

Område Undersökning och vetenskapligt stöd
 Biologiavdelningen

Referensmaterial för mikrobiologiska livsmedelsanalyser

Referensmaterialet är till för internt kvalitetskontrollarbete på mikrobiologiska laboratorier. Materialet kan efter upplösning användas för kvantitativ kontroll av mikrobiologiska livsmedelsanalyser samt för direkt eller indirekt testning av kvalitén på mikrobiologiska medier.

Beteckning:	RM Food 2020:P-LE
Tillverkningsdag:	2020-06-10
Tillverkare:	Livsmedelsverket, Sverige
Förvaring:	Mörkt, vid -18 °C eller lägre. (Dock ej lägre än -55 °C)
Hållbarhet:	t.o.m. juni 2022

Tabell 1. Mikroorganismer som ingår

Mikroorganism	Stam ¹	Riskklass ²	Kommentar
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	SLV-013	1	
<i>Escherichia coli</i>	SLV-165	2	
<i>Escherichia coli</i> O157	SLV-528	2	ej STEC (<i>stx</i> neg; <i>eae</i> pos)
<i>Listeria monocytogenes</i>	SLV-513	2	

STEC: shigatoxinproducerande *E. coli*, *stx*: gen för shigatoxin, *eae*: gen för proteinet intimin, som gör att STEC-bakterier kan vidhäfta till tarmen

¹ Intern stambeteckning, Livsmedelsverket

² Riskklass enligt Arbetsmiljöverket (AFS 2018:4).

Kvalitetskontroll

Referensmaterialet undersöks regelbundet vid Livsmedelsverket för kontroll av homogenitet och stabilitet.

Beredning av prov

Lös upp vialens innehåll i 4 × 1 ml rumstempererad spädvätska. Överför suspensionen till en flaska med 100 ml spädvätska och blanda noga. Totalvolymen 104 ml motsvarar det ospädda prov som ska analyseras.

Livsmedelsverket använder som spädvätska peptonvatten (0,1 %) med NaCl (0,85 %).

Utförande av analyserna

Analyserna utförs enligt laboratoriets egna metodbeskrivningar.

Initiala kontrollgränser

Tabell 2 visar Livsmedelsverkets *initiala kontrollgränser*. De kan användas som *provisoriska intervall* innan dess att egna kontrollintervall upprättats på laboratoriet. Gränserna ger en indikation om var ett enskilt laboratoriums analysresultat kan förväntas hamna. För ett enskilt laboratorium är det här viktigt att beakta följande:

- De angivna riktvärdena i Tabell 2 är baserade på *initiala koncentrationsbestämningar* vid Livsmedelsverket. Dessa riktvärden inkluderar inte mätosäkerhet vid den initiala koncentrationsbestämningen.
- Ett enskilt laboratoriums resultat kan vara högre eller lägre än de riktvärden som anges i Tabell 2, beroende på slumpmässiga skillnader mellan laboratorier, metoder, substrat, laboranter och ansättningstillfällen.
- Standardavvikelse (s₀) i Tabell 2 bygger på spridningsmått, erhållna från externa laboratoriers resultat för respektive parameter vid analys av likvärdiga frystorkade material vid Livsmedelsverkets kompetensprovningar de senaste fem åren (s_{PT}). I de fall data funnits tillgängligt, har spridningsmått från en tidigare studie av likvärdiga referensmaterial på externa laboratorier (s_{lab}) poolats med s_{PT} för att ta fram s₀.
- Standardavvikelsen s₀ ligger till grund för *initiala varningsgränser och aktionsgränser* (2s₀ respektive 3s₀) i Tabell 2.
- Eftersom de angivna s₀ är baserade på olika frystorkade material, metoder, laboratorier, analytiker och analystillfällen bör de *generellt* vara större än de standardavvikelser som erhålls vid ett enskilt laboratorium.

Tabell 2. Riktvärde och initiala kontrollgränser för RM Food 2020:P-LE

Analys	Rikt- värde ¹	s ₀ ²	Kontrollgränser ³				Metod och substrat för riktvärden	
			-3s ₀	-2s ₀	+2s ₀	+3s ₀	Metod	Substrat
Aeroba mikroorg., 30 °C	5,50	0,17	4,99	5,16	5,84	6,01	NMKL 86:2013	PCA
<i>Listeria monocytogenes</i>	1,41	0,18	0,87	1,05	1,76	1,94	NMKL 136:2010	ALOA
<i>Escherichia coli</i> O157	1,50		Endast kvalitativ				NMKL 164:2019	SMAC / CT-SMAC

PCA: Plate Count Agar, ALOA: Agar för *Listeria* enligt Ottaviani och Agosti, SMAC: Sorbitol MacConkey-agar, CT-SMAC: Cefixim-tellurit-sorbitol-MacConkey-agar.

¹ Medelvärde (log₁₀ cfu/ml) från analys av 10 vialer på Livsmedelsverket.

² Generellt gäller att s₀ = poolad standardavvikelse (s_{PT}) från laboratoriers resultat för respektive analys vid Livsmedelsverkets kompetensprovningar på likvärdiga material åren 2015-2020. I förekommande fall har standardavvikelser från en tidigare avprövning på likvärdiga material vid externa laboratorier (s_{lab}) poolats med s_{PT} för att ta fram s₀.

³ Initiala kontrollgränser (log₁₀ cfu/ml) baserade på Livsmedelsverkets initiala koncentrationsbestämning, samt s₀.

Kontrolldiagram

Vanligtvis finns det systematiska skillnader ("*bias*") i resultaten från olika laboratorier, Laboratorier uppmanas därför att så snart som möjligt konstruera egna kontrolldiagram, och att där använda egna laboratoriespecifika kontrollintervall. Sådana diagram kan utformas enligt den instruktion som finns tillgänglig på webbplatsen (se nedan). Detta gäller speciellt om laboratoriets upplösningsvolym, provvolym eller analysmetod avviker från vad som rekommenderas i de här instruktionerna. Resultat från samtliga analytiker som normalt utför analysen bör inkluderas i kontrolldiagrammen. Även analysdesignen (antal värden per vial) bör vara lika varje gång.

Instruktion för konstruktion av kontrolldiagram finns på webbplatsen

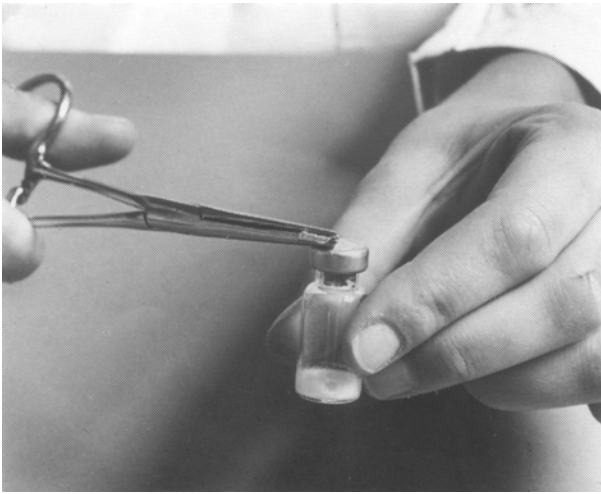
<https://www.livsmedelsverket.se/RM-micro>.

Upplysningar

<https://www.livsmedelsverket.se/RM-micro>

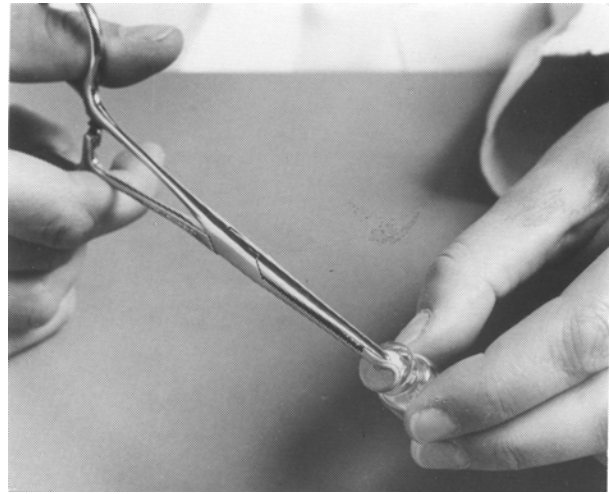
e-post: RM-micro@slv.se

Provberedning av frystorkad kulturblandning i glasvial (RM Food)



1. Vrid fliken på kapsylens översida i pilens riktning.

2. Avlägsna aluminiumkapsylen.



3. Ta bort gummiroppen.

4. Bränn försiktigt av vialens öppning över gaslåga.



5. Tillsätt 1 ml spädningsvätska med en steril pipett.

6. Låt innehållet lösas upp (1-5 minuter).

7. Med en steril pasteurpipett, överför suspensionen till en steril flaska med 100 ml rumstempererad spädningsvätska.

8. Tillsätt 1 ml spädningsvätska och skölj försiktigt vialens väggar med pasteurpipetten.



9. Överför suspensionen till flaskan med 100 ml spädningsvätska.

10. Upprepa steg 8 och 9 ytterligare två gånger med samma pasteurpipett.

11. Efter noggrann omblandning är provet på 104 ml klart för analys.

12. Utför analyserna inom 60 minuter.