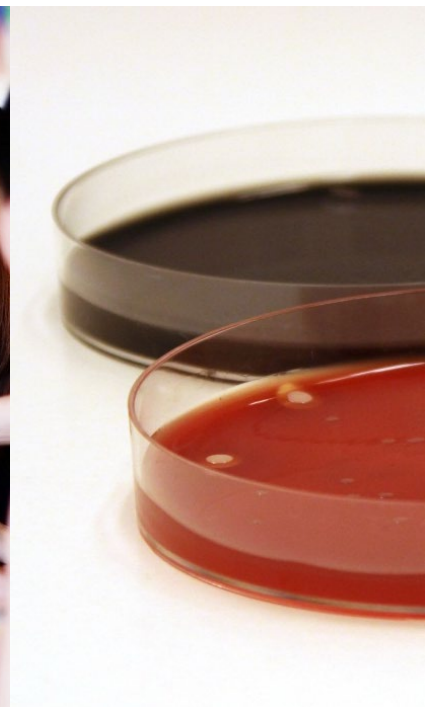


Mikrobiologi – Livsmedel

Oktober 2019

Jonas Ilbäck



Utgåva
Version 1 (2019-12-06)

Ansvarig utgivare
Maria Sitell, avdelningschef, Biologiavdelningen, Livsmedelsverket

Programansvarig
Jonas Ilbäck, mikrobiolog, Biologiavdelningen, Livsmedelsverket

PT Oktober 2019 har diarienummer 2019/01956 vid Livsmedelsverket.

Kompetensprovning
Mikrobiologi – Livsmedel
Oktober 2019

Kvantitativa analyser

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

Kvalitativa analyser

- Gramnegativa bakterier i pastöriserad mjölk och grädde

Förkortningar

Substrat

BA	Blodagar
BcsA	<i>Bacillus cereus</i> -selektiv-agar
BGLB	Briljantgrön-galla-laktos-buljong
BHI	Hjärna-hjärta-infusionsbuljong
BP	Baird-Parker-agar
CBC	Oxoid Brilliance™ <i>Bacillus cereus</i> agar
Compact Dry ETC	Compact Dry™ <i>Enterococcus</i>
COMPASS	COMPASS® <i>Enterococcus</i> -agar
EC	<i>E. coli</i> -buljong
ENT	Slanetz & Bartley <i>Enterococcus</i> -agar
GEA	Galla-eskulin-agar
JA	Järnagar
KEAA	Kanamycin-eskulin-azid-agar
LSB	Laurylsulfat-buljong
LTLNB	Laktos-trypton-laurylsulfat-buljong
MPCA	Milk Plate Count agar
MYP	Mannitol-äggula-polymyxin-agar
PCA	Plate Count Agar
PEMBA	Polymyxin-pyruvat-äggula-mannitol-bromtymolblå-agar
Petrfilm AC	3M™ Petrifilm™ Aerobic Count
Petrfilm EB	3M™ Petrifilm™ Enterobacteriaceae
Petrfilm EC/CC	3M™ Petrifilm™ <i>E. coli</i> /Coliform Count
Petrfilm SEC	3M™ Petrifilm™ Select <i>E. coli</i>
Petrfilm Staph	3M™ Petrifilm™ Staph Express
Petrfilm Disk	3M™ Petrifilm™ Staph Express Disk
RPFA	Baird-Parker-agar med kanin-plasma-fibrinogen
SFA	Socketfri totalantalagar
TBX	Trypton-galla-X-glukuronid-agar
TEMPO AC	TEMPO® Aerobic Count
TEMPO BC	TEMPO® <i>Bacillus cereus</i>
TEMPO CC	TEMPO® Coliforms Count
TEMPO EB	TEMPO® Enterobacteriaceae
TEMPO EC	TEMPO® <i>E. coli</i>
TEMPO STA	TEMPO® Coagulase-positive staphylococci
TGE	Trypton-glukos-extrakt-agar
TSA	Trypton-soja-agar
VRG	Violettröd-galla-agar
VRGG	Violettröd-galla-glukos-agar

Organisationer

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

Innehåll

Allmän information om utvärdering av resultaten	4
Analysresultat från provtillfället oktober 2019	5
- Generellt utfall	5
- Aeroba mikroorganismer, 30 °C och 20 °C	6
- Kontaminerande mikroorganismer i mjölkprodukter	9
- Enterobacteriaceae	11
- Koliforma bakterier, 30 °C och 37 °C	13
- Termotoleranta koliforma bakterier	16
- <i>Escherichia coli</i>	16
- Presumtiv <i>Bacillus cereus</i>	19
- Koagulaspositiva stafylokocker	20
- Enterokocker	23
- Gramnegativa bakterier i pastöriserad mjölk och grädde	25
Utfall av enskilda laboratoriers analysresultat – bedömning	26
- Boxdiagram	27
Testmaterial och kvalitetskontroll	33
- Testmaterial	33
- Kvalitetskontroll av provblandningarna	34
Referenser	35
Bilaga 1 – Deltagarnas analyssvar	
Bilaga 2 – z-värden	

Allmän information om utvärdering av resultaten

Statistisk utvärdering av resultaten

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

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



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

Mätosäkerhet för åsatt värde

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




Förklaringar till tabeller och figurer

Tabeller

N	antal laboratorier som utförde analysen
n	antal laboratorier med godkänt resultat (falska och extrema värden ingår inte)
m	medelvärde i \log_{10} cfu ml ⁻¹ (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 oktober 2019

Generellt utfall

Provmaterial sändes ut till 185 laboratorier, varav 46 i Sverige, 122 i övriga Europa och 17 laboratorier i övriga världen. Av de 180 laboratorier som rapporterade svar hade 85 (48 %) minst ett analys svar med anmärkning. Vid det senaste provtillfället med ungefär samma parametrar (oktober 2018) var andelen 40 %.

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			
% deltagare med													
Mikroorganismer		<i>Escherichia coli</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Staphylococcus hyicus</i>				<i>Enterococcus durans</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Bacillus cereus</i> <i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Staphylococcus xylosum</i>			
Analys		Målorganism	N	F%	X%	Målorganism	N	F%	X%	Målorganism	N	F%	X%
Aeroba mikroorganismer	30°C	Alla	163	0	5	Alla	162	0	4	Alla	162	0	6
	20°C	Alla	35	3	0	Alla	35	3	3	Alla	35	3	6
Kontaminerande mikroorganismer		Alla	19	5	0	Alla	20	5	5	<i>S. xylosum</i> <i>B. cereus</i>	20	5	20
Enterobacteriaceae		<i>E. coli</i> <i>S. marcescens</i>	139	0	2	<i>E. coli</i> <i>S. marcescens</i>	139	1	2	-	139	1	0
Koliforma bakterier	30°C	<i>E. coli</i> (<i>S. marcescens</i>)	50	0	6	<i>E. coli</i> (<i>S. marcescens</i>)	49	2	6	-	50	2	0
	37°C	<i>E. coli</i> (<i>S. marcescens</i>)	101	2	2	<i>E. coli</i> (<i>S. marcescens</i>)	101	1	1	-	101	1	0
Termotoleranta koliforma bakterier		<i>E. coli</i>	50	2	6	<i>E. coli</i>	50	2	6	-	50	0	0
<i>Escherichia coli</i>		<i>E. coli</i>	118	1	4	<i>E. coli</i>	117	1	4	-	119	0	0
Presumtiv <i>B. cereus</i>		(<i>S. marcescens</i>) (<i>S. hyicus</i>)	115	2	0	(<i>S. marcescens</i>) (<i>S. aureus</i>)	114	2	0	<i>B. cereus</i>	114	0	6
Koagulaspositiva stafylokocker		(<i>S. hyicus</i>)	104	17	0	<i>S. aureus</i>	101	1	6	(<i>S. xylosum</i>)	103	10	0
Enterokocker		-	72	1	0	<i>E. durans</i>	72	0	6	(<i>P. acidilactici</i>)	72	36	0
Gramnegativa bakterier i mjölk		<i>E. coli</i> <i>S. marcescens</i>	13	0	-	<i>E. coli</i> <i>S. marcescens</i>	13	0	-	-	12	0	-

- saknar målorganism (mikroorganism) = falskpositiv före konfirmering

■ Även positiva svar bedöms som korrekta för denna analys

Aeroba mikroorganismer 30 °C och 20 °C

Prov A

Samtliga stammar i provet var målorganismer. Stammarna av *S. hyicus* och *E. coli* förekom i något högre koncentrationer än *S. marcescens*.

Prov B

Samtliga stammar i provet var målorganismer. *S. marcescens* och *S. aureus* förekom i något högre koncentrationer än *E. coli* och *E. durans*.

Prov C

Samtliga stammar i provet var målorganismer. Stammen av *S. xylosus* förekom i högre koncentration än *B. cereus* och *P. acidilactici*.

Allmänt om analyserna

Val av metod och substrat var väldigt lika vid de båda temperaturerna. Vid 30 °C angavs främst NMKL 86:2013 (26 %), 3M Petrifilm (23 %) och ISO 4833-1:2013 (21 %). De äldre NMKL 86:2006 och ISO 4833:2003 användes också fortfarande av 9 % respektive 4 % av laboratorerna. De olika metoderna är dock snarlika, och baseras alla på inkubering på PCA eller MCPA 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.

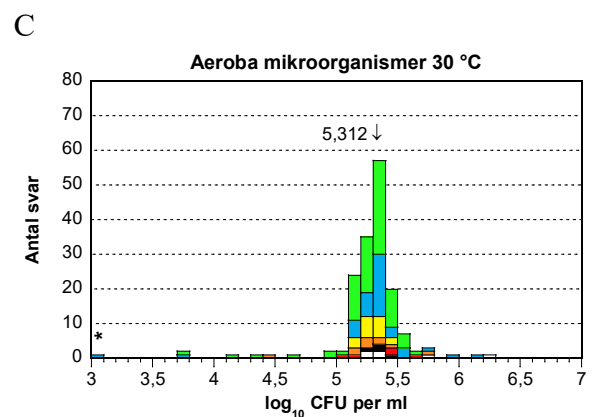
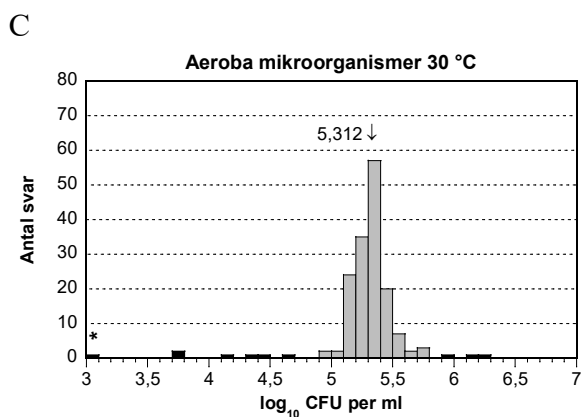
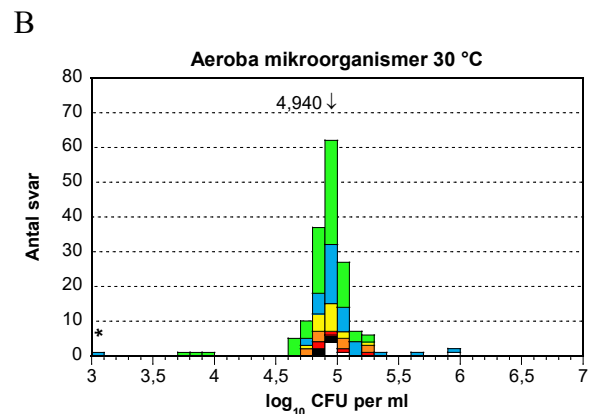
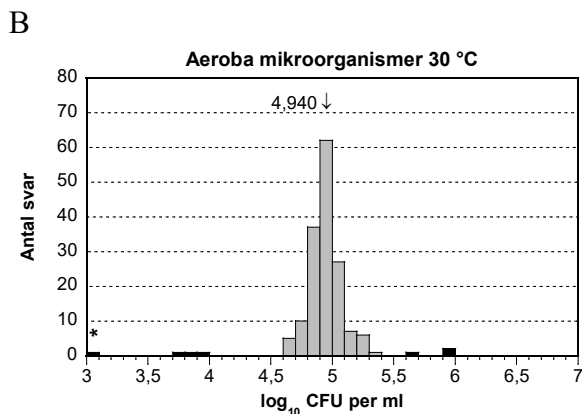
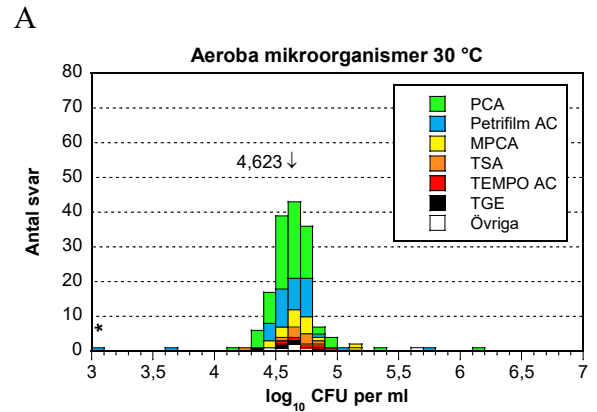
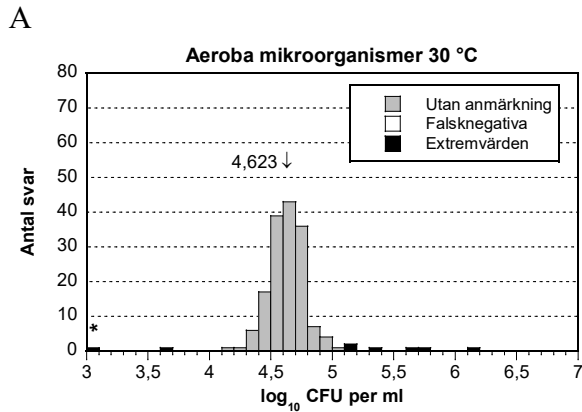
Inkubering på MCPA gjordes främst av laboratorier inom mjölkindustrin, och då enligt ISO 4833-1:2013. Inkubering på TSA skedde främst vid användning av en företagsspecifik metod. Vid 20 °C utfördes inkubering på JA av laboratorier som följde NMKL 184. Denna metod är anpassad för aeroba mikroorganismer och förruttnelsebakterier i fisk och fiskprodukter. Resultaten för MCPA, TSA och JA var samstämmiga med de för PCA och Petrifilm AC.

Ett mindre antal laboratorier använde TEMPO[®] AC (bioMérieux[®] SA, Marcy l'Etoile, Frankrike), 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 genom antalet och storleken på de brunnar som fluorescerar.

Resultat från analys av aeroba mikroorganismer, 30 °C

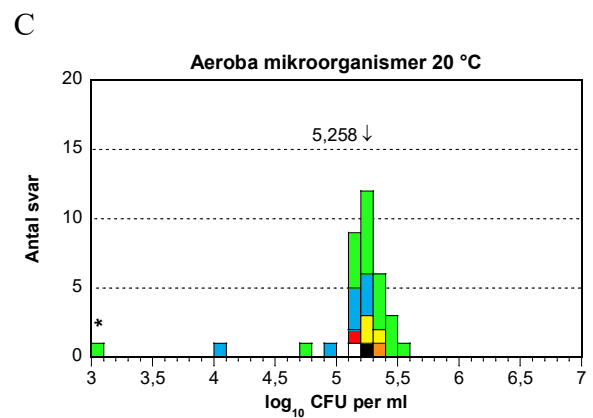
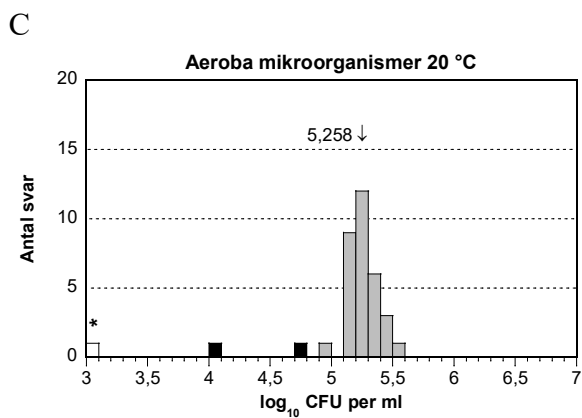
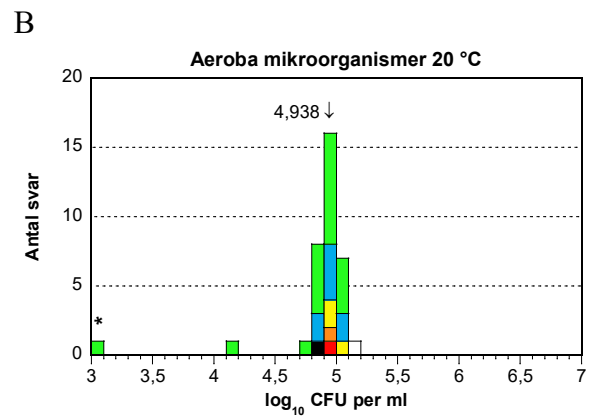
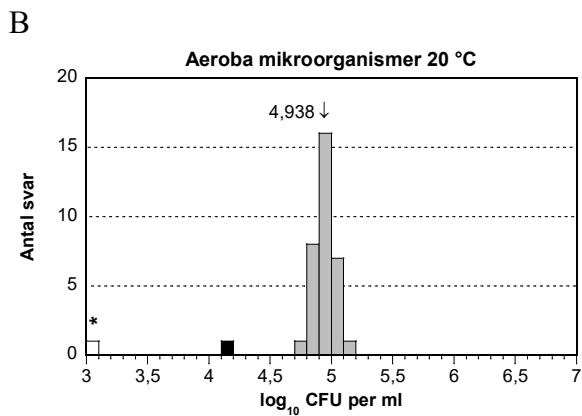
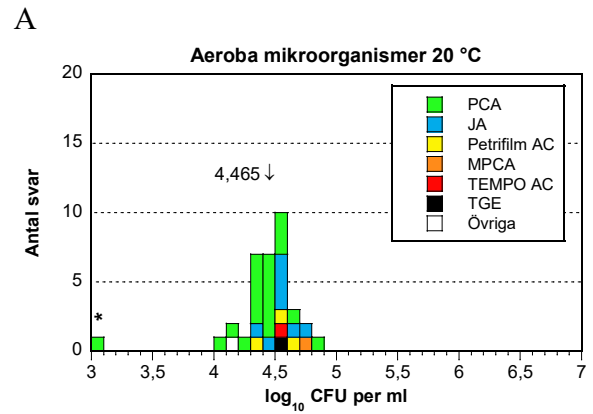
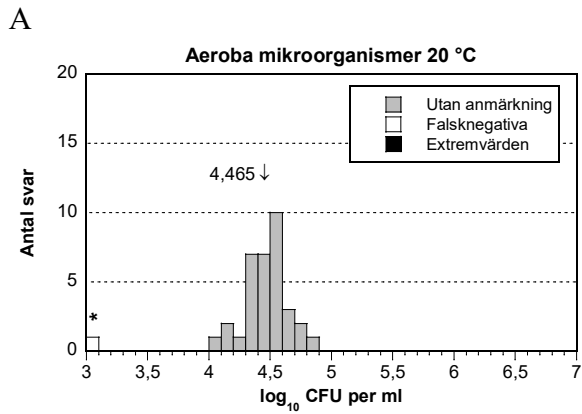
Substrat	Prov A						Prov B						Prov C					
	N	n	m	s	F	< >	N	n	m	s	F	< >	N	n	m	s	F	< >
Alla svar	163	155	4,623	0,140	0	2 6	162	155	4,940	0,125	0	4 3	162	152	5,312	0,133	0	7 3*
PCA	80	78	4,607	0,141	0	0 2	80	77	4,920	0,123	0	3 0	79	75	5,301	0,123	0	4 0
Petrifilm AC	41	38	4,635	0,133	0	2 1	40	37	4,976	0,116	0	1 2	41	37	5,329	0,128	0	2 2*
MPCA	17	16	4,645	0,105	0	0 1	17	17	4,930	0,114	0	0 0	17	17	5,274	0,093	0	0 0
TSA	10	9	4,628	0,178	0	0 1	10	10	4,965	0,197	0	0 0	10	9	5,317	0,186	0	1 0
TEMPO AC	5	5	4,742	0,168	0	0 0	5	5	4,988	0,158	0	0 0	5	5	5,370	0,242	0	0 0
TGE	4	4	-	-	0	0 0	4	4	-	-	0	0 0	4	4	-	-	0	0 0
Övriga	6	5	4,612	0,090	0	0 1	6	5	4,946	0,042	0	0 1	6	5	5,372	0,217	0	0 1

* Ett av de höga extremvärdena för prov C är enligt uppgift orsakat av beräkningsfel, d.v.s. korrekt beräknat resultat är inom godkänt intervall.



Resultat från analys av aeroba mikroorganismer, 20 °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	35	34	4,465	0,162	1	0 0	35	33	4,938	0,079	1 1	0	35	32	5,258	0,115	1 2	0
PCA	20	19	4,419	0,161	1	0 0	20	18	4,926	0,078	1 1	0	20	18	5,296	0,116	1 1	0
JA	8	8	4,533	0,111	0	0 0	8	8	4,939	0,077	0 0	0	8	7	5,174	0,106	0 1	0
Petrifilm AC	3	3	-	-	0	0 0	3	3	-	-	0	0 0	3	3	-	-	0	0 0
MPCA	1	1	-	-	0	0 0	1	1	-	-	0	0 0	1	1	-	-	0	0 0
TEMPO AC	1	1	-	-	0	0 0	1	1	-	-	0	0 0	1	1	-	-	0	0 0
TGE	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



Kontaminerande mikroorganismer i mjölkprodukter

* Analysen har vid tidigare provtillfällen benämnts ”Främmande mikroorganismer”.

Prov A

Samtliga stammar i provet var målorganismer. Stammarna av *S. hyicus* och *E. coli* förekom i något högre koncentrationer än *S. marcescens*.

Prov B

Samtliga stammar i provet var målorganismer. *S. marcescens* och *S. aureus* förekom i något högre koncentrationer än *E. coli* och *E. durans*.

Prov C

Samtliga stammar i provet kan bilda kolonier på SFA. Stammen av *P. acidilactici* har vid tidigare kompetensprovningar bildat mycket små (pin-point) kolonier på SFA. Sådana kolonier ska exkluderas vid räkningen enligt ISO 13559:2002 / IDF 153:2002. Eftersom stammen av *S. xylosus* förekom i högre koncentration än *B. cereus* och *P. acidilactici*, bör dock detta inte ha påverkat resultatet nämnvärt.

Allmänt om analyserna

Endast 20 laboratorier utförde analysen och resultaten var därför svåra att utvärdera statistiskt. Bedömning av vilka resultat som utgjorde extremvärden har därför gjorts manuellt. I bedömningen har hänsyn tagits till bland annat arten och halten av målorganismer (Tabell 3), laboratoriernas medianvärden, samt vilken spridning som normalt förekommer vid denna analys.

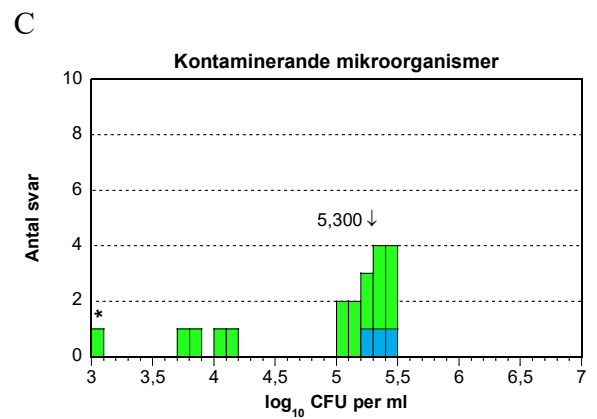
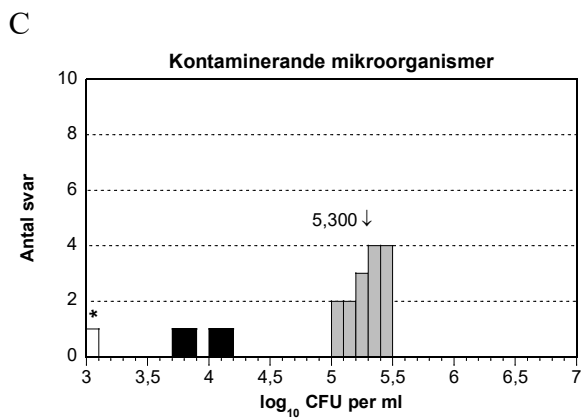
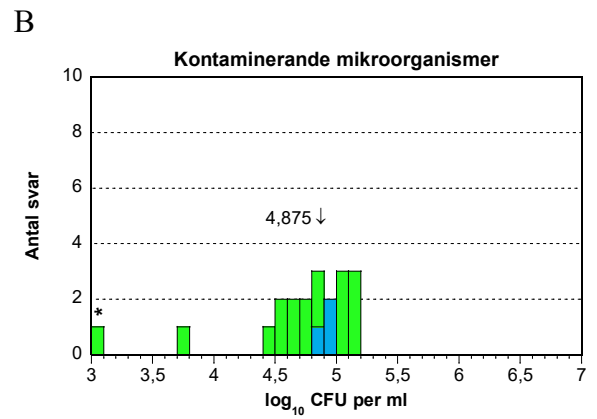
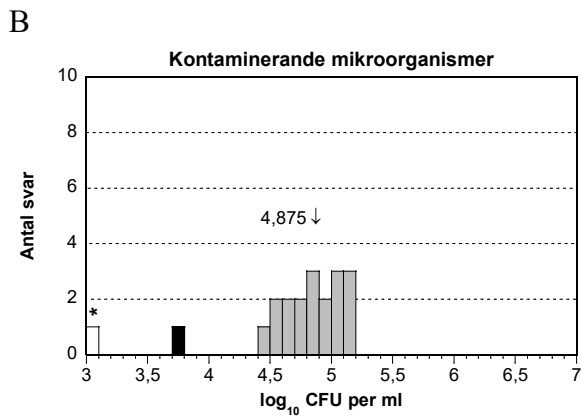
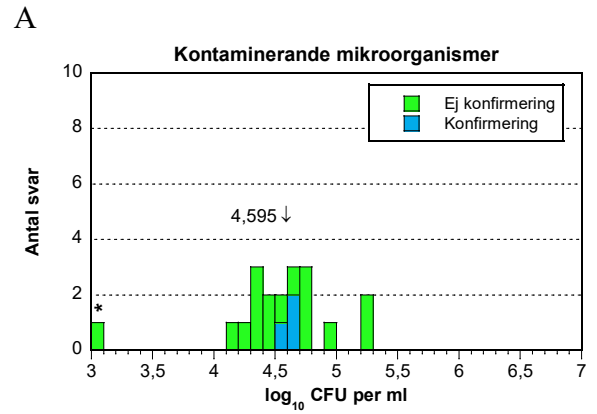
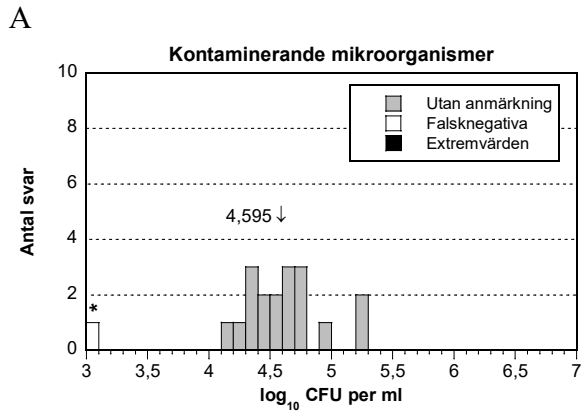
Nio av de 20 laboratorierna följde ISO 13559:2002 / IDF 153:2002. Denna granskades av ISO senast år 2013 och är fortfarande aktuell. Ett laboratorium angav den äldre IDF 153:1999. Övriga laboratorier följde antingen interna metoder, eller specificerade inte närmare vilket metod som använts. Samtliga laboratorier utom ett använde substratet SFA.

Målet med analysen är att identifiera potentiella kontaminerande bakterier i mejeri-produkter. Till kontaminerande mikroorganismer räknas enligt ISO 13559:2002 / IDF 153:2002 inte mjölksyrabakterier. Dessa är katalasnegativa och många laboratorier använder sig därför av konfirmering med katalastest. Sådant test ingår dock inte i ISO 13559:2002 / IDF 153:2002, utan metoden specificerar endast bestämning av antalet ”karakteristiska kontaminerande mikroorganismer”. Endast tre laboratorier angav att man utförde konfirmering, dock utan att specificera denna ytterligare.

Resultat från analys av kontaminerande mikroorganismer i mjölkprodukter

Metod	Prov A							Prov B							Prov C						
	N	n	Med*	s	F	<	>	N	n	Med*	s	F	<	>	N	n	Med*	s	F	<	>
Alla svar	19	18	4,595	0,302	1	0	0	20	18	4,875	0,212	1	1	0	20	15	5,300	0,143	1	4	0
Ej konfirmering	16	15	4,570	0,332	1	0	0	17	15	4,850	0,228	1	1	0	17	12	5,310	0,156	1	4	0
Konfirmering	3	3	-	-	0	0	0	3	3	-	-	0	0	0	3	3	-	-	0	0	0
Övriga	0	0	-	-	0	0	0	0	0	-	-	0	0	0	0	0	-	-	0	0	0

* Med = median



Enterobacteriaceae

Prov A

Stammarna av *E. coli* och *S. marcescens* var målorganismer för analysen. Stammen av *E. coli* förekom i något högre koncentration än *S. marcescens*. Stammarna växer på VRGG fram som röda kolonier, med för Enterobacteriaceae typiska utfällningszoner. Båda stammarna är oxididasnegativa.

Prov B

Samma stammar av *E. coli* och *S. marcescens* som i prov A var målorganismer för analysen. I prov B förekom dock stammen av *S. marcescens* i högre koncentration än *E. coli*.

Prov C

Ingen målorganism för analysen fanns i provet.

Allmänt om analyserna

Som vid tidigare kompetensprovningar följde de flesta laboratorier antingen NMKL 144:2005 (44 %) eller en metod med Petrifilm EB (25 %), medan ISO-metoderna (olika versioner) totalt stod för 21 %. Andelen användare av den nya ISO 21528-2:2017 var högre än ISO 21528-2:2004 (11 % respektive 5 %). Den nya ISO 21528-1:2017 användes endast av två laboratorier (1 %), medan fem laboratorier (4 %) angav den äldre ISO 21528-1:2004.

ISO 21528-2:2017 är baserad på koloniräkning, medan ISO 21528-1:2017 är baserad på MPN (Most Probable Number). Den senare metoden rekommenderas när den förväntade halten Enterobacteriaceae är lägre än 100 cfu g⁻¹. Ett mindre antal laboratorier använde metoder baserade på detektion av fluorescens (TEMPO EB).

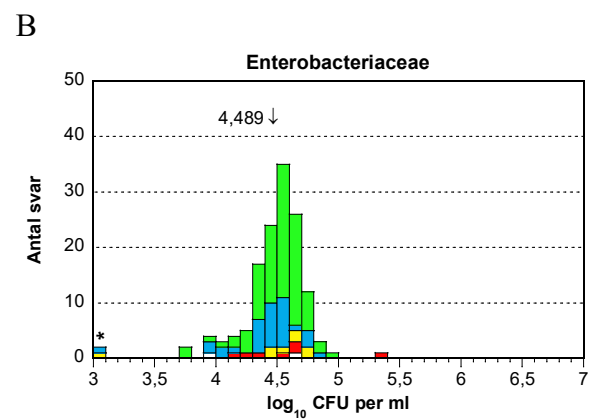
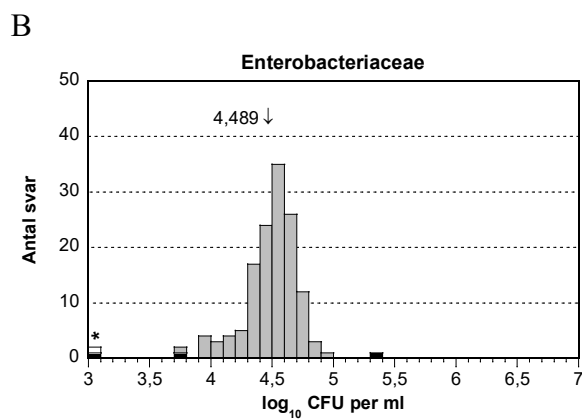
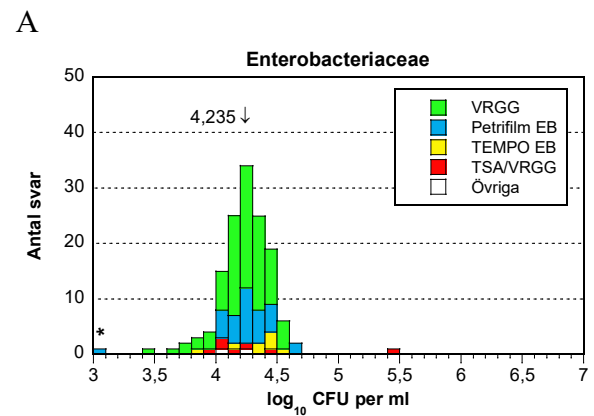
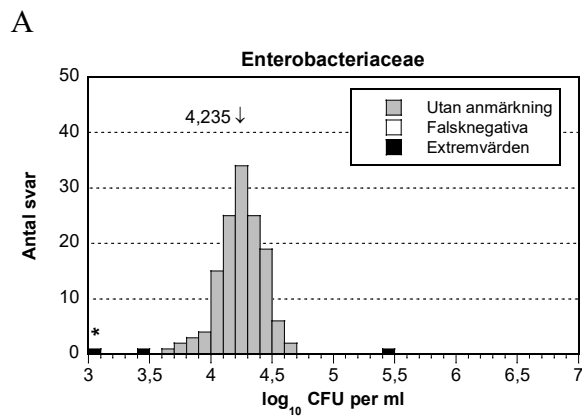
Enterobacteriaceae är gramnegativa och oxididasnegativa bakterier, som fermenterar glukos under syrabildning. På VRGG, som används av både NMKL 144 och ISO 21528-2, bildar de därför rosa/röda kolonier, med eller utan utfällningszon av gall-salter. Enterobacteriaceae har ett liknande utseende på Petrifilm EB, som även innehåller en färgindikator för detektion av sura biprodukter och vars plastfilm påvisar gasproduktion.

NMKL 144:2005 anger konfirmering av presumtiva kolonier på VRGG med oxidastest. ISO 21528-2:2017 anger konfirmering av presumtiva kolonier med både oxidastest och glukos-oxidation/fermentering (OF)-medium. Som Enterobacteriaceae räknas då de kolonier som är oxididasnegativa och som producerar syra från glukos i OF-mediet. Totalt 62 % av laboratorerna angav här att de utförde någon form av konfirmering; majoriteten av dessa specificerade att denna bestod i ett oxidastest.

Inga stora skillnader kunde ses i resultaten mellan de olika substraten och metoderna som användes. För prov B fanns visserligen en antydning till högre resultat för TEMPO EB, jämfört med övriga substrat. Sådana något högre resultat för TEMPO EB har dock observerats vid flera tidigare provtillfällen och får därmed anses vara normalt.

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	139	136	4,235	0,177	0	2	1	139	135	4,489	0,207	1	2	1	138	136	-	-	2	-	-
VRGG	88	87	4,224	0,180	0	1	0	88	87	4,511	0,195	0	1	0	89	88	-	-	1	-	-
Petrifilm EB	34	33	4,265	0,154	0	1	0	34	33	4,426	0,224	0	1	0	33	33	-	-	0	-	-
TEMPO EB	8	8	4,318	0,225	0	0	0	8	7	4,616	0,131	1	0	0	8	8	-	-	0	-	-
TSA/VRGG	7	6	4,148	0,171	0	0	1	7	6	4,438	0,202	0	0	1	6	5	-	-	1	-	-
Övriga	2	2	-	-	0	0	0	2	2	-	-	0	0	0	2	2	-	-	0	-	-



Koliforma bakterier 30 °C och 37 °C

Prov A

Stammen av *E. coli* var målorganism för analysen och växer fram som röda kolonier med utfällningszon på VRG. *S. marcescens* fermenterar laktos långsamt och kan därför eventuellt ha växt fram på VRG som små kolonier, med mindre framträdande utfällningszon. Båda stammarna är oxidationsnegativa, men *S. marcescens* kan uteslutas efter konfirmering eftersom den, till skillnad från *E. coli*, inte bildar gas i BGLB. *S. hyicus* är grampositiv och inhiberas därför av gallsalter och kristallviolett i VRG.

Prov B

Samma stam av *E. coli* som i prov A var målorganism för analysen. Liksom för prov A kan *S. marcescens* eventuellt ha växt fram på VRG. *E. durans* och *S. aureus* är grampositiva och bör normalt inte växa fram på VRG.

Resultaten vid 37 °C var fördelade kring en förhållandevis bred topp, med huvuddelen av resultaten mellan cirka \log_{10} 4,0 och \log_{10} 4,7 cfu ml⁻¹. Även vid 30 °C var resultaten utbredda. Vid denna temperatur kunde det även urskiljas två överlappande toppar, en kring \log_{10} 4,2 och en kring \log_{10} 4,5 cfu ml⁻¹. De två topparna kunde inte skiljas åt statistiskt, men den låga och höga toppen motsvarar väldigt väl koncentrationerna för *E. coli*, respektive för *E. coli* + *S. marcescens* i provet.

Prov C

Ingen målorganism för analysen fanns i provet.

Allmänt om analyserna

Koliforma bakterier är gramnegativa stavar som fermenterar laktos och därvid bildar gas och sura biprodukter. På VRG växer de fram som karaktäristiska röda kolonier till följd av upptag av kristallviolett och neutralrött från substratet. Kring kolonierna bildas vanligen en röd/rosa utfällningszon bestående av gallsalter som faller ut när pH sjunker i substratet. Petrifilm CC och Petrifilm EC/CC är baserade på VRG, men har dessutom en plastfilm som möjliggör detektion av gasproduktion.

De vanligast förekommande metoderna var vid bägge temperaturerna NMKL 44:2004, ISO 4832:2006 och 3M™ Petrifilm™. Både NMKL 44:2004 och ISO 4832:2006 föreskriver inkubering på VRG, men konfirmeringsstegen skiljer sig något åt. Med NMKL 44:2004 ska alla presumtiva kolonier på VRG konfirmeras med BGLB. Med ISO 4832:2006 behöver däremot endast atypiska kolonier konfirmeras. Sådana metodskillnader skulle (åtminstone delvis) kunna förklara varför *S. marcescens* räknats som koliform bakterie av en del laboratorier. Vid misstanke om förekomst av stressade koliforma bakterier rekommenderar NMKL 44:2004 dessutom förinkubering på TSA, vilket i sig skulle kunna bidra till högre resultat.

LSB i kombination med BGLB användes av laboratorier som följde de MPN-baserade metoderna ISO 4831 och NMKL 96 (i olika versioner). ISO 4831:2006 är anpassad för analys när den förväntade halten koliforma bakterier är lägre än eller lika med 100 CFU g⁻¹. NMKL 96 är anpassad för analys av koliforma bakterier i fisk och skaldjur och rekommenderas när den förväntade halten är lägre än eller lika med 300 CFU g⁻¹. I en del tidigare kompetensprovningar har användare av dessa metoder haft problem med att korrekt analysera högre halter – till exempel de som förekom i prov A och B. Vid detta provtillfälle rapporterades dock endast ett resultat med anmärkning av användare av dessa metoder.

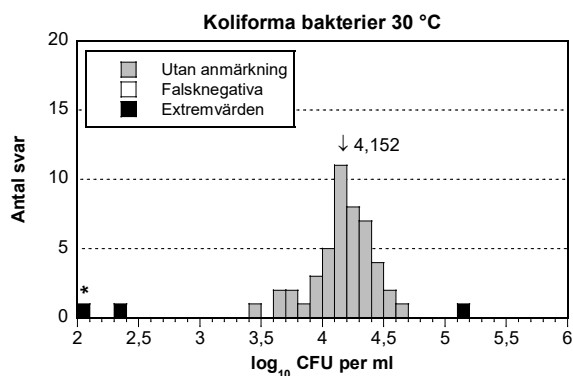
För analysen vid 37 °C användes en något större variation av substrat än vid 30 °C. Fyra laboratorier använde RAPID'E. coli 2 agar, vilket är ett kromogent substrat som detekterar aktivitet från β -galaktosidas och β -glukuronidas. På detta substrat bildar därför koliforma bakterier (Gal+/Gluc-) blå/gröna kolonier, medan *E. coli* (Gal+/Gluc+) bildar rosa/lila kolonier. Två laboratorier använde TEMPO CC. Ett laboratorium använde Compact Dry EC, på vilket koliforma bakterier växer fram som röda/röd-violetta kolonier, medan *E. coli* växer fram med blå kolonier.

Konfirmering i någon form utfördes totalt av 75 % av laboratorierna vid 30 °C och av 50 % vid 37 °C. Utförande av konfirmering angavs mer sällan av laboratorier som använde Petrifilm CC och Petrifilm EC/CC, vilket är rimligt eftersom dessa inte kräver konfirmering.

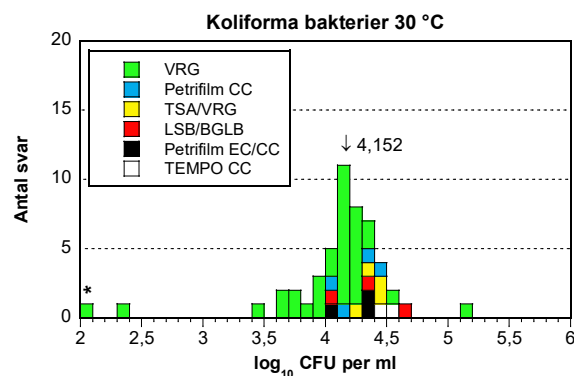
Resultat från analys av koliforma bakterier, 30 °C

Substrat	Prov A							Prov B							Prov C						
	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>
Alla svar	50	47	4,152	0,248	0	2	1	49	45	4,319	0,300	1	2	1	50	49	-	-	1	-	-
VRG	34	31	4,067	0,236	0	2	1	33	30	4,296	0,328	1	1	1	34	33	-	-	1	-	-
Petrifilm CC	4	4	-	-	0	0	0	4	4	-	-	0	0	0	4	4	-	-	0	-	-
TSA/VRG	4	4	-	-	0	0	0	4	4	-	-	0	0	0	4	4	-	-	0	-	-
LSB/BGLB	3	3	-	-	0	0	0	3	2	-	-	0	1	0	3	3	-	-	0	-	-
Petrifilm EC/CC	3	3	-	-	0	0	0	3	3	-	-	0	0	0	3	3	-	-	0	-	-
TEMPO CC	2	2	-	-	0	0	0	2	2	-	-	0	0	0	2	2	-	-	0	-	-

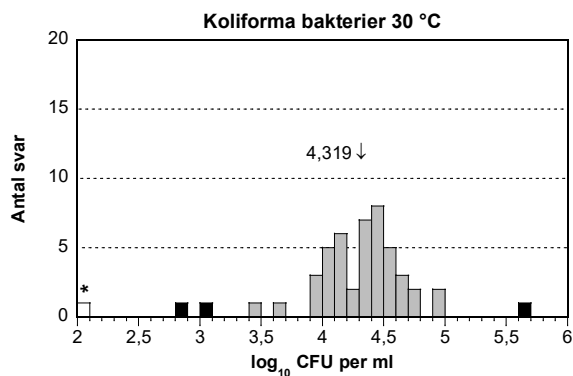
A



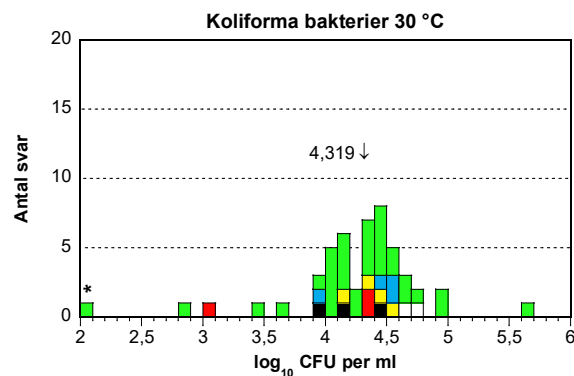
A



B

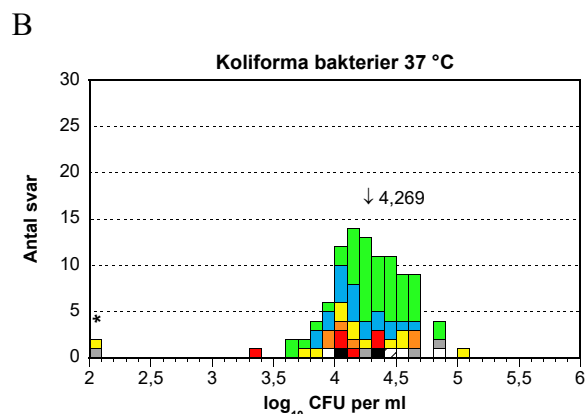
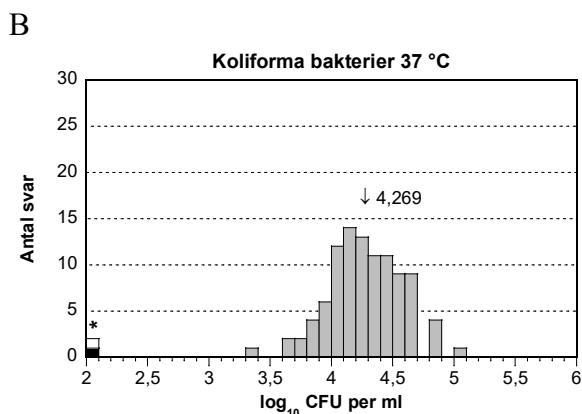
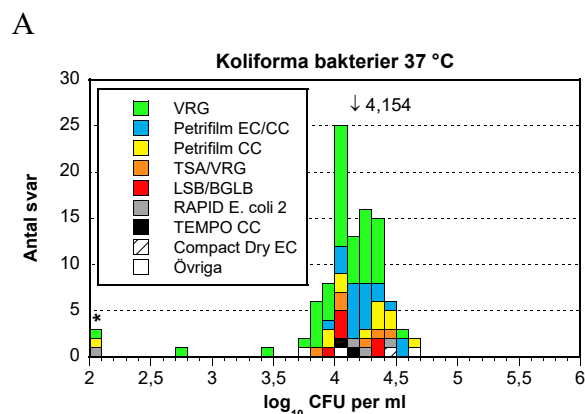
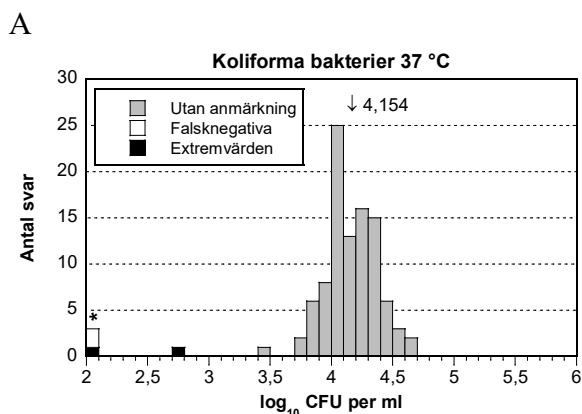


B



Resultat från analys av koliforma bakterier, 37 °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	101	97	4,154	0,210	2	2 0	101	99	4,269	0,304	1	1 0	101	100	-	-	1	-
VRG	47	45	4,093	0,204	1	1 0	47	47	4,316	0,281	0	0 0	47	46	-	-	1	-
Petrifilm EC/CC	20	20	4,217	0,153	0	0 0	20	20	4,178	0,227	0	0 0	20	20	-	-	0	-
Petrifilm CC	12	11	4,248	0,228	0	1 0	12	11	4,235	0,370	0	1 0	12	12	-	-	0	-
TSA/VRG	6	6	4,165	0,235	0	0 0	6	6	4,220	0,339	0	0 0	6	6	-	-	0	-
LSB/BGLB	6	6	4,129	0,168	0	0 0	6	6	4,047	0,383	0	0 0	6	6	-	-	0	-
RAPID'E.coli 2	4	3	-	-	1	0 0	4	3	-	-	1	0 0	4	4	-	-	0	-
TEMPO CC	2	2	-	-	0	0 0	2	2	-	-	0	0 0	2	2	-	-	0	-
Compact Dry EC	1	1	-	-	0	0 0	1	1	-	-	0	0 0	1	1	-	-	0	-
Övriga	3	3	-	-	0	0 0	3	3	-	-	0	0 0	3	3	-	-	0	-



Termotoleranta koliforma bakterier och *Escherichia coli*

Prov A

Stammen av *E. coli* var målorganism för båda analyserna. Den bildar både gas och indol i LTLSB. Stammen är även positiv för β -glukuronidas.

Prov B

Samma stam av *E. coli* som i prov A var målorganism för båda analyserna.

Prov C

Ingen målorganism för någon av analyserna fanns i provet.

Allmänt om analyserna

NMKL 125:2005 var den klart mest använda metoden för analysen av termotoleranta koliforma bakterier (58 % av laboratorerna). Den beskriver både analysen av termotoleranta koliforma bakterier och av *E. coli*. Med metoden definieras termotoleranta koliforma bakterier som de som bildar typiska mörkröda kolonier omgivna av en röd utfällningszon på VRG efter 24 h vid 44 °C. Kolonierna ska konfirmeras genom inokulering i antingen EC eller LTLSB vid 44 °C. I dessa båda substrat ger termotoleranta koliforma bakterier upphov till gasproduktion till följd av laktosfermentering. De termotoleranta koliforma bakterier som även producerar indol i antingen LTLSB eller tryptonbuljong räknas som *E. coli*.

För analysen av *E. coli* användes främst metoder baserade på 3M™ Petrifilm™ (aningen Petrifilm EC/CC eller Petrifilm SEC), följt av NMKL 125:2005 och ISO 16649-2:2001. Både Petrifilm EC/CC och Petrifilm SEC använder substrat som detekterar β -glukuronidas hos *E. coli*, vilket gör att *E. coli* växer fram som blå-gröna kolonier. Plastfilmen i dessa substrat möjliggör dessutom detektion av gasproduktion till följd av laktosfermentering. Även ISO 16649-2:2001 är baserad på detektion av β -glukuronidasaktivitet. Med metoden sker inkubering på TBX, där *E. coli* växer fram med typiska blå kolonier efter 18-24 h vid 44 °C. Någon ytterligare konfirmering av β -glukuronidaspositiva kolonier behöver inte göras enligt ISO 16649-2:2001.

Vid analysen av *E. coli* angav 89 % av de laboratorier som följde NMKL 125:2005 att de konfirmerade. Konfirmering av *E. coli* angavs mer sällan av laboratorier som använde Petrifilm eller som följde ISO 16649-2:2001, vilket är rimligt eftersom dessa metoder inte kräver konfirmering. Ingen uppenbar skillnad i resultat kunde ses mellan laboratorier som konfirmerade och de som inte gjorde det.

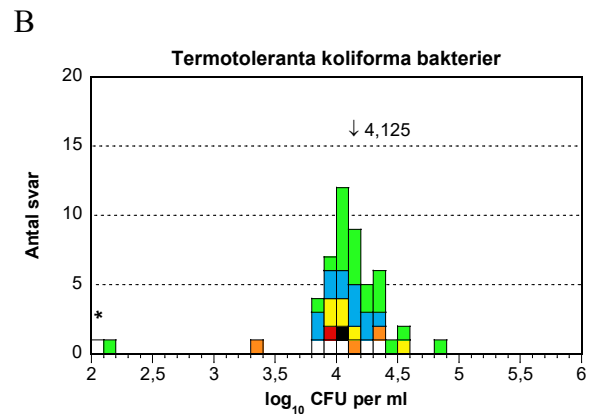
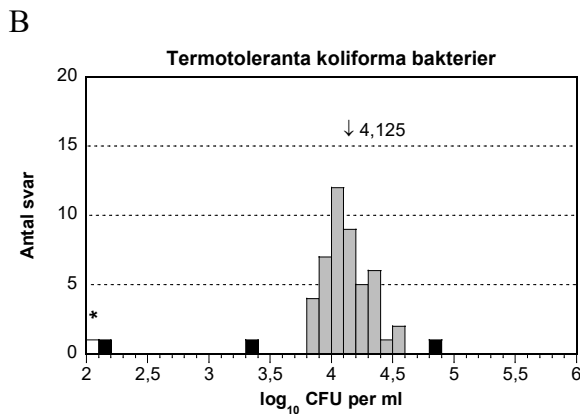
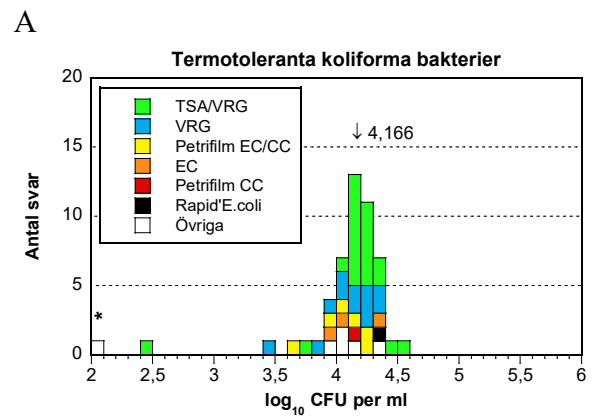
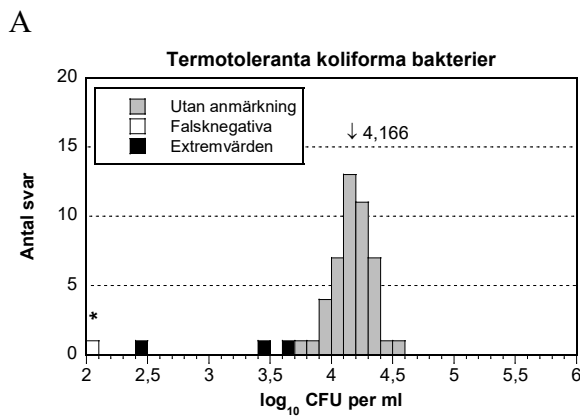
Bland de mindre vanligt förekommande metoderna fanns ISO 7251 och NMKL 96 (i olika versioner). ISO 7251 är en metod baserad på MPN för detektion av *E. coli*. Även NMKL 96 är en MPN-metod, anpassad för analys av koliforma bakterier, termotoleranta koliforma bakterier och *E. coli* i fisk och skaldjur..

Vid analysen av *E. coli* förekom också i mindre omfattning användning av TEMPO EC. För denna erhöles något högre resultat jämfört med övriga substrat. Detta har inte syntts vid tidigare provtillfällen och kan därför bero på en slumpmässig fördelning kopplad till det låga antalet användare av TEMPO EC. Vid tidigare provtillfällen har däremot för *E. coli* ibland funnits en tendens till något lägre resultat för TBX, och något högre resultat för TSA/VRG, jämfört med övriga substrat. Dessa skillnader har då ansetts bero på om ett steg med förinkubering vid lägre temperatur utförts eller inte. Medelvärdena för TSA/VRG och TBX var dock vid detta provtillfälle inte nämnvärt avvikande trots förinkubering, och var även inom en standardavvikelse från medelvärdet för samtliga resultat.

Vid analysen av *E. coli* utförs inkuberingen normalt vid antingen 42-44 °C eller 35-37 °C, beroende på vilket metod som följs. Medelvärdena för dessa båda temperaturgrupper skiljde sig däremot inte åt och det gick heller inte att identifiera några tydliga skillnader i antalet extremvärden eller falska resultat.

Resultat från analys av termotoleranta koliforma 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	50	46	4,166	0,154	1	3	0	50	46	4,125	0,187	1	2	1	50	50	-	-	0	-	-
TSA/VRG	21	20	4,198	0,155	0	1	0	21	19	4,157	0,188	0	1	1	21	21	-	-	0	-	-
VRG	12	11	4,141	0,151	0	1	0	12	12	4,076	0,183	0	0	0	12	12	-	-	0	-	-
Petrifilm EC/CC	6	5	4,128	0,146	0	1	0	6	6	4,120	0,223	0	0	0	6	6	-	-	0	-	-
EC	3	3	-	-	0	0	0	3	2	-	-	0	1	0	3	3	-	-	0	-	-
Petrifilm CC	1	1	-	-	0	0	0	1	1	-	-	0	0	0	1	1	-	-	0	-	-
RAPID'E. coli	1	1	-	-	0	0	0	1	1	-	-	0	0	0	1	1	-	-	0	-	-
Övriga	6	5	4,115	0,162	1	0	0	6	5	4,103	0,211	1	0	0	6	6	-	-	0	-	-

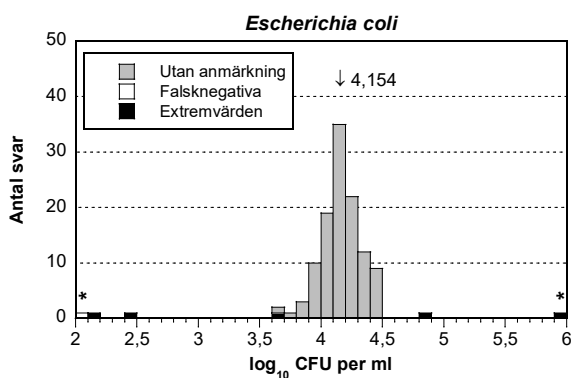


Resultat från analys av *Escherichia coli*

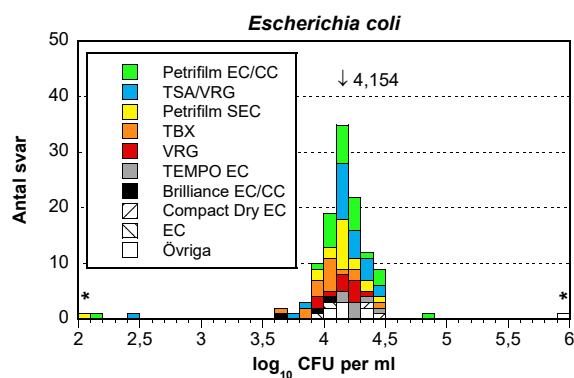
Metod	Prov A							Prov B							Prov C						
	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>
Alla svar	118	112	4,154	0,157	1	3	2	117	111	4,081	0,182	1	4	1	119	119	-	-	0	-	-
Petrifilm EC/CC	26	24	4,175	0,140	0	1	1	26	25	4,076	0,182	0	1	0	24	24	-	-	0	-	-
TSA/VRG*	24	23	4,195	0,151	0	1	0	24	22	4,108	0,169	1	1	0	24	24	-	-	0	-	-
Petrifilm SEC	19	18	4,159	0,132	1	0	0	18	17	4,030	0,139	0	1	0	19	19	-	-	0	-	-
TBX	16	15	4,052	0,163	0	1	0	16	16	4,036	0,150	0	0	0	17	17	-	-	0	-	-
VRG	11	11	4,142	0,123	0	0	0	11	11	4,044	0,178	0	0	0	11	11	-	-	0	-	-
TEMPO EC	7	7	4,267	0,102	0	0	0	7	7	4,266	0,200	0	0	0	7	7	-	-	0	-	-
Brilliance EC/CC	3	3	-	-	0	0	0	3	3	-	-	0	0	0	3	3	-	-	0	-	-
Compact Dry EC	2	2	-	-	0	0	0	2	2	-	-	0	0	0	2	2	-	-	0	-	-
EC	2	2	-	-	0	0	0	2	2	-	-	0	0	0	2	2	-	-	0	-	-
Övriga	8	7	4,162	0,131	0	0	1	8	6	4,189	0,153	0	1	1	10	10	-	-	0	-	-

* Bland TSA/VRG ingår tre laboratorier som angivit TSA/VRGG.

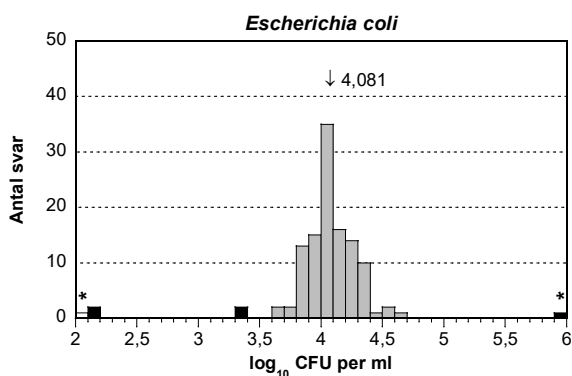
A



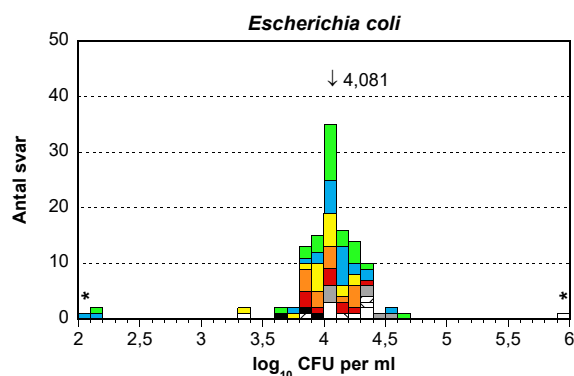
A



B



B



Presumtiv *Bacillus cereus*

Prov A

Ingen målorganism för analysen fanns i provet. Laboratorier kan dock av misstag ha inkluderat antingen *S. marcescens* eller *S. hyicus*, vilka eventuellt kan växa fram med atypiskt utseende på BcsA.

Prov B

Ingen målorganism för analysen fanns i provet. Laboratorier kan dock av misstag ha inkluderat antingen *S. marcescens* eller *S. aureus*. Vid Livsmedelsverkets initiala kvalitetskontroll av provblandningen observerades små atypiska kolonier på blodagar. Vid konfirmering hade dessa ett atypiskt utseende utan blå färg på BcsA.

Prov C

Stammen av *B. cereus* var målorganism. På BA växer denna fram med typiska oregelbundna, gråvita kolonier omgivna av hämolyszon. På BcsA växer den fram med blå kolonier, omgivna av lecithinaszon. Vid Livsmedelverket har vi på BA observerat även två andra morfologier. Båda dessa är atypiska blanka kolonier utan hämolyszon. Vid konfirmering på BcsA växer endast *B. cereus* fram som blå kolonier med lecithinaszon.

Allmänt om analyserna

De flesta laboratorier följde antingen NMKL 67:2010 (54 %) eller ISO 7932:2004 (23 %), vilka skiljer sig något åt. NMKL 67:2010 baseras på odling på BA. På detta substrat växer *B. cereus* fram med stora oregelbundna gråa kolonier, omgivna av en kraftig hämolyszon. Konfirmering sker med metoden genom utstryk på antingen BcsA eller Cereus-Ident-Agar. 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 Cereus-Ident-agar bildar *B. cereus* blå/turkosa kolonier, eventuellt omgivna av en blå ring. Färgen kommer här av att enzymet fosfatidylinositol phospholipase C (PI-PLC) i *B. cereus* klyver det kromogena substratet X-myoinositol-1-fosfat. I jämförelse med NMKL-metoden föreskriver ISO 7932:2004 utstryk på MYP, vilket följs av konfirmering på BA. På MYP bildar presumtiva *B. cereus* stora rosa kolonier som vanligen är omgivna av en utfällningszon, även här till följd av lecitinas-aktivitet. ISO-metoden konfirmeras genom positivt utslag för hämolysaktivitet på BA.

Förutom BA, BcsA och MYP användes det kromogena mediet CBC av totalt sju laboratorier. Substratet X-Gluc i CBC klyvs här av β -glukuronidas från *B. cereus*, vilket resulterar i vita kolonier med ett blått/grönt centrum. Ytterligare substrat som användes i mindre omfattning var Compact Dry X-BC, TEMPO BC, och COMPASS® *Bacillus cereus* agar.

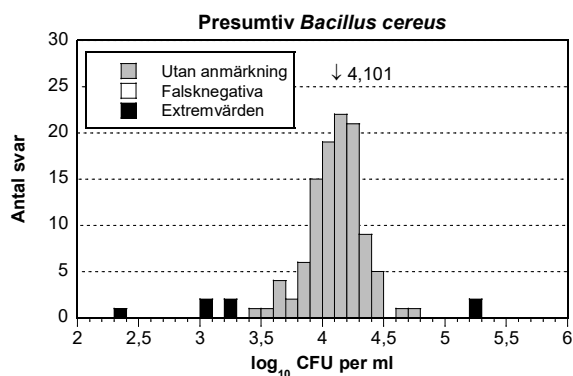
Som vid tidigare kompetensprovningar var rapporteringen av metoduppgifter för *B. cereus* i flera fall otydlig. Som exempel har flera laboratorier angett kombinationer av metod/substrat som inte stämmer överens. Generellt redovisas därför här de metoder och substrat som angetts av laboratoriet, oavsett om dessa stämmer överens inbördes eller inte. Trots dessa oklarheter i metodrapporteringen är resultat och medelvärden för de olika substrat- och metodgrupperna väldigt lika.

Resultat från analys av presumtiv *Bacillus cereus*

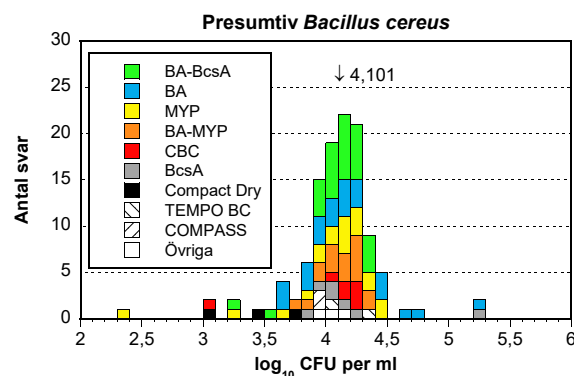
Substrat	Prov A						Prov B						Prov C						
	N	n	m	s	F	< >	N	n	m	s	F	< >	N	n	m	s	F	< >	
Alla svar	115	113	-	-	2	- -	114	112	-	-	2	- -	114	107	4,101	0,216	0	5	2
BA-BcsA*	29	29	-	-	0	- -	29	29	-	-	0	- -	29	28	4,122	0,163	0	1	0
BA	25	24	-	-	1	- -	24	23	-	-	1	- -	25	24	4,106	0,309	0	0	1
MYP	19	19	-	-	0	- -	19	19	-	-	0	- -	19	17	4,135	0,203	0	2	0
BA-MYP	18	18	-	-	0	- -	18	17	-	-	1	- -	17	17	4,095	0,173	0	0	0
CBC	7	7	-	-	0	- -	7	7	-	-	0	- -	7	6	4,162	0,070	0	1	0
BcsA*	7	6	-	-	1	- -	7	7	-	-	0	- -	7	6	4,052	0,140	0	0	1
Compact Dry X-BC	3	3	-	-	0	- -	3	3	-	-	0	- -	3	2	-	-	0	1	0
TEMPO BC	2	2	-	-	0	- -	2	2	-	-	0	- -	2	2	-	-	0	0	0
COMPASS B. cereus	2	2	-	-	0	- -	2	2	-	-	0	- -	2	2	-	-	0	0	0
Övriga	3	3	-	-	0	- -	3	3	-	-	0	- -	3	3	-	-	0	0	0

* Användning av PEMBA har tolkats som användning av BcsA.

C



C



Koagulaspositiva stafylokocker

Prov A

Provet innehöll en stam av *S. hyicus*, som normalt räknas till koagulaspositiva stafylokocker. Den aktuella stammen i prov A är däremot i tester vid Livsmedelsverket koagulasnegativ, eller endast svagt koagulaspositiv. På RPFA växer den fram med grå/vita kolonier utan utfällningszon. Med metoder baserade på kaninplasma bör den därför normalt inte räknas som koagulaspositiv.

Vid Livsmedelsverket är stammen endast karakteriserad med substrat och konfirmeringsmetoder baserade på kaninplasma. Det kan däremot finnas en variation i hur den uppträder på andra substrat och med andra konfirmeringsmetoder. På exempelvis Petrifilm Staph kan stammen enligt uppgift eventuellt växa fram med otypiska svarta kolonier. Om dessa vid konfirmering med Petrifilm Disk omges av en rosa DNas-zon, bör stammen räknas som konfirmerad enligt metoden. Sannolikt var bedömningen av *S. hyicus* problematisk med Petrifilm Staph. Detta eftersom åtta av de 19 laboratorier som analyserade enligt denna metod rapporterade negativt resultat, medan elva istället rapporterade positivt resultat.

Totalt rapporterade 18 laboratorier positivt resultat. Medianvärdet för dessa var \log_{10} 4,23 cfu ml⁻¹, vilket motsvarar koncentrationen för *S. hyicus* i provet.

På grund av den aktuella stammens egenskaper bedöms både positiva och negativa resultat som korrekta och resultaten för prov A har inte utvärderats vidare. Resultaten ger därför heller inte upphov till några z-värden.

Prov B

Stammen av *S. aureus* var målorganism. På RPFA växer denna fram med typiska konvexa grå kolonier omgivna av en utfällningszon.

Prov C

Ingen målorganism fanns i provet. Falskpositiva resultat beror sannolikt på detektion av *S. xylosus*, som kan växa fram på RPFA med karaktäristiska grå kolonier, dock utan utfällningszon. De tio falskpositiva resultat som rapporterades varierade mellan \log_{10} 0,95 och \log_{10} 5,17 cfu ml⁻¹, med ett medianvärde på \log_{10} 4,53 cfu ml⁻¹. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll uppmättes koncentrationen av *S. xylosus* till 5,25 cfu ml⁻¹.

Allmänt om analyserna

De flesta laboratorier (38 %) följde NMKL 66:2009. Användningen av 3M™ Petrifilm™ var större (17 %) än tidigare, medan användningen av ISO 6888-1:1999 (15 %) och ISO 6888-2:1999 (12 %) var jämförbar med tidigare provtillfällen. Både ISO 6888-1:1999 (baserad på BP) och ISO 6888-2:1999 (baserad på RPFA) granskades av ISO senast år 2015 och är fortfarande aktuella. För ISO 6888-1 har dock publicerats ett tillägg med alternativ konfirmering i RPFA (ISO 6888-1:1999/Amd 2:2018).

NMKL 66:2009 föreskriver inkubering på BP och/eller 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. Konfirmering sker genom positivt utslag på koagulastest. Vid användning av RPFA testas istället koagulasaktiviteten direkt i substratet. Ingen ytterligare konfirmering behöver då utföras enligt metoden. Som jämförelse stipulerar ISO 6888-1 utstryk på BP följt av konfirmering med koagulastest, medan ISO 6888-2 anger ingjutning i RPFA. 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.

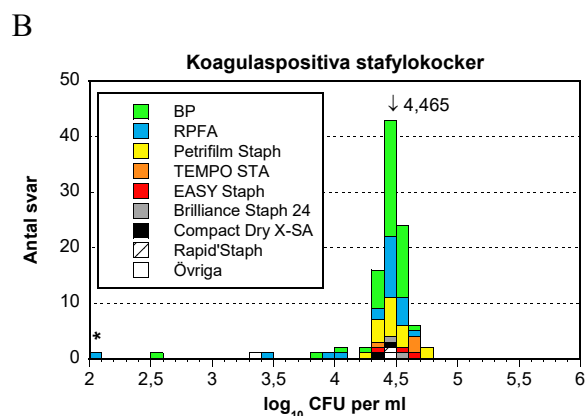
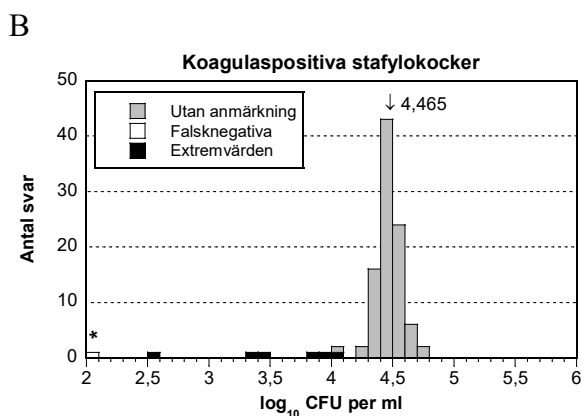
Resultaten var sammantaget väldigt lika för de vanligaste substraten BP, RPFA och Petrifilm Staph, i alla tre proven. Undantaget var det högre antalet positiva resultat för Petrifilm Staph i prov A. Något lägre medelvärden har vid tidigare kompetensprovningar ibland setts vid användning av Petrifilm Staph, men så tycks inte vara fallet denna gång. Flera substrat användes av ett mindre antal laboratorier, vilket gör dem svåra att utvärdera. Sammantaget rapporterades dock endast ett resultat med anmärkning av de laboratorier som använde något av TEMPO STA, EASY Staph®, Brilliance™ Staph 24, Compact Dry™ X-SA och Rapid® Staph.

Totalt 71 % av laboratorierna angav att de utförde någon form av konfirmering. Traditionellt 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. Majoriteten av de positiva resultaten i prov A rapporterades av laboratorier som använde Petrifilm Staph, varav flertalet angav att de utförde konfirmering med Petrifilm Disk. Denna konfirmering 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 stafylokocker

Substrat	Prov A							Prov B							Prov C						
	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>
Alla svar	104	86	-	-	18	-	-	101	94	4,465	0,108	1	6	0	103	93	-	-	10	-	-
BP	48	44	-	-	4	-	-	46	44	4,449	0,101	0	2	0	48	43	-	-	5	-	-
RPFA	23	20	-	-	3	-	-	23	19	4,480	0,076	1	3	0	22	21	-	-	1	-	-
Petrifilm Staph	19	8	-	-	11	-	-	18	18	4,463	0,124	0	0	0	19	16	-	-	3	-	-
TEMPO STA	4	4	-	-	0	-	-	4	4	-	-	0	0	0	4	4	-	-	0	-	-
EASY Staph	3	3	-	-	0	-	-	3	3	-	-	0	0	0	3	3	-	-	0	-	-
Brilliance Staph 24	2	2	-	-	0	-	-	2	2	-	-	0	0	0	2	2	-	-	0	-	-
Compact Dry X-SA	2	2	-	-	0	-	-	2	2	-	-	0	0	0	2	1	-	-	1	-	-
Rapid'Staph	1	1	-	-	0	-	-	1	1	-	-	0	0	0	1	1	-	-	0	-	-
Övriga	2	2	-	-	0	-	-	2	1	-	-	0	1	0	2	2	-	-	0	-	-



Enterokocker

Prov A

Ingen målorganism för analysen fanns i provet.

Prov B

Stammen av *E. durans* var målorganism. På Slanetz & Bartley *Enterococcus*-agar (ENT) växer den fram med typiska mörkröda, något upphöjda kolonier. Vid konfirmering på GEA syns normalt en svag svärtning i substratet efter 2 timmar, vilken mörknar till tydlig svärtning efter 24 timmar.

Prov C

Ingen *Enterococcus* fanns i provet. Provet innehöll däremot en stam av *P. acidilactici*, vilken kan växa fram med atypiska, svagt rosa kolonier på ENT. Vid efterföljande konfirmering på GEA ger stammen normalt ingen svärtning av substratet efter 2 timmar, men en svag svärtning kan ses efter 24 timmar. Detta kan sannolikt förklara varför 26 laboratorier rapporterade falskpositivt resultat. Majoriteten av dessa resultat var mellan \log_{10} 4,0 och \log_{10} 4,4 cfu ml⁻¹, vilket väl motsvarar koncentrationen för *P. acidilactici* i provet.

På grund av den aktuella stammens egenskaper bedöms både positiva och negativa resultat som korrekta och resultaten för prov A har inte utvärderats vidare. Resultaten ger därför heller inte upphov till några z-värden.

Kommentar: I en tidigare kompetensprovning (oktober 2003) särskildes den aktuella stammen av *P. acidilactici* genom att den till skillnad från *Enterococcus* inte växer i hjärna-hjärta-infusionsbuljong (BHI) med 6,5 % salt eller i BHI med pH 9,6. Konfirmeringssteg i BHI ingår i den äldre NMKL 68:2004.

Allmänt om analyserna

En klar majoritet av laboratorierna (64 %) följde NMKL 68:2011. Bland de mindre förekommande metoderna fanns vattenmetoden ISO 7899-2:2000 (7 %), IDF 149A:1997 (6 %) och den äldre NMKL 68:2004 (3 %). Övriga laboratorier använde antingen udda eller företagsspecifika metoder. Det bör här nämnas att IDF 149A:1997 enligt ISO har ersatts av ISO 27205:2010/IDF 149:2010.

Med NMKL 68:2011 definieras enterokocker som grampositiva, katalasnegativa och ovala kocker, med förmåga att hydrolysera eskulin vid 44 °C. Metoden föreskriver inkubering på ENT vid 44 °C. På detta substrat reducerar enterokocker det färglösa substratet 2,3,5-trifenyltetrazoliumklorid till röd formazan och de växer därför fram som något upphöjda kolonier med rosa/röd/rödbrun färg. De kan även ibland ha en ofärgad kant. Vid misstanke om stressade enterokocker (t.ex. i frysta livsmedel) kan förinkubering utföras i TSA under 2 timmar vid 37 °C, följt av övergjutning med ENT. Tydligt mörkröda kolonier med typisk morfologi räknas som enterokocker utan vidare konfirmering. I tveksamma fall sker konfirmering genom utstryk på GEA. Genom hydrolys av eskulin i GEA av β -glukosidas hos enterokocker bildas eskuletin och glukos. Eskuletin tillsammans med järnjoner i substratet ger sedan upphov till en svart utfällning. Kolonier som efter 2-24 timmar ger upphov till sådan svärtning i substratet räknas som enterokocker. Vattenmetoden ISO 7899-2:2000 är baserad på membranfiltrering och inkubering på ENT vid 37 °C. Konfirmering utförs med liknande princip som i NMKL-metoden, men genom att hela membranfiltret flyttas över från ENT till GEA (eventuellt med tillsats av azid), och med inkubering endast i två timmar. Med den äldre NMKL 68:2004 sker konfirmering inte med GEA, utan med katalastest, samt test

för växt i BHI med 6,5 % salt och växt i BHI med pH 9,6. De två laboratorier som analyserade enligt NMKL 68:2004 rapporterade dock båda falskpositivt svar för prov C.

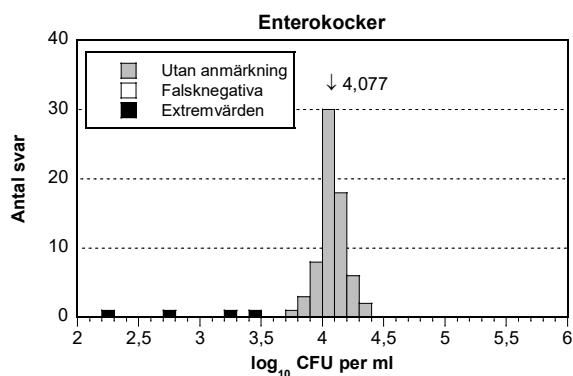
Totalt 83 % av laboratorierna inkuberade på ENT eller TSA/ENT. Ett mindre antal laboratorier använde KEAA, COMPASS® *Enterococcus* agar eller Compact Dry ETC. KEAA användes av laboratorier som följde IDF 149A:1997. Med KEAA testas eskulinhydrolysis direkt i substratet. Även COMPASS detekterar liksom GEA β -glukosidasaktivitet, men är istället baserad på substratet X-Gluc. Enterokocker växer därför på detta substrat fram som blå kolonier.

Konfirmering i någon form utfördes av totalt 79 % av laboratorierna. För prov C syntes ingen tydlig korrelation mellan utförande av konfirmering och utfall i analysen (konfirmeringsgrad 80 % bland de negativa resultaten och 77 % bland de positiva resultaten).

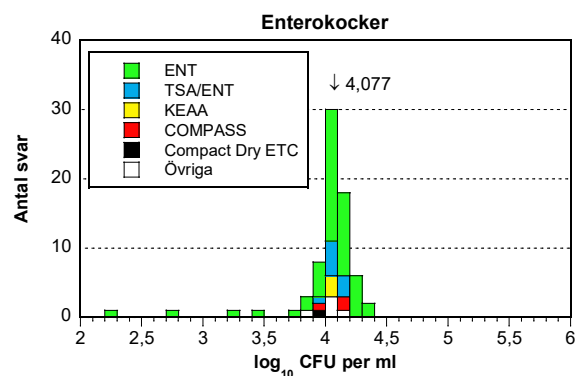
Resultat från analys av enterokocker

Substrat	Prov A						Prov B						Prov C						
	N	n	m	s	F	< >	N	n	m	s	F	< >	N	n	m	s	F	< >	
Alla svar	72	71	-	-	1	- -	72	68	4,077	0,109	0	4	0	72	46	-	-	26	- -
ENT	51	50	-	-	1	- -	51	47	4,089	0,116	0	4	0	51	32	-	-	19	- -
TSA/ENT	9	9	-	-	0	- -	9	9	4,069	0,071	0	0	0	9	5	-	-	4	- -
KEAA	3	3	-	-	0	- -	3	3	-	-	0	0	0	3	2	-	-	1	- -
COMPASS	3	3	-	-	0	- -	3	3	-	-	0	0	0	3	2	-	-	1	- -
Compact Dry ETC	1	1	-	-	0	- -	1	1	-	-	0	0	0	1	1	-	-	0	- -
Övriga	5	5	-	-	0	- -	5	5	4,030	0,095	0	0	0	5	4	-	-	1	- -

B



B



Gramnegativa bakterier i pastöriserad mjölk och grädde

Prov A

Stammarna av *E. coli* och *S. marcescens* är gramnegativa.

Prov B

Stammarna av *E. coli* och *S. marcescens* är gramnegativa.

Prov C

Ingen gramnegativ mikroorganism fanns i provet.

Allmänt om analyserna

Samtliga resultat var utan anmärkning. Tio laboratorier angav att de följde NMKL 192:2011. Ett laboratorium använde ISO-metoden för Enterobacteriaceae, ISO 21528-2:2017. Resterande två laboratorier följde en företagsspecifik metod. Tolv av tretton laboratorier använde VRGG som substrat, medan ett använde MacConkey-agar.

NMKL 192:2011 är en kvalitativ metod för att påvisa återkontamination av gramnegativa bakterier i pastöriserad mjölk och grädde. Dessa bakterier överlever inte pastörisering vid hög temperatur/kort tid (HTST), vilket innebär att temperaturen höjs till 72 °C i minst 15 sekunder. Förekomst av gramnegativa mikroorganismer indikerar därför att förpackningen blivit återkontaminerad, vilket kan påverka dess hållbarhet. Med metoden preinkuberas den förslutna förpackningen med mjölk/grädde vid 25 °C i 24 h följt av utspridning och inkubering av 10 µl på VRGG. Förekomst av fem eller fler bakteriekolonier på VRGG räknas som positivt svar, oberoende av koloniernas morfologi och färg. Vid behov kan konfirmering utföras med kaliumhydroxid (KOH). Kolonier som åtföljs av en slemtråd efter omrörning med ögla i KOH räknas då som gramnegativa bakterier.

Resultat från analys av gramnegativa bakterier i mjölk och grädde

Metod	Prov A			Prov B			Prov C		
	N	n	F	N	n	F	N	n	F
Alla svar	13	13	0	13	13	0	12	12	0
NMKL 192:2011	10	10	0	10	10	0	10	10	0
ISO 21528-2:2017	1	1	0	1	1	0	0	0	0
Övriga	2	2	0	2	2	0	2	2	0

Utfallet av enskilda laboratoriers analysresultat – bedömning

Redovisning och bedömning av inrapporterade resultat

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

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

Z-värden, box-diagram och avvikande svar

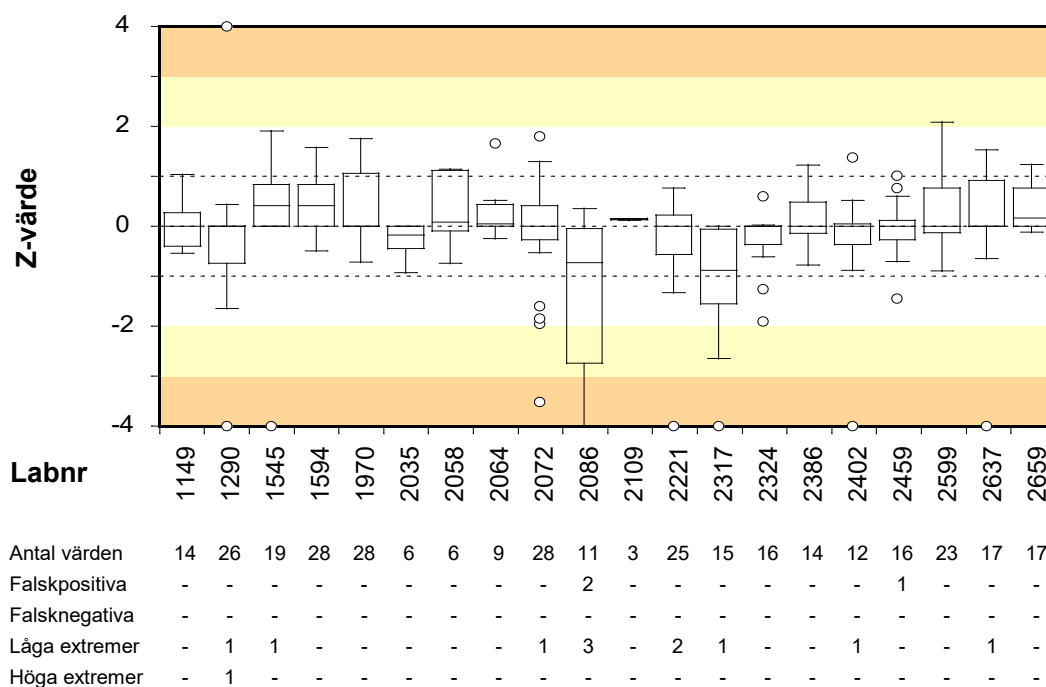
För att möjliggöra jämförelser av resultat från olika analyser och provblandningar med varandra omräknas laboratoriernas resultat från samtliga analyser till standardvärden (z-värden). För kvantitativa analyser blir standardvärdet positivt eller negativt beroende på om resultatet ligger över eller under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

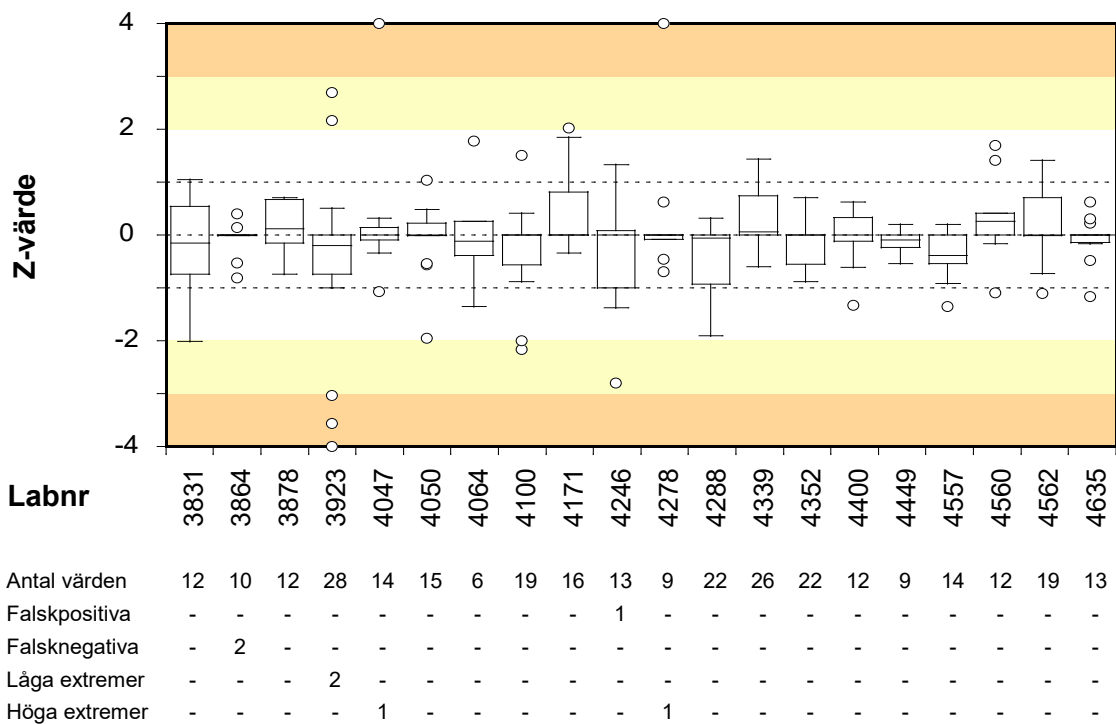
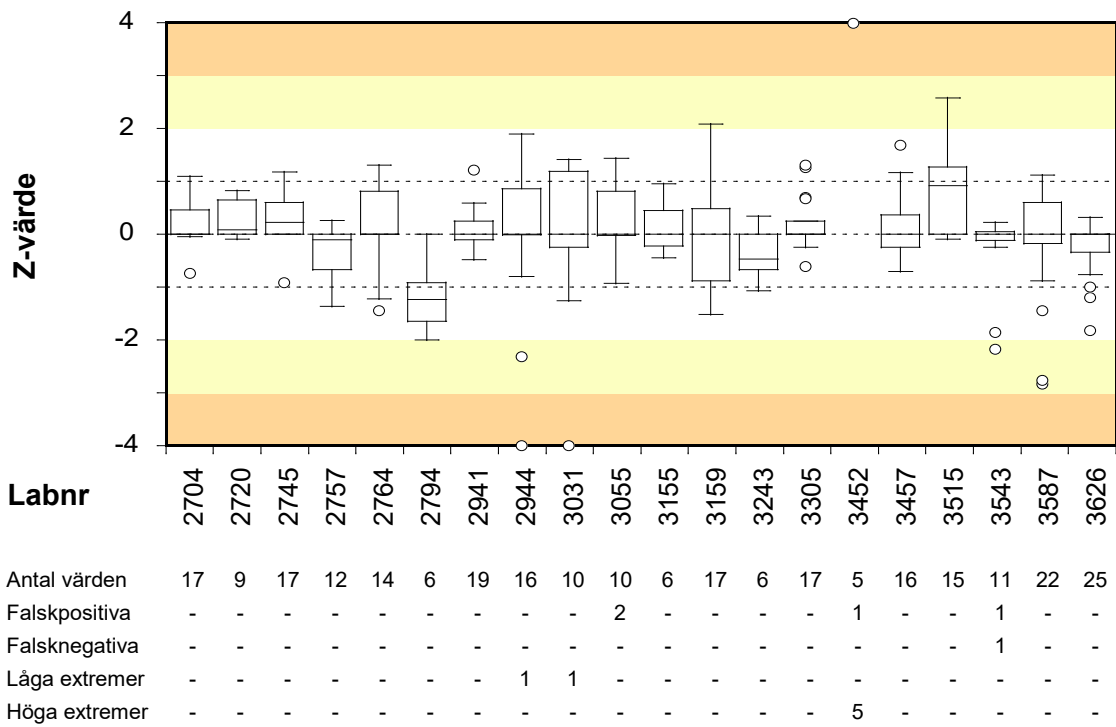
Boxdiagrammen baseras på z-värdena i bilaga 2, och ger en sammanfattande bild över varje enskilt laboratoriums resultat. En liten box, centrerad kring noll, indikerar att det individuella laboratoriets resultat, med falska resultat exkluderade, ligger nära medelvärdena av samtliga laboratoriers svar.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

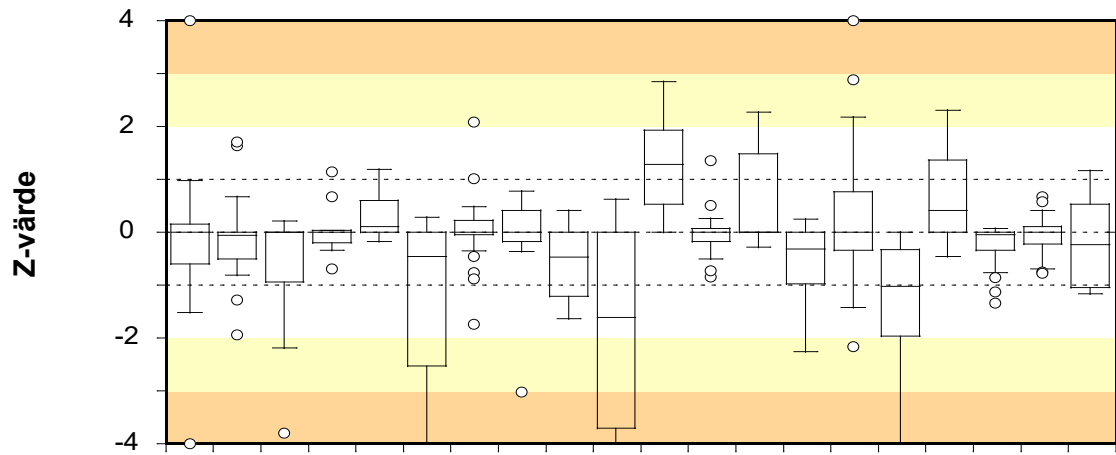
Box-diagram och antal avvikande värden för varje deltagande laboratorium

- Z-värden beräknas enligt formeln: $z = (x - m)/s$, där x är enskilt laboratoriums resultat, m är medelvärde beräknat från deltagande laboratoriers svar och s är standardavvikelse beräknad från deltagande laboratoriers svar, med extremvärden och falska svar borttagna.
- Extremvärden ingår i diagrammen efter att de räknats om till z-värden på samma sätt som övriga resultat.
- Falska svar genererar inte några z-värden och bidrar heller inte till "Antal värden".
- Korrekta resultat för kvalitativa analyser och korrekta negativa resultat för kvantitativa analyser utan målorganism har erhållit z-värdet noll.
- Laboratoriets medianvärde markeras med ett horisontellt 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.

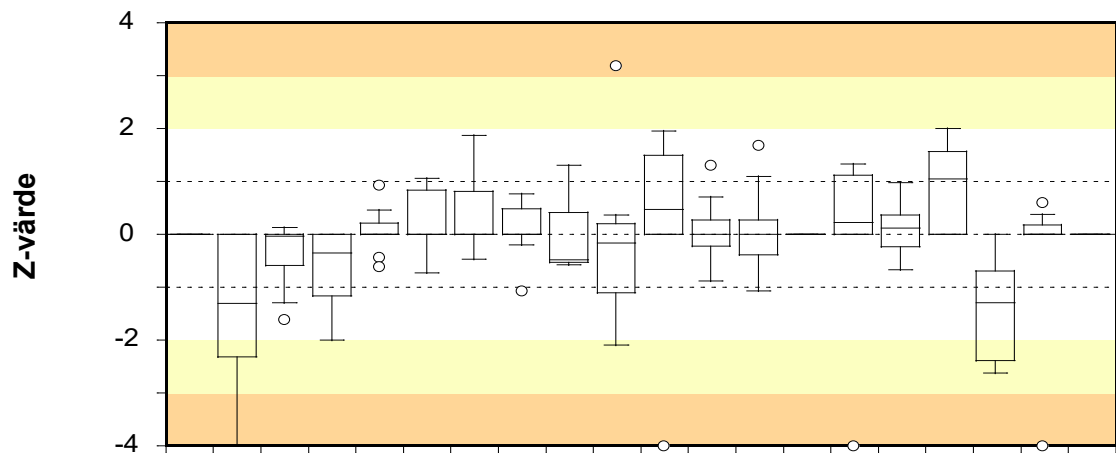
* $< [\text{boxens minsta värde} - 1,5 \times (\text{boxens största värde} - \text{boxens minsta värde})]$ eller $> [\text{boxens största värde} + 1,5 \times (\text{boxens största värde} - \text{boxens minsta värde})]$.



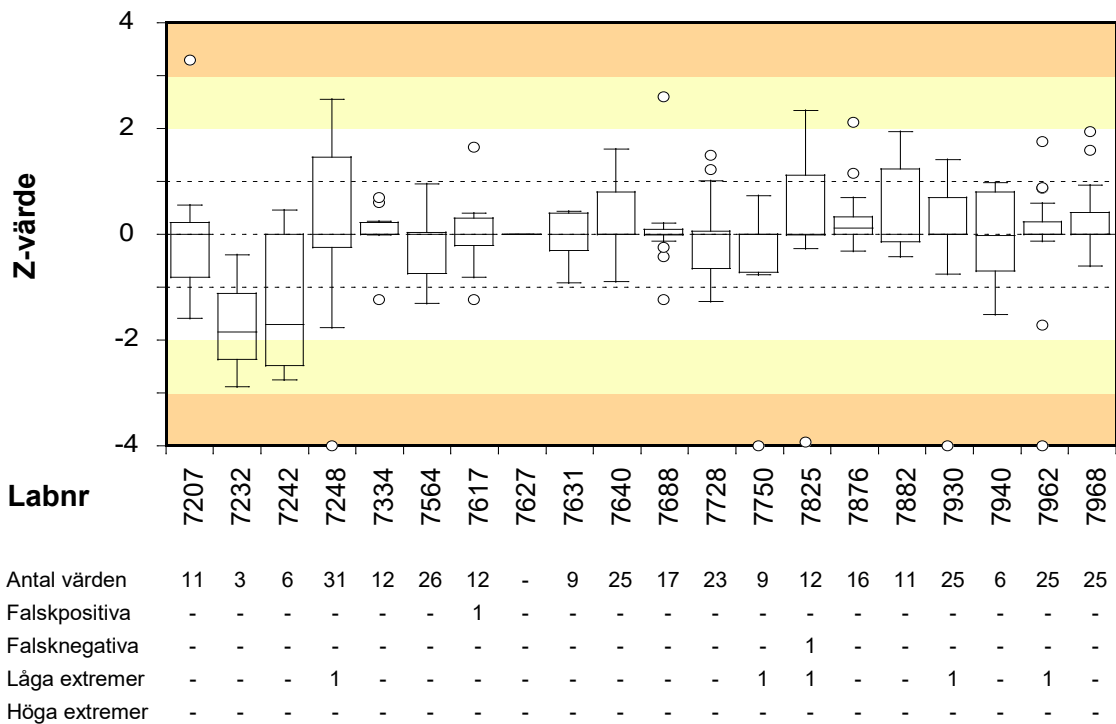
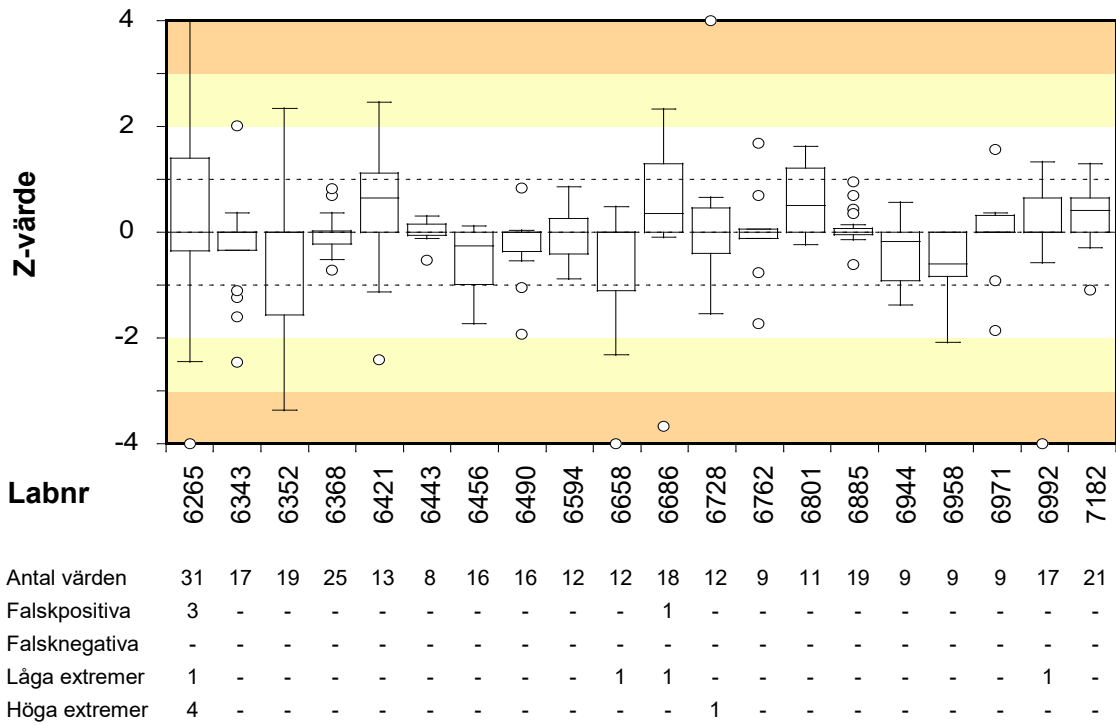


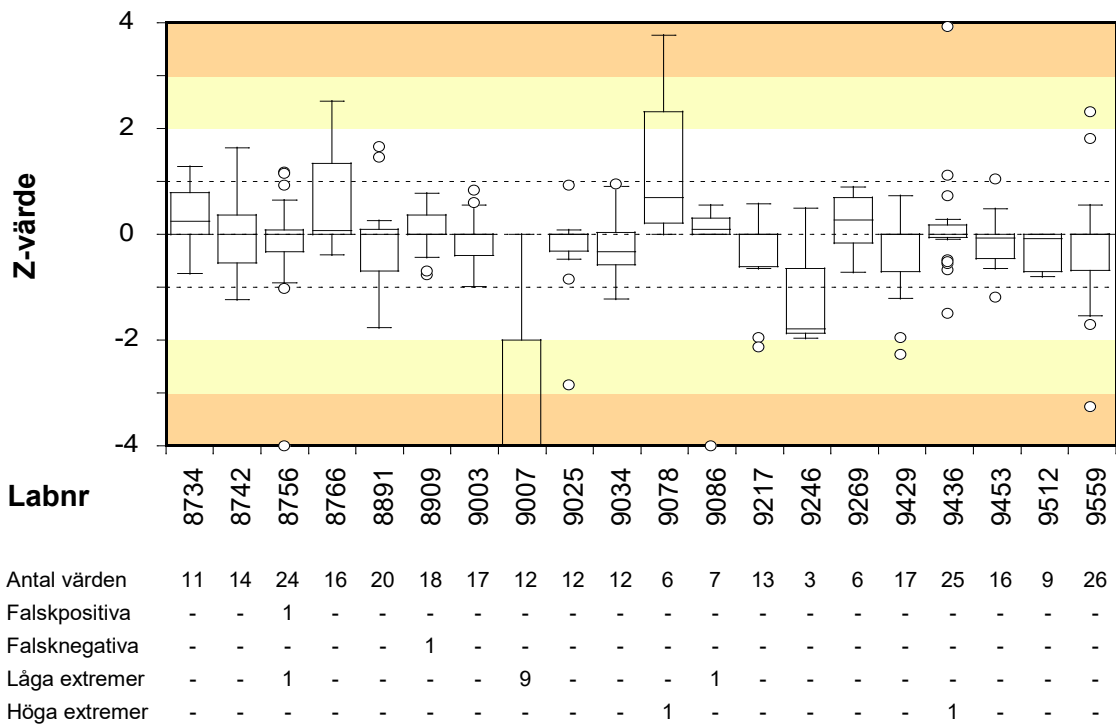
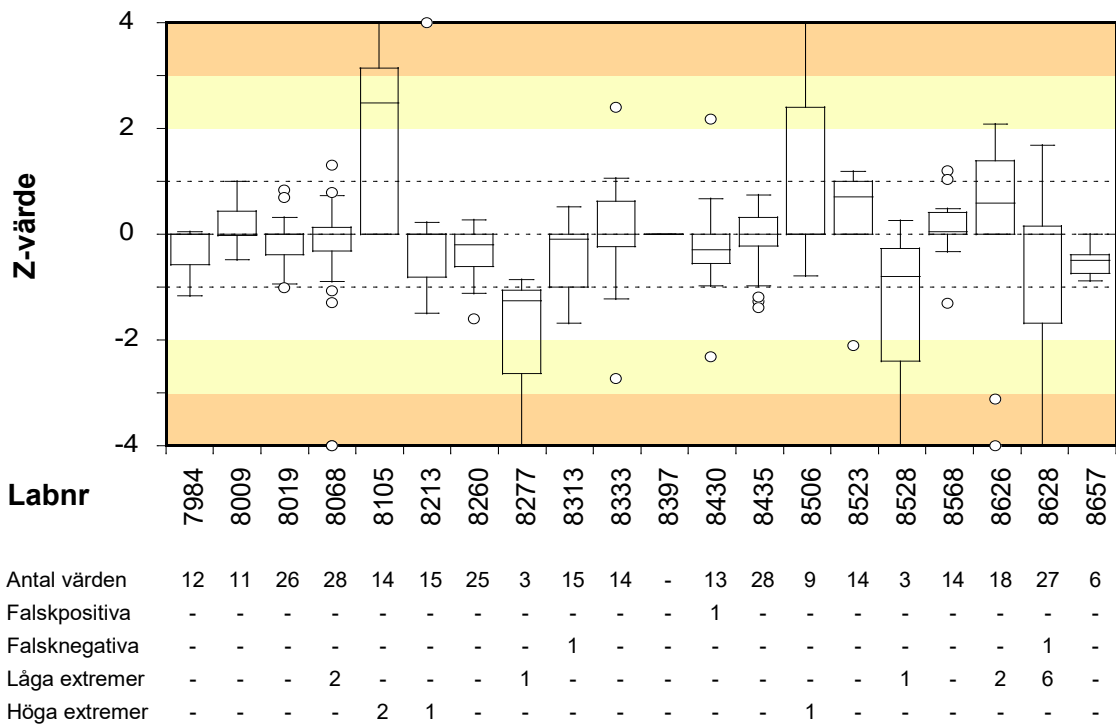


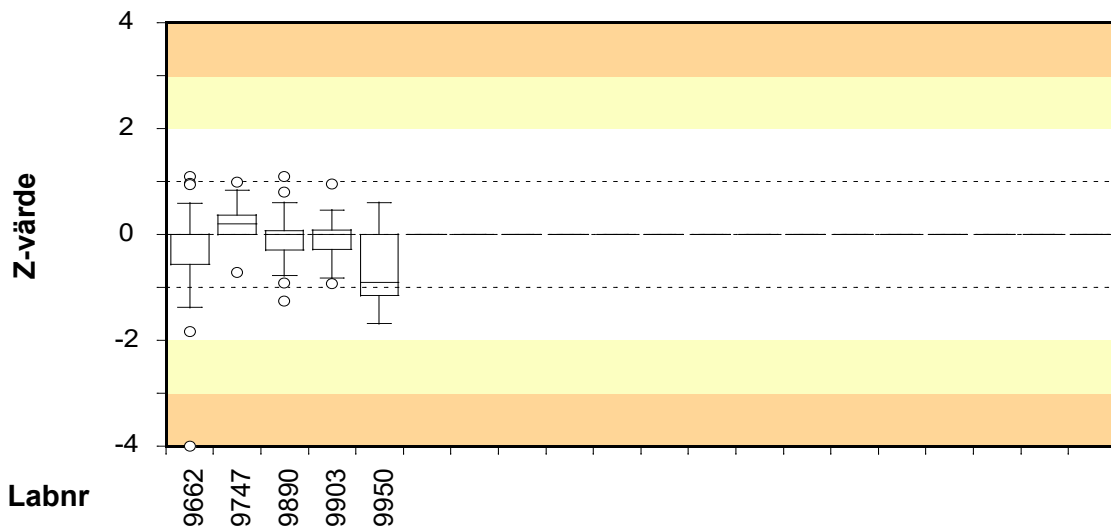
Labnr	4664	4683	4710	4840	4889	4951	4980	4983	5018	5100	5119	5128	5182	5201	5204	5220	5290	5329	5333	5338
Antal värden	22	23	21	10	25	10	23	9	25	8	12	14	12	9	25	11	10	19	25	6
Falskpositiva	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Falsknegativa	-	-	-	-	-	2	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Låga extremer	1	-	1	-	-	2	-	-	-	2	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
Höga extremer	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-



Labnr	5342	5352	5419	5446	5545	5553	5615	5654	5701	5801	5808	5883	5950	5993	6109	6175	6224	6232	6253	6258
Antal värden	-	21	19	17	10	17	17	9	3	10	12	14	34	-	9	6	9	6	11	-
Falskpositiva	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Falsknegativa	-	-	-	-	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Låga extremer	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	1	-
Höga extremer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-







Labnr	9662	9747	9890	9903	9950
Antal värden	25	9	20	16	12
Falskpositiva	-	-	-	-	-
Falsknegativa	-	-	-	-	-
Låga extremer	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 (3). 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 ¹	Mikroorganism	Stambeteckning	
		SLV-nr. ²	Referens ³
A	<i>Escherichia coli</i>	SLV-477	CCUG 43601
	<i>Serratia marcescens</i>	SLV-040	ATCC 13880
	<i>Staphylococcus hyicus</i>	SLV-546	Kyckling
B	<i>Enterococcus durans</i>	SLV-078	CCUG 44816
	<i>Escherichia coli</i>	SLV-477	CCUG 43601
	<i>Serratia marcescens</i>	SLV-040	ATCC 13 880
	<i>Staphylococcus aureus</i>	SLV-280	Ägg, 1989
C	<i>Bacillus cereus</i>	SLV-518	CCUG 44741
	<i>Pediococcus acidilactici</i>	SLV-213	CCUG 45146
	<i>Staphylococcus xylosus</i>	SLV-283	Ost, 1989

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

² Internt stamnummer på Livsmedelsverket.

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

Kvalitetskontroll av provblandningarna

Homogena provblandningar och lika volym i varje vial är nödvändigt för att samtliga tillverkade frystorkade prov från en provblandning ska vara jämförbara. Kvalitetskontroll av provblandningarna utförs på 10 vialer i samband med tillverkningen eller på 5 vialer om en "gammal" 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 (I₂) inte samtidigt överskrider gränsvärdena 2,6 respektive 2,0. (För definitioner av T och I₂, se referenserna 4 respektive 5.)

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

Analys och metod	A ¹			B ¹			C ¹		
	m	T	I ₂	m	T	I ₂	m	T	I ₂
Aeroba mikroorganismer, 30 °C NMKL-metod nr. 86:2013	4,66	1,28	0,69	5,01	1,36	2,27	5,32	1,17	0,65
Aeroba mikroorganismer, 20 °C NMKL-metod nr. 86:2013	4,67	1,39	1,22	4,98	1,19	0,79	5,29	1,21	0,92
Kontaminerande mikroorganismer ISO-metod nr. 13559:2002 IDF-metod nr. 153:2002	4,69	1,27	0,68	5,03	1,13	0,41	5,32	1,19	0,84
Enterobacteriaceae NMKL-metod nr. 144:2005	4,36	1,20	0,97	4,67	1,25	0,59	-	-	-
Koliforma bakterier 30 °C NMKL-metod nr. 44:2004	4,17	1,63	4,75	4,16	1,17	0,09	-	-	-
Koliforma bakterier 37 °C NMKL-metod nr. 44:2004	4,19	1,62	4,81	4,13	1,15	0,06	-	-	-
Termotoleranta koliforma bakterier NMKL-metod nr. 125:2005	4,30	2,04	1,19	4,13	1,30	1,16	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> NMKL-metod nr. 125:2005	4,30	2,04	1,19	4,13	1,30	1,16	-	-	-
Presumtiv <i>Bacillus cereus</i> NMKL-metod nr. 67:2010	-	-	-	-	-	-	4,19	1,57	0,81
Koagulaspositiva stafylokocker NMKL-metod nr. 66:2009	4,38*	1,59*	1,17*	4,55	1,53	1,54	5,25*	1,13*	0,34*
Enterokocker NMKL-metod nr. 68:2011	-	-	-	4,07	1,34	1,21	4,20*	1,29*	1,34*
Gramnegativa bakterier i pastöriserad mjölk och grädde. Detektion av återkontamination. NMKL-metod nr. 192:2011	Pos.	-	-	Pos.	-	-	Neg.	-	-

- Ingen målorganism och därför inget värde

¹ n = 5 vialer med dubbelanalyser

* Ej målorganism

Referenser

1. Kelly, K. 1990. Outlier detection in collaborative studies. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 73:58–64.
2. Anonym, 2018. Verksamhetsprotokoll. Mikrobiologi. Dricksvatten & Livsmedel, Livsmedelsverket.
3. Peterz, M., Steneryd, A.C. 1993. Freeze-dried mixed cultures as reference samples in quantitative and qualitative microbiological examinations of food. *Journal of Applied Bacteriology*. 74:143–148.
4. Mooijman, K.M., During, M. & Nagelkerke, N.J.D. 2003. MICROCRM: Preparation and control of batches of microbiological materials consisting of capsules. RIVM report 250935001/2003. RIVM, Bilthoven, Holland.
5. Heisterkamp, S.H., Hoekstra, J.A., van Strijp-Lockefeer, N.G.W.M., Havelaar, A.H., Mooijman, K.A., in't Veld, P.H., Notermans, S.H.W., Maier, E.A. ; Griepink, B. 1993. Statistical analysis of certification trials for microbiological reference materials. Luxembourg: Commission of the European Communities, Report EUR 15008 EN.

Lab nr.	Provnr.	Aeroba mikroorg. 30 °C			Aeroba mikroorg. 20 °C			Kontaminerande mikroorganismer			Enterobacteriaceae			Kolliforma bakterier 30 °C			Kolliforma bakterier 37 °C			Termotoleranta kolif. bakterier			Escherichia coli			Presumtiv <i>Bacillus cereus</i>			Koagulaspositiva stafylokocker			Enterokocker			Gramneg. bakt. i past. mejeriprod.			Lab nr.
		A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	
9950	1 2 3	4,5	4,73	5,16	-	-	-	4,34	4,62	5,06	-	-	-	-	-	-	4,28	4,18	0	-	-	-	-	-	-	0	0	3,85	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9950
N		163	162	162	35	35	35	19	20	20	139	139	138	50	49	50	101	101	101	50	50	50	118	117	119	115	114	114	104	101	103	72	72	72	13	13	12	N
Min		1,69	2,00	2,34	0	0	0	0	0	0	1,08	0	0	1,43	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2,30	0	0	0	0	2,22	0	-	-	-	Min
Max		6,13	5,92	6,24	4,81	5,12	5,57	5,29	5,16	5,49	5,43	5,30	5,27	5,14	5,62	1,60	4,69	5,00	0,95	4,56	4,86	0	6,20	6,20	0	4,00	3,69	5,28	4,65	4,78	5,17	0,95	4,36	4,37	-	-	-	Max
Med		4,63	4,94	5,31	4,49	4,93	5,25	4,60	4,88	5,30	4,23	4,53	0	4,18	4,36	0	4,14	4,25	0	4,17	4,09	0	4,15	4,05	0	0	0	4,11	0	4,46	0	0	4,08	0	-	-	-	Med
m		4,623	4,940	5,312	4,465	4,938	5,258	4,620	4,858	5,281	4,235	4,489	0	4,152	4,319	0	4,154	4,269	0	4,166	4,125	0	4,154	4,081	0	0	0	4,101	0	4,465	0	0	4,077	0	pos	pos	neg	m
s		0,140	0,125	0,133	0,162	0,079	0,115	0,302	0,212	0,143	0,177	0,207	0	0,248	0,300	0	0,210	0,304	0	0,154	0,187	0	0,157	0,182	0	0	0	0,216	0	0,108	0	0	0,109	0	-	-	-	s
F+		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	2	0	18	0	10	1	0	26	0	0	0	F+
F-		0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	2	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	F-
<		2	4	7	0	1	2	0	1	4	2	2	0	2	2	0	2	1	0	3	2	0	3	4	0	0	0	5	0	6	0	0	4	0	-	-	-	<
>		6	3	3	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	2	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	-	-	-	>
< OK		4,13	4,61	4,94	4,07	4,78	4,98	4,17	4,48	5,00	3,66	3,75	0	3,45	3,49	0	3,45	3,32	0	3,79	3,80	0	3,62	3,62	0	0	0	3,44	0	4,09	0	0	3,78	0	-	-	-	< OK
> OK		5,07	5,30	5,75	4,81	5,12	5,57	5,29	5,16	5,49	4,67	4,91	0	4,66	4,94	0	4,69	5,00	0	4,56	4,57	0	4,47	4,60	0	0	0	4,79	0	4,78	0	0	4,36	0	-	-	-	> OK

N = antal utförda analyser

Max = högsta rapporterade resultat

m = medelvärde

F+ = falskpositiv

< = låga extremvärden

< OK = lägsta accepterade värde

Min = lägsta rapporterade resultat

Med = medianvärde

s = standardavvikelse

F- = falsknegativ

> = höga extremvärden

> OK = högsta accepterade värde

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

Lab nr.	Provnr.	Aeroba mikroorganismer 30 °C			Aeroba mikroorganismer 20 °C			Främmande mikroorganismer i mjölkprodukter			Enterobacteriaceae			Koliforma bakterier 30 °C			Koliforma bakterier 37 °C			Termotoleranta koliforma bakterier			Escherichia coli			Presumtiv Bacillus cereus			Koagulas-positiva stafylokocker			Enterokocker			Gramneg. bakterier i past. mjölk			Lab nr.
		A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C				
8657	1 3 2	-0,738	-0,562	-0,389																															8657			
8734	3 2 1	-0,738	0,799	-0,088																															8734			
8742	2 1 3	-1,239	-0,402	0,063																																8742		
8756	3 1 2	-0,095	-0,642	-0,916	0,651	-0,106	-1,026																													8756		
8766	3 1 2	1,264	2,080	1,418																																8766		
8891	2 1 3	0,263	-0,482	-0,088																																	8891	
8909	2 1 3	0,406	0,079	-0,766																																	8909	
9003	1 2 3	-0,524	-0,402	-0,991																																	9003	
9007	3 2 1	-4,000	-4,000	-4,000																																	9007	
9025	2 1 3	-0,166	0,079	-0,841																																	9025	
9034	2 1 3	0,907	0,079	-1,217	0,961	-0,360	-0,593																														9034	
9078	1 2 3	3,767	2,321	0,213																																	9078	
9086	2 3 1	0,113	-4,000	0,552																																	9086	
9217	3 1 2	-1,954	-0,642	-0,615																																	9217	
9246	2 1 3				0,499	-1,784	-1,961																														9246	
9269	3 1 2	0,549	-0,722	-0,163																																		9269
9429	3 2 1																																					9429
9436	1 3 2	-0,667	1,120	1,117																																		9436
9453	1 3 2	-0,238	-0,642	-0,314																																		9453
9512	1 2 3	-0,381	-0,802	-0,766																																		9512
9559	3 2 1	-1,024	-0,642	-0,464	-1,700	2,314	-0,680	0,432	-0,982	0,554	-3,256	0,437																									9559	
9662	3 2 1	-0,023	-0,562	-0,916	0,589	-0,106	-1,373																															9662
9747	3 1 2	0,835	-0,722	0,289																																		9747
9890	1 3 2	-0,238	-0,162	-0,314	-0,772	-1,252	0,100																															9890
9903	2 1 3				0,466	-0,742	-0,333																															9903
9950	1 2 3	-0,881	-1,683	-1,142																																		9950

 Resultaten utvärderas inte

Intern och extern kontroll av dricksvatten- och livsmedelsanalyser

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

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

Livsmedelsverkets kompetensprovningar ger

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

För mer information, besök vår webbplats: <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