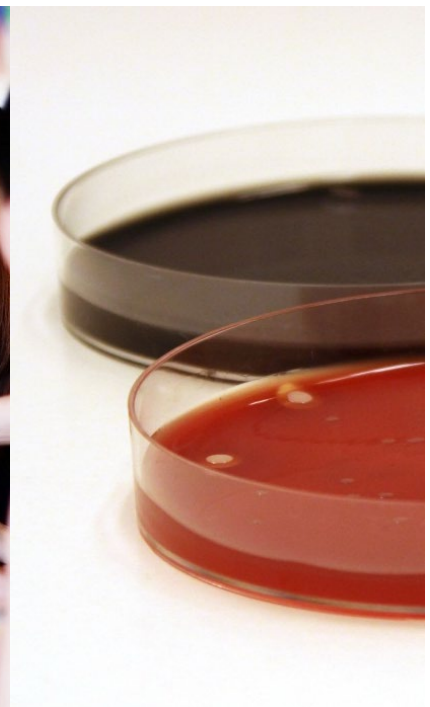


Mikrobiologi – Livsmedel

April 2020

Jonas Ilbäck



Utgåva
Version 1 (2020-06-15)

Ansvarig utgivare
Maria Sitell, avdelningschef, Biologiavdelningen, Livsmedelsverket

Programansvarig
Jonas Ilbäck, mikrobiolog, Biologiavdelningen, Livsmedelsverket

PT april 2020 har diarienummer 2020/00833 vid Livsmedelsverket.

Kompetensprovning
Mikrobiologi – Livsmedel
April 2020

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 |
| EMB | Eosin-metylenblå-agar |
| JA | Järnagar |
| JSA | Järnsulfit-agar |
| LSB | Laurylsulfat-buljong |
| LTL5B | 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 |
| MSA | Mannitol-salt-agar |
| MYP | Mannitol-äggula-polymyxin-agar |
| OGYE | Oxytetracyklin-glukos-jästextrakt-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 |
| SPS | Sulfit-polymyxin-sulfadiazin-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 |
| 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 2020 | 7 |
| - Generellt utfall | 7 |
| - Aeroba mikroorganismer, 30 °C | 8 |
| - Psykrotrofa mikroorganismer | 10 |
| - Enterobacteriaceae | 12 |
| - <i>Escherichia coli</i> | 13 |
| - Presumtiv <i>Bacillus cereus</i> | 15 |
| - Koagulaspositiva stafylokocker | 18 |
| - Mjölksyrabakterier | 20 |
| - <i>Clostridium perfringens</i> | 22 |
| - Anaeroba sulfitereducerande bakterier | 24 |
| - Aeroba mikroorganismer i fiskprodukter, 20-25 °C | 26 |
| - Vätesulfidproducerande bakterier i fiskprodukter | 27 |
| - Jäst och mögel | 29 |
| Utfall av enskilda laboratoriers analysresultat – bedömning | 33 |
| - Boxdiagram | 34 |
| Testmaterial och kvalitetskontroll | 40 |
| - Testmaterial | 40 |
| - Kvalitetskontroll av provblandningarna | 41 |
| Referenser | 42 |
| 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 exkluderas 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 ⁻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 |

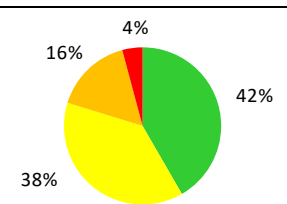
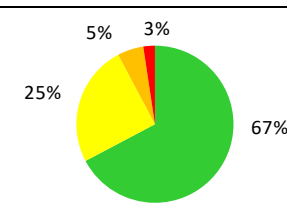
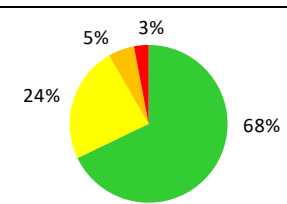
Analysresultat av provtillfälle april 2020

Generellt utfall

Provmaterial sändes ut till 184 laboratorier, varav 40 i Sverige, 128 i övriga Europa och 16 laboratorier i övriga världen. Av de 168 laboratorier som rapporterade svar hade 126 (75 %) minst ett analys svar med anmärkning. Vid det senaste provtillfället med ungefär samma parametrar (april 2019) var andelen 51 %. Totalt sett något färre laboratorier än normalt rapporterade in svar; enligt kommunikation med flera deltagare är detta en konsekvens av minskade möjligheter att utföra analyser på grund av den pågående Covid-19-pandemin.

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 | | | | | | | | | | | | |
| 0 avvikande svar | 42% | | | | 67% | | | | 68% | | | |
| 1 avvikande svar | 38% | | | | 25% | | | | 24% | | | |
| 2 avvikande svar | 16% | | | | 5% | | | | 5% | | | |
| >2 avvikande svar | 4% | | | | 3% | | | | 3% | | | |
| Mikroorganismer | <i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Staphylococcus warneri</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Shewanella putrefaciens</i> | | | | <i>Aspergillus flavus</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Brochothrix thermosphacta</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Hanseniapora uvarum</i> <i>Shewanella putrefaciens</i> | | | | <i>Bacillus cereus</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Kluyveromyces marxianus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Staphylococcus xylosus</i> | | | |
| Analys | Målorganism | N | F | X | Målorganism | N | F | X | Målorganism | N | F | X |
| Aeroba mikroorganism, 30 °C | Alla utom <i>C. perfringens</i> | 154 | 0% | 3% | Alla | 153 | 1% | 1% | Alla | 153 | 0% | 1% |
| Psykrotrofa mikroorganism | Alla utom <i>C. perfringens</i> | 23 | 22% | 0% | <i>B. thermosphacta</i> | 23 | 0% | 0% | Alla | 23 | 9% | 0% |
| Enterobacteriaceae | <i>(A. hydrophila)</i> | 135 | 47% | 0% | - | 135 | 2% | 0% | <i>E. coli</i> | 135 | 1% | 7% |
| <i>E. coli</i> | - | 119 | 2% | 0% | - | 119 | 0% | 0% | <i>E. coli</i> | 118 | 2% | 3% |
| Presumtiv <i>B. cereus</i> | <i>(A. hydrophila)</i> | 120 | 5% | 0% | <i>B. cereus</i> | 123 | 1% | 2% | <i>B. cereus</i> | 120 | 11% | 4% |
| Koagulaspositiva stafylokocker | <i>S. aureus</i> <i>(S. warneri)</i> | 110 | 3% | 24% | - | 109 | 6% | 0% | <i>(S. xylosus)</i> | 109 | 11% | 0% |
| Mjölksyrabakterier | <i>(S. aureus, S. warneri)</i> | 54 | 28% | 0% | - | 54 | 46% | 0% | <i>L. plantarum</i> | 54 | 4% | 2% |
| <i>C. perfringens</i> | <i>C. perfringens</i> | 60 | 5% | 7% | <i>C. perfringens</i> | 60 | 5% | 0% | - | 58 | 2% | 0% |
| Anaerob. sulfited. bakterier | <i>C. perfringens</i> | 68 | 1% | 4% | <i>C. perfringens</i> | 68 | 3% | 3% | - | 69 | 0% | 0% |
| Aeroba mikroorg. i fiskprodukter | Alla utom <i>C. perfringens</i> | 38 | 0% | 0% | Alla | 38 | 0% | 0% | Alla | 38 | 0% | 3% |
| H2S-prod. bakterier i fiskprodukter | <i>S. putrefaciens</i> | 33 | 0% | 0% | <i>S. putrefaciens</i> | 32 | 9% | 9% | - | 32 | 0% | 0% |
| Jäst | - | 131 | 2% | 0% | <i>H. uvarum</i> | 131 | 2% | 5% | <i>K. marxianus</i> | 130 | 1% | 6% |
| Mögel | - | 127 | 2% | 0% | <i>A. flavus</i> | 127 | 2% | 4% | <i>C. cladosporioides</i> | 125 | 8% | 2% |

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

Aeroba mikroorganismer, 30 °C

Prov A

Stammarna av *A. hydrophila*, *S. warneri*, *S. aureus* och *S. putrefaciens* var målorganismer. Det rapporterades tre låga och två höga extremvärden.

Prov B

Samtliga stammar i provet var målorganismer. Det rapporterades ett högt extremvärde och ett falsknegativt resultat.

Resultaten fördelade sig med en huvudtopp kring \log_{10} 4,0 cfu ml⁻¹ och en mindre topp kring \log_{10} 4,8 cfu ml⁻¹. Förekomsten av två toppar beror sannolikt på om *B. thermosphacta* detekterats eller inte. *B. thermosphacta* förekom i en förväntad halt om \log_{10} 4,7 cfu ml⁻¹, medan övriga mikroorganismer förekom i halter lägre än \log_{10} 4,0 cfu ml⁻¹.

Resultaten i den högre toppen kunde kopplas till användning av Petrifilm AC. *B. thermosphacta* är en psykrotrof mikroorganism, men kan även växa fram vid 30 °C. Det är möjligt att användning av Petrifilm AC är mer skonsam mot *B. thermosphacta* jämfört med ingjutningsmetoden som ofta används med PCA. Det kan här noteras att *B. thermosphacta* ser ut att ha detekterats vid halter kring \log_{10} 4,7 cfu ml⁻¹ vid analysen av såväl psykrotrofa mikroorganismer som aeroba mikroorganismer i fisk och fiskprodukter. Vid dessa båda analyser sker inkubering vid lägre temperatur än 30 °C.

Prov C

Samtliga stammar i provet var målorganismer. Det rapporterades ett lågt och ett högt extremvärde.

Allmänt om analyserna

Som vid tidigare provtillfällen följde laboratorierna främst NMKL 86:2013 (29 %), 3M Petrifilm (21 %) och ISO 4833-1:2013 (20 %). De äldre NMKL 86:2006 och ISO 4833:2003 användes fortfarande av 8 % respektive 5 % av laboratorierna. 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.

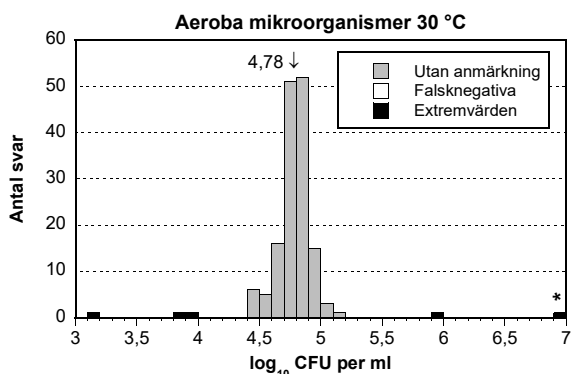
Majoriteten av laboratorierna inkuberade på antingen PCA eller Petrifilm AC. Inkubering på MPCA gjordes främst av laboratorier inom mjölkindustrin. Inkubering på TSA skedde främst vid användning av en företagsspecifik metod. Ett mindre antal laboratorier använde TEMPO AC, som är baserad på MPN (Most 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 genom antalet och storleken på de brunnar som fluorescerar.

Resultat från analys av aeroba mikroorganismer, 30 °C

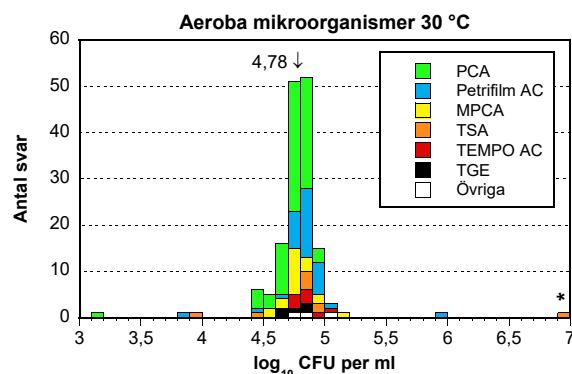
| Substrat | Prov A | | | | | Prov B | | | | | Prov C | | | | |
|--------------|--------|-----|------|------|-------|--------|-----|------|------|-------|--------|-----|------|------|-------|
| | N | n | m | s | F < > | N | n | m | s | F < > | N | n | m | s | F < > |
| Alla svar | 154 | 149 | 4,78 | 0,12 | 0 3 2 | 153 | 151 | 4,21 | 0,43 | 1 0 1 | 153 | 151 | 4,39 | 0,26 | 0 1 1 |
| PCA | 74 | 73 | 4,75 | 0,11 | 0 1 0 | 74 | 73 | 4,06 | 0,37 | 1 0 0 | 74 | 73 | 4,31 | 0,26 | 0 1 0 |
| Petrifilm AC | 35 | 33 | 4,83 | 0,11 | 0 1 1 | 35 | 35 | 4,69 | 0,32 | 0 0 0 | 35 | 35 | 4,55 | 0,23 | 0 0 0 |
| MPCA | 20 | 20 | 4,76 | 0,13 | 0 0 0 | 19 | 19 | 3,90 | 0,17 | 0 0 0 | 19 | 19 | 4,35 | 0,18 | 0 0 0 |
| TSA | 9 | 7 | 4,83 | 0,16 | 0 1 1 | 9 | 8 | 4,15 | 0,25 | 0 0 1 | 9 | 8 | 4,49 | 0,20 | 0 0 1 |
| TEMPO AC | 8 | 8 | 4,85 | 0,11 | 0 0 0 | 8 | 8 | 4,26 | 0,31 | 0 0 0 | 8 | 8 | 4,58 | 0,16 | 0 0 0 |
| TGE | 5 | 5 | 4,75 | 0,10 | 0 0 0 | 5 | 5 | 3,94 | 0,25 | 0 0 0 | 5 | 5 | 4,44 | 0,13 | 0 0 0 |
| Övriga* | 3 | 3 | - | - | 0 0 0 | 3 | 3 | - | - | 0 0 0 | 3 | 3 | - | - | 0 0 0 |

* Bland övriga substrat ingår BA och Compact Dry TC.

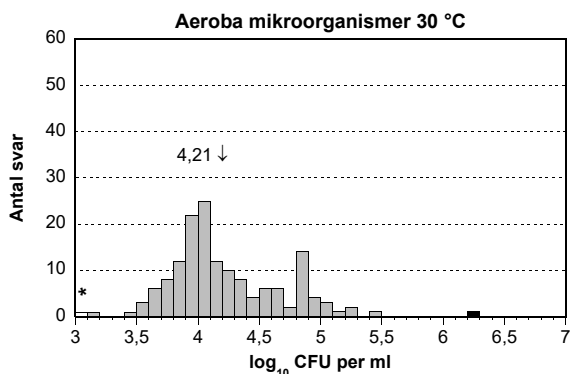
A



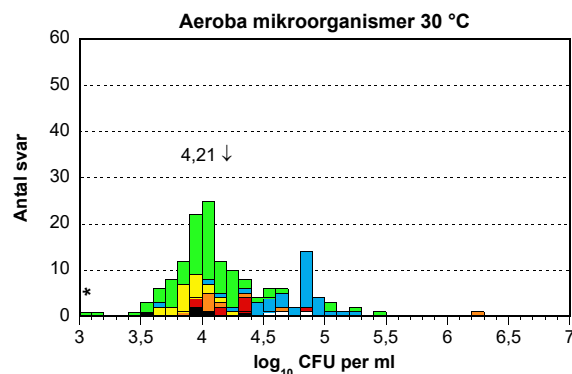
A



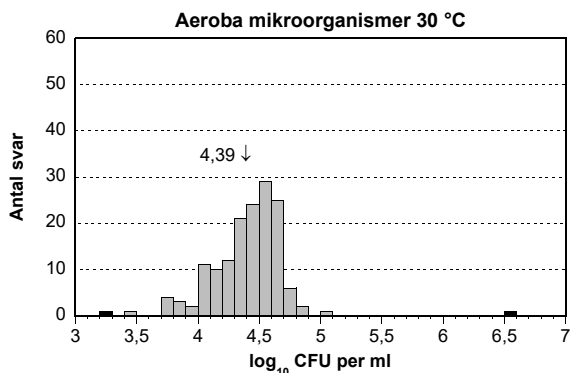
B



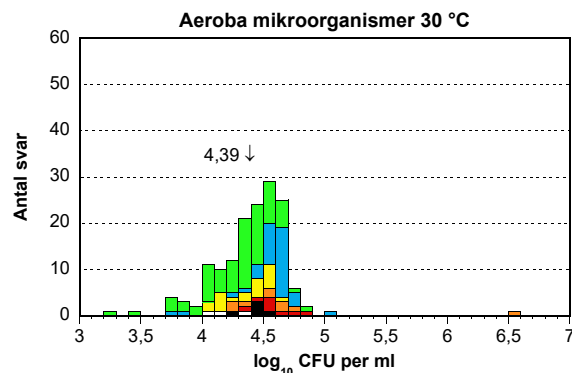
B



C



C



Psykrotrofa mikroorganismer

Prov A

Stammarna av *A. hydrophila*, *S. warneri*, *S. aureus* och *S. putrefaciens* var målorganismer. Vid Livsmedelsverkets kontroll erhöles en koncentration på \log_{10} 3,06 cfu ml⁻¹ efter tio dygns inkubering på PCA vid 6,5 °C. Kolonierna som räknades var små och en lupp kan därför ha behövs användas vid avläsning.

Fem laboratorier rapporterade falsknegativt resultat. Endast 18 laboratorier rapporterade alltså positivt resultat, varför inga extremvärden har identifierats statistiskt. Därför visas också medianvärde istället för medelvärde i tabeller och figurer nedanför.

Prov B

Stammen av *B. thermosphacta* förekom i högst koncentration och var därmed huvudsaklig målorganism. I provet fanns i något lägre koncentrationer även *B. cereus* och *S. putrefaciens*. Dessa växer dock sämre än *B. thermosphacta* vid låga temperaturer. Övriga mikroorganismer i provet förekom i betydligt lägre koncentrationer. Vid Livsmedelsverkets kontroll erhöles en koncentration på \log_{10} 4,74 cfu ml⁻¹ efter tio dygns inkubering på PCA vid 6,5 °C.

Det rapporterades inga extremvärden och inga falsknegativa resultat.

Prov C

Samtliga stammar i provet var målorganismer. Vid Livsmedelsverkets kontroll erhöles en koncentration på \log_{10} 4,34 cfu ml⁻¹ efter tio dygns inkubering på PCA vid 6,5 °C.

Det rapporterades två falsknegativa resultat.

Allmänt om analyserna

Totalt 23 laboratorier utförde analysen. Majoriteten av dessa (70 %) inkuberade på PCA, men även MPCA (13 %) och Petrifilm AC (13 %) förekom. Ett laboratorium inkuberade på Long & Hammer-agar.

Som vid tidigare provtillfällen varierade inkuberingsförhållanden 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 nyligen ersatts av ISO 17410:2019, vilken som huvudprincip anger inkubation vid 6,5 °C. Tre laboratorier angav NMKL 74:2000, vilken har ersatts av NMKL 86:2013.

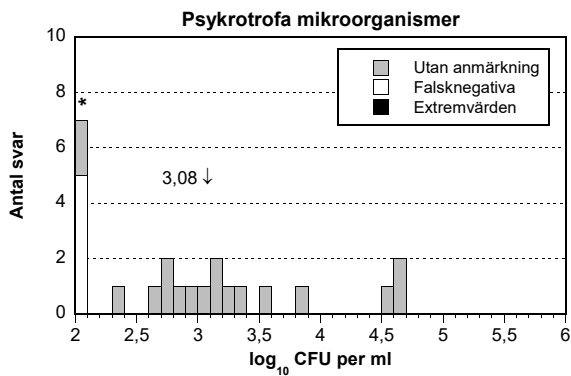
Det låga antalet deltagare gör det svårt att koppla förekommande falsknegativa resultat till någon specifik metod eller substrat. Resultaten är därför svåra att utvärdera, speciellt eftersom några laboratorier angav temperatur, inkuberingstid eller substrat som inte stämde överens med angiven metod. Majoriteten av de av laboratorierna angivna metoderna kunde dock fördelas i tre grupper. Generellt användes 21-22 °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

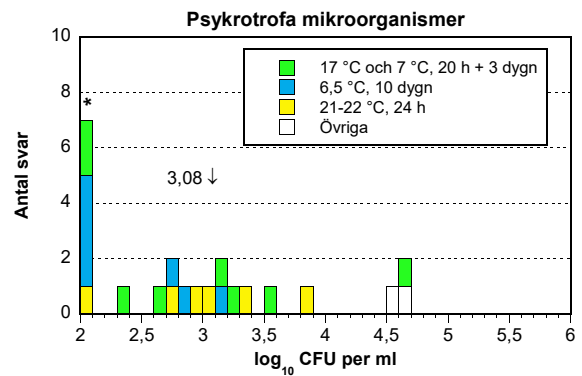
| Metod | Prov A | | | | | Prov B | | | | | Prov C | | | | |
|-------------------------------|--------|----|------|------|-------|--------|----|------|------|-------|--------|----|------|------|-------|
| | N | n | Med* | s | F < > | N | n | m | s | F < > | N | n | m | s | F < > |
| Alla svar | 23 | 18 | 3,08 | 0,89 | 5 0 0 | 23 | 23 | 4,62 | 0,48 | 0 0 0 | 23 | 21 | 4,11 | 0,34 | 2 0 0 |
| 17 och 7 °C, 20 h + 3 dygn | 8 | 6 | 3,19 | 0,82 | 2 0 0 | 8 | 8 | 4,49 | 0,74 | 0 0 0 | 8 | 7 | 3,85 | 0,40 | 1 0 0 |
| 6,5 °C, 10 dygn | 7 | 5 | 2,79 | 0,74 | 2 0 0 | 7 | 7 | 4,56 | 0,25 | 0 0 0 | 7 | 6 | 4,04 | 0,14 | 1 0 0 |
| 21-22 °C, 24 h | 6 | 5 | 3,04 | 0,42 | 1 0 0 | 6 | 6 | 4,77 | 0,25 | 0 0 0 | 6 | 6 | 4,31 | 0,07 | 0 0 0 |
| Övriga | 2 | 2 | - | - | 0 0 0 | 2 | 2 | - | - | 0 0 0 | 2 | 2 | - | - | 0 0 0 |

* Med = median

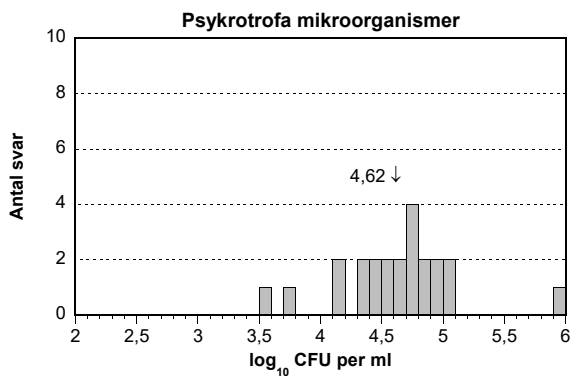
A



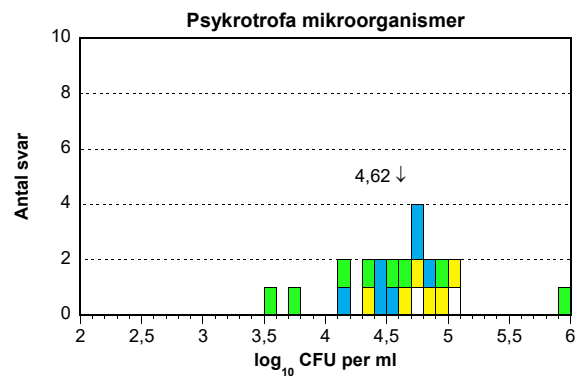
A



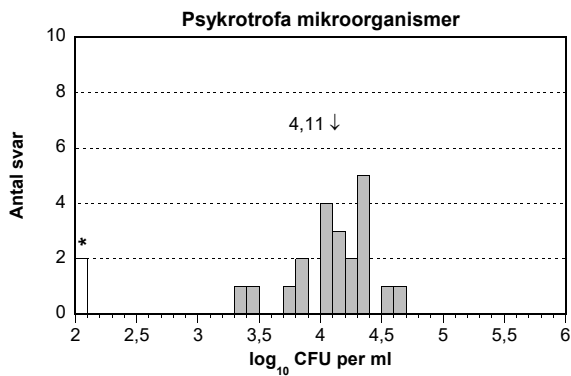
B



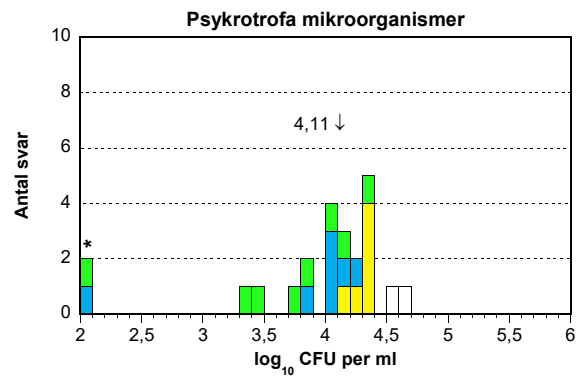
B



C



C



Enterobacteriaceae

Prov A

Ingen målorganism för analysen fanns i provet. Trots detta rapporterade 63 av 135 laboratorier (47 %) falskpositivt resultat.

Stammen av *A. hydrophila* är falskpositiv för analysen. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll observerades denna växa fram med lila kolonier på VRGG. *A. hydrophila* är dock oxidaspositiv och kan därmed särskiljas från Enterobacteriaceae efter konfirmering med oxidastest.

De falskpositiva resultaten kunde främst kopplas till användning av Petrifilm EB och TEMPO EB, även om många falskpositiva resultat också rapporterades av laboratorier som inkuberade på VRGG. De falskpositiva resultaten kunde också tydligt kopplas till laboratorier som inte utförde ett konfirmeringssteg.

Prov B

Ingen målorganism för analysen fanns i provet.

Det rapporterades tre falskpositiva resultat.

Prov C

Stammen av *E. coli* var målorganism och förekom med cirka \log_{10} 3,7 cfu ml⁻¹ i provet. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll växte denna fram på VRGG med typiska mörkröda kolonier omgivna av en utfällningszon av gallsalter. Stammen var också oxidasnegativ vid konfirmering. Inga andra kolonier observerades vid Livsmedelsverket på VRGG.

Det rapporterades sju låga och tre höga extremvärden, samt ett falsknegativt 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 (24 %), medan ISO-metoderna (olika versioner) totalt stod för 20 %. 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.

Andelen användare av den nya ISO 21528-2:2017 var högre än ISO 21528-2:2004 (10 % respektive 4 %). Som jämförelse angav sex laboratorier (4 %) den äldre ISO 21528-1:2004 medan endast ett angav den nya ISO 21528-1:2017.

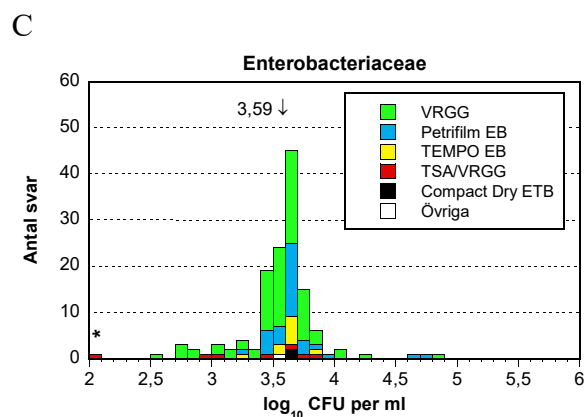
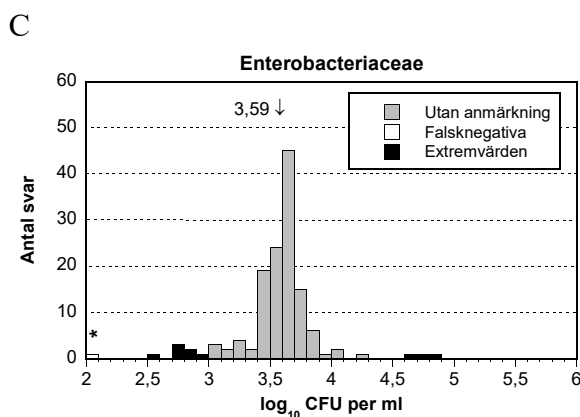
NMKL 144:2005 anger konfirmering av presumtiva kolonier på VRGG med oxidastest. ISO 21528-2:2017 anger konfirmering av presumtiva kolonier med både oxidastest och ett test för fermentering av glukos. Majoriteten av de laboratorier som här angav att de utförde konfirmering specificerade att denna bestod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

Förutom vad som nämnts om de falskpositiva resultaten för prov A, kunde inga tydliga skillnader ses i resultaten mellan de olika substrat och metoder som användes. Något

högre resultat för TEMPO EB har observerats vid flera tidigare provtillfällen, men en sådan trend kunde inte ses denna gång.

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 | 135 | 72 | - | - | 63 | - - | 135 | 132 | - | - | 3 | - - | 135 | 124 | 3,59 | 0,18 | 1 | 7 | 3 |
| VRGG | 83 | 54 | - | - | 29 | - - | 83 | 81 | - | - | 2 | - - | 82 | 75 | 3,58 | 0,20 | 0 | 6 | 1 |
| Petrifilm EB | 32 | 9 | - | - | 23 | - - | 32 | 32 | - | - | 0 | - - | 33 | 31 | 3,61 | 0,13 | 0 | 0 | 2 |
| TEMPO EB | 10 | 4 | - | - | 6 | - - | 10 | 10 | - | - | 0 | - - | 10 | 10 | 3,61 | 0,15 | 0 | 0 | 0 |
| TSA/VRGG | 7 | 4 | - | - | 3 | - - | 7 | 7 | - | - | 0 | - - | 7 | 5 | 3,54 | 0,29 | 1 | 1 | 0 |
| Compact Dry ETB | 2 | 1 | - | - | 1 | - - | 2 | 1 | - | - | 1 | - - | 2 | 2 | - | - | 0 | 0 | 0 |
| Övriga | 1 | 0 | - | - | 1 | - - | 1 | 1 | - | - | 0 | - - | 1 | 1 | - | - | 0 | 0 | 0 |



Escherichia coli

Prov A

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

Prov B

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

Prov C

Stammen av *E. coli* var målorganism och förekom med cirka \log_{10} 3,7 cfu ml⁻¹ i provet. Denna 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 bildade stammen både gas och indol i LTLSB. Stammen var även positiv för β -glukuronidas.

Det rapporterades ett lågt och tre höga extremvärden, samt två falsknegativa resultat.

Allmänt om analyserna

Totalt 30 % av laboratorierna angav att man använde någon form av metod baserad på 3TM PetrifilmTM. NMKL 125:2005 och ISO 16649-2:2001 användes som jämförelse av 32 % respektive 18 % 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.

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. Ett laboratorium angav NMKL 164:2005 (*E. coli* O157), vilket inte är korrekt. Denna metod finns dessutom i en reviderad upplaga, NMKL 164:2019. Det kan också nämnas att NMKL 125 är under revidering, och den nya versionen är tänkt att bli mer lik ISO 16649-2.

Definitionen av *E. coli* skiljer sig åt mellan metoderna. ISO 16649-2:2001 definierar *E. coli* som de bakterier som bildar typiska blå kolonier på TBX efter 18-24 h vid 44 °C. Den blå färgen på kolonierna beror på att β -glukuronidas hos *E. coli* reagerar med en indikator i substratet. Någon ytterligare konfirmering av β -glukuronidaspositiva kolonier görs inte enligt ISO 16649-2:2001. Även Petrifilm EC/CC och Petrifilm SEC använder substrat som detekterar β -glukuronidas hos *E. coli*. Plastfilmen 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*. Termotoleranta koliforma bakterier definieras som de som bildar typiska mörkröda kolonier omgivna av en röd utfällningszon på VRG efter 24 h vid 44 °C. Konfirmering sker genom inokulering i antingen EC eller LTLSB. I dessa båda substrat ger termotoleranta koliforma bakterier upphov till gasproduktion till följd av laktosfermentering. Som *E. coli* räknas sedan de termotoleranta koliforma bakterier som även producerar indol i antingen LTLSB eller tryptonbuljong.

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. Ingen uppenbar skillnad i resultat kunde dock ses mellan laboratorier som konfirmerade och de som inte gjorde det. De laboratorier som utförde konfirmering angav vanligen att denna bestod i test för produktion av gas eller indol.

Liksom vid tidigare kompetensprovningar fanns det för analysen av *E. coli* flera substrat som endast användes av ett mindre antal laboratorier. Dessa har grupperats 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 jämfört med övriga substrat. Detta har även observerats vid flera tidigare kompetensprovningar och får därför anses vara normalt.

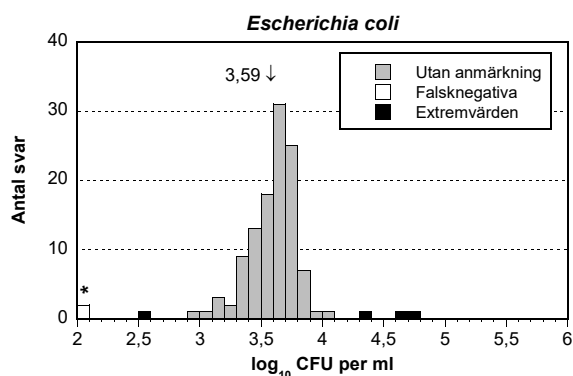
Inkubering skedde något oftare vid 41,5-44 °C (56 %) än vid 35-37 °C (42 %). Bland de laboratorier som inkuberade vid den högre temperaturen rapporterades totalt sju extremvärden och falska resultat, medan de som inkuberade vid den lägre temperaturen endast rapporterade två falska resultat. Medelvärdena för de båda temperaturgrupperna skiljde sig däremot inte åt.

Resultat från analys av *Escherichia coli*

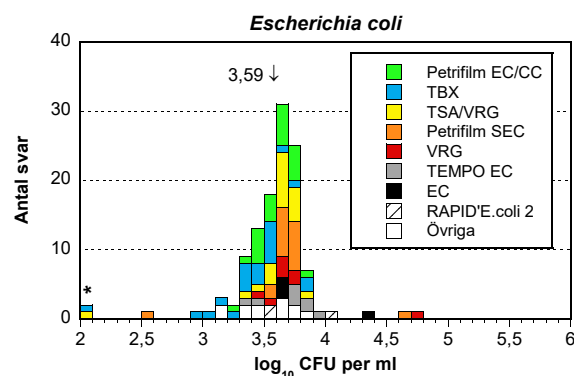
| Substrat | Prov A | | | | | | Prov B | | | | | | Prov C | | | | | | |
|-----------------|--------|-----|---|---|---|-----|--------|-----|---|---|---|-----|--------|-----|------|------|---|-----|---|
| | N | n | m | s | F | < > | N | n | m | s | F | < > | N | n | m | s | F | < > | |
| Alla svar | 119 | 117 | - | - | 2 | - - | 119 | 119 | - | - | 0 | - - | 118 | 112 | 3,59 | 0,19 | 2 | 1 | 3 |
| Petrifilm EC/CC | 23 | 22 | - | - | 1 | - - | 23 | 23 | - | - | 0 | - - | 23 | 23 | 3,58 | 0,14 | 0 | 0 | 0 |
| TBX | 23 | 22 | - | - | 1 | - - | 23 | 23 | - | - | 0 | - - | 22 | 21 | 3,46 | 0,24 | 1 | 0 | 0 |
| TSA/VRG | 20 | 20 | - | - | 0 | - - | 20 | 20 | - | - | 0 | - - | 20 | 19 | 3,63 | 0,12 | 1 | 0 | 0 |
| Petrifilm SEC | 17 | 17 | - | - | 0 | - - | 17 | 17 | - | - | 0 | - - | 18 | 16 | 3,68 | 0,08 | 0 | 1 | 1 |
| VRG | 8 | 8 | - | - | 0 | - - | 8 | 8 | - | - | 0 | - - | 8 | 7 | 3,66 | 0,11 | 0 | 0 | 1 |
| TEMPO EC | 8 | 8 | - | - | 0 | - - | 8 | 8 | - | - | 0 | - - | 8 | 8 | 3,69 | 0,21 | 0 | 0 | 0 |
| EC | 5 | 5 | - | - | 0 | - - | 5 | 5 | - | - | 0 | - - | 4 | 3 | - | - | 0 | 0 | 1 |
| RAPID'E.coli 2 | 3 | 3 | - | - | 0 | - - | 3 | 3 | - | - | 0 | - - | 3 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 |
| Övriga* | 12 | 12 | - | - | 0 | - - | 12 | 12 | - | - | 0 | - - | 12 | 12 | 3,52 | 0,24 | 0 | 0 | 0 |

* I gruppen Övriga ingick bland annat Brilliance EC/CC, Compact Dry EC/CC, CHROMID® och Rebecka agar.

C



C



Presumtiv *Bacillus cereus*

Prov A

Ingen målorganism för analysen fanns i provet. Stammen av *A. hydrophila* är falskpositiv för analysen och förekom med cirka \log_{10} 3,2 cfu ml⁻¹ i provet. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll bildade denna gråvita kolonier omgivna av hämolyszon på BA. Stammen kunde dock uteslutas efter konfirmering, eftersom den saknar utfällningszon på BcsA. Även stammen av *S. aureus* kan eventuellt växa fram med atypiska kolonier på BA och BcsA.

Det rapporterades sex falskpositiva resultat. Fem av dessa rapporterades av laboratorier som följde NMKL 67, men som inte ser ut att ha utfört någon konfirmering, något som ska utföras enligt metoden.

Prov B

Stammen av *B. cereus* var målorganism och förekom med cirka \log_{10} 4,1 cfu ml⁻¹ i provet. På BA växer denna fram med typiska kolonier med hämolyszon. På BcsA växer den fram med typiska blå kolonier omgivna av utfällningszon.

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

Prov C

Stammen av *B. cereus* (ej identisk med den i prov B) var målorganism, men även stammarna av *E. coli*, *L. plantarum* och *S. xylosus* som finns i provet kan växa fram på BA. Stammen av *B. cereus* förekom med cirka $\log_{10} 4,6$ cfu ml⁻¹ i provet. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll växte den fram på BA med typiska kolonier omgivna om hämolyszon. På BcsA växte den fram med typiska blå kolonier omgivna av utfällningszon.

Det rapporterades fyra låga och ett högt extremvärde, samt 13 falsknegativa resultat. De falsknegativa resultaten fördelade sig förhållandevis jämnt mellan de metoder och substrat som användes, men en överrepresentation kunde skönjas för laboratorier som angivit att de endast inkuberat på BcsA, samt laboratorier som använt Compact Dry X-BC.

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 och konfirmering sker genom utstryk på antingen BcsA eller Cereus-Ident-Agar. På BA växer *B. cereus* 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 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. Där 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, COMPASS® *Bacillus cereus* agar och BACARA™.

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. Substrat som endast angivits som "kromogent substrat" har lagts till gruppen Övriga. Trots dessa oklarheter i metodrapporteringen är resultat och medelvärden för de olika substrat- och metodgrupperna väldigt lika. Undantaget var tillsynes låga resultat för Compact Dry X-BC i prov B och C. För prov C rapporterade också två av de fem laboratorier som använde detta substrat falsknegativt resultat.

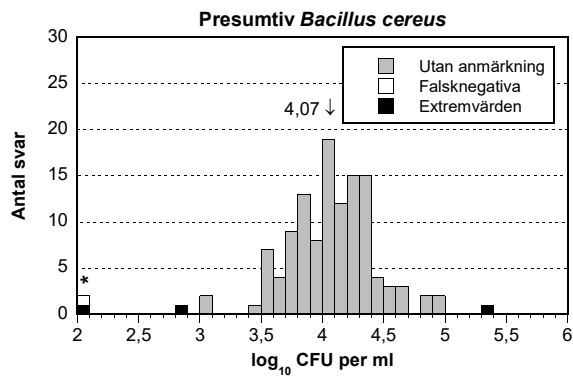
För ISO-metoden publicerades nyligen ett tillägg (ISO 7932:2004/Amd 1:2020) vilket innehåller valfria test bland annat för PCR-detektion av *cytK*-gener. Det kan också nämnas att NMKL 67 är planerad att genomgå en mindre revidering.

Resultat från analys av presumtiv *Bacillus cereus*

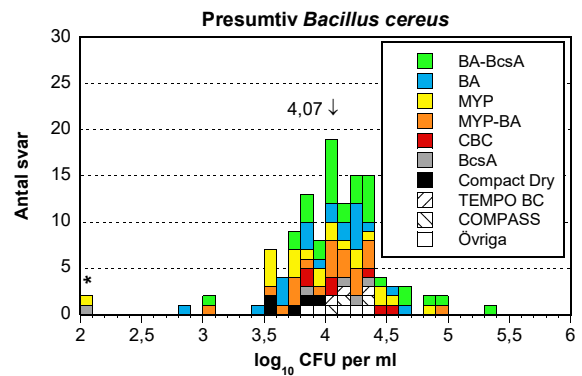
| Substrat | Prov A | | | | | | Prov B | | | | | | Prov C | | | | | | | |
|-------------------|--------|-----|---|---|---|-----|--------|-----|------|------|---|-----|--------|-----|-----|------|------|-----|---|---|
| | N | n | m | s | F | < > | N | n | m | s | F | < > | N | n | m | s | F | < > | | |
| Alla svar | 120 | 114 | - | - | 6 | - - | 123 | 119 | 4,07 | 0,33 | 1 | 2 | 1 | 120 | 102 | 4,29 | 0,27 | 13 | 4 | 1 |
| BA-BcsA | 31 | 31 | - | - | 0 | - - | 31 | 30 | 4,15 | 0,36 | 0 | 0 | 1 | 29 | 26 | 4,38 | 0,21 | 2 | 0 | 1 |
| BA | 21 | 16 | - | - | 5 | - - | 21 | 20 | 4,05 | 0,31 | 0 | 1 | 0 | 21 | 18 | 4,35 | 0,27 | 2 | 1 | 0 |
| MYP | 19 | 19 | - | - | 0 | - - | 21 | 20 | 4,02 | 0,37 | 0 | 1 | 0 | 20 | 16 | 4,14 | 0,33 | 2 | 2 | 0 |
| MYP-BA | 22 | 22 | - | - | 0 | - - | 22 | 22 | 4,02 | 0,36 | 0 | 0 | 0 | 22 | 22 | 4,38 | 0,20 | 0 | 0 | 0 |
| CBC | 6 | 6 | - | - | 0 | - - | 7 | 7 | 4,16 | 0,27 | 0 | 0 | 0 | 7 | 7 | 4,33 | 0,12 | 0 | 0 | 0 |
| BcsA | 5 | 5 | - | - | 0 | - - | 5 | 4 | - | - | 1 | 0 | 0 | 5 | 1 | - | - | 4 | 0 | 0 |
| Compact Dry X-BC | 5 | 4 | - | - | 1 | - - | 5 | 5 | - | - | 0 | 0 | 0 | 5 | 2 | - | - | 2 | 1 | 0 |
| TEMPO BC | 3 | 3 | - | - | 0 | - - | 3 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 |
| COMPASS B. cereus | 3 | 3 | - | - | 0 | - - | 3 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 |
| Övriga* | 5 | 5 | - | - | 0 | - - | 5 | 5 | - | - | 0 | 0 | 0 | 5 | 4 | - | - | 1 | 0 | 0 |

* I gruppen Övriga ingår BACARA™

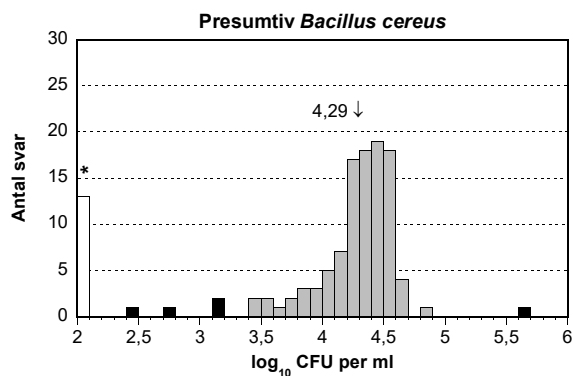
B



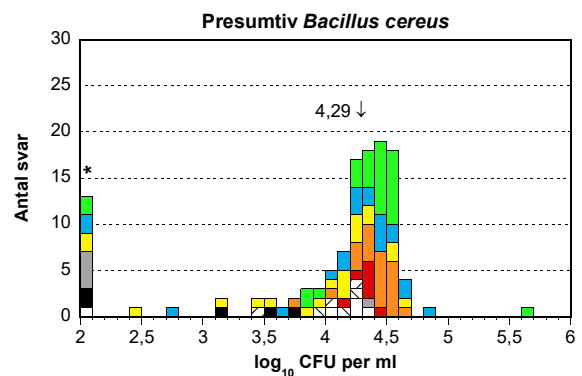
B



C



C



Koagulaspositiva stafylokocker

Prov A

Stammen av *S. aureus* var målorganism för analysen och förekom med cirka \log_{10} 4,2 cfu ml⁻¹ i provet. Vid Livsmedelsverkets kontroll växte denna fram på RPFA med typiska mörkgrå kolonier omgivna av koagulaszon. Stammen av *S. warneri* som också fanns i provet är falskpositiv för analysen. Den är koagulasnegativ och växte vid Livsmedelsverkets analyser fram på RPFA med atypiska blågrå kolonier utan koagulaszon.

Det rapporterades fyra låga och 22 höga extremvärden, samt tre falsknegativa resultat.

De höga extremvärdena beror sannolikt på detektion av *S. warneri*. Resultaten fördelade sig med två toppar, en huvudtopp motsvarande koncentrationen för *S. aureus* i provet (cirka \log_{10} 4,1 cfu ml⁻¹) och en mindre topp motsvarande *S. warneri* (cirka \log_{10} 4,7 cfu ml⁻¹).

De höga extremvärdena kunde nästan uteslutande kopplas till användning av BP. Eftersom koagulasaktiviteten inte testas på detta substrat behöver konfirmering utföras. Totalt 20 av de 22 laboratorier som rapporterade höga extremvärden angav också att de utförde någon form av konfirmering. Tio av dessa angav att denna bestod av rörkoagulastest, men även latexagglutinationstest var förhållandevis vanligt (fyra laboratorier).

Prov B

Ingen målorganism för analysen fanns i provet.

Det rapporterades sju falskpositiva resultat. De rapporterade koncentrationerna varierar mellan \log_{10} 1,78 och \log_{10} 4,57 cfu ml⁻¹, varför det är svårt att säga vilken/vilka mikroorganismer som räknats.

Prov C

Ingen målorganism fanns i provet. Den koagulasnegativa stammen av *S. xylosus* förekom dock som falskpositiv för analysen, med en koncentration av cirka \log_{10} 3,3 cfu ml⁻¹ i provet. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll växte denna fram på RPFA med atypiska kolonier utan koagulaszon.

Det rapporterades tolv falskpositiva resultat. Tre av dessa kom från laboratorier som rapporterade falskpositivt resultat även för prov B. De rapporterade koncentrationerna antyder att det är *S. xylosus* som räknats. De tolv felaktiga resultaten beror därför sannolikt på misslyckad eller utebliven (fyra laboratorier) konfirmering.

Allmänt om analyserna

De flesta laboratorier (44 %) använde NMKL 66:2009. Denna följdes av 3M™ Petrifilm™ (14 %), ISO 6888-1:1999 (16 %) och ISO 6888-2:1999 (6 %). 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). Tre av de 18 laboratorier som följde ISO 6888-1 angav att man följde detta tillägg.

NMKL 66:2009 föreskriver inkubering på BP och/eller RPFA. Konfirmering sker genom positivt utslag på koagulastest. Vid användning av RPFA testas istället koagulasaktiviteten direkt i substratet. Som jämförelse stipulerar ISO 6888-1 utstryk på

BP följt av konfirmering med koagulastest, 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. 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.

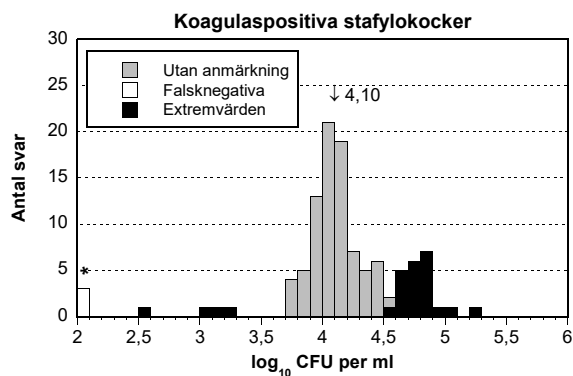
Resultaten var sammantaget väldigt lika för de vanligaste substraten BP, RPFA och Petrifilm Staph, i alla tre proven. Undantaget var de höga extremvärden för prov A som rapporterades huvudsakligen vid användning av BP. Något lägre medelvärden har vid tidigare kompetensprovningar ibland setts vid användning av Petrifilm Staph, men någon sådan tydligt skillnad kunde inte ses denna gång. Flera substrat användes av ett mindre antal laboratorier, vilket gör dem svåra att utvärdera. Bland dessa fanns EASY Staph®, TEMPO STA, Brilliance™ Staph 24, Compact Dry™ X-SA och RAPID'Staph.

Totalt 72 % av laboratorierna angav att de utförde någon form av konfirmering, vilken vanligen bestod av ett rörkoagulastest. 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. 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.

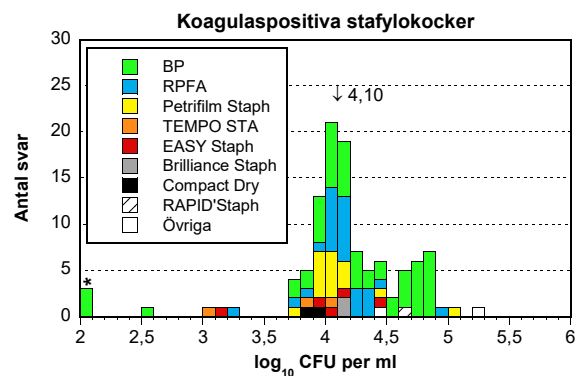
Resultat från analys av koagulaspositiva stafylokocker

| Substrat | Prov A | | | | | | Prov B | | | | | | Prov C | | | | | | | | |
|---------------------|--------|----|------|------|---|-----|--------|-----|-----|---|---|-----|--------|---|-----|----|---|-----|----|---|---|
| | N | n | m | s | F | < > | N | n | m | s | F | < > | N | n | m | s | F | < > | | | |
| Alla svar | 110 | 81 | 4,10 | 0,18 | 3 | 4 | 22 | 109 | 102 | - | - | 7 | - | - | 109 | 97 | - | - | 12 | - | - |
| BP | 53 | 31 | 4,11 | 0,19 | 3 | 1 | 18 | 53 | 51 | - | - | 2 | - | - | 53 | 46 | - | - | 7 | - | - |
| RPFA | 26 | 24 | 4,12 | 0,16 | 0 | 1 | 1 | 26 | 24 | - | - | 2 | - | - | 26 | 25 | - | - | 1 | - | - |
| Petrifilm Staph | 16 | 15 | 4,03 | 0,16 | 0 | 0 | 1 | 16 | 16 | - | - | 0 | - | - | 16 | 14 | - | - | 2 | - | - |
| EASY Staph | 5 | 4 | - | - | 0 | 1 | 0 | 5 | 4 | - | - | 1 | - | - | 5 | 4 | - | - | 1 | - | - |
| TEMPO STA | 3 | 2 | - | - | 0 | 1 | 0 | 3 | 3 | - | - | 0 | - | - | 3 | 3 | - | - | 0 | - | - |
| Brilliance Staph 24 | 2 | 2 | - | - | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | - | - | 0 | - | - | 2 | 2 | - | - | 0 | - | - |
| Compact Dry X-SA | 2 | 2 | - | - | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | - | - | 2 | - | - | 2 | 2 | - | - | 0 | - | - |
| RAPID'Staph | 1 | 0 | - | - | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | - | - | 0 | - | - | 1 | 0 | - | - | 1 | - | - |
| Övriga | 2 | 1 | - | - | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | - | - | 0 | - | - | 1 | 1 | - | - | 0 | - | - |

A



A



Mjölksyrabakterier

Prov A

Ingen målorganism för analysen fanns i provet.

Det rapporterades 15 falskpositiva resultat. De rapporterade koncentrationerna antyder att åtminstone hälften av dessa beror på detektion av antingen *S. aureus* och/eller *S. warneri*, vilka eventuellt kan växa fram med små kolonier på MRS och MRS-aB.

Flertalet av de falskpositiva resultaten rapporterades av laboratorier som inkuberade på MRS eller MRS-aB. Som jämförelse rapporterades inga falskpositiva resultat av de laboratorier som inkuberade på Rogosa, eller som använde TEMPO LAB.

Prov B

Ingen målorganism för analysen fanns i provet.

Det rapporterades 25 falskpositiva resultat. Dessa fördelade sig förhållandevis jämnt i ett intervall från log₁₀ 0,18 cfu ml⁻¹ till log₁₀ 5,18 cfu ml⁻¹, varför det är svårt att hitta en entydig förklaring till dem. Vid Livsmedelsverkets kontroll av provblandningen observerades inte någon växt på MRS-aB.

Konfirmering ser inte ut att ha haft någon inverkan på utfallet. Däremot rapporterades precis som för prov A flertalet av de falskpositiva resultaten av laboratorier som inkuberade på MRS eller MRS-aB. Inga falskpositiva resultat rapporterades däremot av de laboratorier som inkuberade på Rogosa, eller som använde TEMPO LAB.

Prov C

Stammen av *L. plantarum* var målorganism och förekom med en koncentration av cirka log₁₀ 3,6 cfu ml⁻¹ i provet. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll växte denna fram på MRS-aB med typiska vita kolonier. Stammen är grampositiv och katalasnegativ. Stammarna av *B. cereus* och *S. xylosus* som finns i provet kan eventuellt växa fram med små kolonier på MRS-aB. De kan dock uteslutas efter konfirmering med katalastest.

Det rapporterades ett högt extremvärde och två falsknegativa resultat.

Allmänt om analyserna

Huvuddelen av laboratorier angav att de följde NMKL 140, antingen NMKL 140:2007 (39 %), eller den äldre NMKL 140:1991 (13 %). Den äldre metoden föreskriver utspridning på MRS-S, medan den nyare metoden föreskriver MRS-aB. ISO

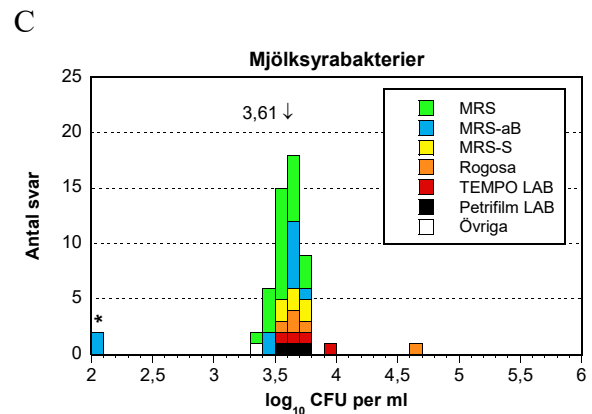
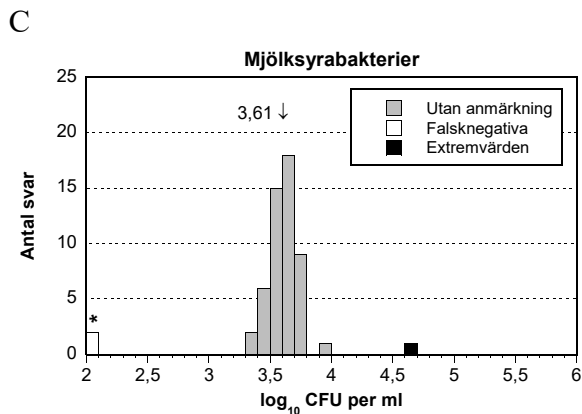
15214:1998, vilken istället föreskriver ingjutning i MRS, användes av 13 % av laboratorierna. På både MRS-S och MRS-aB växer mjölksyrabakterier normalt fram som 1,5-2 mm stora grå-vita kolonier. På Petrifilm LAB växer mjölksyrabakterier fram med röda kolonier. Plattorna möjliggör även distinktion mellan gasbildande (heterofermentativa) och icke-gasbildande (homofermentativa) mjölksyrabakterier. ISO 15214:1998 granskades av ISO senast år 2015, men granskningen föranledde inga förändringar. NMKL 140 är däremot upptagen för revidering, bland annat för översyn av konfirmeringsstegen. Två laboratorier angav ISO 7889 / IDF 117, vilket är en metod för karaktäristiska mikroorganismer i yoghurt vid 37°C.

Mjölksyrabakterier utgör en heterogen grupp mikroorganismer, och 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 det mer sura substratet 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. Möjligen kan detta ha bidragit till de falskpositiva resultaten vid användning av MRS-aB i prov A och B. Här kan också noteras att två av de tre laboratorier som använde Petrifilm LAB rapporterade falskpositivt resultat för både prov A och prov B.

Både ISO- och NMKL-metoderna 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 (54 %) av laboratorierna. Oftast bestod denna av ett katalastest, men även gramfärgning var vanligt förekommande. Som helhet verkar utförande av konfirmering inte haft någon avgörande skillnad på resultatet. Resultaten med anmärkning fördelar sig även förhållandevis proportionellt mellan laboratorier som konfirmerade och de som inte gjorde det, för samtliga tre prov.

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 | 54 | 39 | - | - | 15 | - - | 54 | 29 | - | - | 25 | - - | 54 | 51 | 3,61 | 0,11 | 2 | 0 | 1 |
| MRS | 24 | 17 | - | - | 7 | - - | 24 | 11 | - | - | 13 | - - | 24 | 24 | 3,58 | 0,10 | 0 | 0 | 0 |
| MRS-aB | 11 | 5 | - | - | 6 | - - | 11 | 4 | - | - | 7 | - - | 11 | 9 | 3,62 | 0,11 | 2 | 0 | 0 |
| MRS-S | 6 | 6 | - | - | 0 | - - | 6 | 4 | - | - | 2 | - - | 6 | 6 | 3,64 | 0,07 | 0 | 0 | 0 |
| Rogosa | 5 | 5 | - | - | 0 | - - | 5 | 5 | - | - | 0 | - - | 5 | 4 | - | - | 0 | 0 | 1 |
| TEMPO LAB | 4 | 4 | - | - | 0 | - - | 4 | 4 | - | - | 0 | - - | 4 | 4 | - | - | 0 | 0 | 0 |
| Petrifilm LAB | 3 | 1 | - | - | 2 | - - | 3 | 1 | - | - | 2 | - - | 3 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 |
| Övriga | 1 | 1 | - | - | 0 | - - | 1 | 0 | - | - | 1 | - - | 1 | 1 | - | - | 0 | 0 | 0 |



Clostridium perfringens

Prov A

Stammen av *C. perfringens* var målorganism och förekom med en koncentration av cirka $\log_{10} 3,1 \text{ cfu ml}^{-1}$ i provet. Vid Livsmedelsverkets kontroll växte denna fram med svarta kolonier på TSC. Stammen är orörlig och jäser laktos.

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

Prov B

Stammen av *C. perfringens* (identisk med den i prov A) var målorganism och förekom med en koncentration av cirka $\log_{10} 2,6 \text{ cfu ml}^{-1}$ i provet.

Det rapporterades tre falsknegativa resultat.

Prov C

Ingen målorganism för analysen fanns i provet.

Det rapporterades ett falskpositivt resultat.

Allmänt om analyserna

Majoriteten av laboratorierna (67 %) följde NMKL 95:2009. Ett laboratorium angav den äldre NMKL 95:2006. ISO 7937:2004 följdes av 25 % av laboratorierna. Ytterligare ett laboratorium angav att de analyserade enligt NMKL 56:2015 (Sulfitreducerande klostridier). Denna metod inkluderar detektion av *C. perfringens* genom en hänvisning till konfirmeringstegen 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 (90 %) angav här att de använde TSC. På TSC bildar *C. perfringens* svarta kolonier, efter anaerob inkubering vid 37 °C. Förutom TSC användes mCP, SC, JSA och SPS av ett laboratorium vardera. Det låga antalet användare av dessa substrat gör att det är svårt att göra jämförelser med TSC. Laboratoriet som inkuberade på SPS rapporterade visserligen falsknegativt för prov A och falskpositivt för prov C, men detta beror

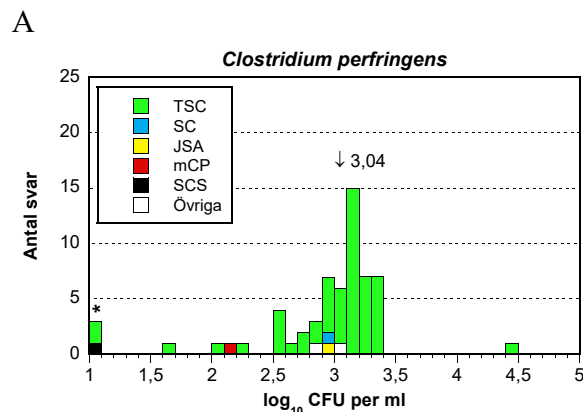
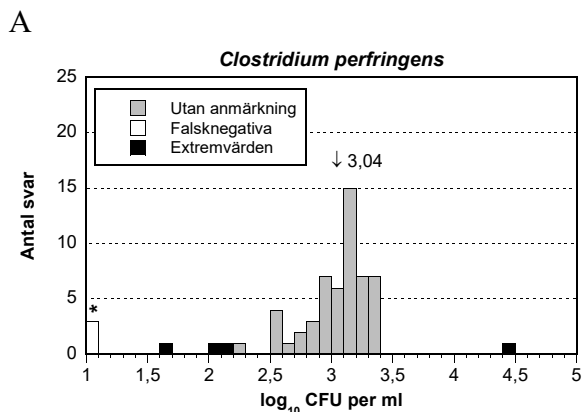
sannolikt på sammanblandning av dessa prov vid analysen. Det kan dock i sammanhanget nämnas ett par studier som rekommenderat TSC för analyser av *C. perfringens* i livsmedel (2, 3).

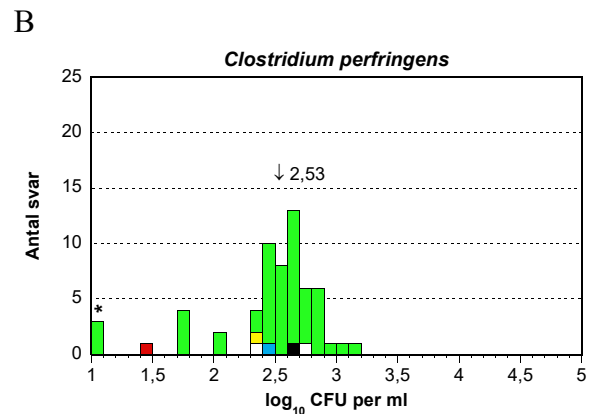
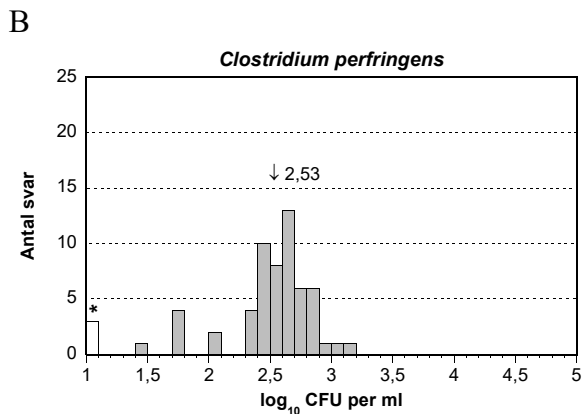
Med NMKL 95:2009 konfirmeras misstänkta och typiska kolonier genom rörlighetstest och test av laktosfermentering. *C. perfringens* är orörlig och bildar syra och gas till följd av laktosfermentering. Metoden för konfirmering är liknande i ISO 7937:2004. *C. perfringens* kan också konfirmeras genom att den vid anaerob inkubering på BA bildar dubbla hämolyszoner. Totalt angav 93 % av laboratorierna att de utförde någon form av konfirmering. Vanliga förekommande metoder för denna var rörlighetstest, test av laktosfermentering, test för hämolys på BA, samt frånvaro av växt i aerob miljö.

Majoriteten av laboratorierna (93 %) inkuberade vid 37 °C. Tre laboratorier (5 %) inkuberade vid 44 °C och ett laboratorium vid 30 °C. *C. perfringens* växer normalt vid såväl 37 °C som vid 44 °C och även om antalet som inkuberade vid 44 °C var lågt, ser temperaturen inte ut att haft en 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 | 60 | 53 | 3,04 | 0,24 | 3 | 3 | 1 | 60 | 57 | 2,53 | 0,33 | 3 | 0 | 0 | 58 | 57 | - | - | 1 | - | - |
| TSC | 54 | 49 | 3,05 | 0,25 | 2 | 2 | 1 | 54 | 51 | 2,55 | 0,31 | 3 | 0 | 0 | 52 | 52 | - | - | 0 | - | - |
| SC | 1 | 1 | - | - | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | - | - | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | - | - | 0 | - | - |
| JSA | 1 | 1 | - | - | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | - | - | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | - | - | 0 | - | - |
| mCP | 1 | 0 | - | - | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | - | - | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | - | - | 0 | - | - |
| SPS | 1 | 0 | - | - | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | - | - | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | - | - | 1 | - | - |
| Övriga | 2 | 2 | - | - | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | - | - | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | - | - | 0 | - | - |





Anaeroba sulfitreducerande bakterier

Prov A

Stammen av *C. perfringens* var målorganism och förekom med en koncentration av cirka $\log_{10} 3,1 \text{ cfu ml}^{-1}$ i provet. Vid Livsmedelsverkets kontroll växte denna fram med svarta kolonier på JSA. Svärtningen var något mindre tydlig efter 48 timmar, jämfört med efter 24 timmar. Låga resultat kan därför bero på om avläsning endast gjorts efter 48 timmar.

Det rapporterades ett lågt och två höga extremvärden, samt ett falsknegativt resultat.

Prov B

Stammen av *C. perfringens* (identisk med den i prov A) var målorganism och förekom med en koncentration av cirka $\log_{10} 2,6 \text{ cfu ml}^{-1}$ i provet.

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

Prov C

Ingen målorganism för analysen fanns i provet.

Det rapporterades inga falskpositiva resultat.

Allmänt om analyserna

Som tidigare följde majoriteten av laboratorierna någon version av NMKL 56. Andelen användare av den nya NMKL 56:2015 var något högre än tidigare och metoden följdes nu av totalt 16 % av laboratorierna. Flertalet angav dock fortfarande antingen NMKL 56:2008 (47 %), eller den betydligt äldre NMKL 56:1994 (6 %). 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. Tre laboratorier 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 dock identifieras.

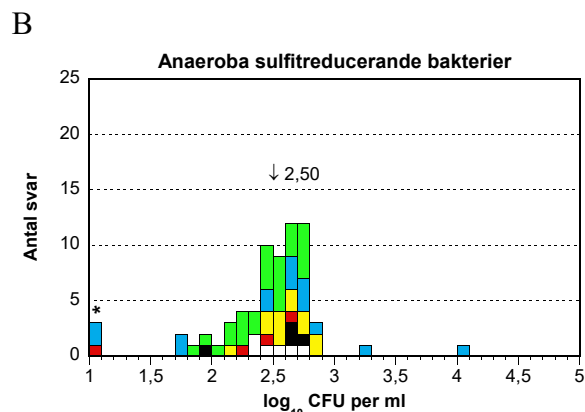
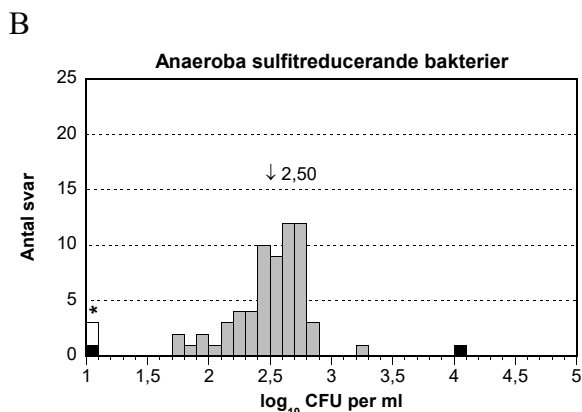
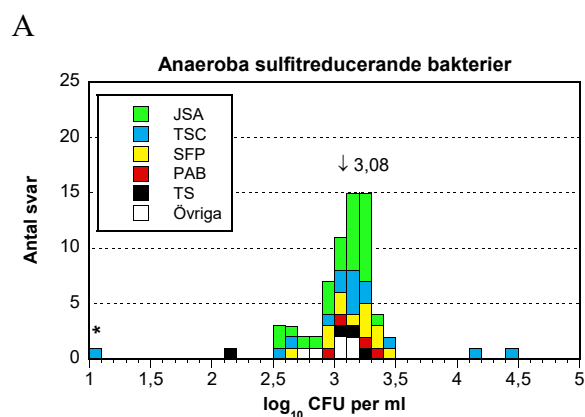
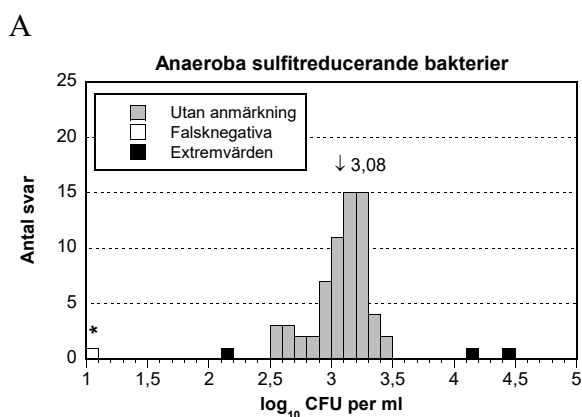
Både NMKL 56:2015 och ISO 15213:2003 föreskriver ingjutning i JSA, vilket också var det mest använda substratet. På JSA räknas svarta kolonier (eventuellt omgivna av

en svart zon) som sulfitreducerande bakterier. Den svarta färgen kommer från att bildad H_2S reagerar med Fe^{3+} i substratet, vilket resulterar i utfällning av svart järnsulfid. Växt av anaeroba bakterier som endast producerar väte (och inte H_2S) 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. Användning av TSC gav visserligen relativt sett många extremvärden och falsknegativa resultat för prov A och B, 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 | 68 | 64 | 3,08 | 0,21 | 1 | 1 | 2 | 68 | 64 | 2,50 | 0,28 | 2 | 1 | 1 | 69 | 69 | - | - | 0 | - | - |
| JSA | 27 | 27 | 3,05 | 0,22 | 0 | 0 | 0 | 27 | 27 | 2,44 | 0,26 | 0 | 0 | 0 | 28 | 28 | - | - | 0 | - | - |
| TSC | 15 | 12 | 3,07 | 0,25 | 1 | 0 | 2 | 15 | 12 | 2,55 | 0,41 | 1 | 1 | 1 | 15 | 15 | - | - | 0 | - | - |
| SFP | 12 | 12 | 3,14 | 0,21 | 0 | 0 | 0 | 12 | 12 | 2,59 | 0,18 | 0 | 0 | 0 | 12 | 12 | - | - | 0 | - | - |
| PAB | 4 | 4 | - | - | 0 | 0 | 0 | 4 | 3 | - | - | 1 | 0 | 0 | 4 | 4 | - | - | 0 | - | - |
| TS | 4 | 3 | - | - | 0 | 1 | 0 | 4 | 4 | - | - | 0 | 0 | 0 | 4 | 4 | - | - | 0 | - | - |
| Övriga | 6 | 6 | 3,01 | 0,15 | 0 | 0 | 0 | 6 | 6 | 2,50 | 0,16 | 0 | 0 | 0 | 6 | 6 | - | - | 0 | - | - |



Aeroba mikroorganismer i fiskprodukter, 20-25 °C

Prov A

Stammarna av *A. hydrophila*, *S. warneri*, *S. aureus* och *S. putrefaciens* var målorganismer.

Det rapporterades inga extremvärden och inga falsknegativa resultat.

Prov B

Samtliga stammar i provet var målorganismer.

Det rapporterades inga extremvärden och inga falsknegativa resultat.

Prov C

Stammarna av *B. cereus*, *L. plantarum*, *E. coli* och *S. xylosus* var målorganismer.

Det rapporterades ett lågt extremvärde.

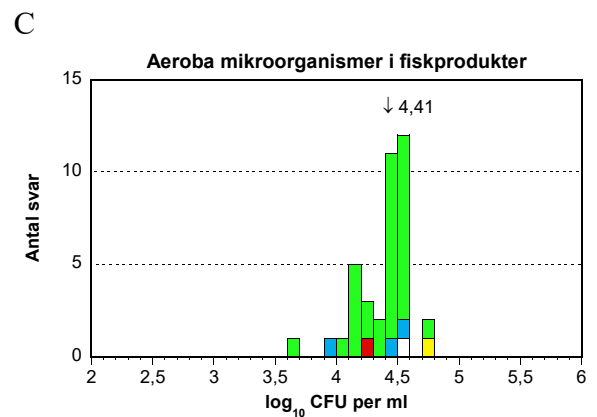
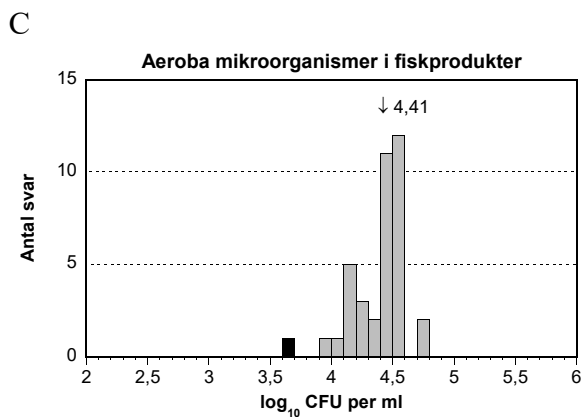
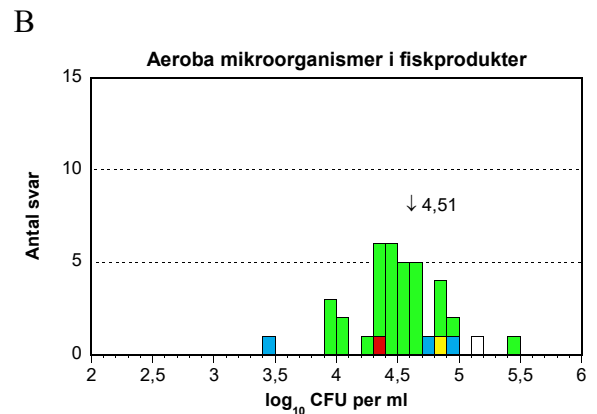
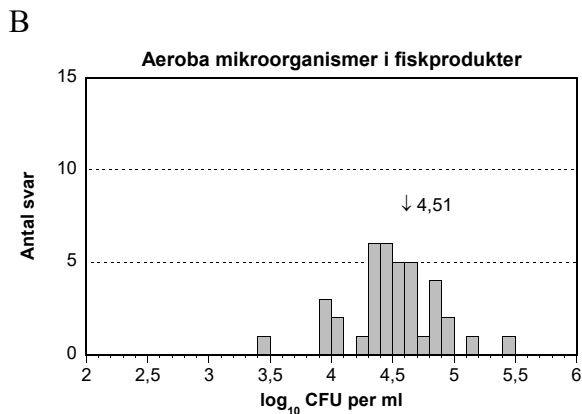
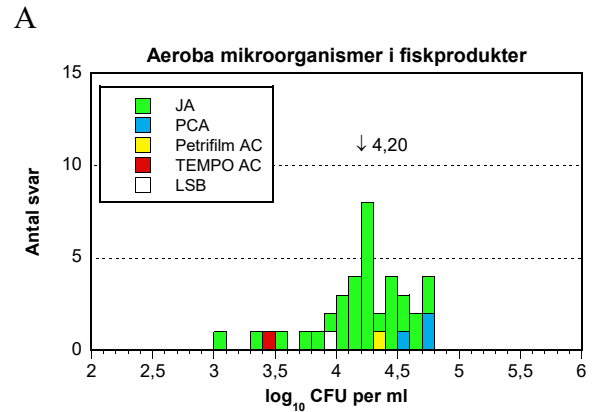
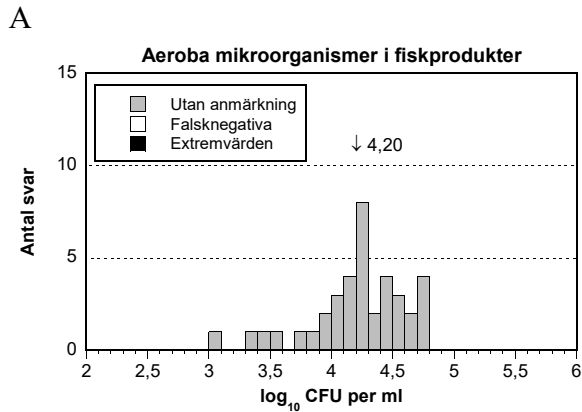
Allmänt om analyserna

Majoriteten av laboratorierna (84 %) följde metoden för aeroba mikroorganismer och förruttelsebakterier i fisk och fiskprodukter, NMKL 184:2006. Metoden föreskriver ingjutning i JA, vilket också användes av majoriteten av laboratorierna (84 %). Två laboratorier följde NMKL 86 ("Aeroba mikroorganismer i livsmedel") och inkuberade därvid 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.

Det kan här nämnas att NMKL 184:2006 också beskriver inkubering på Long & Hammer-agar för detektion av psykrotrofa och värmekänsliga mikroorganismer. Inkubering sker i detta fall vid 15 °C, vilket kan vara fördelaktigt vid analys av färsk fiskfärs och lättkonserverade fiskprodukter.

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 | 38 | 38 | 4,20 | 0,41 | 0 | 0 | 0 | 38 | 38 | 4,51 | 0,37 | 0 | 0 | 0 | 38 | 37 | 4,41 | 0,18 | 0 | 1 | 0 |
| JA | 32 | 32 | 4,18 | 0,38 | 0 | 0 | 0 | 32 | 32 | 4,49 | 0,31 | 0 | 0 | 0 | 32 | 31 | 4,41 | 0,17 | 0 | 1 | 0 |
| PCA | 3 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | - | - | 0 | 0 | 0 |
| Petrifilm AC | 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 |
| LSB | 1 | 1 | - | - | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | - | - | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | - | - | 0 | 0 | 0 |



Vätesulfidproducerande bakterier i fiskprodukter

Prov A

Stammen av *S. putrefaciens* var målorganism för analysen. Vid Livsmedelsverkets kontroll växte denna fram med svarta kolonier på JA, och med en koncentration av cirka $\log_{10} 4,1 \text{ cfu ml}^{-1}$.

Det rapporterades inga extremvärden och inga falsknegativa resultat.

Prov B

Stammen av *S. putrefaciens* (identisk med den i prov A) var målorganism för analysen. Vid Livsmedelsverkets kontroll växte denna fram på JA med en koncentration på cirka \log_{10} 3,6 cfu ml⁻¹.

Det rapporterades tre låga extremvärden och tre falsknegativa resultat.

Prov C

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

Det rapporterades inga falskpositiva resultat.

Allmänt om analyserna

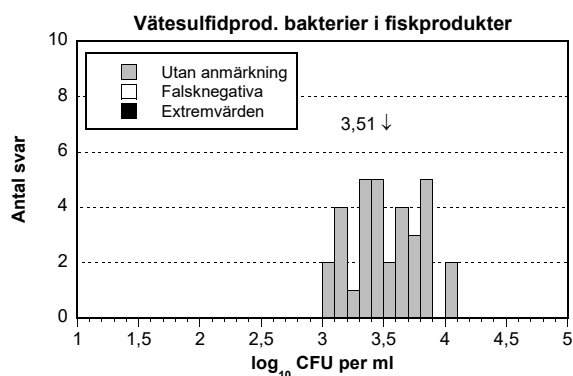
Majoriteten av laboratorierna (97 %) följde metoden för aeroba mikroorganismer och förruttelsebakterier i fisk och fiskprodukter, NMKL 184:2006. Metoden föreskriver ingjutning i JA, vilket följaktligen också användes av majoriteten av laboratorierna (97 %). Ett laboratorium följde NMKL 96:2003 ("Mikrobiologiska undersökningar i färska 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.

Eftersom majoriteten av laboratorierna följde NMKL 184:2006 och inkuberade på järnagar, har inga skillnader i resultat mellan använd metod och substrat identifierats.

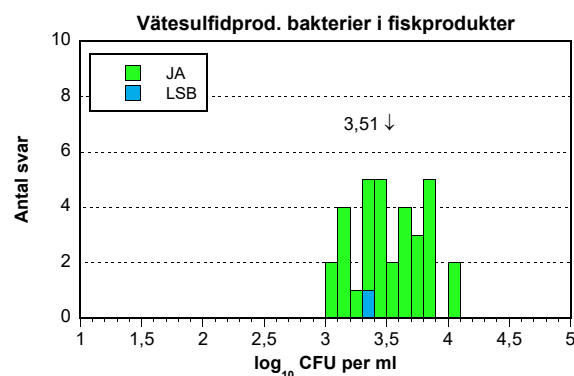
Resultat från analys av vätesulfidproducerande bakterier i fiskprodukter

| Substrat | Prov A | | | | | | Prov B | | | | | | Prov C | | | | | |
|-----------|--------|----|------|------|---|-----|--------|----|------|------|---|-----|--------|----|---|---|---|-----|
| | N | n | m | s | F | < > | N | n | m | s | F | < > | N | n | m | s | F | < > |
| Alla svar | 33 | 33 | 3,51 | 0,29 | 0 | 0 0 | 32 | 26 | 2,83 | 0,42 | 3 | 3 0 | 32 | 32 | - | - | 0 | - |
| JA | 32 | 32 | 3,52 | 0,29 | 0 | 0 0 | 31 | 25 | 2,85 | 0,42 | 3 | 3 0 | 31 | 31 | - | - | 0 | - |
| LSB | 1 | 1 | - | - | 0 | 0 0 | 1 | 1 | - | - | 0 | 0 0 | 1 | 1 | - | - | 0 | - |

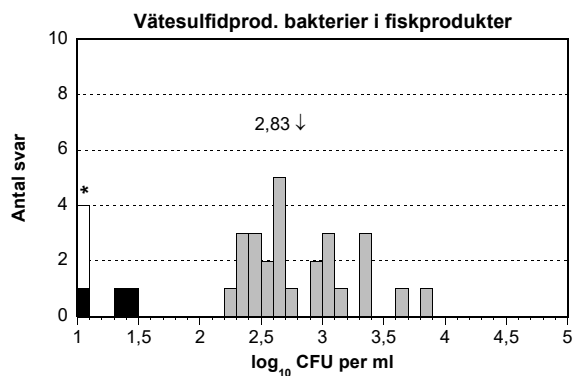
A



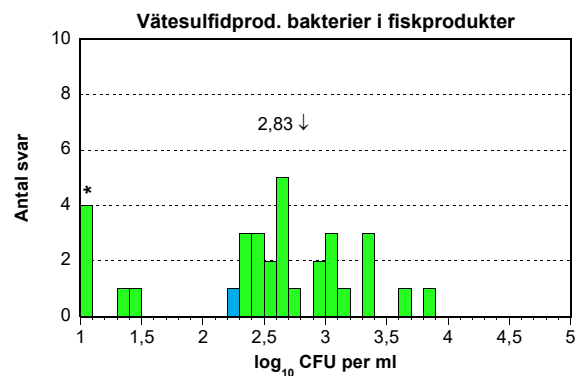
A



B



B



Jäst och mögel

Prov A

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

Det rapporterades två falskpositiva resultat för analysen av jäst och tre falskpositiva resultat för analysen av mögel.

Prov B

Stammen av *H. uvarum* var målorganism för analysen av jäst och stammen av *A. flavus* för analysen av mögel. De förekom med cirka log₁₀ 2,4 respektive log₁₀ 2,3 cfu ml⁻¹ i provet.

För analysen av jäst rapporterades två låga och fem höga extremvärden, samt tre falsknegativa resultat.

För analysen av mögel rapporterades ett lågt och fyra höga extremvärden, samt två falsknegativa resultat.

Prov C

Stammen av *K. marxianus* var målorganism för analysen av jäst och stammen av *C. cladosporioides* för analysen av mögel. De förekom med cirka log₁₀ 2,5 respektive log₁₀ 2,2 cfu ml⁻¹ i provet.

Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll växte *K. marxianus* fram med blanka mjölkvita kolonier på DG18 och med blanka rosa kolonier på DRBC. *C. cladosporioides* växte fram med typiska mörkgröna kolonier på både DG18 och DRBC.

För analysen av jäst rapporterades två låga och sex höga extremvärden, samt ett falsknegativt resultat.

För analysen av mögel rapporterades ett lågt och ett högt extremvärde, samt tio falsknegativa resultat. De falsknegativa resultaten kunde inte uppenbart kopplas till användning av någon specifik metod eller substrat.

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. Med ISO 21527 sker en uppdelning beroende på livsmedlets vattenaktivitet (a_w) och ISO 21527-1:2008 använder därför DRBC medan ISO 21527-2:2008 använder DG18. Generellt rekommenderas DRBC för livsmedel med $a_w > 0,95$ (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). OGYE rekommenderas om endast jäst ska analyseras.

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. Det därför svårt att dra några säkra slutsatser om eventuella skillnader i resultat för dessa.

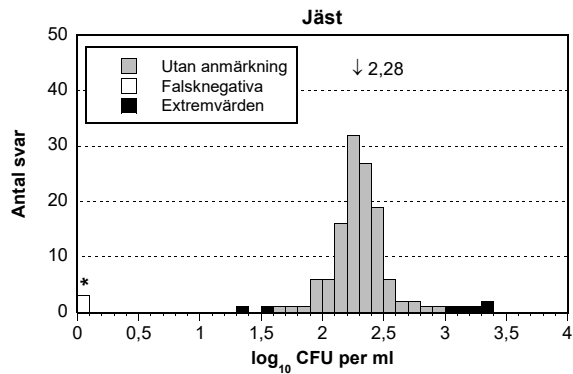
Fyra laboratorier angav att de använde TEMPO YM, ibland i kombination med andra metoder/substrat. Resultaten från dessa laboratorier har inkluderats i utvärderingen, men de har sannolikt ibland fallit ut som extremvärden eller falska resultat endast beroende på att metodiken i TEMPO YM ger ett kombinerat resultat för jäst/mögel. Rapportering av ett kombinerat värde för jäst och mögel kan i nuläget inte hanteras vid analysen av laboratoriernas resultat – och sådana resultat behöver därför utvärderas av laboratorerna själva.

Resultat från analys av jäst

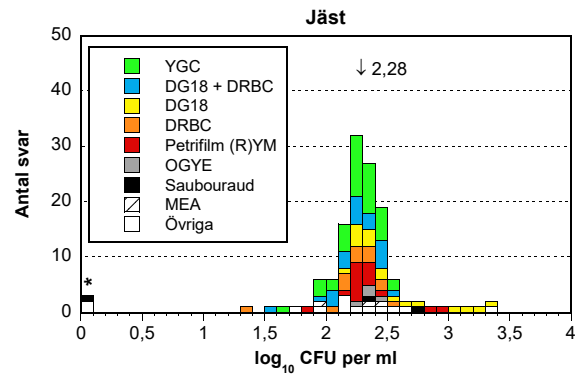
| Substrat | Prov A | | | | | | Prov B | | | | | | Prov C | | | | | |
|-------------------|--------|-----|---|---|---|-----|--------|-----|------|------|---|-----|--------|-----|------|------|---|-----|
| | N | n | m | s | F | < > | N | n | m | s | F | < > | N | n | m | s | F | < > |
| Alla svar | 131 | 129 | - | - | 2 | - - | 131 | 121 | 2,28 | 0,20 | 3 | 2 5 | 130 | 121 | 2,25 | 0,15 | 1 | 2 6 |
| YGC | 39 | 39 | - | - | 0 | - - | 39 | 39 | 2,24 | 0,18 | 0 | 0 0 | 38 | 36 | 2,26 | 0,14 | 1 | 1 0 |
| DG18 + DRBC | 22 | 22 | - | - | 0 | - - | 22 | 21 | 2,26 | 0,17 | 0 | 1 0 | 21 | 20 | 2,24 | 0,14 | 0 | 1 0 |
| DG18 | 17 | 17 | - | - | 0 | - - | 17 | 13 | 2,38 | 0,18 | 0 | 0 4 | 17 | 14 | 2,20 | 0,15 | 0 | 0 3 |
| DRBC | 14 | 13 | - | - | 1 | - - | 14 | 13 | 2,27 | 0,14 | 0 | 1 0 | 14 | 14 | 2,25 | 0,16 | 0 | 0 0 |
| Petriefilm YM/RYM | 16 | 16 | - | - | 0 | - - | 16 | 16 | 2,34 | 0,24 | 0 | 0 0 | 16 | 16 | 2,27 | 0,14 | 0 | 0 0 |
| OGYE | 5 | 5 | - | - | 0 | - - | 4 | 4 | - | - | 0 | 0 0 | 5 | 5 | - | - | 0 | 0 0 |
| Saubouraud | 3 | 2 | - | - | 1 | - - | 3 | 2 | - | - | 1 | 0 0 | 3 | 2 | - | - | 0 | 0 1 |
| MEA | 3 | 3 | - | - | 0 | - - | 3 | 3 | - | - | 0 | 0 0 | 3 | 1 | - | - | 0 | 0 2 |
| Övriga* | 12 | 12 | - | - | 0 | - - | 13 | 10 | 2,24 | 0,27 | 2 | 0 1 | 13 | 13 | 2,28 | 0,20 | 0 | 0 0 |

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

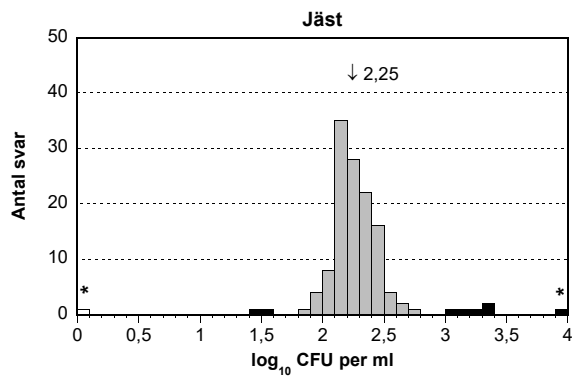
B



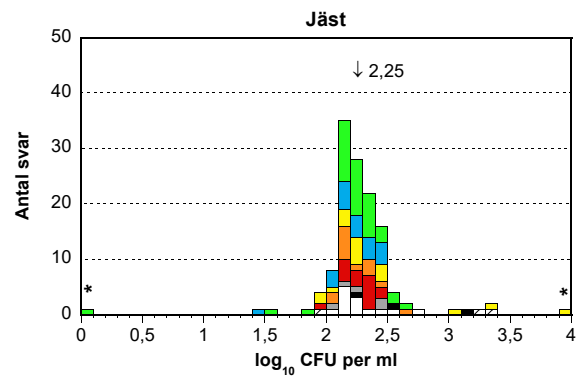
B



C



C

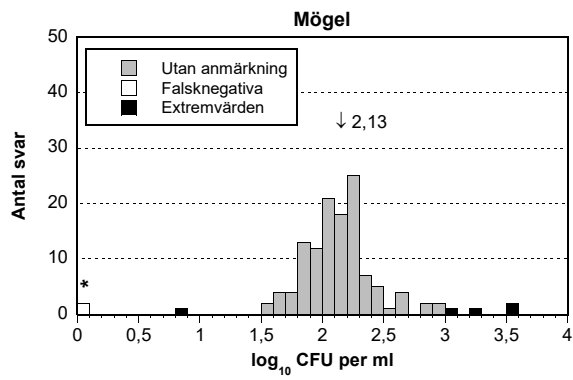


Resultat från analys av mögel

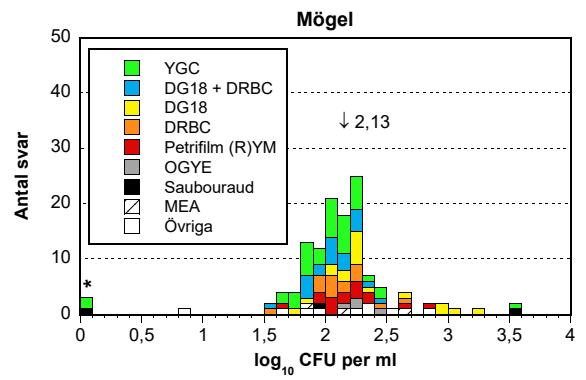
| Substrat | Prov A | | | | | | Prov B | | | | | | Prov C | | | | | |
|------------------|--------|-----|---|---|---|-----|--------|-----|------|------|---|-----|--------|-----|------|------|----|-----|
| | N | n | m | s | F | < > | N | n | m | s | F | < > | N | n | m | s | F | < > |
| Alla svar | 127 | 124 | - | - | 3 | - - | 127 | 120 | 2,13 | 0,27 | 2 | 1 4 | 125 | 113 | 1,84 | 0,28 | 10 | 1 1 |
| YGC | 39 | 39 | - | - | 0 | - - | 39 | 37 | 2,04 | 0,20 | 1 | 0 1 | 38 | 35 | 1,72 | 0,31 | 3 | 0 0 |
| DG18 + DRBC | 20 | 20 | - | - | 0 | - - | 21 | 21 | 2,07 | 0,21 | 0 | 0 0 | 19 | 18 | 1,72 | 0,21 | 1 | 0 0 |
| DG18 | 18 | 18 | - | - | 0 | - - | 18 | 16 | 2,26 | 0,34 | 0 | 0 2 | 18 | 16 | 2,01 | 0,28 | 1 | 0 1 |
| DRBC | 15 | 14 | - | - | 1 | - - | 15 | 15 | 2,11 | 0,25 | 0 | 0 0 | 15 | 15 | 1,89 | 0,25 | 0 | 0 0 |
| Petrifilm YM/RYM | 15 | 15 | - | - | 0 | - - | 15 | 15 | 2,20 | 0,30 | 0 | 0 0 | 15 | 13 | 1,83 | 0,16 | 2 | 0 0 |
| OGYE | 5 | 5 | - | - | 0 | - - | 4 | 4 | - | - | 0 | 0 0 | 5 | 5 | - | - | 0 | 0 0 |
| Saubouraud | 3 | 2 | - | - | 1 | - - | 3 | 1 | - | - | 1 | 0 1 | 3 | 3 | - | - | 0 | 0 0 |
| MEA | 3 | 3 | - | - | 0 | - - | 3 | 3 | - | - | 0 | 0 0 | 3 | 3 | - | - | 0 | 0 0 |
| Övriga* | 9 | 8 | - | - | 1 | - - | 9 | 8 | 2,22 | 0,41 | 0 | 1 0 | 9 | 5 | 1,87 | 0,27 | 3 | 1 0 |

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

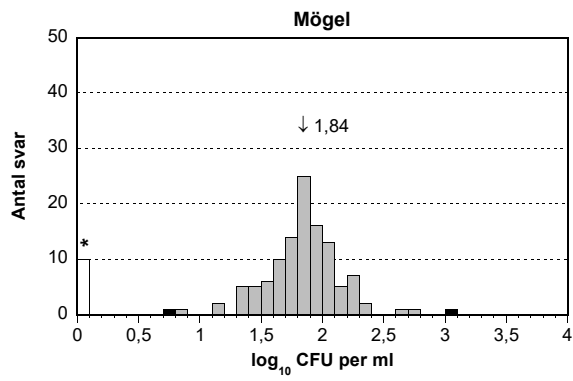
B



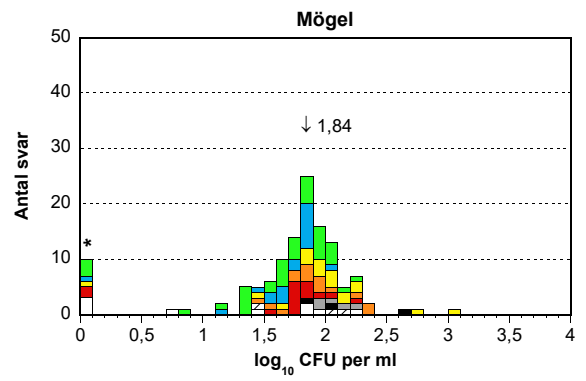
B



C



C



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

Z-värden, box-diagram och avvikande svar

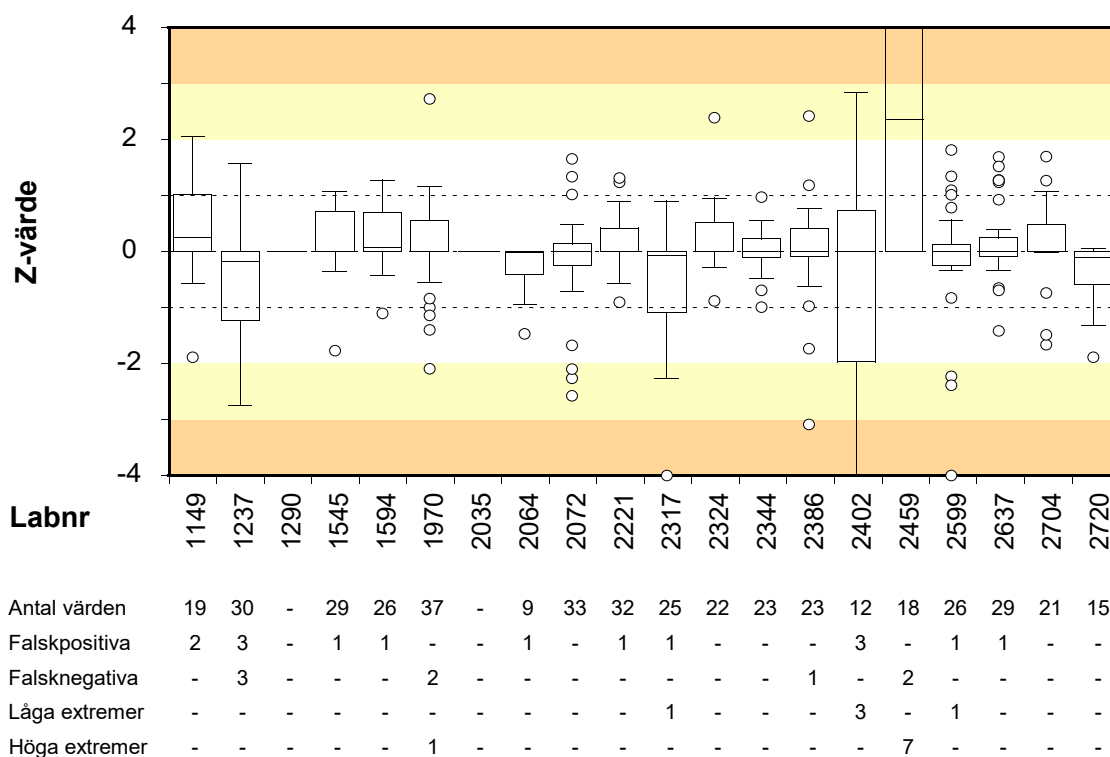
För att möjliggöra jämförelser av resultat från olika analyser och provblandningar med varandra omräknas laboratoriernas resultat från samtliga analyser till standardvärden (z-värden). För kvantitativa analyser blir standardvärdet positivt eller negativt beroende på om resultatet ligger över eller under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

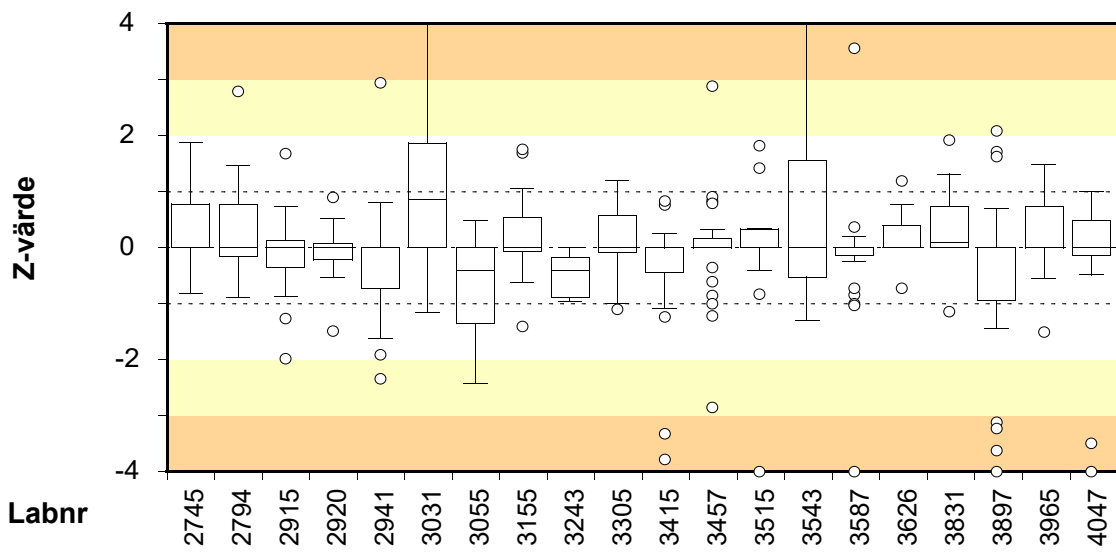
Boxdiagrammen baseras på z-värdena i bilaga 2, och ger en sammanfattande bild över varje enskilt laboratoriums resultat. En liten box, centrerad kring noll, indikerar att det individuella laboratoriets resultat, med falska resultat exkluderade, ligger nära medelvärdena av samtliga laboratoriers svar. 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

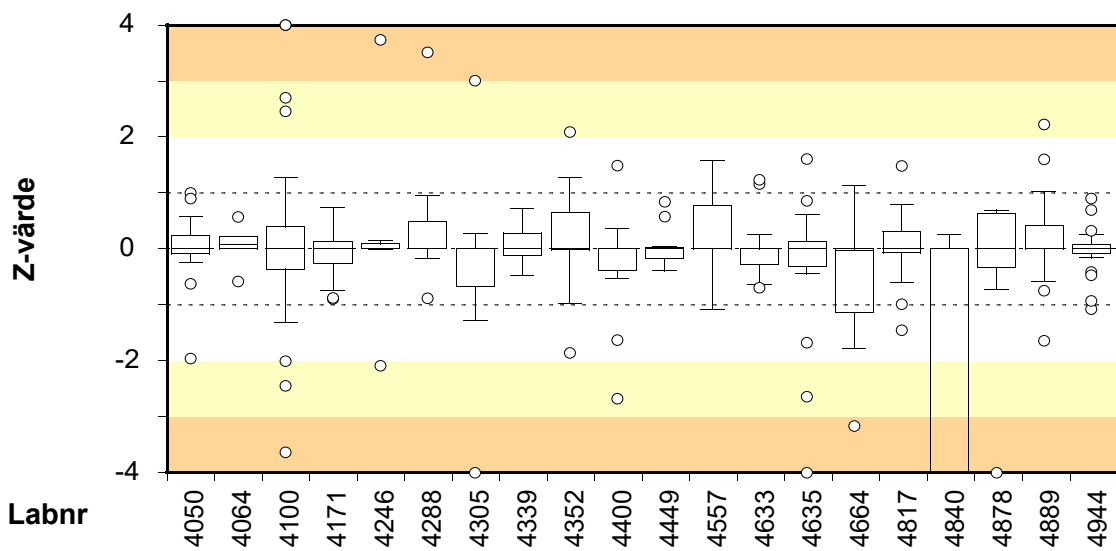
- Z-värden beräknas enligt formeln: $z = (x - m)/s$, där x är enskilt laboratoriums resultat, m är medelvärde beräknat från deltagande laboratoriers svar och s är standardavvikelse beräknad från deltagande laboratoriers svar, med extremvärden och falska svar borttagna.
- Extremvärden ingår i diagrammen 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 $> [\text{boxens största värde} + 1,5 \times (\text{boxens största värde} - \text{boxens minsta värde})]$.

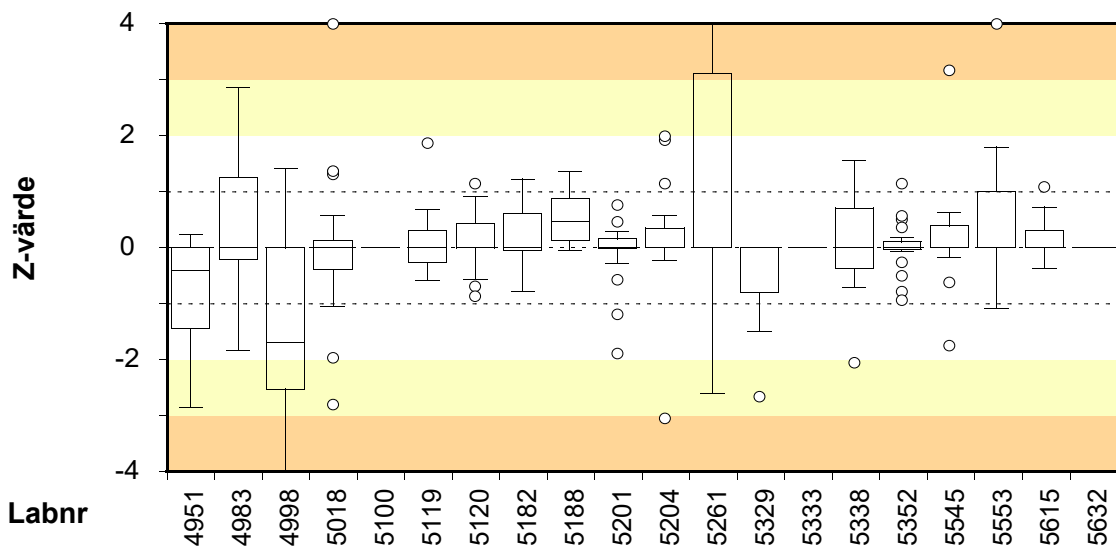




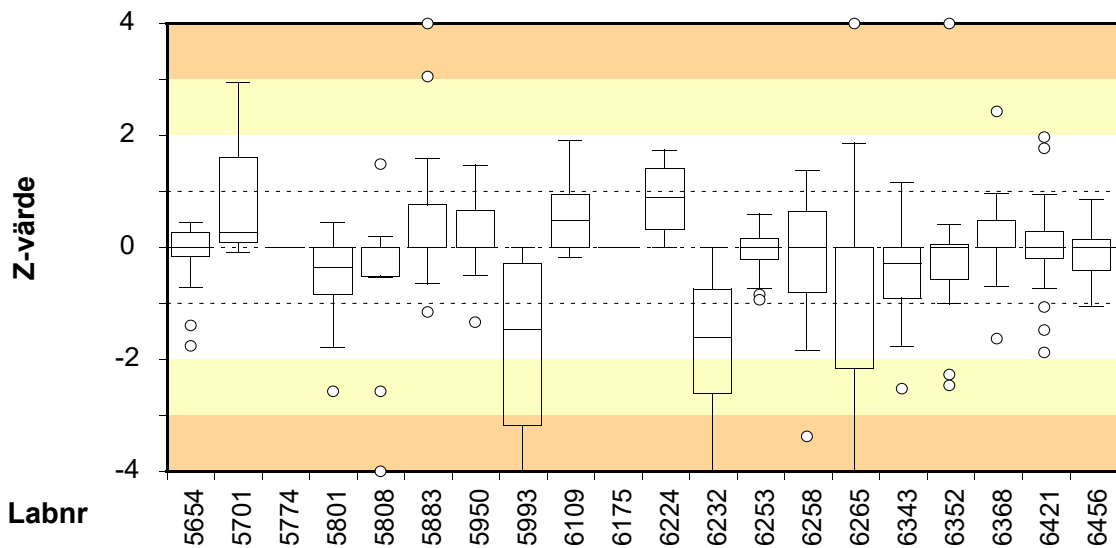
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------|----|---|----|----|----|----|----|----|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Antal värden | 25 | 7 | 18 | 11 | 28 | 10 | 13 | 23 | 5 | 34 | 27 | 25 | 14 | 16 | 23 | 18 | 14 | 25 | 20 | 20 |
| Falskpositiva | 1 | - | - | 1 | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | - | 2 | 1 | 2 | - | - | 1 | 5 | 1 | 1 |
| Falsknegativa | 1 | 2 | - | - | 1 | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - |
| Låga extremer | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - | 1 | - | 1 | - | - | 1 | - | 1 |
| Höga extremer | - | - | - | - | 1 | 1 | - | - | - | - | - | 1 | - | 2 | 1 | - | - | - | - | - |



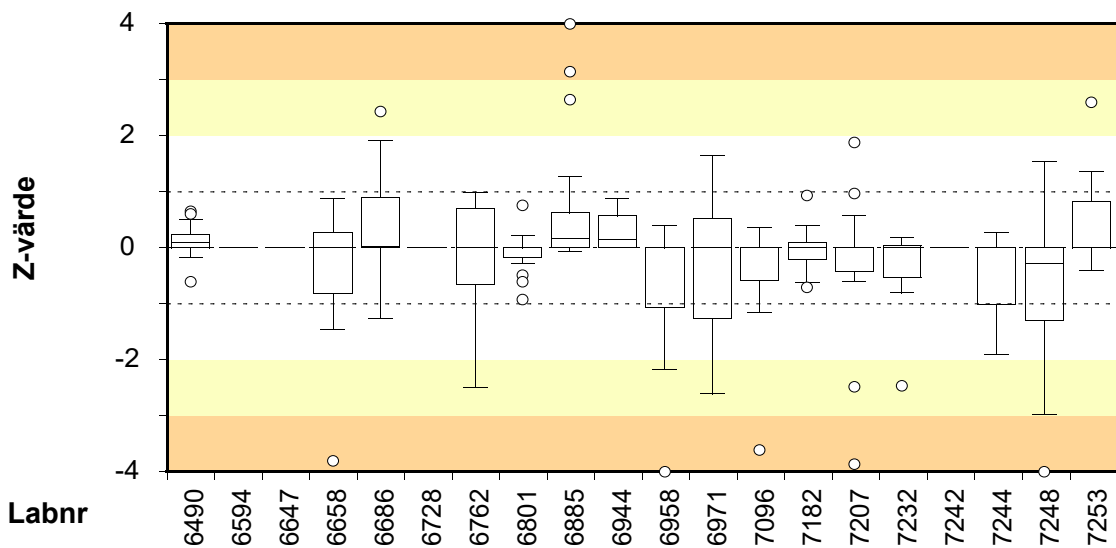
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------|----|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|---|----|----|----|
| Antal värden | 18 | 6 | 37 | 23 | 11 | 27 | 16 | 33 | 33 | 16 | 12 | 14 | 16 | 16 | 22 | 20 | 6 | 14 | 24 | 24 |
| Falskpositiva | - | - | 1 | 1 | 1 | - | 1 | 3 | 3 | 1 | - | 1 | - | 2 | 2 | - | 4 | 1 | - | - |
| Falsknegativa | - | - | 1 | - | - | - | 1 | - | - | 1 | - | - | 2 | 1 | - | 1 | 2 | - | - | - |
| Låga extremer | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | 1 | 1 | - | 2 | 2 | - | - |
| Höga extremer | - | - | 2 | - | 1 | 1 | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |



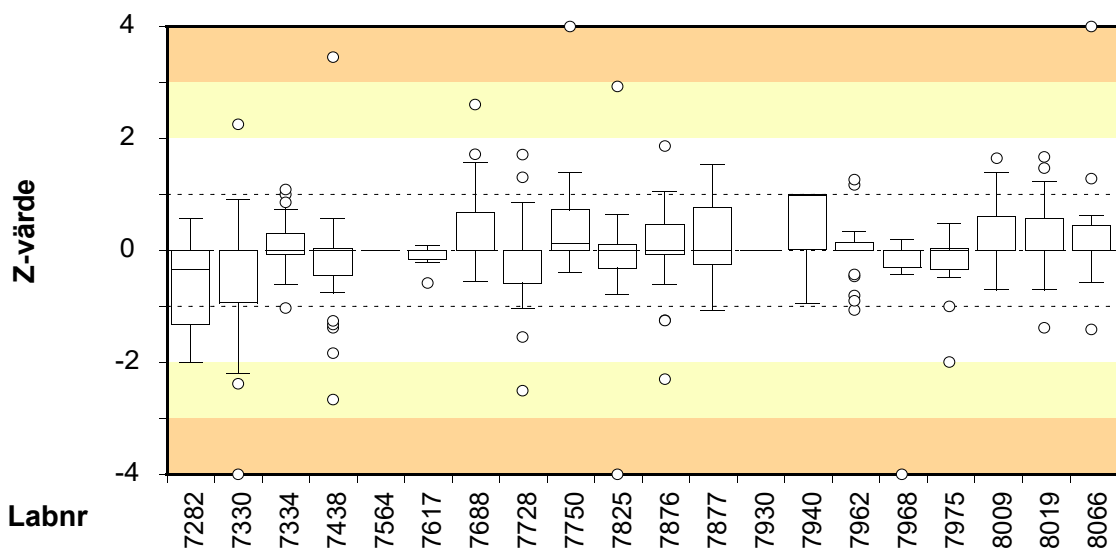
| Labnr | 4951 | 4983 | 4998 | 5018 | 5100 | 5119 | 5120 | 5182 | 5188 | 5201 | 5204 | 5261 | 5329 | 5333 | 5338 | 5352 | 5545 | 5553 | 5615 | 5632 |
|---------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Antal värden | 14 | 14 | 8 | 34 | - | 11 | 33 | 16 | 8 | 18 | 31 | 15 | 22 | - | 11 | 23 | 14 | 18 | 25 | - |
| Falskpositiva | 1 | 1 | 1 | 2 | - | 1 | 2 | 1 | - | 2 | 2 | - | - | - | 1 | - | 1 | - | 1 | - |
| Falsknegativa | - | - | - | - | - | - | 1 | 1 | - | 1 | - | - | 2 | - | - | 1 | - | - | 1 | - |
| Låga extremer | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Höga extremer | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | 2 | - | - | - | - | 1 | 1 | - | - |



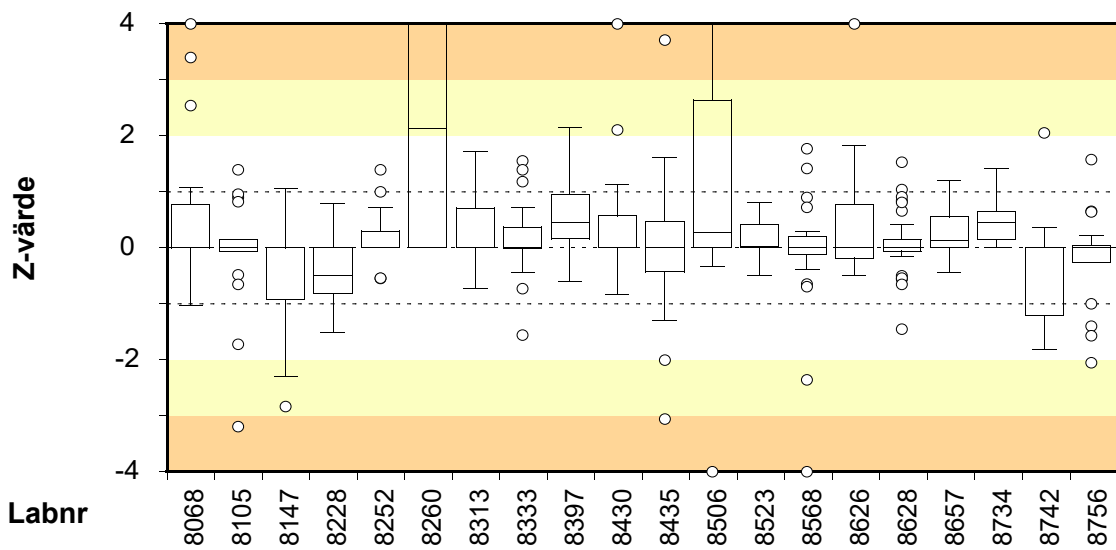
| Labnr | 5654 | 5701 | 5774 | 5801 | 5808 | 5883 | 5950 | 5993 | 6109 | 6175 | 6224 | 6232 | 6253 | 6258 | 6265 | 6343 | 6352 | 6368 | 6421 | 6456 |
|---------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Antal värden | 15 | 3 | - | 14 | 13 | 24 | 39 | 4 | 21 | - | 8 | 5 | 18 | 11 | 30 | 27 | 25 | 33 | 32 | 21 |
| Falskpositiva | - | - | - | 1 | - | - | - | 1 | - | - | 1 | 1 | - | - | - | 3 | 2 | - | 1 | - |
| Falsknegativa | - | - | - | - | 2 | - | - | 1 | - | - | - | - | - | 1 | 3 | - | - | - | - | - |
| Låga extremer | - | - | - | - | 1 | - | - | 1 | - | - | - | 1 | - | - | 2 | - | - | - | - | - |
| Höga extremer | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - | 1 | - | - | - |



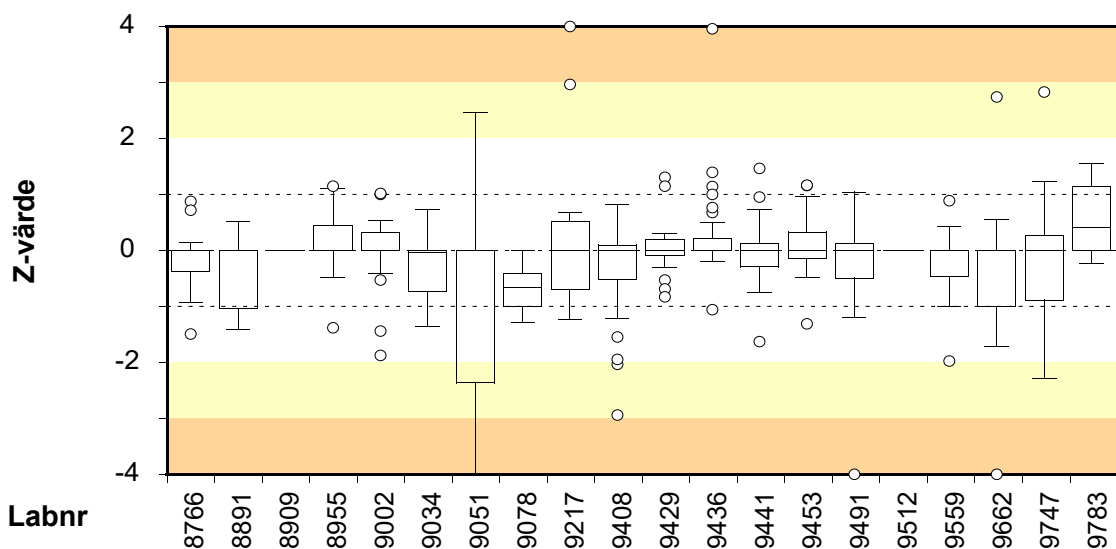
| Labnr | 6490 | 6594 | 6647 | 6658 | 6686 | 6728 | 6762 | 6801 | 6885 | 6944 | 6958 | 6971 | 7096 | 7182 | 7207 | 7232 | 7242 | 7244 | 7248 | 7253 |
|---------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Antal värden | 21 | - | - | 13 | 28 | - | 8 | 15 | 23 | 12 | 15 | 8 | 9 | 15 | 18 | 9 | - | 11 | 36 | 27 |
| Falskpositiva | - | - | - | 2 | 1 | - | 1 | - | 1 | - | - | 1 | - | 3 | - | - | - | - | 1 | - |
| Falsknegativa | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | 2 | - |
| Låga extremer | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | 1 | - | 1 | - | 1 | - | - | - | 1 | - |
| Höga extremer | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |



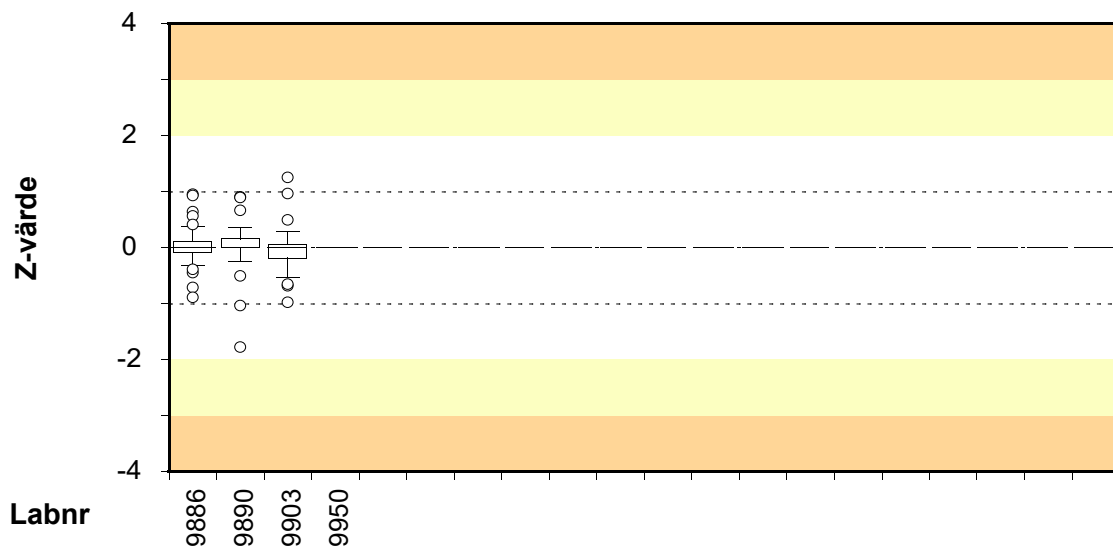
| Labnr | 7282 | 7330 | 7334 | 7438 | 7564 | 7617 | 7688 | 7728 | 7750 | 7825 | 7876 | 7877 | 7930 | 7940 | 7962 | 7968 | 7975 | 8009 | 8019 | 8066 |
|---------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Antal värden | 21 | 21 | 20 | 27 | - | 9 | 31 | 26 | 12 | 17 | 24 | 14 | - | 3 | 21 | 7 | 15 | 19 | 34 | 15 |
| Falskpositiva | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | 4 | - | 1 | - | - | - | 2 | - | 2 | 2 | 3 |
| Falsknegativa | - | - | - | - | - | - | 1 | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Låga extremer | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - |
| Höga extremer | - | - | - | 1 | - | - | - | - | 1 | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 |



| Labnr | 8068 | 8105 | 8147 | 8228 | 8252 | 8260 | 8313 | 8333 | 8397 | 8430 | 8435 | 8506 | 8523 | 8568 | 8626 | 8628 | 8657 | 8734 | 8742 | 8756 |
|---------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Antal värden | 24 | 18 | 25 | 15 | 21 | 27 | 24 | 23 | 21 | 17 | 24 | 17 | 20 | 23 | 12 | 35 | 12 | 7 | 9 | 20 |
| Falskpositiva | - | - | 1 | 1 | - | - | - | 1 | 1 | 1 | - | - | 1 | 1 | - | 1 | - | 2 | - | - |
| Falsknegativa | - | - | 4 | 2 | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | 1 |
| Låga extremer | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - | 1 | - | - | - | - | - | - |
| Höga extremer | 2 | - | - | - | - | 12 | - | - | - | 1 | 1 | 4 | - | - | 1 | - | - | - | - | - |



| Labnr | 8766 | 8891 | 8909 | 8955 | 9002 | 9034 | 9051 | 9078 | 9217 | 9408 | 9429 | 9436 | 9441 | 9453 | 9491 | 9512 | 9559 | 9662 | 9747 | 9783 |
|---------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Antal värden | 24 | 21 | - | 35 | 28 | 12 | 12 | 5 | 12 | 35 | 21 | 31 | 32 | 18 | 21 | - | 21 | 36 | 13 | 9 |
| Falskpositiva | - | - | - | 1 | 1 | - | - | 1 | 4 | 1 | - | 1 | 1 | - | 2 | - | 2 | - | 1 | - |
| Falsknegativa | - | - | - | - | 1 | - | - | - | 2 | - | - | 1 | - | - | - | - | 1 | - | 1 | - |
| Låga extremer | - | - | - | - | - | - | 2 | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | 1 | - | - |
| Höga extremer | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - |



| Labnr | 9886 | 9890 | 9903 | 9950 |
|---------------|------|------|------|------|
| Antal värden | 31 | 21 | 24 | - |
| Falskpositiva | 1 | 3 | - | - |
| Falsknegativa | 1 | - | - | - |
| Låga extremer | - | - | - | - |
| 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 ¹ | Mikroorganism | Stambeteckning | |
|-------------------|-------------------------------------|----------------------|-----------------------|
| | | SLV-nr. ² | Referens ³ |
| A | <i>Aeromonas hydrophila</i> | SLV-454 | CCUG 30 208 |
| | <i>Clostridium perfringens</i> | SLV-442 | CCUG 43593 |
| | <i>Staphylococcus warneri</i> | SLV-565 | CCUG 61870 |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> | SLV-350 | CCUG 45099 |
| | <i>Shewanella putrefaciens</i> | SLV-520 | CCUG 46538 |
| B | <i>Aspergillus flavus</i> | SLV-480 | CBS 282.95 |
| | <i>Bacillus cereus</i> | SLV-518 | CCUG 44741 |
| | <i>Brochothrix thermosphacta</i> | SLV-220 | CCUG 45641 |
| | <i>Clostridium perfringens</i> | SLV-442 | CCUG 43593 |
| | <i>Hanseniopsis uvarum</i> | SLV-555 | - |
| | <i>Shewanella putrefaciens</i> | SLV-520 | CCUG 46538 |
| C | <i>Bacillus cereus</i> | SLV-160 | CCUG 45098 |
| | <i>Cladosporium cladosporioides</i> | SLV-488 | CBS 812.96 |
| | <i>Escherichia coli</i> | SLV-524 | CCUG 47554 |
| | <i>Kluyveromyces marxianus</i> | SLV-439 | CBS G99-106 |
| | <i>Lactobacillus plantarum</i> | SLV-475 | CCUG 30503 |
| | <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 (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 (I₂) inte samtidigt överskrider gränsvärdena 2,6 respektive 2,0. (För definitioner av T och I₂, se referenserna 6 respektive 7.)

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

| Analys och metod | A ¹ | | | B ¹ | | | C ² | | |
|--|-------------------|-------------------|-------------------------|----------------|----------------|-------------|----------------|----------------|-------------|
| | m | I ₂ | T | m | I ₂ | T | m | I ₂ | T |
| Aeroba mikroorganismer, 30 °C NMKL-metod nr. 86:2013 | 4,82 | 0,46 | 1,18 | 4,20 | 0,19 | 1,24 | 4,57 | 0,82 | 1,36 |
| Psykrotrofa mikroorganismer NMKL-metod nr. 86:2013 | 3,06 | 1,23 | 2,61 | 4,74 | 0,35 | 1,17 | 4,34 | 1,83 | 1,81 |
| Enterobacteriaceae NMKL-metod nr. 144:2005 | 2,69 ³ | 0,90 ³ | 2,47 ³ | - | - | - | 3,65 | 0,82 | 1,31 |
| <i>Escherichia coli</i> NMKL-metod nr. 125:2005 | - | - | - | - | - | - | 3,74 | 1,53 | 1,37 |
| Presumtiv <i>Bacillus cereus</i> NMKL-metod nr. 67:2010 | 3,18 ³ | 0,67 ³ | 3,15³ | 4,06 | 0,55 | 1,51 | 4,59 | 0,59 | 1,28 |
| Koagulaspositiva stafylokocker NMKL-metod nr. 66:2009 | 4,21 | 0,58 | 1,18 | - | - | - | 3,25 | 1,69 | 4,03 |
| Mjölksyrabakterier NMKL-metod nr. 140:2007 | - | - | - | - | - | - | 3,65 | 1,07 | 1,36 |
| <i>Clostridium perfringens</i> NMKL-metod nr. 95:2009 | 3,11 | 0,85 | 1,25 | 2,56 | 0,57 | 1,29 | - | - | - |
| Anaeroba sulfitreducerande bakterier NMKL-metod nr. 56:2015 | 3,23 | 1,49 | 1,32 | 2,77 | 1,88 | 1,43 | - | - | - |
| Aeroba mikroorganismer i fiskprodukter NMKL-metod nr. 184:2006 | 4,54 | 3,15 | 1,30 | 4,60 | 2,88 | 1,77 | 4,64 | 1,49 | 1,43 |
| H ₂ S-producerande bakterier i fiskprodukter NMKL-metod nr. 184:2006 | 4,12 | 3,25 | 1,59 | 3,55 | 1,12 | 4,11 | - | - | - |
| Jäst NMKL-metod nr. 98:2005 | - | - | - | 2,38 | 0,34 | 1,26 | 2,49 | 1,95 | 1,63 |
| Mögel NMKL-metod nr. 98:2005 | - | - | - | 2,33 | 1,04 | 1,54 | 2,18 | 0,13 | 1,21 |

– Ingen målorganism och därför inget värde

¹ n = 5 vialer med dubbelanalyser

² n = 10 vialer med dubbelanalyser

³ 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. | Provrnr. | Aeroba mikroorganismer 30 °C | | | Psykrotrofa mikroorganismer | | | Enterobacteriaceae | | | Escherichia coli | | | Presumtiv Bacillus cereus | | | Koagulas-positiva stafylokokker | | | Mjölksyrbakterier | | | Clostridium perfringens | | | Anaeroba sulfit-reducerande bakterier | | | Aeroba m.o. i fiskprodukter, 20-25 °C | | | H ₂ 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 | | | | |
| 8734 | 3 1 2 | 0,490 | 1,416 | 0,454 | | | | | | | | | | | | | | 0,824 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 8734 | | | | | |
| 8742 | 3 1 2 | -1,315 | -1,209 | -1,819 | | | | | | | 0 0 | 0,361 | | | | | | 2,051 | 0 0 | | | | | | | | | | | | | | | | | 8742 | | | | | |
| 8756 | 3 1 2 | 0,654 | 1,579 | -0,251 | | | | | | 0 0 | 0,226 | 0 0 | -1,397 | 0 | -1,568 | -2,048 | -0,254 | 0 0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 8756 | | | | | |
| 8766 | 1 2 3 | -0,166 | -0,466 | 0,140 | | | | | | 0 0 | 0,002 | 0 0 | 0,041 | 0 | 0,880 | -1,492 | -0,591 | 0 0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 8766 | | | | | |
| 8891 | 3 2 1 | -0,494 | -1,139 | -1,270 | | | | | | 0 0 | -0,334 | 0 0 | 0,521 | 0 | -1,417 | 0,322 | -1,041 | 0 0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 8891 | | | | | |
| 8909 | 1 3 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 8909 | | | | | |
| 8955 | 1 3 2 | -0,330 | -0,305 | 0,960 | | | | | | 0 | -0,474 | 0 0 | -0,193 | 0 | 0,031 | 1,103 | 0,455 | 0 0 | 0 0 | -0,150 | 0,440 | 0,498 | 0 | 1,150 | 0,805 | 0 | 0,744 | -0,043 | 0,384 | 1,031 | -0,368 | 0 | 0 | 0,298 | -1,379 | 0 | 0,073 | 0,513 | 8955 | | |
| 9002 | 1 2 3 | 0,244 | -0,419 | 0,532 | -1,874 | 0,313 | | | | 0 | -0,278 | 0 0 | 1,000 | 0 | -0,087 | -0,011 | 0,533 | 0 0 | 0 0 | 0,377 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 9002 | | | |
| 9034 | 2 3 1 | -0,084 | -1,348 | -1,192 | -0,403 | -1,049 | -0,319 | | | 0 | 0 | 0,729 | 0 | 0 | 0,574 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 9034 | | | |
| 9051 | 1 3 2 | | | | | | | | | 0 | 0 | 2,465 | 0 | 0 | 1,426 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 9051 | | | |
| 9078 | 3 2 1 | -0,412 | -1,279 | -0,996 | | | | | | 0 | -0,670 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 9078 | | | |
| 9217 | 2 1 3 | -1,233 | -0,721 | 0,376 | | | | | | 0 | 0,673 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 9217 | | | |
| 9408 | 1 2 3 | -2,939 | 0,046 | 0,144 | | | | | | 0 | 0,242 | 0 0 | 0,323 | 0 | 0,145 | -1,548 | -0,462 | 0 0 | 0 0 | 0,494 | -0,575 | 0,601 | 0 | -0,839 | 0,819 | 0 | -0,899 | 0,497 | -1,215 | 0,188 | -0,586 | 0 | 0 | -0,208 | -2,036 | 0 | -1,947 | -0,204 | 9408 | | |
| 9429 | 3 2 1 | 1,310 | -0,303 | 0,258 | | | | | | 0 | -0,087 | -0,530 | 0,084 | 0 0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 9429 | | |
| 9436 | 2 1 3 | 0,080 | -0,140 | -0,056 | -0,190 | -1,058 | | | | 0 | 0 | -0,166 | 0 0 | 0,680 | 0 | 1,393 | 0,766 | 3,962 | 0 0 | 0 | 0,020 | -0,157 | -0,200 | 0 | 1,141 | 0,121 | 0 | | | | | | | | | | | 9436 | | | |
| 9441 | 1 2 3 | | | | -1,627 | -0,442 | -0,200 | | | 0 | 0 | -0,545 | 0 | 0 | 0,396 | -0,048 | -0,535 | 0 0 | 0 | 0,735 | 0,293 | 0,346 | 0 | -0,173 | 0,733 | 0 | -0,230 | -0,751 | -0,467 | -0,390 | -0,349 | 0 | 0 | 1,463 | 0,954 | 0 | 0,199 | 0,049 | 9441 | | |
| 9453 | 1 3 2 | 0,326 | -0,489 | -1,309 | | | | | | 0 | 0 | -0,446 | 0 | 0 | -0,148 | 0,026 | 0,646 | 0 0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 9453 | |
| 9491 | 3 2 1 | | | | | | | | | 0 | 0 | -0,726 | 0 0 | 0 | 0,124 | -0,493 | -4,000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 9491 | |
| 9512 | 3 2 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 9512 | |
| 9559 | 3 1 2 | 0,408 | -0,326 | -1,975 | | | | | | 0 | 0,282 | 0 0 | 0,893 | 0 | 0,426 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 9559 | |
| 9662 | 2 3 1 | -1,397 | -1,162 | -1,035 | | | | | | 0 | 0 | 2,745 | 0 0 | -1,717 | 0 | -0,964 | -0,011 | 0,308 | 0 0 | 0 0 | 0,556 | -4,000 | -0,382 | 0 | 0,343 | 0,481 | 0 | -1,069 | -0,317 | -1,334 | -1,353 | -0,964 | 0 | 0 | 0,135 | -0,281 | 0 | -0,989 | -0,935 | 9662 | |
| 9747 | 1 2 3 | 1,228 | 2,833 | -1,231 | | | | | | 0 | 0,394 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 9747 |
| 9783 | 2 3 1 | 1,146 | 1,555 | 0,611 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 9783 |
| 9886 | 1 3 2 | -0,248 | 0,162 | 0,650 | -0,123 | 0,963 | 0,569 | | | 0 | 0,058 | 0 0 | -0,705 | 0 | 0,940 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 9886 |
| 9890 | 1 3 | -0,494 | 0,162 | 0,376 | | | | | | 0 | 0,673 | 0 0 | 0,148 | 0 | 0,124 | -0,234 | -1,771 | 0 | 0 | 0,913 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 9890 |
| 9903 | 2 3 1 | -0,330 | -0,675 | -0,643 | | | | | | 0 | 0 | -0,166 | 0 0 | -0,971 | 0 | 0,970 | -0,197 | -0,535 | 0 0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 9903 |
| 9950 | 1 3 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 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