

## Referensmaterial (RM) för dricksvattenmikrobiologi (Dw)

|                          |                                                                                                                                                                                                   |
|--------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Beteckning:</b>       | <i>Dw 2021:C</i>                                                                                                                                                                                  |
| <b>Tillverkningsdag:</b> | 2021-10-27                                                                                                                                                                                        |
| <b>Tillverkare:</b>      | Livsmedelsverket, Sverige                                                                                                                                                                         |
| <b>Homogenitet:</b>      | Separat dokument (pdf) på vår webbsida (se nedan)                                                                                                                                                 |
| <b>Hållbarhet:</b>       | <b>27 Januari 2024</b> förvarat vid $-55\text{ °C}$ hos Livsmedelsverket. <i>Bör användas inom 1 år efter leverans förvarat vid ca <math>-20\text{ °C}</math>, dock längst till utgångsdatum.</i> |

Tabell 1 *Bakteriestammar som ingår*

| Artnamn                 | Stam    | Parameter                                            | Referensmetod <sup>1</sup>      |
|-------------------------|---------|------------------------------------------------------|---------------------------------|
| <i>Sphingomonas sp.</i> | SLV-547 | Långsamväxande bakterier<br>7 dygn ("svensk" analys) | EN ISO 6222:1999,<br>modifierad |

<sup>1</sup> Se referenser i INFORMATION om RM för dricksvatten på [www.livsmedelsverket.se/RM-micro](http://www.livsmedelsverket.se/RM-micro)

### *Beredning av simulerade vattenprov*



300 ml

En vial med frystorkat referensmaterial överförs till **300 ml  $\pm$  3 ml** av rumstempererad spädning- eller sköljningsvätska enligt *bifogad anvisning*. Efter noggrann intermittert (upprepade med avbrott) omblandning är provet klart att användas. **Annan upplösningsvolym går att använda om så önskas, t ex 200 ml eller 400 ml vilket motsvarar ett genomsnitt av 123 respektive 62 cfu/ml istället för 82 cfu/ml för YeA.**

### *Utförande av analysen*



0,1 ml

Analysen utförs enligt laboratoriets metodbeskrivningar med lämpliga volymer. Provisoriska initiala kontrollgränser för **0,1 ml** finns angivna i tabell 2. Andra volymer kan användas efter eget val.

### *Medelvärden och kontrollintervall*

I tabell 2 ges Livsmedelsverkets "riktvärde" tillsammans med *initiala kontrollgränser*. Dessa gränser kan användas innan egna kontrollintervall kan upprättas. Gränserna vid  $\pm 2s_0$  och  $\pm 3s_0$  används som gränser 2-sigma respektive 3-sigma.  $s_0$  är standardavvikelsen som gäller för materialet.

Det finns vanligtvis systematiska skillnader ("bias") mellan laboratorier, som leder till olika medelvärden och spridningsmått – och därmed olika egna intervall. Sannolikheten för att samtliga laboratoriers enskilda resultat hamnar utanför de i tabell 2 givna kontrollgränserna är cirka 5 % för  $2s_0$  respektive 0,3 % för  $3s_0$ .

2022-03-17

De initiala kontrollintervallen har bland annat beräknats utifrån spridningsmått för analyser av det under många år använda referensmaterialet provtyp A (se not 3 under tabell 2). Motsvarande långtidsstudier har inte gjorts med den här aktuella provtypen C. *Intervallen* betraktas därför som provisoriska och *gäller för den i tabell 1 angivna referensmetoden*. Intervallen gäller för enskilda analysvärden, alltså inte medelvärden och kan användas som *vägledning* tills **egna intervall** har konstruerats.

Labororiespecifika intervall för en analys är vanligtvis mindre än det breda initiala intervallet, men läget varierar beroende på den systematiska skillnaden.

Om egen upplösningsvolym eller egen provvolym används måste eget medelvärde och egna kontrollgränser tas fram så snart det är möjligt.

Resultat från samtliga analytiker som normalt utför analysen bör inkluderas i de egna kontrolldiagrammen. Analysdesignen (antal värden) per vial bör vara lika varje gång. Egna intervall kan beräknas enligt dokumentet "Kontrolldiagram RM Dw, Instuktion" på [www.livsmedelsverket.se/RM-micro](http://www.livsmedelsverket.se/RM-micro).

Som känt sen några år så erhåller inte alla laboratorier fullt utbyte av stammen i referensmaterialet med mediet som anges i standarden EN ISO 6222 – och då troligtvis inte heller av stammar i naturliga prov.

Utbytet är – åtminstone delvis – kopplat till mediebatcher och hur de hanteras. Det tycks kunna variera mellan mediebatcher men ibland även mellan specifika tillverkningspartier av färdigt medium. Kontroll av utbyte görs i nuläget lämpligast mot mediet R2A agar, som ger mer stabila resultat.

Om ni får analysresultat som avviker systematiskt från givna intervall, använd så snart som möjligt era egna resultat för konstruktion av intervall.

Informera oss gärna om annorlunda utbyte på: [RM-micro@slv.se](mailto:RM-micro@slv.se).

Tabell 2 *Medelvärde och preliminära kontrollgränser för RM Dw 2021:C*

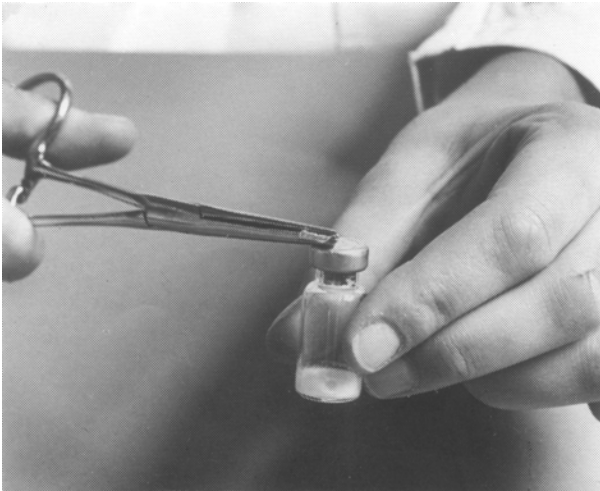
| Parameter <sup>1</sup>                                   | Analys<br>volym<br>(ml) | Medel-<br>värde <sup>2</sup><br>(cfu) | Kontrollgränser <sup>3</sup> |                  |                  |                  |
|----------------------------------------------------------|-------------------------|---------------------------------------|------------------------------|------------------|------------------|------------------|
|                                                          |                         |                                       | -3s <sub>0</sub>             | -2s <sub>0</sub> | +2s <sub>0</sub> | +3s <sub>0</sub> |
| Långsamväxande bakt. 22 °C, 7d<br>(Jästextraktagar, YeA) | <b>0,1</b>              | 82                                    | 40                           | 52               | 119              | 139              |
| Långsamväxande bakt. 22 °C, 7d<br>(R2A agar)             | <b>0,1</b>              | 87                                    | 43                           | 56               | 124              | 145              |



**0,1 ml**

- <sup>1</sup> Ingjutningsmetod för analyser av långsamväxande bakterier.
- <sup>2</sup> Återtransformerade värden beräknade utifrån kvadratrottransformerade resultat från 10 vialer med dubbelprov 12 veckor efter frystorkning; cfu= "colony forming units".
- <sup>3</sup> Baserat på den interna reproducerbarhetsspridningen vid Livsmedelsverket (på grund av låg repeterbarhetsspridningen vid homogenitetstesten) samt på spridningsmått från referensmaterial provtyp A under ett år innan det först lanserades (6 parametrar analyserades oberoende 6 gånger av 16 laboratorier). Intervallen är asymmetriska runt medelvärdena då det anges efter återtransformering efter beräkning utifrån kvadratrottransformerade resultat. Koloniantalen vid  $\pm 2s_0$  är **varningsgränser** och  $\pm 3s_0$  **åtgärdsgränser** i kontrolldiagrammen.

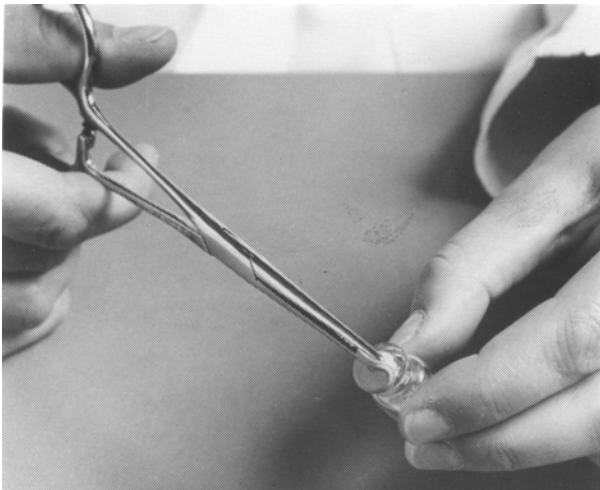
## Provberedning från frystorkad kulturblandning i glasvial (RM)



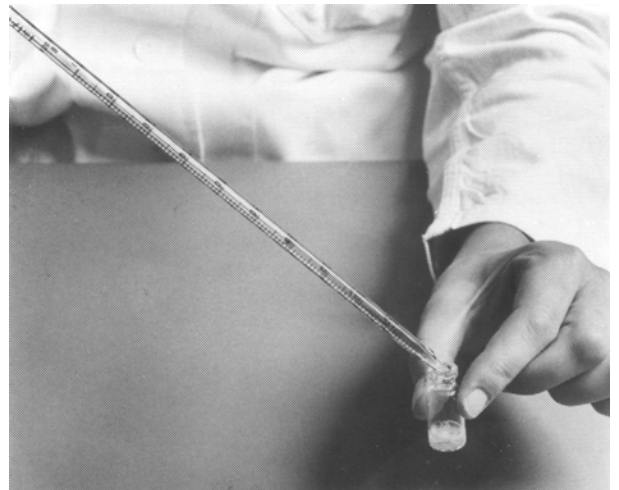
1. Vrid fliken på aluminiumkapsylens översida i pilens riktning med en peang, pincett eller liknande.



2. Avlägsna aluminiumkapsylen.



3. Ta bort gummiroppen. Bränn försiktigt av vialens öppning över gaslåga.



4. Tillsätt 1 ml spädningsvätska.



5. Lös upp innehållet med en steril pasteurpipett. För över suspensionen till en  $\frac{1}{2}$  – 1 L provtagningsflaska med **rätt volym** ( $\pm 1\%$ ) **rumstempererad** spädningsvätska.



6. Upprepa momenten 4 och 5 ytterligare tre gånger med samma pasteurpipett. Skölj vialens väggar nogga. Efter noggrann intermitterant ombländning under minst 3 minuter (gärna >10 minuter) är provet klart för analys. Utför analyserna inom 60 minuter.