

2022-11-28

Biologiavdelningen
RM-micro@slv.se**Referensmaterial (RM) för dricksvattenmikrobiologi (Dw)****Beteckning:** Dw 2022:A**Tillverkningsdag:** 2022-02-02**Tillverkare:** Livsmedelsverket, Sverige**Homogenitet:** Separat dokument på vår webbsida (se nedan)**Hållbarhet:** 2 februari 2024 förvarat vid -55 °C hos Livsmedelsverket. Bör användas inom 1 år efter leverans förvarat vid ca -20 °C , dock längst till utgångsdatum.**Bakteriestammar som ingår (Tabell 1)**

Parameter	Målorganismer	Stam nr	Referensmetod ¹
Koliforma bakterier	<i>Escherichia coli</i> <i>Citrobacter freundii</i>	SLV-084 SLV-424	EN ISO 9308-1:2014
E. coli	<i>Escherichia coli</i>	SLV-084	EN ISO 9308-1:2014
Intestinala enterokocker	<i>Enterococcus faecalis</i>	SLV-051	EN ISO 7899-2:2000
Pseudomonas aeruginosa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SLV-395	EN ISO 16266:2008
Clostridium perfringens	<i>Clostridium perfringens</i>	SLV-442	EN ISO 14189:2016
Odlingsbara mikroorganismer 22 °C, 3 d / 37 °C, 2 d	Summa bakterier utom <i>C. perfringens</i>		EN ISO 6222:1999

¹ Se referenser i INFORMATION om RM för Dricksvatten på www.livsmedelsverket.se/RM-micro.**Beredning av simulerade vattenprov**

En vial med frystorkat referensmaterial överförs till **300 ml ± 3 ml rums-tempererad** spädnings- eller sköljningsvätska enligt bifogad anvisning. Efter noggrann intermittert (upprepade med avbrott) omblandning under minst 3 minuter (>10 min ännu bättre) är provet klart att användas.

Utförande av analyserna

Analyserna utförs enligt laboratoriets metodbeskrivningar med lämpliga volymer. Initiala kontrollgränser för specificerade volymer finns angivna i tabell 2. Andra volymer med egna gränser kan användas efter eget val.

Medelvärden och kontrollintervall

I tabell 2 ges Livsmedelsverkets ”riktvärden” 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 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 $3s_0$. Beroende på en systematisk skillnad kan ett enskilt laboratoriums sannolikhet vara större än detta men oftare mindre, på grund av att ett enskilt laboratoriums intervall normalt är mindre än det angivna.

Kontrollintervallen är utarbetade med hänsyn tagen till olika variationer (se tabell 2, fotnot 3). *Intervallen gäller för de i tabell 1 angivna referensmetoderna.* Variationer beroende på att andra metoder har använts är inte inkluderade i intervallen*. De initiala intervallen kan dock användas som *vägledning* även vid analys med andra metoder, tills egna intervall har konstruerats. De gäller för enskilda analysvärden, alltså inte medelvärden. 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 (pdf) KONTROLLDIAGRAM – VATTEN på www.livsmedelsverket.se/RM-micro.

* Undantag, se fotnot 4 och 5 till tabell 2

Tabell 2 Medelvärden och initiala kontrollgränser för RM Dw 2022:A

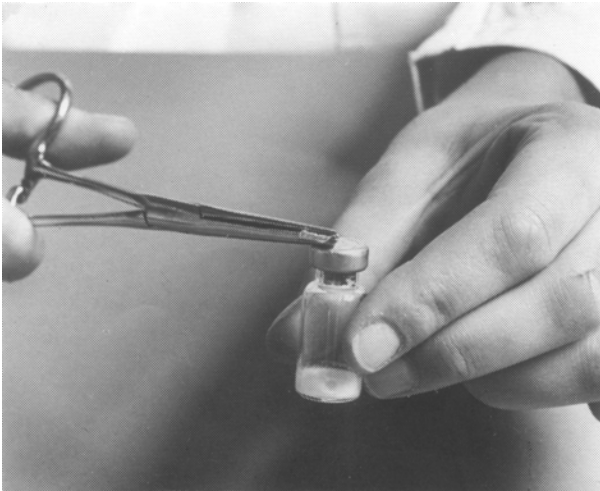
Parameter ¹	Analysvolym (ml)	Medelvärde ² (cfu)	Kontrollgränser ³			
			-3s ₀	-2s ₀	+2s ₀	+3s ₀
Koliforma bakterier, 37 °C ⁴	5	66	39	47	88	100
E. coli, 37 °C ⁴	5	50	26	33	70	82
E. coli, 44 °C ⁵	5	44	22	28	63	74
Intestinala enterokocker	5	116	69	84	155	176
Pseudomonas aeruginosa	2	36	17	23	54	64
Clostridium perfringens, 44 °C	5	32	12	17	50	61
Odlingsbara mikroorg. 37 °C, 2 d ⁶	1	50	27	34	69	80
Odlingsbara mikroorg. 22 °C, 3 d ⁶	1	50	27	34	69	80



**Justerade
 kontrollgränser
 för *P. aeruginosa***

- 1 Ingjutningsmetod för analyserna av odlingsbara mikroorganismer, membranfiltermetod för övriga. Värdena gäller presumtiva kolonier före konfirmering men bör bli oförändrade efter konfirmering.
- 2 Återtransformerade värden beräknade utifrån kvadratrottransformerade resultat från 10 vialer med dubbelprov 4 veckor efter frystorkning; cfu= "colony forming units".
- 3 Livsmedelsverkets kontrollgränser som inkluderar den naturliga slumpmässiga variationen i referensmaterialet, spridning mellan vialer, spridning mellan olika analysdagar och spridning mellan laboratorier. Intervallen är asymmetriska runt medelvärdena eftersom det erhållits genom återtransformering efter beräkning med kvadratrottransformerade resultat. Koloniantalen vid $2s_0$ är **varningsgränser** och $3s_0$ **åtgärdsgränser** i kontrolldiagrammen. Resultat under drygt ett års (6 tillfällen) lagringsstudie på Livsmedelsverket samt resultat från 16 representativa laboratorier har utnyttjats.
- 4 Medelvärde från analys med Chromocult Coliform agar och LES Endo agar inkuberat vid 37 °C.
- 5 Resultat från analys med m-FC agar inkuberad vid 44 °C, utan förinkubering vid lägre temperatur.
- 6 Resultaten för Odlingsbara mikroorganismer vid 37 och 22 °C är "poolade".

Provberedning från frystorkad kulturblandning i glasvial (RM)



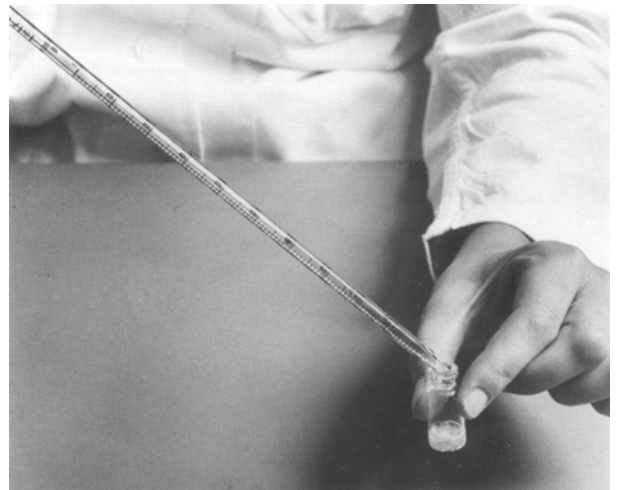
1. Vrid fliken på aluminiumkapsylens översida i pilens riktning med en peang, pincett eller liknande.



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 intermitternt omblandning under minst 3 minuter (gärna >10 minuter) är provet klart för analys. Utför analyserna inom 60 minuter.