petrifilm SEC. Det kan här nämnas att NMKL 125 är under revidering, och den nya versionen är tänkt att bli mer lik ISO 16649-2.

Bland de mindre vanligt förekommande metoderna fanns ISO 7251:2005 och NMKL 96:2009. ISO 7251 är en metod baserad på MPN för detektion av *E. coli*. Även NMKL 96 är en MPN-metod, anpassad för analys av koliforma bakterier, termotoleranta koliforma bakterier och *E. coli* i fisk och skaldjur.

Definitionen av *E. coli* skiljer sig åt mellan metoderna. ISO 16649-2:2001 definierar *E. coli* som de bakterier som bildar typiska blå (det vill säga  $\beta$ -glukuronidaspositiva) kolonier på TBX, utan att dessa konfirmeras ytterligare. Även Petrifilm EC/CC och Petrifilm SEC använder substrat som detekterar  $\beta$ -glukuronidas hos *E. coli*. Plastfilmen i dessa båda substrat möjliggör dessutom detektion av gasproduktion till följd av laktosfermentering. NMKL 125:2005 behandlar som jämförelse både analysen av termotoleranta koliforma bakterier och av *E. coli*. Som termotoleranta koliforma bakterier räknas de som växer fram med typiska mörkröda kolonier omgivna av en röd utfällningszon på VRG, och som även ger upphov till gasproduktion till följd av laktosfermentering. Termotoleranta koliforma bakterier som utöver detta även producerar indol räknas som *E. coli*.

Konfirmering ser ut att ha utförts i hög grad av laboratorierna i de fall när metoden kräver det. Till exempel konfirmerade 88 % av de laboratorier som följde NMKL 125:2005. Konfirmering angavs mer sällan av laboratorier som använde Petrifilm eller som följde ISO 16649-2:2001, vilket är rimligt eftersom dessa metoder inte kräver konfirmering. Generellt rapporterades relativt sett fler falska resultat av de laboratorier som angav att ingen konfirmering utfördes. De laboratorier som utförde konfirmering angav vanligen att denna bestod i test för produktion av gas eller indol.

Liksom vid tidigare kompetensprovningar var det flera substrat som endast användes av ett mindre antal laboratorier. Dessa redovisas tillsammans i gruppen Övriga. Resultaten för de olika substratgrupperna var dock sammantaget väldigt lika. Det enda som kunde noteras var att medelvärdet för TBX var något lägre i prov C, jämfört med övriga substrat. Skillnader i denna storleksordning har observerats vid flera tidigare kompetensprovningar för TBX och kan därför anses vara normalt.

Beroende på metodskillnader, skedde inkubering antingen vid 41,5–44 °C (57 %) eller vid 35–37 °C (43 %). Medelvärden, falska resultat och extremvärden skiljde sig inte nämnvärt för de båda temperaturgrupperna, varken för varken prov A eller prov B. För prov C rapporterades däremot samtliga falska resultat och extremvärden av laboratorier som inkuberade vid 41,5–44 °C. Medelvärden för de två grupperna skiljde sig däremot inte åt.

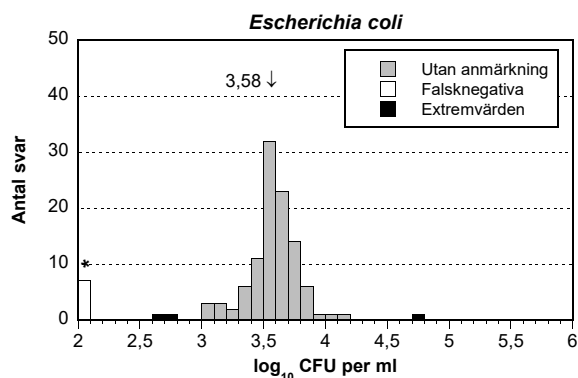
## Resultat från analys av Escherichia coli

Substrat	Prov A							Prov B							Prov C						
	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>
Alla svar	113	103	3,58	0,19	7	2	1	116	115	-	-	1	-	-	114	109	3,93	0,24	2	2	1
Petrifilm EC/CC	22	22	3,57	0,16	0	0	0	23	23	-	-	0	-	-	23	23	4,00	0,15	0	0	0
TSA/VRG*	21	20	3,61	0,09	1	0	0	22	22	-	-	0	-	-	22	22	4,07	0,20	0	0	0
TBX	21	19	3,45	0,17	1	1	0	21	21	-	-	0	-	-	21	21	3,66	0,19	0	0	0
Petrifilm SEC	18	15	3,63	0,10	2	0	1	18	18	-	-	0	-	-	18	15	3,99	0,09	2	0	1
VRG	7	6	3,65	0,15	1	0	0	7	7	-	-	0	-	-	7	6	4,05	0,09	0	1	0
EC	4	4	-	-	0	0	0	4	4	-	-	0	-	-	3	2	-	-	0	1	0
Rapid'E.coli 2	4	4	-	-	0	0	0	4	3	-	-	1	-	-	4	4	-	-	0	0	0
TEMPO EC	4	4	-	-	0	0	0	4	4	-	-	0	-	-	4	4	-	-	0	0	0
Övriga**	12	9	-	-	2	1	0	13	13	-	-	0	-	-	12	12	-	-	0	0	0

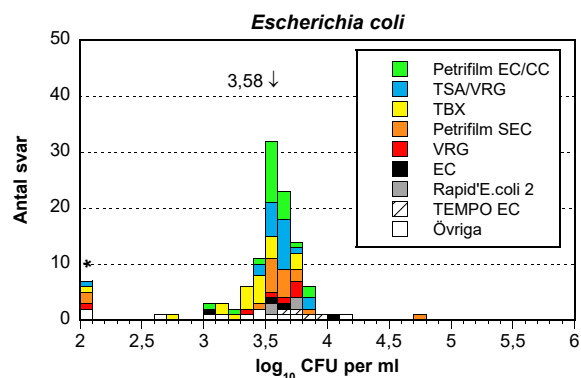
\*\* Inkluderar tre laboratorier som använt TSA/VRGG.

\* Inkluderar bland annat Brilliance EC/CC, Compact Dry EC/CC, CHROMID®, ECC ChromoSelect Selective Agar och Rebecka agar.

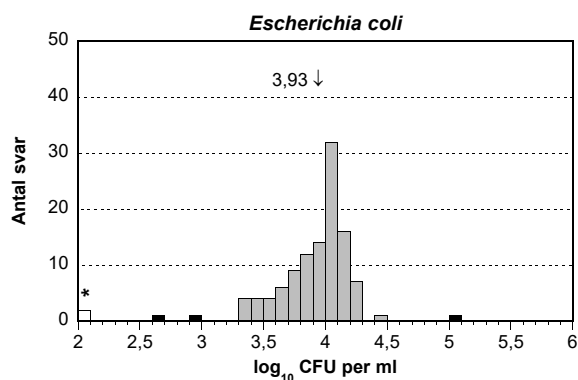
A



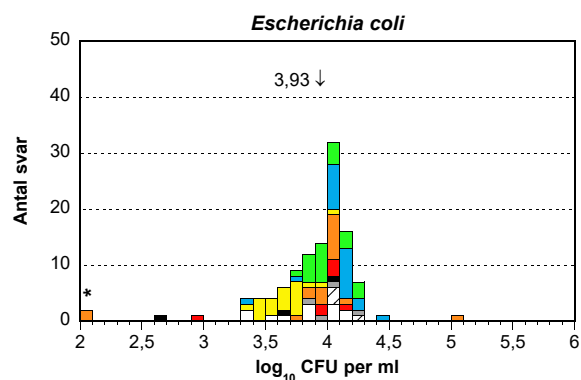
A



C



C





## Presumtiv *Bacillus cereus*

---

### Prov A

Stammen av *B. cereus* var målorganism, men även stammarna av *E. coli*, *L. plantarum* och *S. xylosum* som finns i provet kan växa fram på BA. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll växte stammen av *B. cereus* fram på BA med typiska kolonier omgivna om hämolyszon. På BcsA växte den fram med typiska blå kolonier omgivna av utfällningszon.

Det rapporterades sex låga och ett högt extremvärde, samt sju falsknegativa resultat. Dessa fördelade sig relativt jämnt mellan de olika metoder som användes.

### Prov B

Ingen målorganism fanns i provet. Stammarna av *S. aureus* och *A. caviae* kan dock växa fram med atypiska kolonier på BA. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll observerades också på BA två typer av atypiska vita kolonier utan hämolyszon. Vid konfirmering på BcsA uppvisade ingen av dessa blå färg.

Det rapporterades två falskpositiva resultat.

### Prov C

Ingen målorganism för analysen fanns i provet. Flera stammar i provet kan dock växa fram med atypiska kolonier på BA. *A. hydrophila* och *S. aureus* kan dessutom även bilda atypiska kolonier på BcsA, vilket kan förklara förekomsten av falskpositiva resultat.

Det rapporterades sju falskpositiva resultat. Samtliga rapporterades av laboratorier som angav att man följde NMKL 67:2010. Fyra av de sju laboratorierna angav dock att inkubering endast gjordes på BA.

### Allmänt om analyserna

De flesta laboratorier följde antingen NMKL 67:2010 (51 %) eller ISO 7932:2004 (26 %), vilka skiljer sig något åt. NMKL 67:2010 baseras på odling på BA och konfirmering sker genom utstryk på antingen BcsA eller Cereus-Ident-Agar. I jämförelse föreskriver ISO 7932:2004 utstryk på MYP, vilket följs av konfirmering på genom positivt utslag för hämolysaktivitet på BA. För ISO-metoden publicerades nyligen ett tillägg (ISO 7932:2004/Amd 1:2020) vilket innehåller valfria test bland annat för PCR-detektion av *cytK*-gener. NMKL 67 kommer under 2021 att publiceras i en ny reviderad version, bland annat med principiella förändringar i val av substrat och inkubering.

*B. cereus* växer på BA fram med stora oregelbundna gråa kolonier, omgivna av en kraftig hämolyszon. På BcsA växer presumtiva *B. cereus* fram som blåaktiga kolonier, omgivna av en blå utfällningszon till följd av enzymet lecitinas aktivitet på äggula i substratet. På MYP bildar presumtiva *B. cereus* stora rosa kolonier som vanligen är omgivna av en utfällningszon, även här till följd av lecitinas-aktivitet.

Förutom BA, BcsA och MYP användes det kromogena substratet CBC av fem laboratorier. Substratet X-Gluc i CBC klyvs här av  $\beta$ -glukuronidas från *B. cereus*, vilket resulterar i vita kolonier med ett blått/grönt centrum. Andra substrat som användes av ett mindre antal laboratorier var Compact Dry X-BC, TEMPO BC, och BACARA™.

Som vid tidigare kompetensprovningar var rapporteringen av metoduppgifter för *B. cereus* i flera fall otydlig och svår att tolka. Som exempel har flera laboratorier angett

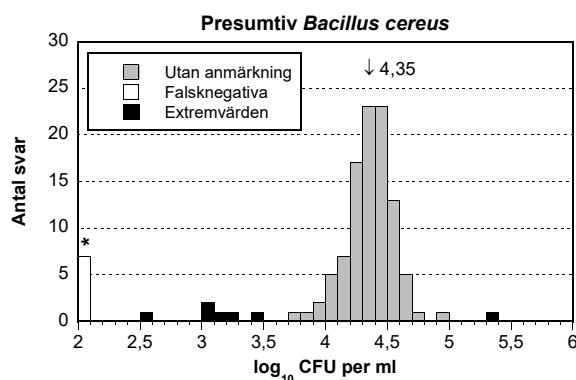
kombinationer av metod/substrat som inte stämmer överens. Trots dessa oklarheter i metodrapporteringen är resultat och medelvärden för de olika substrat- och metod-grupperna väldigt lika.

### Resultat från analys av presumtiv *Bacillus cereus*

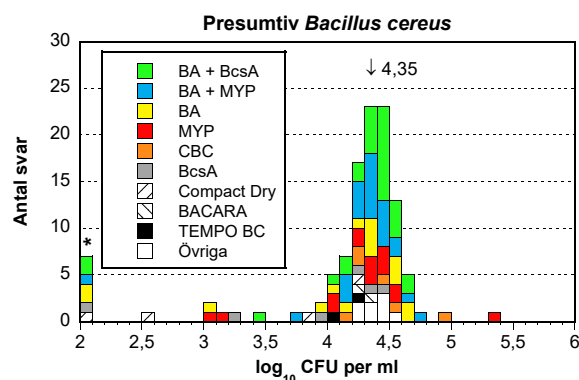
Substrat	Prov A					Prov B					Prov C				
	N	n	m	s	F <>	N	n	m	s	F <>	N	n	m	s	F <>
Alla svar	113	99	4,35	0,19	7 6 1	115	113	-	-	2 - -	115	108	-	-	7 - -
BA + BcsA	29	26	4,40	0,15	2 1 0	30	29	-	-	1 - -	30	28	-	-	2 - -
BA + MYP	25	24	4,35	0,21	1 0 0	26	26	-	-	0 - -	26	25	-	-	1 - -
BA	16	13	4,35	0,22	2 1 0	16	16	-	-	0 - -	16	12	-	-	4 - -
MYP	15	12	4,33	0,16	0 2 1	15	15	-	-	0 - -	15	15	-	-	0 - -
CBC	6	6	4,42	0,28	0 0 0	6	6	-	-	0 - -	6	6	-	-	0 - -
BcsA	6	4	-	-	1 1 0	6	6	-	-	0 - -	6	6	-	-	0 - -
Compact Dry X-BC	4	2	-	-	1 1 0	4	3	-	-	1 - -	4	4	-	-	0 - -
BACARA™	2	2	-	-	0 0 0	2	2	-	-	0 - -	2	2	-	-	0 - -
TEMPO BC	2	2	-	-	0 0 0	2	2	-	-	0 - -	2	2	-	-	0 - -
Övriga*	8	8	-	-	0 0 0	8	8	-	-	0 - -	8	8	-	-	0 - -

\* I gruppen ingår COMPASS® *Bacillus cereus* agar, Brilliance™ *Bacillus cereus* och PEMBA.

A



A



## Koagulaspositiva stafylokker

### Prov A

Ingen målorganism fanns i provet. Den koagulasnegativa stammen av *S. xylosus* förekom dock som falskpositiv för analysen. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll växte denna fram på RPFA med atypiska kolonier utan utfällningszon.

Det rapporterades sju falskpositiva resultat. Koncentrationerna på dessa antyder att det är *S. xylosus* som räknats.

### Prov B

Stammen av *S. aureus* var målorganism. Den växer fram på RPFA med typiska kolonier med utfällningszon.

Det rapporterades två låga och två höga extremvärden, samt fyra falsknegativa resultat.

## Prov C

Stammen av *S. aureus* (ej identisk med den i prov B) var målorganism. Den växer fram på RPFA med typiska kolonier med utfällningszon.

Det rapporterades fyra låga och tre höga extremvärden, samt fem falsknegativa resultat.

### Allmänt om analyserna

De flesta laboratorier (44 %) följde NMKL 66:2009. Andra metoder som användes i hög grad var 3M™ Petrifilm™ (13 %), ISO 6888-1:1999 (13 %) och ISO 6888-2:1999 (7 %). Både ISO 6888-1:1999 och ISO 6888-2:1999 granskades av ISO senast år 2015 och är fortfarande aktuella. För ISO 6888-1 finns ett tillägg med alternativ konfirmering i RPFA (ISO 6888-1:1999/Amd 2:2018). Ett laboratorium använde den MPN-baserade ISO 6888-3:2003, vilken är anpassad för analys när det kan förväntas låga halter av stressade koagulaspositiva stafylokocker.

NMKL 66:2009 föreskriver inkubering på BP och/eller RPFA. Som jämförelse anger ISO 6888-1 utstryk på BP, medan ISO 6888-2 anger ingjutning i RPFA. På BP bildar *S. aureus* karaktäristiska konvexa, blanka kolonier, som har en grå/svart färg till följd av reduktion av tellurit i substratet. Kolonierna är vanligen omgivna 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 BP sker konfirmering vanligen genom positivt utslag på koagulastest. Med RPFA testas istället koagulasaktiviteten direkt i substratet. Petrifilm Staph är baserad på en modifierad Baird-Parker-agar. Detta substrat innehåller även en kromogen indikator som gör att *S. aureus* växer fram som röda/lila kolonier.

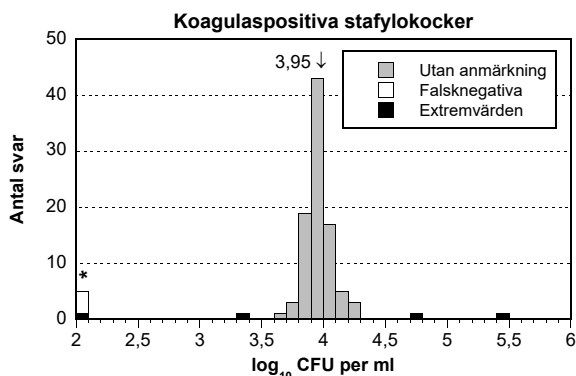
Resultaten var sammantaget väldigt lika för de vanligaste substraten BP, RPFA och Petrifilm Staph, i alla tre proven. Förekommande extremvärden och falska resultat kunde inte uppenbart kopplas till någon specifik standard, substrat eller konfirmeringsmetod. Något lägre medelvärden har vid tidigare kompetensprovningar ibland setts vid användning av Petrifilm Staph, men någon sådan skillnad kunde inte ses denna gång. Substraten EASY Staph®, Compact Dry™ X-SA, TEMPO STA och Brilliance™ Staph 24 användes endast av ett mindre antal laboratorier, vilket gör dem svåra att utvärdera.

Totalt 73 % av laboratorierna angav att de utförde någon form av konfirmering. Vid användning av BP bestod denna vanligen av ett rörkoagulastest, medan användare av Petrifilm Staph främst angav konfirmering med Petrifilm Disk. Vanligen konfirmeras koagulaspositiva stafylokocker genom detektion av extracellulärt eller bundet koagulas (koagulastest i rör respektive på objektglas). 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. Konfirmering med Petrifilm Disk bygger på detektion av extracellulärt 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.

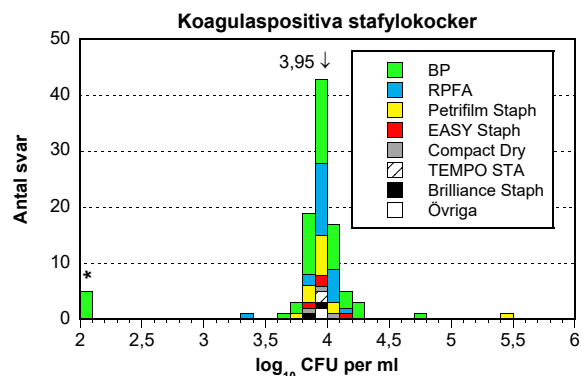
Resultat från analys av koagulaspositiva stafylokker

Substrat	Prov A						Prov B						Prov C					
	N	n	m	s	F	< >	N	n	m	s	F	< >	N	n	m	s	F	< >
Alla svar	97	90	-	-	7	- -	99	91	3,95	0,10	4	2 2	99	87	3,43	0,11	5	4 3
BP	48	44	-	-	4	- -	49	43	3,95	0,12	4	1 1	49	43	3,43	0,11	3	2 1
RPFA	22	21	-	-	1	- -	23	22	3,96	0,06	0	1 0	23	20	3,44	0,10	1	1 1
Petrifilm Staph	14	12	-	-	2	- -	14	13	3,92	0,07	0	0 1	14	13	3,43	0,13	0	0 1
EASY Staph	4	4	-	-	0	- -	4	4	-	-	0	0 0	4	4	-	-	0	0 0
Compact Dry X-SA	3	3	-	-	0	- -	3	3	-	-	0	0 0	3	2	-	-	1	0 0
TEMPO STA	2	2	-	-	0	- -	2	2	-	-	0	0 0	2	1	-	-	0	1 0
Brilliance Staph 24	2	2	-	-	0	- -	2	2	-	-	0	0 0	2	2	-	-	0	0 0
Övriga	2	2	-	-	0	- -	2	2	-	-	0	0 0	2	2	-	-	0	0 0

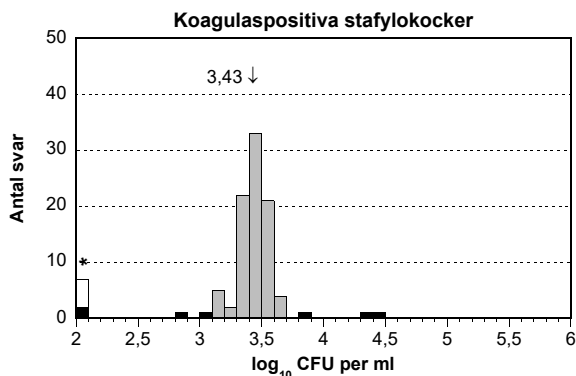
B



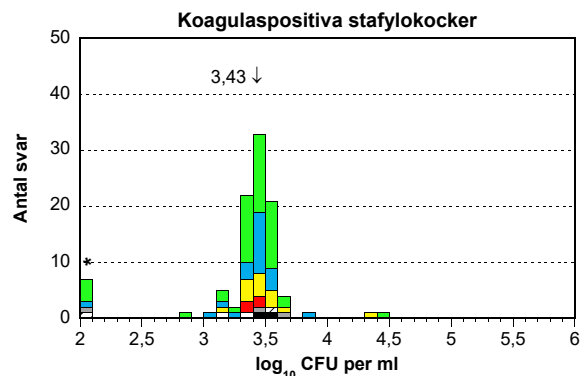
B



C



C



## Mjölksyrabakterier

---

### Prov A

Stammen av *L. plantarum* var målorganism. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll växte denna fram på MRS-aB med typiska glansiga, runda, vita kolonier. Stammen är grampositiv och katalasnegativ. Stammarna av *B. cereus* och *S. xylosus* kan eventuellt växa fram med små kolonier på MRS-aB. De kan dock uteslutas med katalastest.

Det rapporterades ett lågt och två höga extremvärden.

### Prov B

Ingen målorganism fanns i provet, men stammarna av *C. glabrata* och *S. aureus* kan eventuellt växa fram på de för analysen vanligen förekommande substraten. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll observerades dock inga kolonier på MRS-aB.

Det rapporterades 23 falskpositiva resultat, för vilka det är svårt att hitta en entydig förklaring. De falskpositiva resultaten fördelade sig förhållandevis jämnt mellan 1,3 och 4,0 log<sub>10</sub> cfu ml<sup>-1</sup>, med ett medianvärde på 3,0 log<sub>10</sub> cfu ml<sup>-1</sup>, vilket antyder att det möjligen kan vara *C. glabrata* som detekterats. Fyra av de sex laboratorier som angav att man konfirmerade med mikroskopering rapporterade dock likväl falskpositivt resultat. Det fanns heller ingen uppenbar skillnad i resultaten mellan laboratorier som angav att man konfirmerade med Gramtest och/eller katalastest – och de som inte gjorde detta. Användare av NMKL 140:2007 rapporterade relativt sett något färre falskpositiva resultat, medan användare av den äldre NMKL 140:1991 och användare av 3M Petrifilm (LAB) rapporterade relativt något sett fler. Skillnaderna är dock små.

### Prov C

Stammen av *L. plantarum* (ej identisk med den i prov A) var målorganism. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll växte denna fram på MRS-aB med typiska, runda, vita kolonier. Stammen är katalasnegativ.

Det rapporterades fyra låga och ett högt extremvärde. Laboratorier som inkuberade på Rogosa-agar (anpassat för *Lactobacillus*) rapporterade något högre resultat än laboratorier som inkuberade på andra substrat.

### Allmänt om analyserna

Huvuddelen av laboratorier angav att de följde NMKL 140, antingen NMKL 140:2007 (36 %), eller den äldre NMKL 140:1991 (9 %). Den äldre metoden föreskriver utspridning på MRS-S, medan den nyare metoden föreskriver MRS-aB. ISO 15214:1998, vilken istället föreskriver ingjutning i MRS, användes av 13 % av laboratorier. ISO 15214:1998 granskades av ISO senast i år, och är fortfarande aktuell. Antalet användare av Petrifilm LAB har ökat de senaste provtillfällena, och metoden användes nu av 15 % av laboratorier. Två laboratorier angav ISO 7889 / IDF 117, vilket är en metod för karaktäristiska mikroorganismer i yoghurt vid 37 °C.

På både MRS-S och MRS-aB växer mjölksyrabakterier normalt fram som 1,5–2 mm grå-vita kolonier. På Petrifilm LAB växer mjölksyrabakterier fram med röda kolonier. Plattorna möjliggör även distinktion mellan gasbildande (heterofermentativa) och icke-gasbildande (homofermentativa) mjölksyrabakterier.

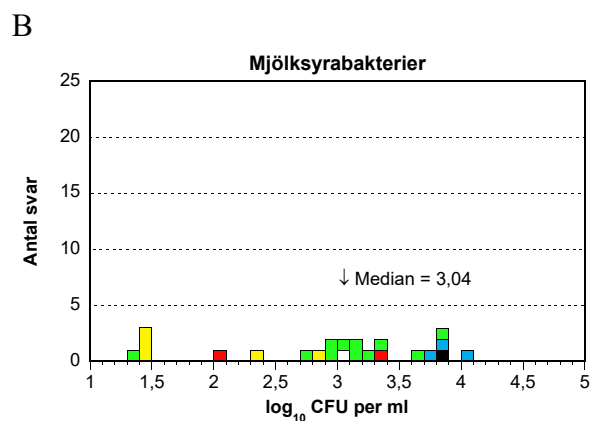
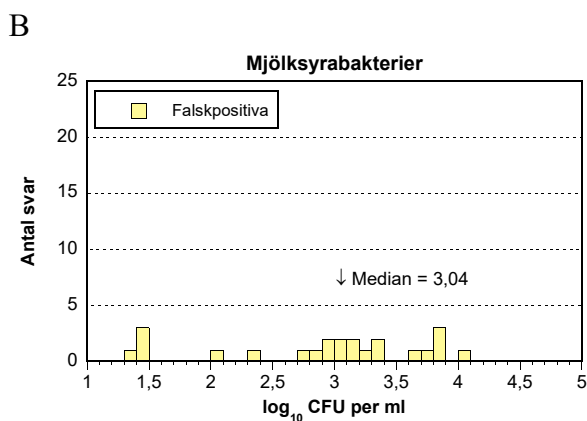
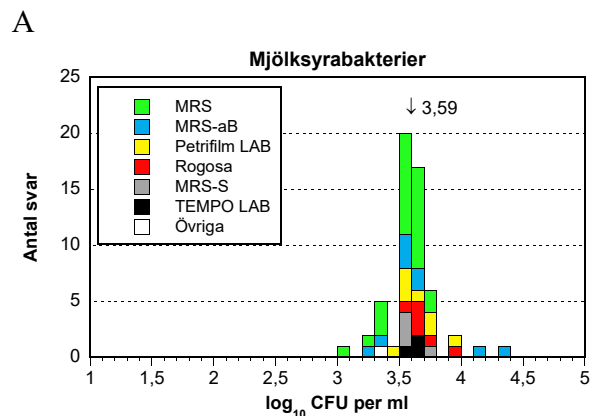
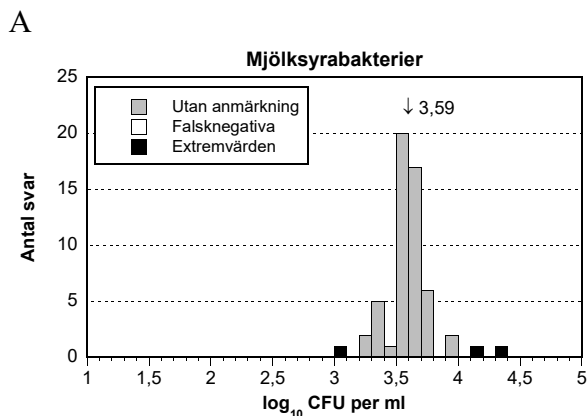
Mjölksyrabakterier utgör en heterogen grupp mikroorganismer, och de växer därför olika bra beroende på substrat, pH och inkuberingsförhållanden. Till exempel är MRS-aB (pH 6,2) ett relativt oselektivt substrat som tillåter ett bredare spektrum av

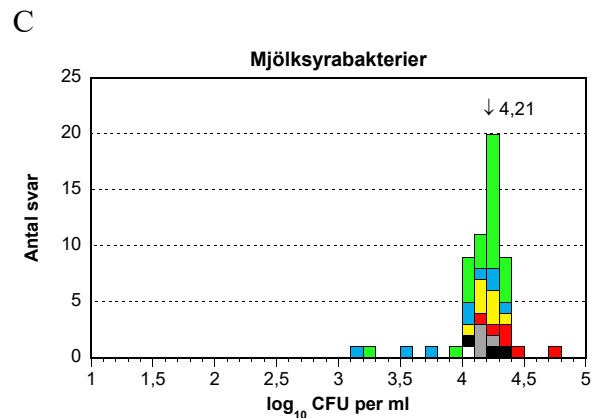
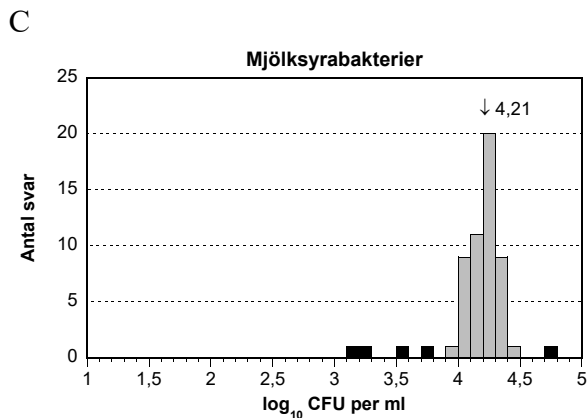
mjölksyrabakterier att växa fram. Detta kan dock eventuellt ge upphov till fler falskpositiva jämfört med de mer sura substraten MRS och MRS-S (pH 5,7). Dessa skillnader mellan substrat och inkuberingsförhållanden gör det viktigt att konfirmera kolonierna vid osäkerhet, speciellt vid användning av mindre selektiva substrat.

Både ISO- och NMKL-metoden rekommenderar att i tveksamma fall konfirmera kolonierna genom gramfärgning och/eller med katalastest. Mjölksyrabakterier är grampositiva och vanligen katalasnegativa. Konfirmering i någon form utfördes i denna kompetensprovning av drygt hälften (53 %) av laboratorierna. Oftast bestod denna av ett katalastest. Som helhet verkar utförande av konfirmering inte haft någon avgörande skillnad på resultatet.

### Resultat från analys av mjölksyrabakterier

Substrat	Prov A							Prov B							Prov C						
	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>
Alla svar	56	53	3,59	0,14	0	1	2	55	32	-	-	23	-	-	56	51	4,21	0,10	0	4	1
MRS	25	24	3,57	0,13	0	1	0	24	13	-	-	11	-	-	25	24	4,21	0,10	0	1	0
MRS-aB	9	7	3,50	0,17	0	0	2	9	6	-	-	3	-	-	9	6	4,19	0,10	0	3	0
Petrifilm LAB	8	8	3,65	0,16	0	0	0	8	3	-	-	5	-	-	8	8	4,20	0,08	0	0	0
Rogosa	6	6	3,68	0,13	0	0	0	6	4	-	-	2	-	-	6	5	4,32	0,12	0	0	1
MRS-S	4	4	-	-	0	0	0	4	4	-	-	0	-	-	4	4	-	-	0	0	0
TEMPO LAB	3	3	-	-	0	0	0	3	2	-	-	1	-	-	3	3	-	-	0	0	0
Övriga	1	1	-	-	0	0	0	1	0	-	-	1	-	-	1	1	-	-	0	0	0





## *Clostridium perfringens*

### Prov A

Ingen målorganism för analysen fanns i provet.  
Det rapporterades inga falskpositiva resultat.

### Prov B

Stammen av *C. perfringens* var målorganism för analysen. Den växer fram med typiska svarta kolonier på TSC. Stammen är orörlig och jäser laktos. Stammen växer inte fram på BA som inkuberas aerobt.

Det rapporterades två låga extremvärden, samt tre falsknegativa resultat.

### Prov C

Ingen målorganism för analysen fanns i provet. Däremot innehöll provet en stam av *C. bifermentans*, vilken är falskpositiv för analysen. Stammen kan särskiljas från *C. perfringens* vid konfirmering, till exempel genom att *C. bifermentans* är rörlig.

Det rapporterades elva falskpositiva resultat. Koncentrationerna på dessa antyder att det är *C. bifermentans* som räknats, trots att sex av de elva laboratorierna angett att de utfört konfirmering med rörlighetstest.

### Allmänt om analyserna

Majoriteten av laboratorierna (69 %) följde NMKL 95:2009. Ett laboratorium angav den äldre NMKL 95:1997. ISO 7937:2004 följdes av 22 % av laboratorierna. Två laboratorier angav att de följde NMKL 56:2015 (Sulfitreducerande klostridier). Denna metod inkluderar detektion av *C. perfringens* genom en hänvisning till konfirmeringsstegen i NMKL 95. ISO 7937:2004 granskades av ISO senast år 2015 och är fortfarande aktuell. Den är dock tänkt att framöver ersättas av ISO 15213-2 ("Enumeration of *Clostridium perfringens* by colony-count technique"), vilken är under framtagande. Inga uppenbara skillnader i resultaten kunde ses mellan de olika metoder som användes.

ISO 7937:2004 föreskriver ingjutning i TSC, medan NMKL 95 istället föreskriver ytspridning på mCP och/eller ingjutning i TSC. Majoriteten av laboratorierna (86 %) angav här att de använde TSC. På TSC bildar *C. perfringens* svarta kolonier, efter anaerob inkubering vid 37 °C. Förutom TSC användes SC, JSA, mCP och OPSP av ett fåtal laboratorier. Det låga antalet användare av dessa substrat gör att det är svårt att

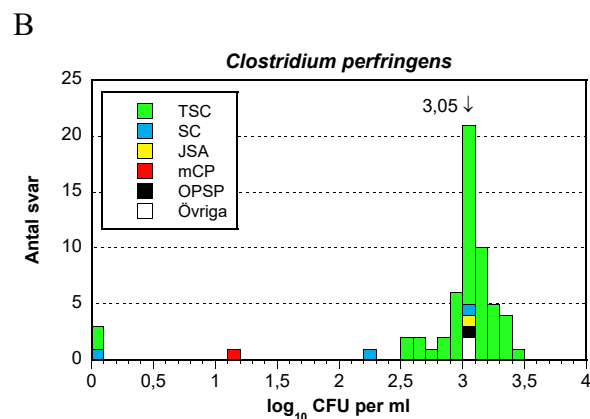
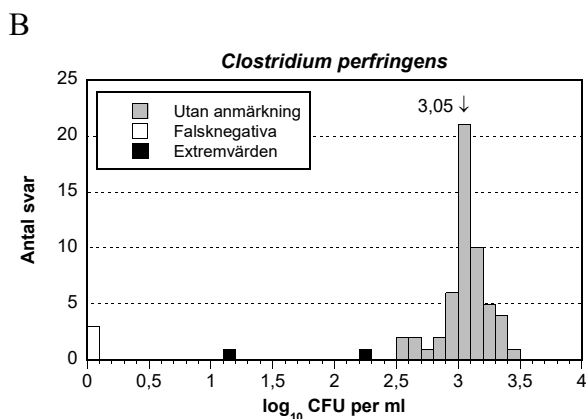
göra jämförelser med TSC. Det kan i sammanhanget nämnas ett par studier som rekommenderat TSC för analyser av *C. perfringens* i livsmedel (2, 3).

Vanliga metoder för konfirmering av *C. perfringens* är rörlighetstest och test av laktosfermentering; *C. perfringens* är orörlig och bildar syra och gas vid fermentering av laktos. *C. perfringens* kan också konfirmeras genom att den vid anaerob inkubering på BA bildar dubbla hämolyszoner. Totalt angav 93 % av laboratorierna att de utförde någon form av konfirmering. Främst förekommande metoder för denna var rörlighetstest, test av laktosfermentering, test för hämolys på BA, samt frånvaro av växt i aerob miljö.

*C. perfringens* växer normalt både vid 37 °C och vid 44 °C. Här inkuberade majoriteten av laboratorierna (93 %) vid 37 °C, medan endast några få (7 %) inkuberade vid 44 °C. Temperaturen ser inte ut att haft någon avgörande påverkan på utfallet.

### Resultat från analys av *Clostridium perfringens*

Substrat	Prov A						Prov B						Prov C						
	N	n	m	s	F	< >	N	n	m	s	F	< >	N	n	m	s	F	< >	
Alla svar	58	58	-	-	0	- -	59	54	3,05	0,19	3	2	0	59	48	-	-	11	- -
TSC	50	50	-	-	0	- -	51	49	3,05	0,20	2	0	0	51	41	-	-	10	- -
SC	3	3	-	-	0	- -	3	1	-	-	1	1	0	3	2	-	-	1	- -
JSA	1	1	-	-	0	- -	1	1	-	-	0	0	0	1	1	-	-	0	- -
mCP	1	1	-	-	0	- -	1	0	-	-	0	1	0	1	1	-	-	0	- -
OPSP	1	1	-	-	0	- -	1	1	-	-	0	0	0	1	1	-	-	0	- -
Övriga	2	2	-	-	0	- -	2	2	-	-	0	0	0	2	2	-	-	0	- -





## Anaeroba sulfitreducerande bakterier

---

### Prov A

Ingen målorganism för analysen fanns i provet.

Det rapporterades ett falskpositivt resultat.

### Prov B

Stammen av *C. perfringens* var målorganism. Den växer fram på JSA med svarta kolonier. Svärtningen kan ibland vara något mindre tydlig efter 48 timmar, jämfört med efter 24 timmar. Låga resultat kan därför uppstå om avläsning endast görs efter 48 timmar.

Det rapporterades ett högt extremvärde och ett falsknegativt resultat.

### Prov C

Stammen av *C. bifermentans* var målorganism. Den växer fram på JSA med svarta kolonier.

Det rapporterades två låga och ett högt extremvärde, samt tre falsknegativa resultat.

Resultaten för PAB var lägre jämfört med övriga substratgrupper.

### Allmänt om analyserna

Som tidigare följde majoriteten av laboratorierna någon version av NMKL 56. Andelen användare av NMKL 56:2015 var något högre än tidigare och metoden följdes nu av totalt 20 % av laboratorierna. Flertalet angav dock fortfarande antingen NMKL 56:2008 (44 %), eller den betydligt äldre NMKL 56:1994 (3 %). ISO 15213:2003 följdes som jämförelse av 15 % av laboratorierna. Denna granskades av ISO senast år 2015 och är fortfarande aktuell. Den är dock tänkt att framöver ersättas av ISO 15213-1 ("Enumeration of sulphite-reducing *Clostridium* spp. by colony-count technique"), vilken är under framtagande. Ett laboratorium följde ISO 7937:2004 ("Horizontal method for the enumeration of *Clostridium perfringens*"), vilken är tänkt att ersättas av den kommande ISO 15213-2 ("Enumeration of *Clostridium perfringens* by colony-count technique"). Inga uppenbara skillnader i resultat mellan de olika metoderna kunde identifieras.

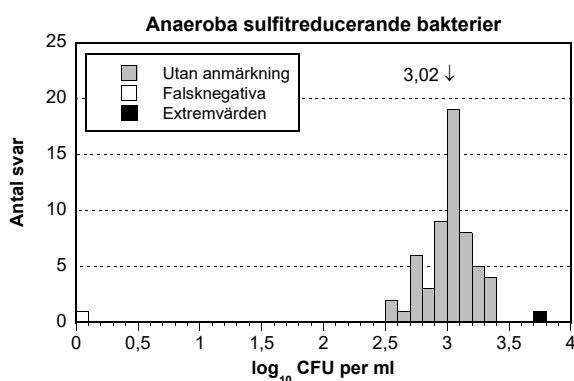
Både NMKL 56:2015 och ISO 15213:2003 föreskriver ingjutning i JSA, vilket också var det mest använda substratet. På JSA räknas svarta kolonier (eventuellt omgivna av en svart zon) som sulfitreducerande bakterier. Den svarta färgen kommer från att bildad H<sub>2</sub>S reagerar med Fe<sup>3+</sup> i substratet, vilket resulterar i utfällning av svart järnsulfid. Växt av anaeroba bakterier som endast producerar väte (och inte H<sub>2</sub>S) kan ibland orsaka en diffus och ospecifik svärtning av substratet.

Förutom JSA rapporterades användning av TSC, SFP, PAB och TS. Dessa substrat används vanligen vid identifiering av *C. perfringens*, och det bör därför nämnas att för det syftet bör kolonierna även konfirmeras enligt metoden i till exempel NMKL 95. Användning av dessa substrat föranledde här inte några uppenbara problem. Laboratorier som inkuberade på PAB erhöll visserligen ett relativt sett lägre medelvärde för prov C, men antalet användare är samtidigt lågt, vilket gör att det inte går att utesluta att detta beror på en ren slump.

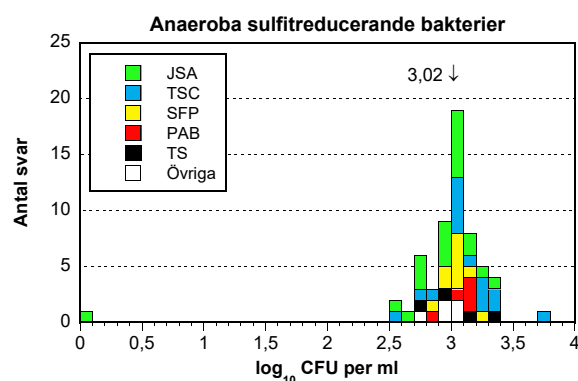
Resultat från analys av anaeroba sulfitreducerande bakterier

Substrat	Prov A							Prov B							Prov C						
	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>
Alla svar	61	60	-	-	1	-	-	59	57	3,02	0,18	1	0	1	59	53	3,18	0,26	3	2	1
JSA	22	22	-	-	0	-	-	20	19	2,97	0,20	1	0	0	20	18	3,17	0,21	1	1	0
TSC	15	14	-	-	1	-	-	15	14	3,08	0,22	0	0	1	15	13	3,17	0,30	1	0	1
SFP	10	10	-	-	0	-	-	10	10	3,02	0,11	0	0	0	10	8	3,22	0,26	1	1	0
PAB	5	5	-	-	0	-	-	5	5	3,06	0,12	0	0	0	5	5	2,86	0,32	0	0	0
TS	4	4	-	-	0	-	-	4	4	-	-	0	0	0	4	4	-	-	0	0	0
Övriga	5	5	-	-	0	-	-	5	5	-	-	0	0	0	5	5	-	-	0	0	0

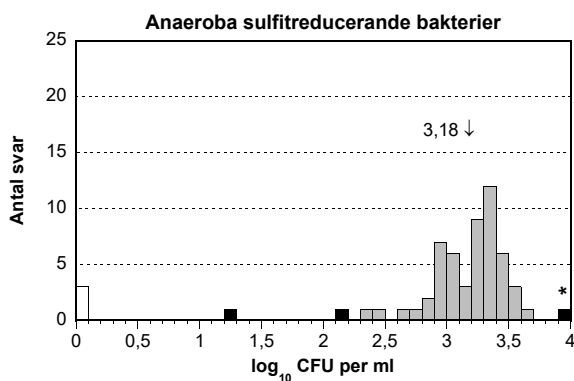
B



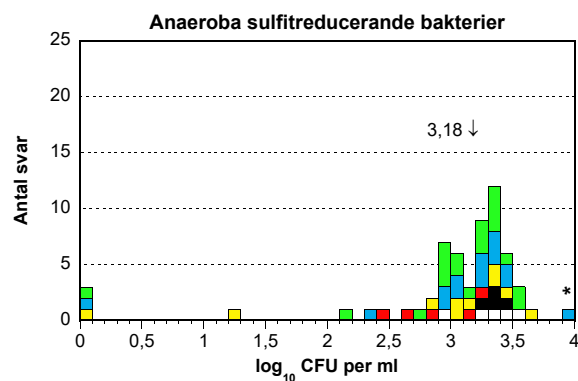
B



C



C



**Aeroba mikroorganismer i fiskprodukter, 20–25 °C**

**Prov A**

Stammarna av *B. cereus*, *L. plantarum* och *E. coli* förekom i högst koncentrationer och var därmed huvudsakliga målorganismer.

Det rapporterades inga extremvärden och inga falsknegativa resultat.

## Prov B

Stammarna av *S. aureus* och *A. caviae* förekom i högst koncentrationer och var därmed huvudsakliga målorganismer.

Det rapporterades ett lågt extremvärde.

## Prov C

Stammarna av *E. coli*, *L. plantarum* och *A. hydrophila* förekom i högst koncentrationer och var därmed huvudsakliga målorganismer.

Det rapporterades ett lågt extremvärde.

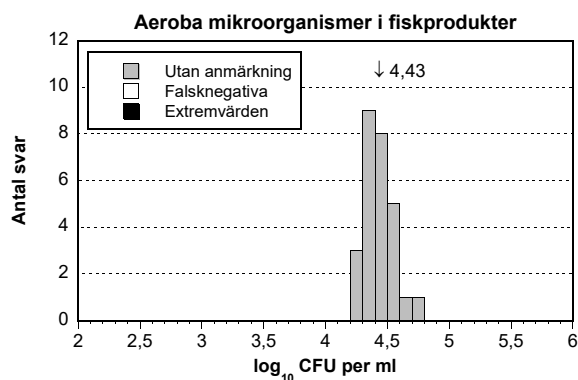
## Allmänt om analyserna

Majoriteten av laboratorerna (86 %) följde metoden för aeroba mikroorganismer och förruttelsebakterier i fisk och fiskprodukter, NMKL 184:2006. Metoden föreskriver ingjutning i JA, vilket också användes av de flesta laboratorier (84 %). Två laboratorier följde NMKL 86 ("Aeroba mikroorganismer i livsmedel") och inkuberade därvid (sannolikt) på PCA. Denna metod är visserligen anpassad för alla typer av livsmedel, men hänvisar samtidigt till NMKL 184:2006 för analys av fisk och fiskprodukter. Ett laboratorium följde ISO 4833-1:2013 ("Aeroba mikroorganismer"). Ytterligare ett laboratorium följde NMKL 96:2003, vilken för totalantal aeroba mikroorganismer använder samma princip som NMKL 184:2006. Laboratoriet inkuberade dock i LSB, vilket inte är korrekt. NMKL 96:2003 har också ersatts av NMKL 96:2009 ("Koliforma bakterier, termotoleranta koliforma bakterier och *E. coli*, två MPN-metoder för fisk och skaldjur") och denna hänvisar istället till NMKL 184:2006 för analys av totalantal aeroba mikroorganismer i fisk och skaldjur.

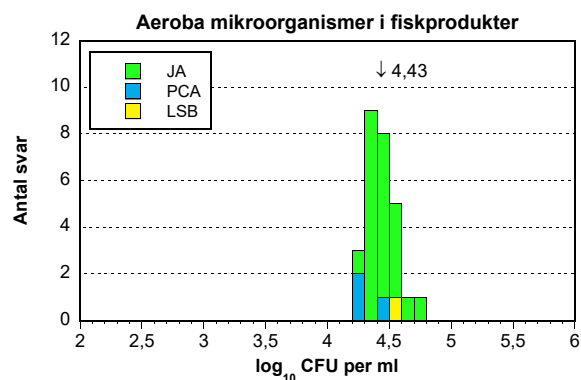
## Resultat från analys av aeroba mikroorganismer i fiskprodukter, 20-25 °C

Substrat	Prov A							Prov B							Prov C						
	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>
Alla svar	27	27	4,43	0,13	0	0	0	28	27	4,02	0,10	0	1	0	28	27	4,48	0,16	0	1	0
JA	23	23	4,44	0,12	0	0	0	24	23	4,02	0,09	0	1	0	24	23	4,47	0,17	0	1	0
PCA	3	3	-	-	0	0	0	3	3	-	-	0	0	0	3	3	-	-	0	0	0
LSB	1	1	-	-	0	0	0	1	1	-	-	0	0	0	1	1	-	-	0	0	0

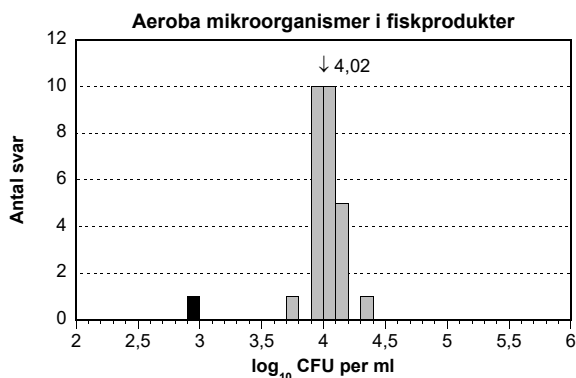
A



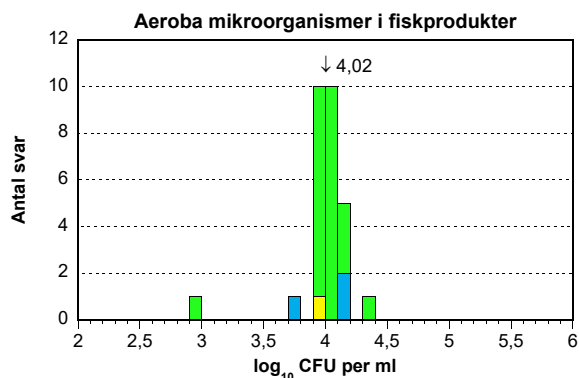
A



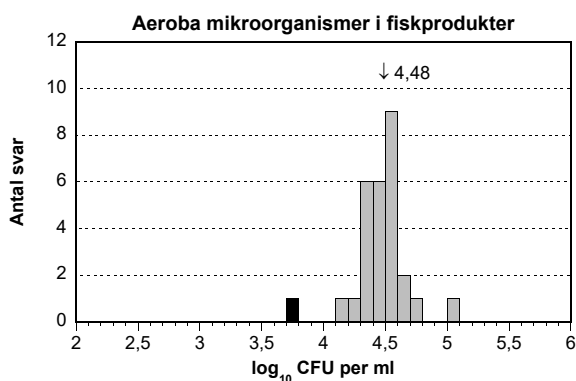
B



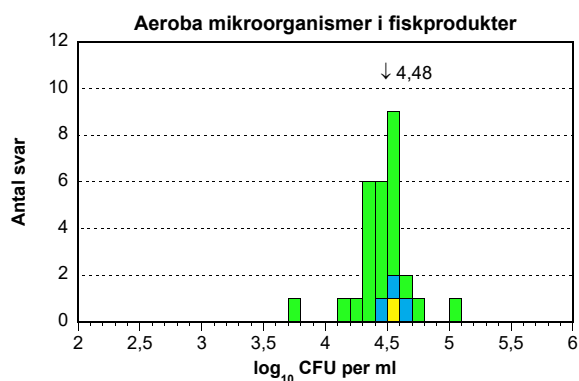
B



C



C



## Vätesulfidproducerande bakterier i fiskprodukter

### Prov A

Ingen målorganism för analysen fanns i provet. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll observerades endast vita kolonier på JA.

Det rapporterades ett falskpositivt resultat.

### Prov B

Ingen målorganism för analysen fanns i provet.

Det rapporterades två falskpositiva resultat.

### Prov C

Stammen av *H. alvei* var målorganism. Den växer fram med svarta kolonier på JA.

Det rapporterades ett högt extremvärde, samt två falsknegativa resultat.

### Allmänt om analyserna

Majoriteten av laboratorierna (92 %) följde metoden för aeroba mikroorganismer och förruttelsebakterier i fisk och fiskprodukter, NMKL 184:2006. Metoden föreskriver ingjutning i JA, där vätesulfidproducerande bakterier växer fram med svarta kolonier. Ett laboratorium följde NMKL 96:2003 ("Mikrobiologiska undersökningar i färsk och frysta fiskprodukter"), vilken innefattar analys av vätesulfidproducerande bakterier. Laboratoriet inkuberade dock i LSB, vilket inte är korrekt. NMKL 96:2003 har också

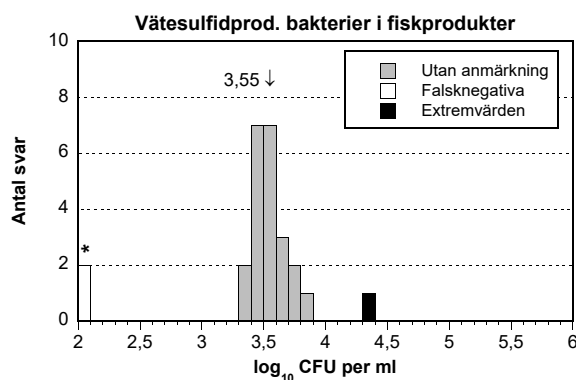
ersatts av NMKL 96:2009 som istället hänvisar till NMKL 184:2006 för analys av aeroba mikroorganismer och förruttelsebakterier i fisk och skaldjur.

Ett laboratorium följde ISO 4833-1:2013 och inkuberade därvid på PCA. Det är oklart hur detta laboratorium avsåg att identifiera vätesulfidproducerande bakterier med detta substrat. Laboratoriet rapporterade nollresultat för samtliga prov.

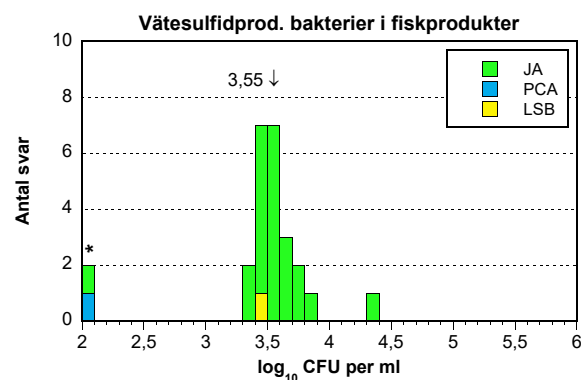
### Resultat från analys av vätesulfidproducerande bakterier i fiskprodukter

Substrat	Prov A							Prov B							Prov C						
	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>
Alla svar	24	23	-	-	1	-	-	25	23	-	-	2	-	-	25	22	3,55	0,12	2	0	1
JA	22	21	-	-	1	-	-	23	21	-	-	2	-	-	23	21	3,55	0,12	1	0	1
PCA	1	1	-	-	0	-	-	1	1	-	-	0	-	-	1	0	-	-	1	0	0
LSB	1	1	-	-	0	-	-	1	1	-	-	0	-	-	1	1	-	-	0	0	0

C



C



## Jäst och mögel

### Prov A

Stammen av *K. marxianus* var målorganism för analysen av jäst. Det rapporterades tre låga och fyra höga extremvärden, samt två falsknegativa resultat.

Stammen av *C. cladosporioides* var målorganism för analysen av mögel. Det rapporterades tre låga och ett högt extremvärde, samt tio falsknegativa resultat.

Fem av de 129 laboratorerna analyserade med TEMPO YM, vilken ger ett sammanlagt resultat för jäst och mögel. Eftersom antalet resultat för TEMPO YM är för få för att kunna analyseras statistiskt bedöms de istället utefter det förväntade resultatet för jäst + mögel, samt på metodens tidigare utfall vid Livsmedelsverkets kompetensprovningar. Enligt Livsmedelsverkets kvalitetskontroll är den sammantagna koncentrationen för jäst och mögel  $m_{SLV} = 2,55 \log_{10} \text{cfu ml}^{-1}$ . Analyser med TEMPO YM har åren 2016–2020 erhållit en poolad standardavvikelse ( $STEMPO$ ) på 0,34. **För TEMPO YM bedöms resultat mellan  $m_{SLV} \pm 2 \text{STEMPO}$  som godkända, vilket motsvarar resultat mellan 1,87 och  $3,24 \log_{10} \text{cfu ml}^{-1}$ .**

## Prov B

Stammen av *C. glabrata* var målorganism för analysen av jäst. Det rapporterades sex låga och två höga extremvärden, samt två falsknegativa resultat.

Stammen av *P. verrucosum* var målorganism för analysen av mögel. Det rapporterades fyra höga extremvärden och 31 falsknegativa resultat. Det ser inte ut att finnas en entydig förklaring till de många falsknegativa resultaten. Stammen av *P. verrucosum* förekom med cirka  $3,2 \log_{10} \text{ cfu ml}^{-1}$  i provet och analysen föranledde inte några problem vid Livsmedelsverket (inkubering på DG18 och DRBC vid 25 °C i 7 dygn). Stammen ingår även i Livsmedelsverkets referensmaterial RM Food 2019:7. Endast ett av de falsknegativa resultaten ser ut att bero på att mögelkolonier misstagits för jäst. Åtta av de falsknegativa resultaten rapporterades av laboratorier som erhöll nollresultat även för prov A och de kan därför ha haft svårigheter med analysen som helhet. Fem laboratorier ser ut att ha haft varierande problem, t.ex. sammanblandade prover. Resterande 17 falsknegativa resultat kommer från laboratorier som i övrigt rapporterade resultat utan anmärkning för både jäst och mögel. Dessa 17 laboratorier använde nästan uteslutande antingen YGC (9 laboratorier) eller Petrifilm YM/RYM (4 laboratorier). Även vid tidigare kompetensprovningar har falsknegativa resultat för denna stam framförallt rapporterats vid användning av YGC och Petrifilm YM/RYM, samt i ungefär samma omfattning som här.

Fem av de 129 laboratorierna analyserade med TEMPO YM. **Enligt samma metodik som för prov A, bedöms resultat från TEMPO YM mellan 2,55 och 3,92  $\log_{10} \text{ cfu ml}^{-1}$  som godkända.**

## Prov C

Ingen målorganism fanns i provet, varken för jäst eller för mögel.

Det rapporterades sex falskpositiva resultat vid analysen av jäst och två falskpositiva resultat vid analysen av mögel.

### Allmänt om analyserna

I princip samma laboratorier analyserade såväl jäst som mögel, och de angav i regel identiska metoder för båda analyserna. Metoderna utgjordes främst av NMKL 98:2005 och ISO 6611:2004 / IDF 94:2004, men även 3M™ Petrifilm™ och ISO 21527-1:2008 / ISO 21527-2:2008 var vanligt förekommande. Två laboratorier angav att de följde ISO 7954:1987 ("General guidance for enumeration of yeasts and moulds"), vilken har ersatts av ISO 21527-1:2008 och ISO 21527-2:2008.

NMKL 98:2005 föreskriver användning av antingen DRBC, DG18 eller OGYE. ISO 6611:2004 / IDF 94:2004 beskriver bestämning av jäst och mögel i mjölk och mjölkprodukter och baseras på ingjutning i OGYE eller YGC. ISO 21527-1:2008 använder DRBC medan ISO 21527-2:2008 använder DG18. Generellt rekommenderas DRBC för livsmedel med vattenaktivitet  $a_w > 0,95$  (t.ex. färsk frukt/grönsaker, kött och mjölkprodukter) medan DG18 rekommenderas för livsmedel med  $a_w \leq 0,95$  (t.ex. torkad frukt, torkat kött, mjöl och nötter).

Extremvärden och falska resultat fördelade sig förhållandevis likvärdigt mellan de större metod- och substratgrupperna. Även medelvärdena för de olika grupperna var generellt lika. Flera metoder och substrat användes dock endast av ett mindre antal laboratorier.

Som redan nämnts ovan, angav fem laboratorier att de använde TEMPO YM, i ett fall i kombination med annan metod/substrat. Resultaten från dessa fem laboratorier har uteslutits vid bedömningen av extremvärden, men de har i övrigt av praktiska skäl

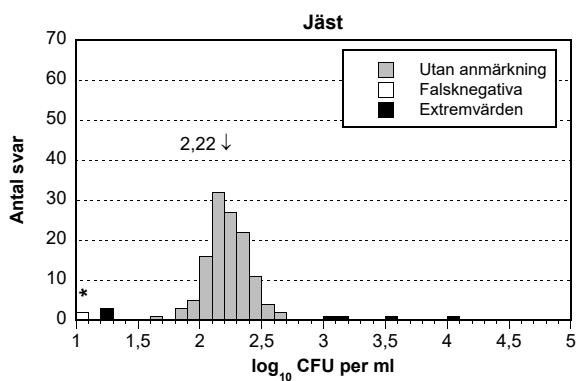
inkluderats i tabeller och figurer. Dessa resultat har där eventuellt markerats som extremvärden eller falska resultat endast beroende på metodiken i TEMPO YM. **Resultat från TEMPO YM bedöms dock särskilt – och endast – enligt de kommentarer som anges för respektive prov ovan.**

*Resultat från analys av jäst*

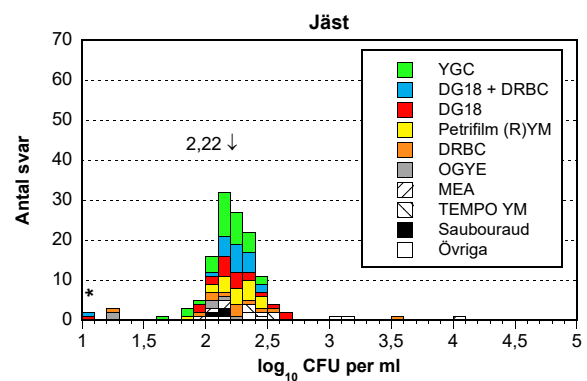
Substrat	Prov A						Prov B						Prov C					
	N	n	m	s	F	< >	N	n	m	s	F	< >	N	n	m	s	F	< >
Alla svar	132	123	2,22	0,17	2	3 4	132	122	3,11	0,11	2	6 2	133	127	-	-	6	-
YGC	34	34	2,17	0,17	0	0 0	34	32	3,11	0,11	0	2 0	35	33	-	-	2	-
DG18 + DRBC	21	20	2,26	0,11	1	0 0	22	21	3,11	0,08	0	1 0	21	20	-	-	1	-
DG18	20	19	2,24	0,21	1	0 0	20	18	3,12	0,12	1	0 1	20	19	-	-	1	-
Petrifilm YM/RYM	19	19	2,24	0,17	0	0 0	18	18	3,13	0,11	0	0 0	19	19	-	-	0	-
DRBC	12	10	2,22	0,19	0	1 1	12	11	3,16	0,13	0	1 0	12	12	-	-	0	-
OGYE	6	4	2,12	0,09	0	2 0	6	6	3,05	0,11	0	0 0	6	6	-	-	0	-
MEA	5	4	-	-	0	0 1	5	3	-	-	1	0 1	5	3	-	-	2	-
TEMPO YM	5	5	-	-	0	0 0	5	5	-	-	0	0 0	5	5	-	-	0	-
Saubouraud	3	3	-	-	0	0 0	3	3	-	-	0	0 0	3	3	-	-	0	-
Övriga*	7	5	-	-	0	0 2	7	5	-	-	0	2 0	7	7	-	-	0	-

\* Bland övriga substrat fanns bland annat Compact Dry YM och PDA.

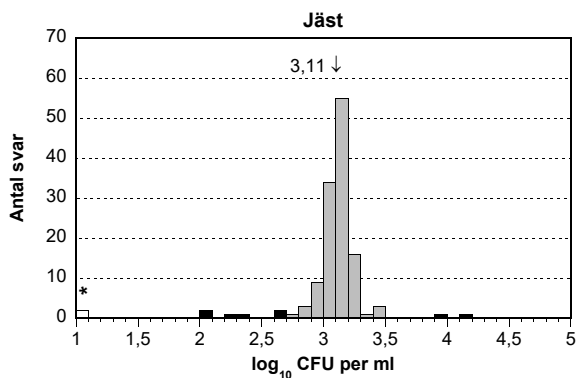
A



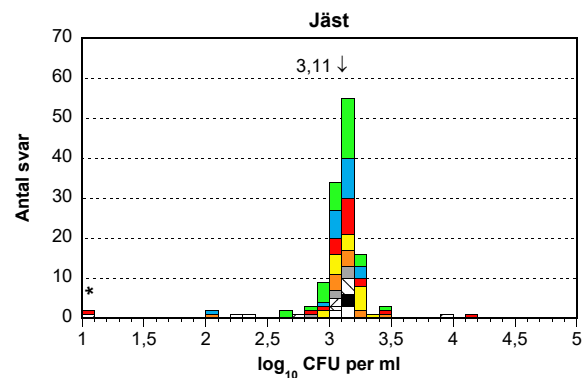
A



B



B

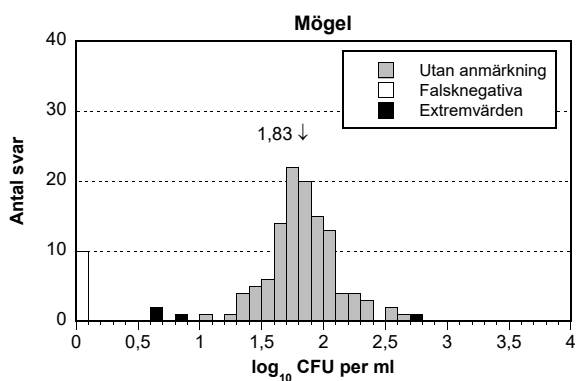


Resultat från analys av mögel

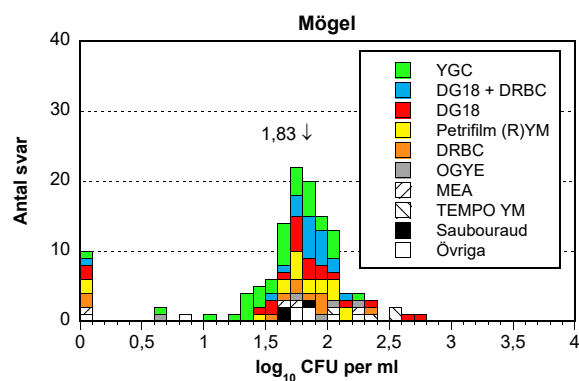
Substrat	Prov A							Prov B							Prov C						
	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>
Alla svar	129	115	1,83	0,26	10	3	1	129	94	2,01	0,29	31	0	4	130	128	-	-	2	-	-
YGC	35	33	1,68	0,28	1	1	0	35	22	2,01	0,38	13	0	0	36	36	-	-	0	-	-
DG18 + DRBC	20	19	1,86	0,14	1	0	0	21	20	1,98	0,28	1	0	0	20	19	-	-	1	-	-
DG18	21	18	1,86	0,28	2	0	1	21	15	2,00	0,20	5	0	1	21	21	-	-	0	-	-
Petrifilm YM/RYM	18	16	1,85	0,19	2	0	0	17	10	2,11	0,24	7	0	0	18	17	-	-	1	-	-
DRBC	11	9	1,86	0,21	2	0	0	11	10	2,11	0,15	1	0	0	11	11	-	-	0	-	-
OGYE	5	4	-	-	0	1	0	5	4	-	-	1	0	0	5	5	-	-	0	-	-
MEA	4	3	-	-	1	0	0	4	3	-	-	1	0	0	4	4	-	-	0	-	-
TEMPO YM	4	4	-	-	0	0	0	4	1	-	-	0	0	3	4	4	-	-	0	-	-
Saubouraud	3	3	-	-	0	0	0	3	3	-	-	0	0	0	3	3	-	-	0	-	-
Övriga*	8	6	-	-	1	1	0	8	6	-	-	2	0	0	8	8	-	-	0	-	-

\* Bland övriga substrat fanns bland annat Compact Dry YM och PDA.

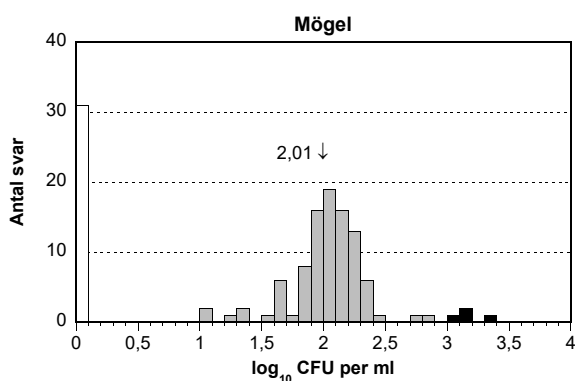
A



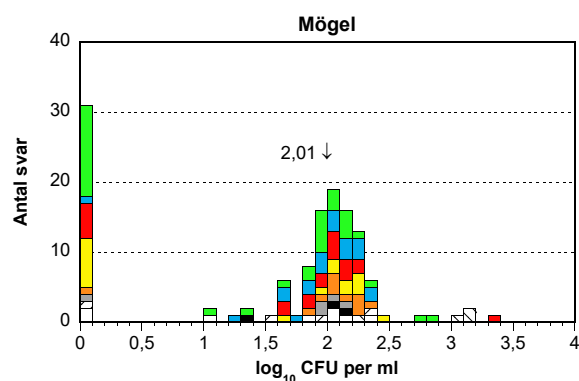
A



B



B





## **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 de 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 bedömas utifrån antalet falska svar och extremvärden som anges i Bilaga 1 och under boxdiagrammen.

Verksamhetsprotokollet (4) 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](http://www.livsmedelsverket.se/PT-extra)

### **Z-värden, box-diagram och avvikande svar**

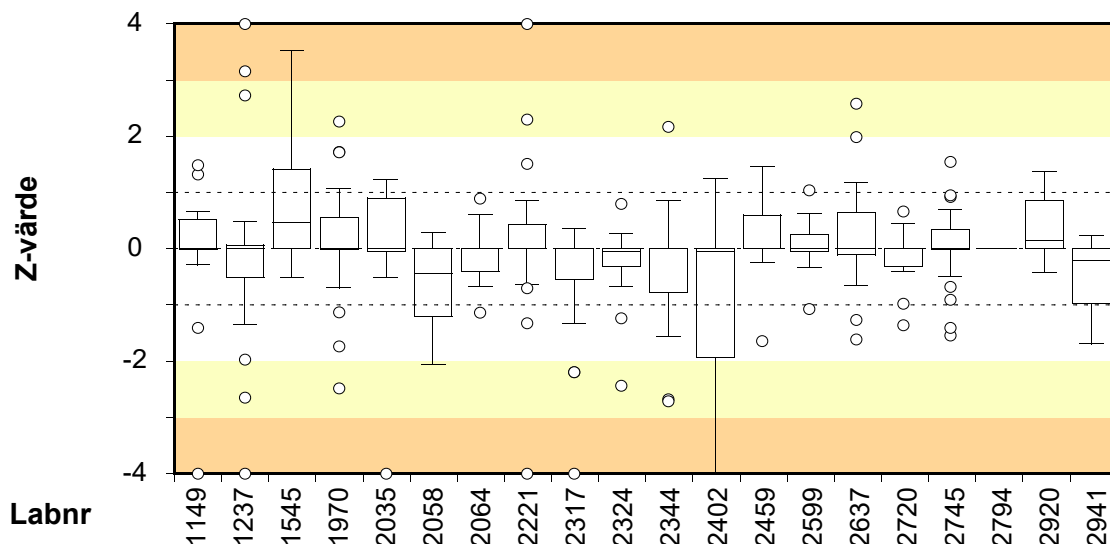
För att möjliggöra jämförelser av resultat från olika analyser och provblandningar med varandra omräknas laboratoriernas resultat från samtliga analyser till standardvärden (z-värden). För kvantitativa analyser blir standardvärdet positivt eller negativt beroende på om resultatet ligger över eller under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

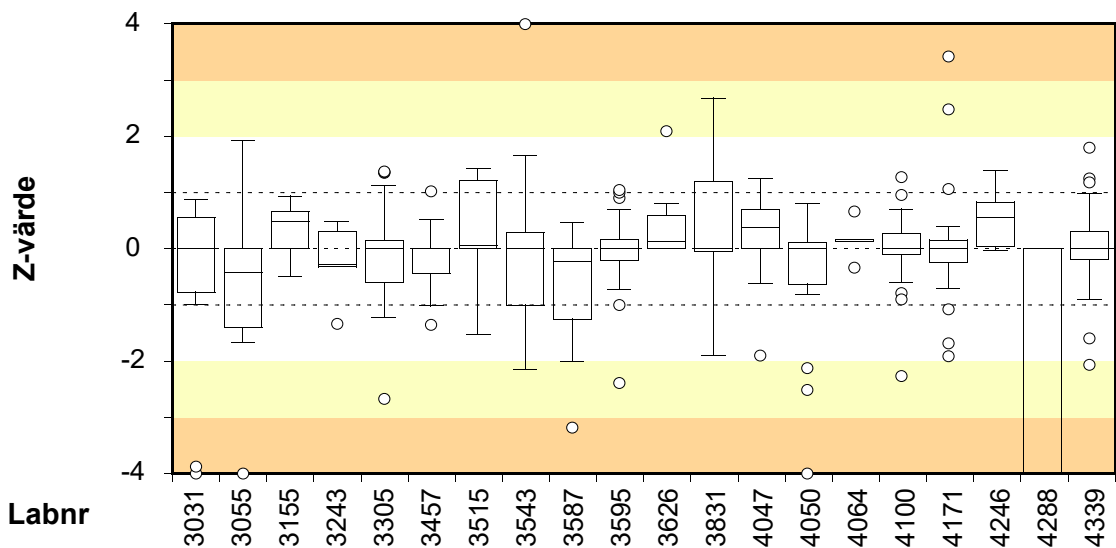
### Box-diagram och antal avvikande värden för varje deltagande laboratorium

- 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 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.

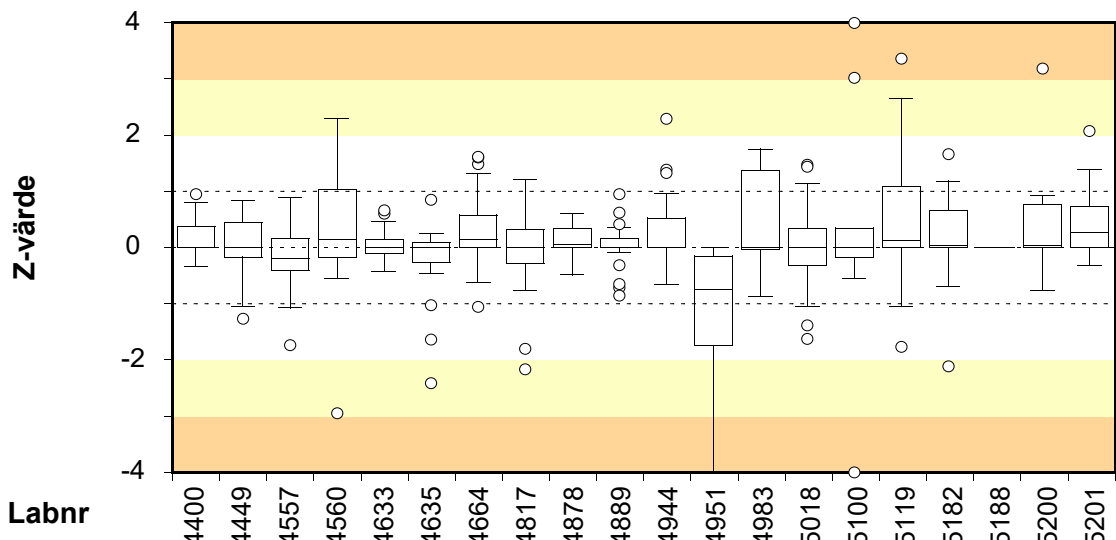
\*  $< [\text{boxens minsta värde} - 1,5 \times (\text{boxens största värde} - \text{boxens minsta värde})]$  eller  
 $> [\text{boxens största värde} + 1,5 \times (\text{boxens största värde} - \text{boxens minsta värde})]$ .



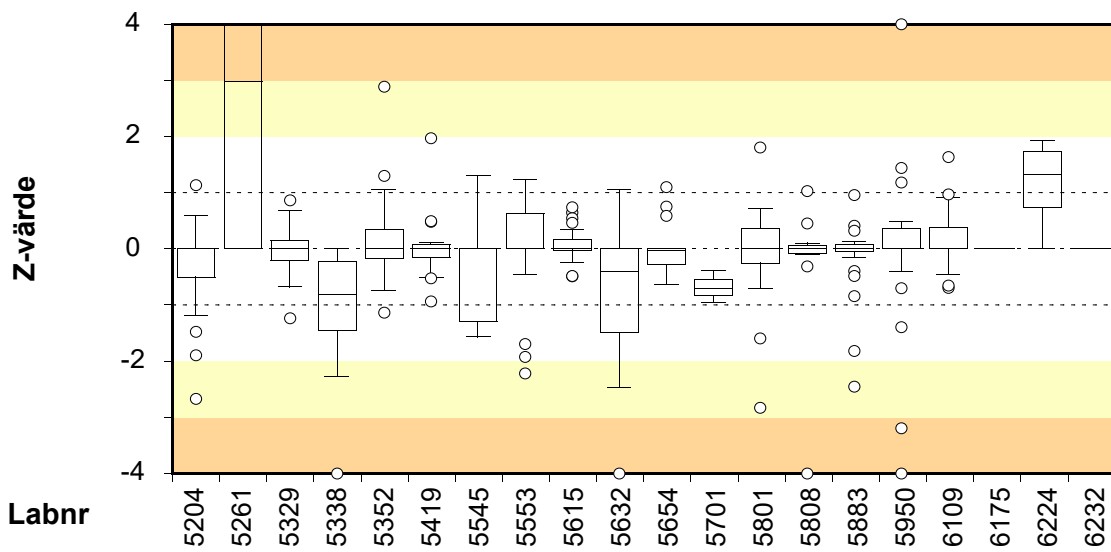
Antal värden	18	28	29	36	12	20	15	30	26	22	28	15	20	18	28	13	27	-	12	23
Falskpositiva	-	6	1	1	-	1	-	-	1	-	-	-	1	-	1	1	-	-	-	1
Falsknegativa	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	1	-	-	-	1
Låga extremer	1	2	-	-	1	-	-	1	1	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-
Höga extremer	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



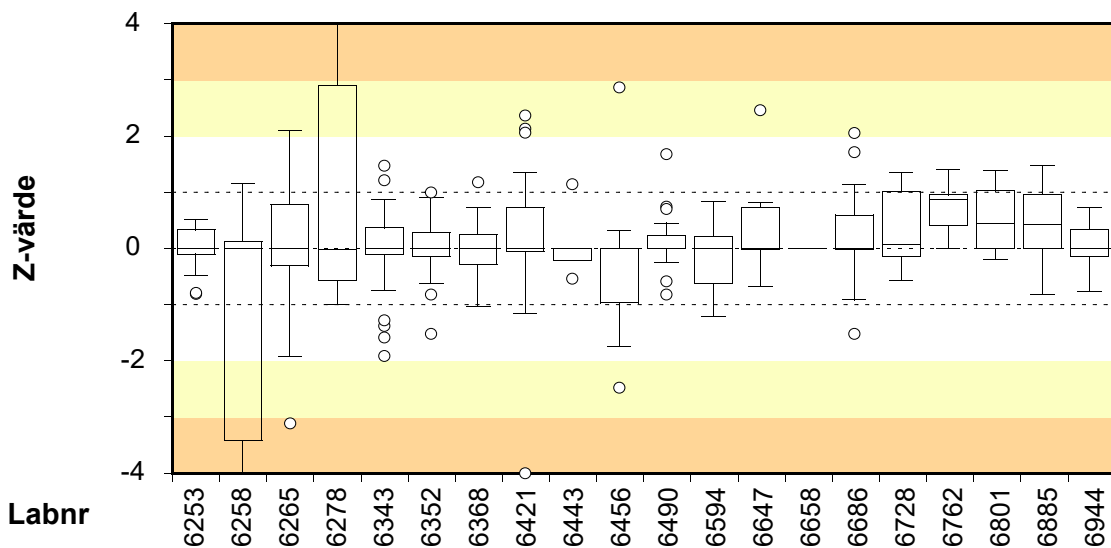
Antal värden	12	13	15	5	36	25	14	17	20	27	18	15	19	17	5	36	23	11	14	35	
Falskpositiva	-	1	-	1	-	1	1	1	2	-	-	-	1	1	1	1	1	1	-	-	1
Falsknegativa	-	1	-	-	-	1	-	-	2	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	13	-
Låga extremer	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	4	-
Höga extremer	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-



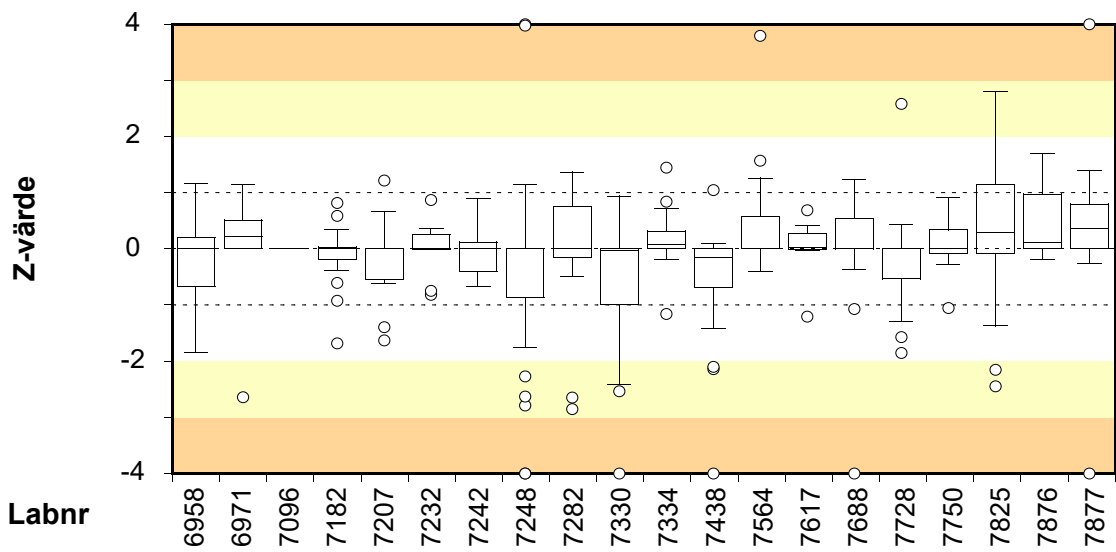
Antal värden	15	14	15	12	24	16	23	21	15	24	30	15	14	35	10	15	18	-	15	9	
Falskpositiva	-	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	1
Falsknegativa	3	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-
Låga extremer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Höga extremer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-



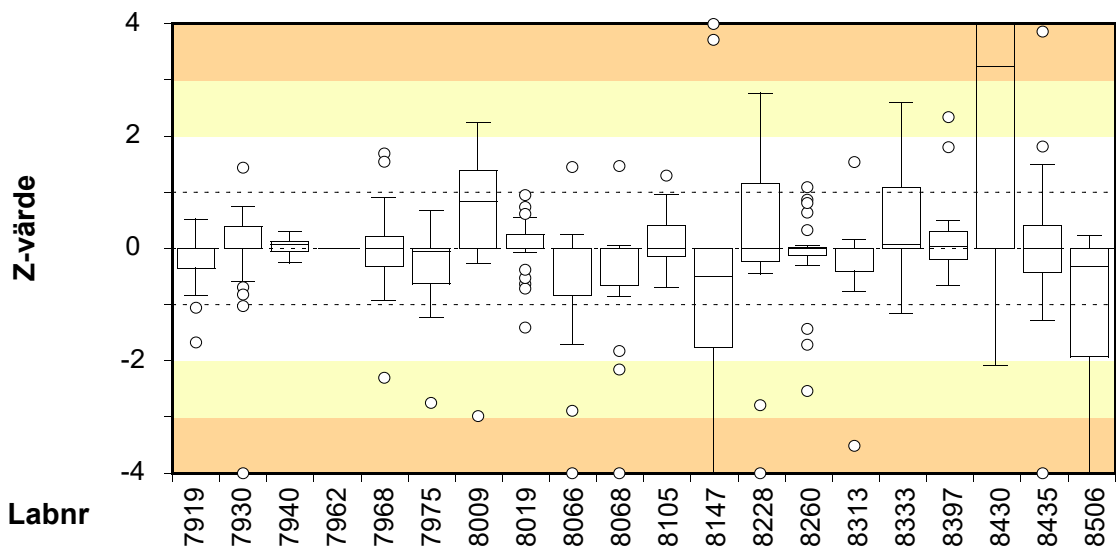
Antal värden	30	13	20	11	24	16	14	18	25	15	14	3	14	12	25	29	21	-	6	-
Falskpositiva	1	1	1	1	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	2	4	-	-	2	-
Falsknegativa	-	1	3	-	-	-	1	-	1	-	-	-	1	3	-	4	-	-	1	-
Låga extremer	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	2	-	-	-	-
Höga extremer	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-



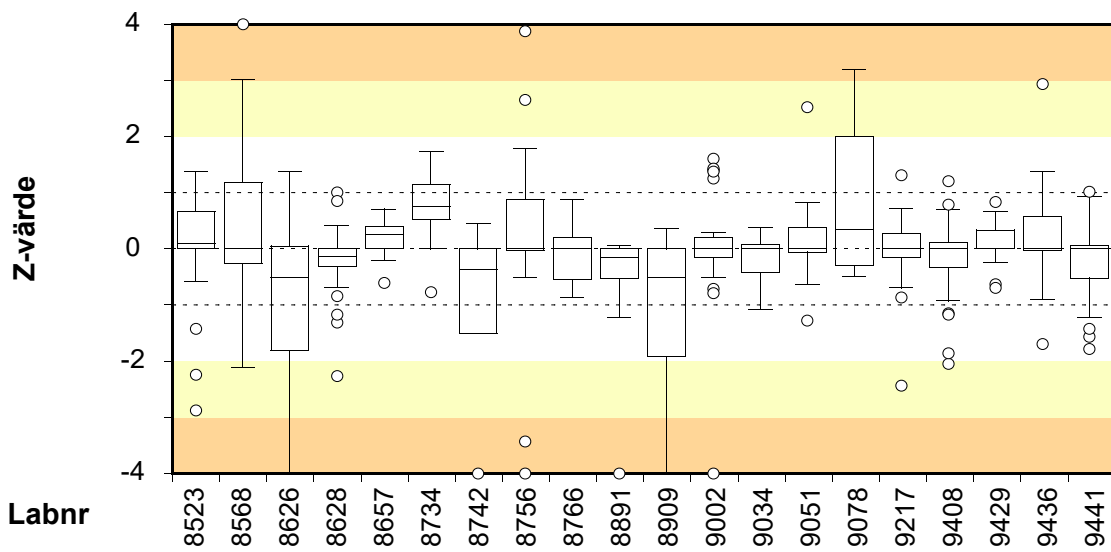
Antal värden	18	9	25	8	27	27	33	33	6	21	21	22	9	-	24	12	9	12	24	15
Falskpositiva	-	-	1	1	3	-	-	2	-	-	-	2	1	-	1	-	-	1	-	-
Falsknegativa	-	1	2	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	3	-	-	-	2	-	-
Låga extremer	-	2	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Höga extremer	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



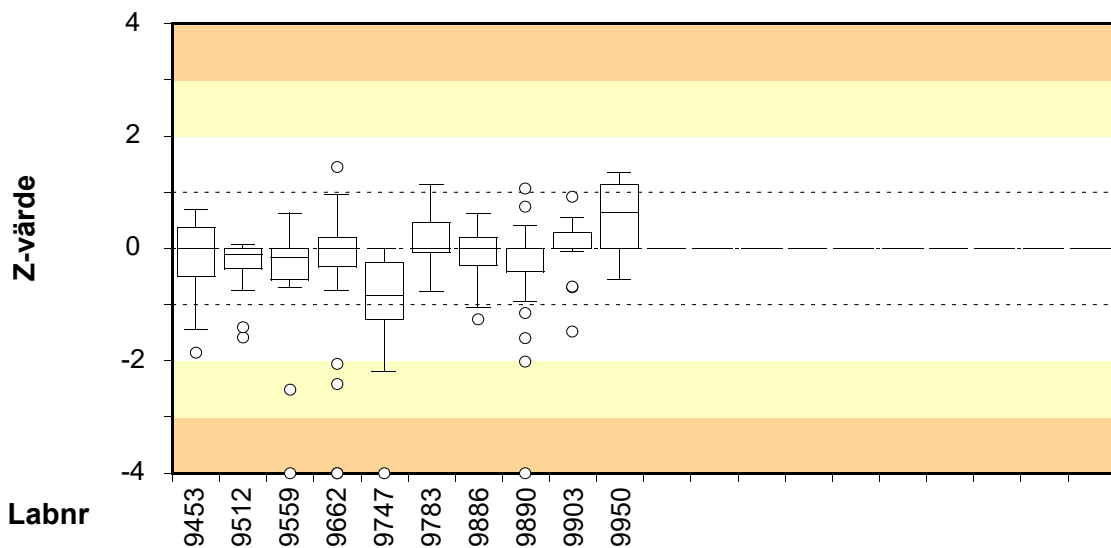
Antal värden	14	8	-	17	18	9	12	34	21	21	19	27	18	11	29	27	12	16	24	12
Falskpositiva	-	1	-	1	-	-	-	2	-	-	-	-	-	1	2	-	-	2	-	1
Falsknegativa	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-
Låga extremer	-	-	-	-	-	-	-	2	-	1	-	1	-	-	1	-	-	-	-	1
Höga extremer	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1



Antal värden	19	21	5	-	28	14	16	36	18	23	18	27	12	26	18	23	14	15	35	16
Falskpositiva	-	-	1	-	-	-	1	-	2	-	-	2	-	1	-	1	1	2	1	-
Falsknegativa	2	-	-	-	2	1	1	-	1	1	-	1	1	-	-	-	-	1	-	2
Låga extremer	-	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-	2	1	-	-	-	-	-	2	1
Höga extremer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	7	1	-



Antal värden	17	22	12	35	12	10	9	20	24	16	17	27	10	9	4	14	34	21	31	31
Falskpositiva	1	2	-	1	-	2	-	1	-	1	1	1	-	-	1	1	2	-	-	-
Falsknegativa	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
Låga extremer	-	-	1	-	-	-	2	1	-	1	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-
Höga extremer	-	2	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



Antal värden	17	16	21	32	11	11	29	24	24	14
Falskpositiva	-	-	-	3	2	-	2	-	-	1
Falsknegativa	1	2	-	1	2	1	-	-	-	-
Låga extremer	-	-	1	2	1	-	-	1	-	-
Höga extremer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

## 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 (5). Före provansättning ska innehållet i en vial lösas upp i 254 ml steril spädningsvätska. Innehållet i provblandningarna framgår av tabell 2.

**Tabell 2.** Mikroorganismer i respektive provblandning

Prov <sup>1</sup>	Mikroorganism	Stambeteckning	
		SLV-nr. <sup>2</sup>	Referens <sup>3</sup>
A	<i>Bacillus cereus</i>	SLV-160	CCUG 45098
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	SLV-475	CCUG 30503
	<i>Escherichia coli</i>	SLV-524	CCUG 47554
	<i>Staphylococcus xylosus</i>	SLV-283	Ost, 1989
	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	SLV-439	CBS G99-106
	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	SLV-488	CBS 812.96
B	<i>Staphylococcus aureus</i>	SLV-280	isolerad från ägg
	<i>Clostridium perfringens</i>	SLV-442	CCUG 43593
	<i>Candida glabrata</i>	SLV-052	-
	<i>Penicillium verrucosum</i>	SLV-544	CBS 112488
	<i>Aeromonas caviae</i>	SLV-206	CCUG 43595
C	<i>Escherichia coli</i>	SLV-082	CCUG 45097
	<i>Staphylococcus aureus</i>	SLV-350	CCUG 45099
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	SLV-445	ATCC 8014
	<i>Hafnia alvei</i>	SLV-015	CCUG 45642
	<i>Aeromonas hydrophila</i>	SLV-467	CCUG 46535
	<i>Clostridium bifermentans</i>	SLV-009	CCUG 43592

<sup>1</sup> För koppling av slumpad provbeteckning till respektive provblandning hänvisas till bilaga 1.

<sup>2</sup> Internt stamnummer på Livsmedelsverket.

<sup>3</sup> Ursprung eller stamsamling (CBS: Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, CCUG: Culture Collection University of Gothenburg, Sweden.)

### 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" provblandning 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 (I<sub>2</sub>) inte samtidigt överskrider gränsvärdena 2,6 respektive 2,0. (För definitioner av T och I<sub>2</sub>, se referenserna 6 respektive 7.)

**Tabell 3:** Medelvärden av halter (m), I<sub>2</sub>- och T-värden från kvalitetskontroll av provblandningarna; m anges i log<sub>10</sub> cfu (colony forming units) per ml prov.

Analys och metod	A <sup>1</sup>			B <sup>2</sup>			C <sup>1</sup>		
	m	I <sub>2</sub>	T	m	I <sub>2</sub>	T	m	I <sub>2</sub>	T
Aeroba mikroorganismer, 30 °C NMKL-metod nr. 86:2013	4,60	1,50	1,48	4,11	1,98	1,27	4,66	0,58	1,25
Psykrotrofa mikroorganismer NMKL-metod nr. 86:2013	3,91	<b>5,66</b>	<b>5,18</b>	2,76	<b>8,20</b>	<b>2,81</b>	3,67	0,93	1,33
Enterobacteriaceae NMKL-metod nr. 144:2005	3,65	1,76	1,48	-	-	-	4,23	1,62	1,33
<i>Escherichia coli</i> NMKL-metod nr. 125:2005	3,70	<b>2,13</b>	1,54	-	-	-	4,17	1,50	1,33
Presumtiv <i>Bacillus cereus</i> NMKL-metod nr. 67:2010	4,51	<b>2,36</b>	1,69	-	-	-	-	-	-
Koagulaspositiva stafylokocker NMKL-metod nr. 66:2009	2,98 <sup>3</sup>	0,97 <sup>3</sup>	2,08 <sup>3</sup>	4,00	0,46	1,14	3,51	0,30	1,21
Mjölksyrabakterier NMKL-metod nr. 140:2007	3,70	<b>2,35</b>	1,52	-	-	-	4,27	0,24	1,11
<i>Clostridium perfringens</i> NMKL-metod nr. 95:2009	-	-	-	3,04	<b>2,03</b>	1,29	-	-	-
Anaeroba sulfitreducerande bakterier NMKL-metod nr. 56:2015	-	-	-	3,04	0,47	1,14	3,18	0,61	1,19
Aeroba mikroorganismer i fiskprodukter NMKL-metod nr. 184:2006	4,72	<b>3,16</b>	1,67	4,10	1,58	1,26	4,65	<b>2,78</b>	1,58
H <sub>2</sub> S-producerande bakterier i fiskprodukter NMKL-metod nr. 184:2006	-	-	-	-	-	-	3,81	0,73	1,89
Jäst NMKL-metod nr. 98:2005	2,39	0,76	1,42	3,18	1,77	1,25	-	-	-
Mögel NMKL-metod nr. 98:2005	2,05	0,29	1,36	2,31	1,77	1,91	-	-	-

- Ingen målorganism och därför inget värde

<sup>1</sup> n = 5 vialer med dubbelanalyser

<sup>2</sup> n = 10 vialer med dubbelanalyser

<sup>3</sup> Ej målorganism för analysen



## Referenser

1. Kelly, K. 1990. Outlier detection in collaborative studies. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 73:58–64.
2. de Jong A.E.I., Eijhusen, G.P., Brouwer-Post, E.J.F., Grand, M., Johansson, T., Kärkkäinen, T., Marugg, J., in't Veld, P.H., Warmerdam, F.H.M., Wörner, G., Zicavo, A., Rombouts, F.M., Beumer, R.R. 2003. Comparison of media for enumeration of *Clostridium perfringens* from foods, *Journal of Microbiological Methods*, 54(3):359–366.
3. Byrne, B., Scannell, A.G.M., Lyng, J., Bolton, D.J. 2008. An evaluation of *Clostridium perfringens* media, *Food Control* 19(11):1091–1095
4. Anonym, 2018. Verksamhetsprotokoll. Mikrobiologi. Dricksvatten & Livsmedel, Livsmedelsverket.
5. Peterz, M., Steneryd. A.C. 1993. Freeze-dried mixed cultures as reference samples in quantitative and qualitative microbiological examinations of food. *Journal of Applied Bacteriology*. 74:143–148.
6. 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.
7. Heisterkamp, S.H., Hoekstra, J.A., van Strijp-Lockfeer, 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 mikroorganismer 30 °C			Psykrotrofa mikroorganismer			Entero-bacteriaceae			Escherichia coli			Presumtiv Bacillus cereus			Koagulaspositiva stafylokker			Mjölksyrabakterier			Clostridium perfringens			Anaeroba sulfit-reducerande bakterier			Aeroba m.o. i fiskprodukter, 20-25 °C			H <sub>2</sub> S-prod. bakterier i fiskprodukter			Jäst			Mögel			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				
9950	1 3 2	4,5	3,97	4,55	-	-	-	3,77	0	4,28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,78	1,4	4,33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,38	3,22	0	1,9	2,26	0	9950

<b>N</b>	147	149	148	20	21	21	128	128	130	113	116	114	113	115	115	97	99	99	56	55	56	58	59	59	61	59	59	27	28	28	24	25	25	132	132	133	129	129	130	<b>N</b>			
<b>Min</b>	1,30	2,26	2,38	0	0	1,00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,08	0	3,15	0	0	0	0	0	0	4,20	2,93	3,76	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>Min</b>
<b>Max</b>	5,23	5,06	5,22	4,55	4,07	4,75	4,66	3,40	4,45	4,75	2,38	5,02	5,36	3,75	4,63	4,12	5,48	4,41	4,31	4,00	4,70	0	3,48	3,40	3,82	3,77	4,16	4,72	4,30	5,00	3,78	3,00	4,34	4,08	4,17	4,41	2,72	3,32	2,23	<b>Max</b>			
<b>Med</b>	4,41	4,03	4,58	4,05	2,43	3,56	3,61	0	4,10	3,58	0	4,00	4,36	0	0	0	3,94	3,45	3,59	0	4,22	0	3,07	0	0	3,02	3,23	4,43	4,00	4,49	0	0	3,57	2,23	3,12	0	1,82	2,03	0	<b>Med</b>			
<b>m</b>	4,386	4,034	4,573	3,463	2,185	3,688	3,607	0	4,087	3,576	0	3,933	4,349	0	0	0	3,949	3,434	3,585	0	4,208	0	3,050	0	0	3,017	3,176	4,427	4,017	4,482	0	0	3,551	2,218	3,113	0	1,825	2,013	0	<b>m</b>			
<b>s</b>	0,257	0,118	0,134	1,362	1,302	0,407	0,140	0	0,170	0,188	0	0,236	0,189	0	0	0	0,097	0,112	0,144	0	0,105	0	0,187	0	0	0,180	0,265	0,127	0,104	0,164	0	0	0,123	0,170	0,107	0	0,261	0,293	0	<b>s</b>			
<b>u<sub>(lg)</sub></b>	0,021	0,010	0,011	0,305	0,284	0,091	0,013	0	0,015	0,019	0	0,023	0,019	0	0	0	0,010	0,012	0,020	0	0,015	0	0,025	0	0	0,024	0,036	0,024	0,020	0,032	0	0	0,026	0,015	0,010	0	0,024	0,030	0	<b>u<sub>(lg)</sub></b>			
<b>F+</b>	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	1	0	0	2	7	7	0	0	0	23	0	0	0	11	1	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	6	0	0	2	<b>F+</b>			
<b>F-</b>	0	0	0	0	0	0	2	0	2	7	0	2	7	0	0	0	4	5	0	0	0	0	3	0	0	1	3	0	0	0	0	0	2	2	2	0	10	31	0	<b>F-</b>			
<b>&lt;</b>	3	4	3	0	0	1	3	0	2	2	0	2	6	0	0	0	2	4	1	0	4	0	2	0	0	0	2	0	1	1	0	0	0	3	6	0	3	0	0	<b>&lt;</b>			
<b>&gt;</b>	0	2	2	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	2	3	2	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	4	2	0	1	4	0	<b>&gt;</b>			
<b>&lt; OK</b>	3,63	3,62	4,20	0	0	3,00	3,26	0	3,54	3,04	0	3,31	3,70	0	0	0	3,67	3,10	3,20	0	3,96	0	2,51	0	0	2,53	2,37	4,20	3,76	4,14	0	0	3,34	1,63	2,78	0	1,00	1,04	0	<b>&lt; OK</b>			
<b>&gt; OK</b>	5,23	4,41	4,88	4,55	4,07	4,75	4,04	0	4,45	4,18	0	4,42	4,92	0	0	0	4,23	3,61	3,91	0	4,48	0	3,48	0	0	3,33	3,60	4,72	4,31	5,00	0	0	3,83	2,70	3,49	0	2,61	2,84	0	<b>&gt; OK</b>			

N = antal utförda analyser

Max = högsta rapporterade resultat

m = medelvärde

F+ = falskpositiv

< = låga extremvärden

< OK = lägsta accepterade värde

u<sub>(lg)</sub> = mätosäkerhet för åsatt värde (m)

Min = lägsta rapporterade resultat

Med = medianvärde

s = standardavvikelse

F- = falsknegativ

> = höga extremvärden

> OK = högsta accepterade värde

- Analysresultaten utvärderas inte
- Extremvärde eller falskpositiv/falsknegativt resultat
- Resultat "större än" utvärderas inte









Lab nr.	Provnr.	Aeroba mikroorganismer 30 °C			Psykrotrofa mikroorg.			Entero-bacteriaceae			<i>Escherichia coli</i>			Presumtiv <i>Bacillus cereus</i>			Koagulaspositiva stafylokocker			Mjölksyra-bakterier			<i>Clostridium perfringens</i>			Anaeroba sulfit-reducerande bakterier			Aeroba mikroorg. i fiskprod. 20-25 °C			H <sub>2</sub> S-prod. bakterier i fiskprodukter			Jäst			Mögel			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				
9886	1 3 2	-0,257	-0,626	0,204			-0,513	-1,050	0	-0,041	-1,257	0	-0,607	0,430	0	0	0	-0,300	0,408	0,032		0,588	0	0,321		0	-0,373	0,394							-0,224	0,631	0	-0,595	0,570	0	9886
9890	3 2 1	0,405	-4,000	-1,590				-0,120	0	-0,453	-0,246	0	0,115	0,747	0	0	0	-0,094	-0,306	-0,383	0	-0,940													1,072	-1,145	0	-2,012	0,092	0	9890
9903	3 2 1	-0,685	0,392	0,129				-0,049	0	0,313	0,552	0	0,922	-1,473	0	0	0	0,318	0,229					0	0,267										0,070	-0,678	0	0,439	0,229	0	9903
9950	1 3 2	0,444	-0,541	-0,170				1,167	0	1,137										1,348		1,162													0,954	1,004	0	0,285	0,843	0	9950

  Analysresultaten 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: <https://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](http://www.livsmedelsverket.se/RM-micro)