



*Utgåva*  
Version 1 (2020-04-15)

*Ansvarig utgivare*  
Maria Sitell, avdelningschef, Biologiavdelningen, Livsmedelsverket

*Programansvarig*  
Jonas Ilbäck, mikrobiolog, Biologiavdelningen, Livsmedelsverket

PT januari 2020 har diarienummer 2019/04095 vid Livsmedelsverket.

*Kompetensprovning*  
**Mikrobiologi – Livsmedel**  
Januari 2020

**Kvantitativa analyser**

- Aeroba mikroorganismer, 30 °C
- Enterobacteriaceae
- Termotoleranta *Campylobacter*
- *Listeria monocytogenes*

**Kvalitativa analyser**

- Termotoleranta *Campylobacter*
- *Listeria monocytogenes*
- *Salmonella*
- *Escherichia coli* O157
- Patogena *Vibrio* spp.
- *Yersinia enterocolitica*

## Förkortningar

### Substrat

ALOA	Agar för Listeria enligt Ottaviani & Agosti
APV 2%	Alkaliskt peptonvatten med 2 % NaCl
BGA	Briljantgrön agar
BPV	Buffrat peptonvatten
BS	Bromtymolblått-sackaros-agar
CIN	Cefsulodin-irgasan-novobiocin-agar
Compact Dry ETB	Compact Dry™ Enterobacteriaceae
Compact Dry TC	Compact Dry™ Total Count
CT-SMAC	Cefixim-tellurit-sorbitol-MacConkey-agar
ITC	Irgasan-ticarcillin-kaliumklorat-buljong
Listeria Precis	Listeria Precis™
LMBA	Listeria monocytogenes blodagar
mCCDA	Modifierad Charcoal Cephoperazone Deoxycholate Agar
MKTTn	Muller-Kauffmann tetrathionat/novobiocin-buljong
MPCA	Milk Plate Count Agar
MRB	Modifierad Rappaport-buljong
MSRV	Modifierad semi-solitt Rappaport-Vassiliadis anrikningsmedium
mTSB	Modifierad trypton-soja-buljong
OCLA	Oxoid Brilliance™ Listeria
PALCAM	Polymyxin acriflavine lithium chloride ceftazidime aesculin mannitol agar
Petrfilm AC	3M™ Petrifilm™ Aerobic Count
Petrfilm EB	3M™ Petrifilm™ Enterobacteriaceae
PSB	Pepton-sorbitol-gallsalt-buljong
PCA	Plate Count Agar
RVS	Rappaport-Vassiliadis-soja-pepton-buljong
SMAC	Sorbitol MacConkey-agar
SP	Salt-polymyxin-buljong
SSDC	Salmonella/Shigella natrium-deoxycholat-kalciumklorid-agar
TCBS	Tiosulfat-citrat-gallsalt-sukros-agar
TEMPO AC	TEMPO® Aerobic Count
TEMPO EB	TEMPO® Enterobacteriaceae
TGE	Trypton-glukosextrakt-agar
TSA	Trypton-soja-agar
TSBY	Trypton-soja-buljong med jästextrakt
XLD	Xylos-lysin-deoxycholat-agar
VRGG	Violettröd-galla-glukos-agar

### Organisationer

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

## Innehåll

---

Allmän information om utvärdering av resultaten .....	6
Analysresultat från provtillfället januari 2020.....	7
- Generellt utfall .....	7
- Aeroba mikroorganismer, 30 °C .....	8
- Enterobacteriaceae .....	10
- Termotoleranta <i>Campylobacter</i> .....	12
- <i>Listeria monocytogenes</i> .....	14
- <i>Salmonella</i> .....	16
- <i>Escherichia coli</i> O157 .....	18
- Patogena <i>Vibrio</i> spp. ....	19
- <i>Yersinia enterocolitica</i> .....	21
Utfall av enskilda laboratoriers analysresultat – bedömning .....	23
- Boxdiagram.....	24
Testmaterial och kvalitetskontroll .....	29
- Testmaterial .....	29
- Kvalitetskontroll av provblandningarna .....	30
Referenser.....	31
Bilaga 1 – Deltagarnas analyssvar	
Bilaga 2 – z-värden	

## Allmän information om utvärdering av resultaten

### Statistisk utvärdering av resultaten

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

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



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

### Mätosäkerhet för åsatt värde

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




### Förklaringar till tabeller och figurer

#### Tabeller

N	antal laboratorier som utförde analysen
n	antal laboratorier med godkänt resultat (falska och extrema värden ingår inte)
m	medelvärde i $\log_{10}$ cfu ml <sup>-1</sup> (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

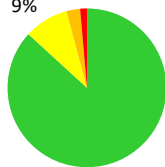
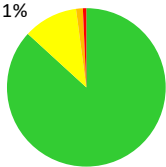
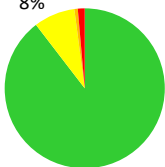
# Analysresultat av provtillfälle januari 2020

## Generellt utfall

Provmaterial sändes ut till 147 laboratorier, varav 30 i Sverige, 101 i övriga Europa och 16 laboratorier i övriga världen. Av de 144 laboratorier som rapporterade svar hade 34 (24 %) minst ett analys svar med anmärkning. Vid det senaste provtillfället med ungefär samma parametrar (januari 2019) var andelen 29 %.

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			
<b>% deltagare med</b> 0 avvikande svar 1 avvikande svar 2 avvikande svar >2 avvikande svar													
		<i>E. coli</i> O157 <i>Hafnia alvei</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Yersinia intermedia</i>				<i>Bacillus cereus</i> <i>Kocuria rhizophila</i> <i>Salmonella</i> Enteritidis <i>Vibrio cholerae</i> <i>Yersinia enterocolitica</i>				<i>Campylobacter coli</i> <i>Citrobacter freundii</i> <i>E. coli</i> O157 <i>Listeria monocytogenes</i>			
Analys	Målorganism	N	F	X	Målorganism	N	F	X	Målorganism	N	F	X	
Aeroba mikroorganism 30 °C	<i>S. saprophyticus</i> <i>H. alvei</i>	123	0%	3%	<i>K. rhizophila</i>	123	1%	11%	<i>C. freundii</i> <i>E. coli</i> O157	122	0%	2%	
Enterobacteriaceae	<i>H. alvei</i>	109	1%	6%	<i>Y. enterocolitica</i> <i>S. Enteritidis</i>	108	3%	3%	<i>C. freundii</i> <i>E. coli</i> O157	109	1%	5%	
Termotol. <i>Campylobacter</i>	Kvant.	-	18	0%	0%	-	18	0%	0%	<i>C. coli</i>	18	6%	0%
	Kval.	-	25	0%	-	-	25	0%	-		25	8%	-
<i>L. monocytogenes</i>	Kvant.	<i>L. monocytogenes</i>	67	3%	6%	-	67	0%	0%	<i>L. monocytogenes</i>	67	0%	6%
	Kval.		98	2%	-		98	1%	-		98	1%	-
<i>Salmonella</i>	-	111	4%	-	<i>S. Enteritidis</i>	112	0%	-	( <i>C. freundii</i> )	111	0%	-	
<i>E. coli</i> O157	<i>E. coli</i> O157	28	18%	-	-	28	0%	-	<i>E. coli</i> O157	28	11%	-	
Patogena <i>Vibrio</i> spp.	<i>V. cholerae</i>	20	10%	-	<i>V. cholerae</i>	20	10%	-	( <i>E. coli</i> O157)	20	5%	-	
<i>Y. enterocolitica</i>	( <i>Y. intermedia</i> )	12	0%	-	<i>Y. enterocolitica</i>	12	0%	-	( <i>C. freundii</i> )	12	0%	-	

- saknar målorganism

**mikroorganism** = huvudsaklig målorganism

(mikroorganism) = falskpositiv före konfirmering

## Aeroba mikroorganismer 30 °C

---

### Prov A

Stammarna av *S. saprophyticus* och *H. alvei* förekom i högst koncentrationer (cirka  $\log_{10}$  4,7 respektive 4,4 cfu ml<sup>-1</sup>) och var därmed huvudsakliga målorganismer.

### Prov B

Stammen av *K. rhizophila* förekom i högst koncentration (cirka  $\log_{10}$  4,5 cfu ml<sup>-1</sup>) och var därmed huvudsaklig målorganism.

Det rapporterades elva låga extremvärden, vilket är högre än normalt för denna analys. Många låga extremvärden rapporterades även vid ett tidigare provtillfälle när samma provblandning användes (januari 2017).

Endast *K. rhizophila* förekommer i halt högre än  $\log_{10}$  3,0 cfu ml<sup>-1</sup> i provet, varför det eventuellt är missad detektion av denna stam som lett till de låga extremvärdena. Relativt många av de låga extremvärdena kom från användare av Petrifilm AC. Åtminstone två laboratorier fick låga resultat med Petrifilm AC, men inte vid parallell inkubering enligt på PCA.<sup>1</sup> Åtminstone ett av dessa laboratorier har med Petrifilm AC inkuberat endast i 48 h, vilket rekommenderas för Petrifilm AC enligt en del metodvalideringar. Vid efterföljande tester vid Livsmedelsverket observerades att *K. rhizophila* bildar mycket små kolonier på Petrifilm AC, vilka var svåra att detektera efter 48 h. Med Petrifilm AC erhöles i dessa tester cirka  $\log_{10}$  3,1 cfu ml<sup>-1</sup> efter 48 h vid 30 °C och  $\log_{10}$  4,6 cfu ml<sup>-1</sup> efter 72 h vid 30 °C. **Låga resultat med Petrifilm AC efter inkubering i 48 h bedöms därför som godkända.**

<sup>1</sup> Information via personlig kommunikation.

### Prov C

Stammen av *C. freundii* förekom i högst koncentration (cirka  $\log_{10}$  4,0 cfu ml<sup>-1</sup>) och var därmed huvudsaklig målorganism.

Medelvärde för Petrifilm AC och TEMPO AC var något högre, jämfört med medelvärdet för samtliga substrat. Något högre resultat ses förhållandevis ofta för Petrifilm AC och TEMPO AC, och får därför anses som normalt.

### Allmänt om analyserna

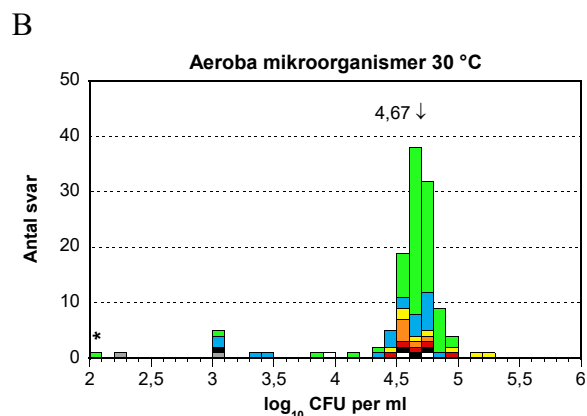
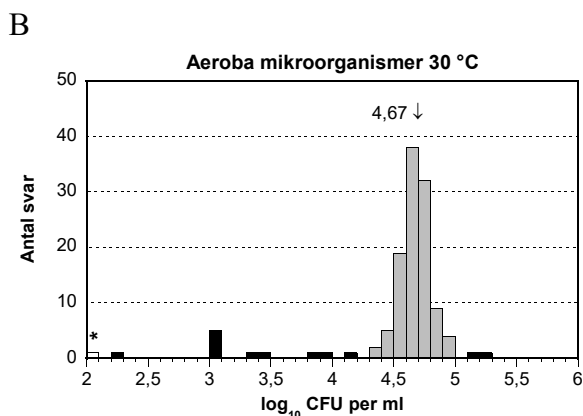
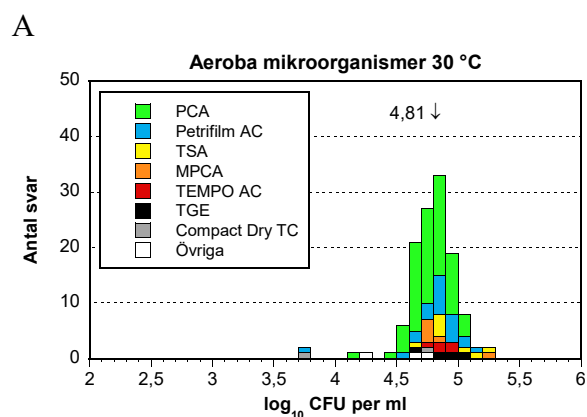
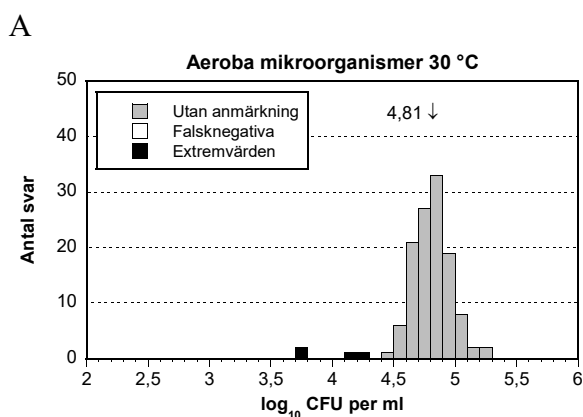
Som vid tidigare provtillfällen följde laboratorierna främst NMKL 86:2013 (40 %), 3M Petrifilm (17 %) och ISO 4833-1:2013 (15 %). De äldre NMKL 86:2006 och ISO 4833:2003 användes fortfarande av 8 % respektive 3 % av laboratorierna. De olika metoderna är dock snarlika, och baseras alla på inkubering på 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<sup>®</sup> 990.12 inkubering vid 35 °C i 48 h medan AFNOR 3M 01/1-09/89 föreskriver 30 °C i 72 h.

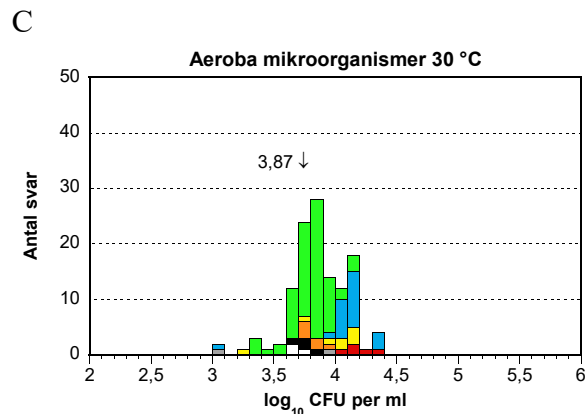
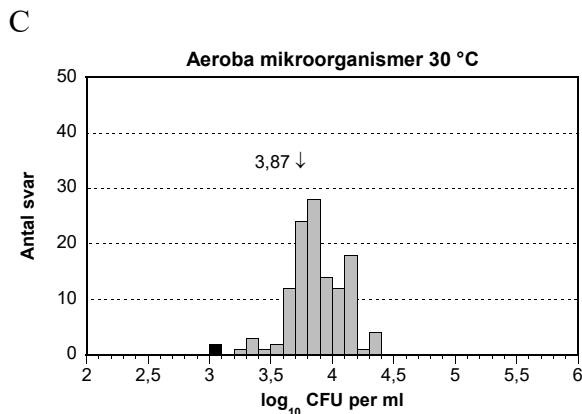
Majoriteten av laboratorierna inkuberade på antingen PCA eller Petrifilm AC. Inkubering på MCPA gjordes främst av laboratorier inom mjölkindustrin. Inkubering på TSA skedde främst vid användning av en företagsspecifik metod. Ett mindre antal laboratorier använde TEMPO AC, som är baserad på MPN (Most 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	123	119	4,81	0,15	0	4	0	123	109	4,67	0,12	1	11	2	122	120	3,87	0,21	0	2	0
PCA	73	72	4,77	0,14	0	1	0	73	69	4,69	0,10	1	3	0	72	72	3,79	0,16	0	0	0
Petrifilm AC	22	21	4,86	0,14	0	1	0	22	18	4,63	0,14	0	4	0	22	21	4,13	0,11	0	1	0
TSA	8	8	4,93	0,20	0	0	0	8	6	4,65	0,17	0	0	2	8	8	3,94	0,29	0	0	0
MPCA	6	6	4,84	0,21	0	0	0	6	6	4,61	0,08	0	0	0	6	6	3,80	0,07	0	0	0
TEMPO AC	5	5	4,86	0,11	0	0	0	5	5	4,65	0,18	0	0	0	5	5	4,16	0,12	0	0	0
TGE	4	4	-	-	0	0	0	4	3	-	-	0	1	0	4	4	-	-	0	0	0
Compact Dry TC	2	1	-	-	0	1	0	2	0	-	-	0	2	0	2	1	-	-	0	1	0
Övriga	3	2	-	-	0	1	0	3	2	-	-	0	1	0	3	3	-	-	0	0	0





## Enterobacteriaceae

### Prov A

Stammarna av *H. alvei*, *E. coli* O157 och *Y. intermedia* tillhör Enterobacteriaceae. Stammen av *H. alvei* förekom dock i betydligt högre koncentration (cirka log<sub>10</sub> 4,4 cfu ml<sup>-1</sup>) än de övriga två stammarna (bägge under log<sub>10</sub> 1,0 cfu ml<sup>-1</sup>) och var därför huvudsaklig målorganism.

### Prov B

Stammarna av *Y. enterocolitica* och *S. Enteritidis* var målorganismer och förekom med liknande koncentrationer i provet (cirka log<sub>10</sub> 2,4 respektive log<sub>10</sub> 2,0 cfu ml<sup>-1</sup>).

Båda stammarna växer fram på VRGG med typiska oxidasnegaiva och röda kolonier omgivna av utfällningszon. Kolonierna av *Y. enterocolitica* är dock mindre till storleken än kolonierna av *S. Enteritidis* och kan även ha en mindre framträdande utfällningszon.

### Prov C

Stammarna av *C. freundii* och *E. coli* O157 var målorganismer. Stammen av *C. freundii* förekom i betydligt högre koncentration än *E. coli* O157 (cirka log<sub>10</sub> 4,0 respektive log<sub>10</sub> 1,7 cfu ml<sup>-1</sup>) och var därför huvudsaklig målorganism. På Livsmedelsverket växte den fram på VRGG med typiska oxidasnegaiva och röda kolonier omgivna av utfällningszon. Storleken på utfällningszonen varierade något mellan kolonierna.

### Allmänt om analyserna

Enterobacteriaceae är gramnegativa och oxidasnegaiva 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 (46 %) eller en metod med Petrifilm EB (17 %), medan ISO-metoderna (olika versioner) totalt stod för 22 %. Andelen användare av den nya ISO 21528-2:2017 var högre än ISO 21528-2:2004 (13 % respektive 5 %). Fem laboratorier (5 %) angav den äldre ISO 21528-1:2004. Ytterligare fem laboratorier använde metoder baserade på detektion av fluorescens (TEMPO EB).

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<sup>-1</sup>.

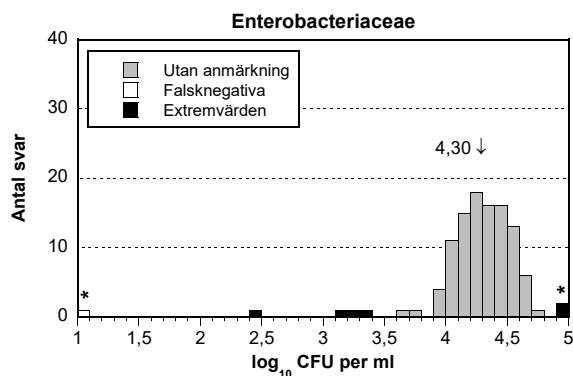
NMKL 144:2005 anger konfirmering av presumtiva kolonier på VRGG med oxidastest. ISO 21528-2:2017 anger konfirmering av presumtiva kolonier med både oxidastest och ett test för fermentering av glukos. Totalt 74 % av laboratorierna angav här att de utförde någon form av konfirmering; majoriteten av dessa specificerade att denna bestod i ett oxidastest.

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

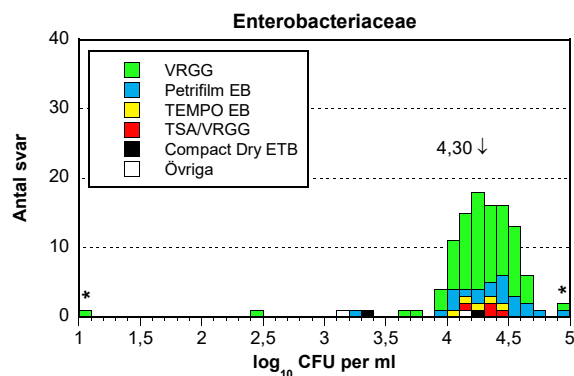
### Resultat från analys av Enterobacteriaceae

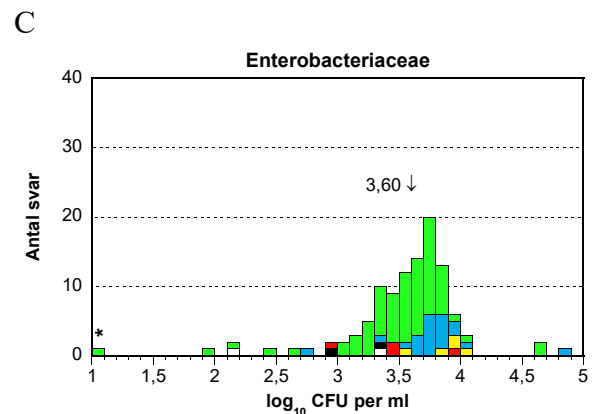
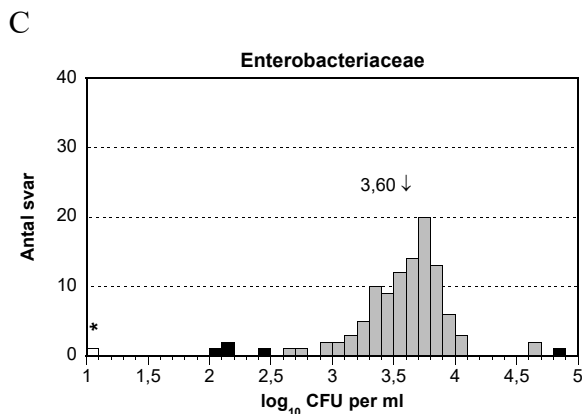
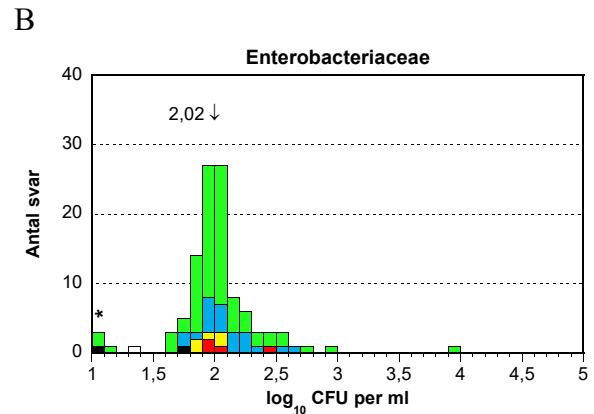
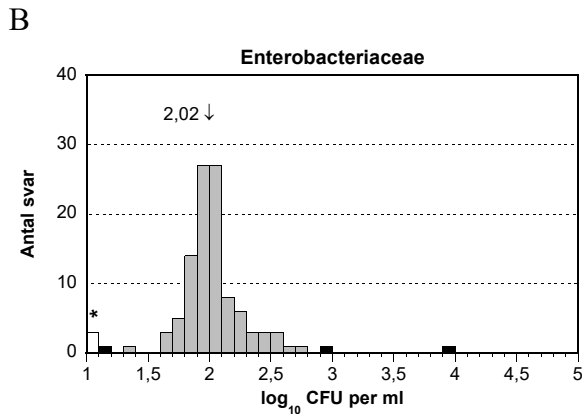
Substrat	Prov A					Prov B					Prov C				
	N	n	m	s	F <>	N	n	m	s	F <>	N	n	m	s	F <>
Alla svar	109	102	4,30	0,21	1 4 2	108	102	2,02	0,22	3 1 2	109	103	3,60	0,31	1 4 1
VRGG	75	72	4,28	0,22	1 1 1	75	70	2,02	0,21	2 1 2	75	71	3,58	0,30	1 3 0
Petrifilm EB	21	19	4,36	0,24	0 1 1	21	21	2,08	0,24	0 0 0	21	20	3,71	0,27	0 0 1
TEMPO EB	5	5	4,24	0,15	0 0 0	5	5	1,94	0,12	0 0 0	5	5	3,87	0,22	0 0 0
TSA/VRGG	4	4	-	-	0 0 0	4	4	-	-	0 0 0	4	4	-	-	0 0 0
Compact Dry ETB	2	1	-	-	0 1 0	2	1	-	-	1 0 0	2	2	-	-	0 0 0
Övriga	2	1	-	-	0 1 0	1	1	-	-	0 0 0	2	1	-	-	0 1 0

A



A





## Termotoleranta *Campylobacter*

### Prov A

Ingen målorganism för analysen fanns i provet. Samtliga resultat var korrekt negativa, både i den kvantitativa och i den kvalitativa analysen.

### Prov B

Ingen målorganism för analysen fanns i provet. Samtliga resultat var korrekt negativa, både i den kvantitativa och i den kvalitativa analysen.

### Prov C

Stammen av *C. coli* var målorganism och förekom med cirka  $\log_{10}$  3,2 cfu ml<sup>-1</sup> i provet. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll växte den på mCCDA fram som både mindre kolonier och som större utflytande kolonier. Bägge morfologier var dock positiva vid oxidastest, katalastest och rörlighetstest. Bägge morfologier var också positiva för hydrolys av indoxylacetat, och negativa för hydrolys av hippurat.

Resultaten för den kvantitativa analysen hade en förhållandevis bred fördelning, vilket inte är ovanligt för denna parameter. Eftersom endast 18 laboratorier utförde den kvantitativa analysen bedömdes heller inte några resultat som extremvärden. Det rapporterades däremot ett falsknegativt resultat.

I den kvalitativa analysen rapporterades resultat av 25 laboratorier. Två av dessa var falsknegativa.

## Allmänt om analyserna

*Campylobacter* spp. är gramnegativa, oxidaspositiva och katalaspositiva bakterier. På mCCDA bildar de vanligen platta eller konvexa kolonier, med grå eller vit färg och blank yta. Konfirmering utförs normalt med oxidas- eller katalastest, eller fenotypiskt vid mikroskopering. Bakterierna är vanligen böjda eller spiralformade stavar, och uppvisar karaktäristiska snabba och snurrande/roterande rörelser. *C. jejuni*, *C. coli* och *C. lari* kan dessutom särskiljas genom skillnader i hydrolys av hippurat och indoxylacetat, samt genom skillnader i känslighet mot nalidixinsyra och cephalotin. Konfirmering i någon form utfördes av samtliga laboratorier i den kvantitativa analysen och av samtliga laboratorier utom ett i den kvalitativa analysen. Laboratoriet som inte använde ett konfirmeringssteg följde en PCR-metod för detektion av *Campylobacter*. De vanligaste formerna av konfirmering var i båda analyserna rörlighetstest och/eller oxidastest.

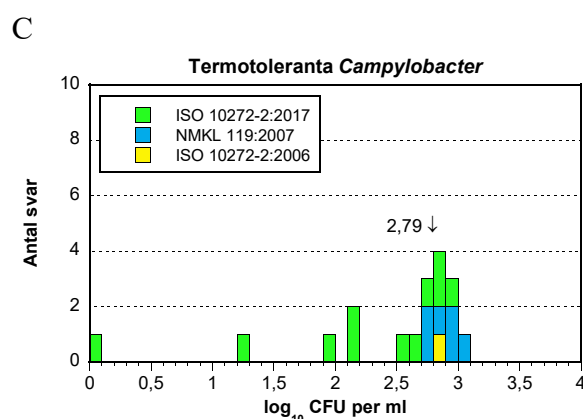
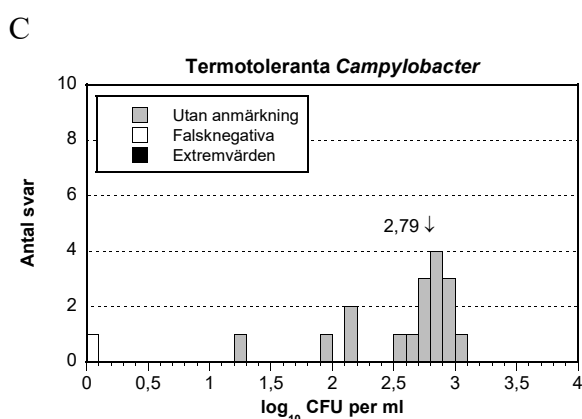
NMKL 119 och ISO 10272 (olika versioner) var de mest använda metoderna i både den kvantitativa och den kvalitativa analysen. De flesta laboratorier hade övergått från de äldre ISO 10272-2:2006 och 10272-1:2006 till de nya ISO 10272-2:2017 och 10272-1:2017. I den kvalitativa analysen angav ett laboratorium att man använt ISO 17995, vilket är en metod för detektion av *Campylobacter* i vattenprover. Det kan i sammanhanget nämnas att NMKL 119:2007 är upptagen för revidering och den nya versionen är tänkt att harmonisera med ISO 10272-2:2017 och 10272-1:2017.

Majoriteten av laboratorierna (83 %) i den kvalitativa analysen använde Bolton-buljong för anrikningssteget, men även Preston-buljong förekom. I det selektiva steget användes främst mCCDA (88 %). I den kvantitativa analysen inkuberade 16 av 18 laboratorier på mCCDA. Ett laboratorium inkuberade på Preston-agar och rapporterade då falsknegativt resultat för prov C.

### Resultat från analys kvantitativ av termotoleranta *Campylobacter*

Metod	Prov A						Prov B						Prov C						
	N	n	Med*	s	F	< >	N	n	Med*	s	F	< >	N	n	Med*	s	F	< >	
Alla svar	18	18	-	-	0	- -	18	18	-	-	0	- -	18	17	2,79	0,48	1	0	0
ISO 10272-2:2017	11	11	-	-	0	- -	11	11	-	-	0	- -	11	10	2,61	0,55	1	0	0
NMKL 119:2007	6	6	-	-	0	- -	6	6	-	-	0	- -	6	6	2,88	0,14	0	0	0
ISO 10272-2:2006	1	1	-	-	0	- -	1	1	-	-	0	- -	1	1	-	-	0	0	0

\* Med = medianvärde



### Resultat från kvalitativ analys av termotoleranta *Campylobacter*

Metod	Prov A				Prov B				Prov C			
	N	n	+/-	F	N	n	+/-	F	N	n	+/-	F
Alla svar	25	25	Neg	0	25	25	Neg	0	25	23	Pos	2
NMKL 119:2007	13	13	Neg	0	13	13	Neg	0	13	13	Pos	0
ISO 10272-1:2017	7	7	Neg	0	7	7	Neg	0	7	5	Pos	2
ISO 10272-1:2006	2	2	Neg	0	2	2	Neg	0	2	2	Pos	0
Övriga*	3	3	Neg	0	3	3	Neg	0	3	3	Pos	0

\* I gruppen övriga ingår ISO 17995 (vattenmetod), VIDAS, samt en PCR-metod.

## *Listeria monocytogenes*

### Prov A

Stammen av *L. monocytogenes* var målorganism och förekom med cirka  $\log_{10}$  2,5 cfu ml<sup>-1</sup> i provet. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll växte den fram på ALOA med karaktäristiska blå-gröna kolonier, omgivna av en tydlig opak zon. På samma plattor observerades även atypiska små vita/ljusblå kolonier. På PALCAM växte stammen fram med typiska grå-gröna kolonier, omgivna av en svart/brun zon. Stammen är katalaspositiv, uppvisar  $\beta$ -hämolys på blodagar, samt fermenterar rhamnos men inte xylos.

### Prov B

Ingen målorganism för analysen fanns i provet.

### Prov C

Stammen av *L. monocytogenes* (ej identisk med den i prov A) var målorganism och förekom med cirka  $\log_{10}$  2,5 cfu ml<sup>-1</sup> i provet. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll växte den fram på ALOA med karaktäristiska gröna kolonier, omgivna av en tydlig opak zon. Stammen är katalaspositiv, uppvisar  $\beta$ -hämolys på blodagar, samt fermenterar rhamnos men inte xylos.

### Allmänt om analyserna

Analyserna utfördes som helhet utan större problem för laboratorierna. Förekommande extremvärden och falska resultat kunde inte kopplas till användning av någon specifik metod eller substrat.

Med ISO 11290-1 (kvalitativ) och ISO 11290-2 (kvantitativ) detekteras såväl *Listeria* spp. som *L. monocytogenes*. Den kvalitativa metoden ISO 11290-1:2017 baseras på primär anrikning i halv-Fraser-buljong, följt av sekundär anrikning i Fraser-buljong. Prov från bägge dessa anrikningssteg ansätts sedan på ALOA samt på ett andra selektivt substrat som väljs av laboratoriet. I den kvantitativa metoden ISO 11290-2:2017 görs en första suspension av provet i BPV eller i halv-Fraser-buljong, och material överförs sedan ifrån dessa till ALOA. De kvalitativa och kvantitativa metoderna som används i NMKL 136:2010 är i stort snarlika ISO-metoderna.

På ALOA bildar *L. monocytogenes* blå-gröna kolonier till följd av  $\beta$ -glukosidasaktivitet. Hydrolys av inositol i substratet gör att kolonierna omges av en opak ring, vilken ibland är svag eller inte förekommer alls. *L. monocytogenes* kan konfirmeras genom mikroskopering, katalastest, samt genom test av  $\beta$ -hämolys och

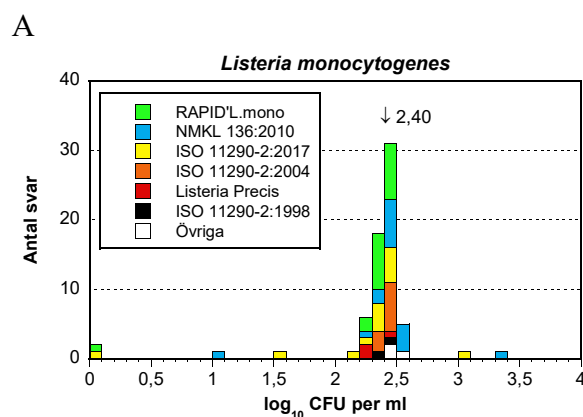
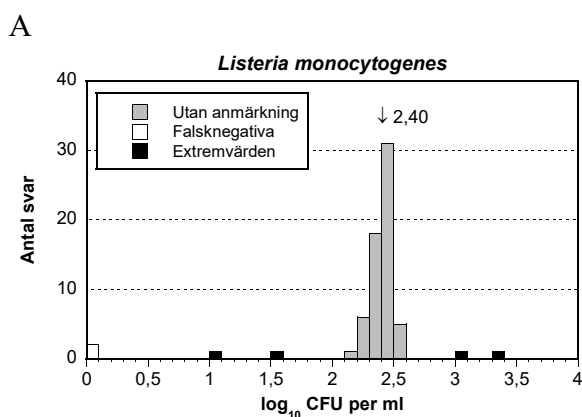
kolhydratanvändning (fermentering av rhamnos och xylos). *L. monocytogenes* är katalaspositiv, uppvisar  $\beta$ -hämolys på blodagar, samt fermenterar rhamnos men inte xylos. Konfirmering kan också göras genom att *L. monocytogenes* uppvisar förstärkt respektive minskad  $\beta$ -hämolys i närvaro av *Staphylococcus aureus* och *Rhodococcus equi* (CAMP-test).

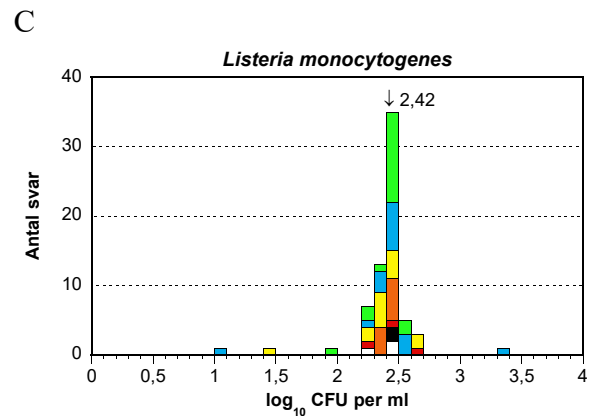
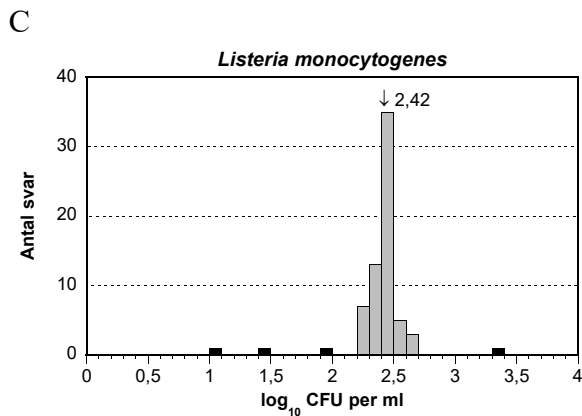
Användning av olika versioner av ISO 11290-2 respektive ISO 11290-1 var vanligast i såväl den kvantitativa som den kvalitativa analysen (39 % respektive 22 % av laboratorierna). Dessa följdes dock tätt av NMKL 136:2010 och RAPID'L.mono, samt för den kvalitativa analysen även och VIDAS® och olika PCR-metoder. RAPID'L.mono använder ett kromogent substrat som identifierar enzymet fosfatidylinositol phospholipase C (PI-PLC) i *L. monocytogenes*. Med substratet identifieras såväl *Listeria* spp. som *L. monocytogenes* genom att de inte metaboliserar xylos. Metoden Listeria Precis™ använder på liknande sätt ett kromogent substrat där  $\beta$ -glukosidas hos *Listeria* spp. och *L. monocytogenes* klyver X-glukosid i substratet Brilliance™ Listeria. VIDAS® är som jämförelse baserad på detektion av specifika antigen hos *L. monocytogenes*, genom en metod som bygger på ELFA (*Enzyme Linked Fluorescent Assay*). De alternativa metoderna är alla validerade av AFNOR och/eller NordVal.

Bland substrat användes framförallt ALOA, RAPID'L.mono och Oxoid Brilliance™ Listeria-agar (tidigare OCLA). Även PALCAM, LMBA, Oxford Listeria selective agar, SwabSure™ ListeriaP samt andra typer av kromogena substrat förekom. Konfirmering utfördes av 82 % av laboratorierna i den kvantitativa analysen och av 86 % i den kvalitativa analysen.

#### Resultat från kvantitativ analys av *Listeria monocytogenes*

Metod	Prov A							Prov B							Prov C						
	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>
Alla svar	67	61	2,40	0,09	2	2	2	67	67	-	-	0	-	-	67	63	2,42	0,09	0	3	1
RAPID'L.mono	19	18	2,39	0,08	1	0	0	19	19	-	-	0	-	-	19	18	2,42	0,09	0	1	0
NMKL 136:2010	16	14	2,43	0,10	0	1	1	16	16	-	-	0	-	-	16	14	2,43	0,08	0	1	1
ISO 11290-2:2017	14	11	2,37	0,11	1	1	1	14	14	-	-	0	-	-	14	13	2,41	0,13	0	1	0
ISO 11290-2:1998 /Amd 1:2004	10	10	2,42	0,05	0	0	0	10	10	-	-	0	-	-	10	10	2,42	0,05	0	0	0
Listeria Precis	3	3	-	-	0	0	0	3	3	-	-	0	-	-	3	3	-	-	0	0	0
ISO 11290-2:1998	2	2	-	-	0	0	0	2	2	-	-	0	-	-	2	2	-	-	0	0	0
Övriga	3	3	-	-	0	0	0	3	3	-	-	0	-	-	3	3	-	-	0	0	0





### Resultat från kvalitativ analys av *Listeria monocytogenes*

Metod	Prov A				Prov B				Prov C			
	N	n	+/-	F	N	n	+/-	F	N	n	+/-	F
Alla svar	98	96	Pos	2	98	97	Neg	1	98	97	Pos	1
RAPID' L.mono	18	17	Pos	1	18	17	Neg	1	18	18	Pos	0
VIDAS	16	16	Pos	0	16	16	Neg	0	16	16	Pos	0
PCR-metod	13	13	Pos	0	13	13	Neg	0	13	13	Pos	0
NMKL 136:2010	12	12	Pos	0	12	12	Neg	0	12	12	Pos	0
ISO 11290-1:2017	12	11	Pos	1	12	12	Neg	0	12	12	Pos	0
ISO 11290-1:1996 /Amd 1:2004	10	10	Pos	0	10	10	Neg	0	10	10	Pos	0
Listeria Precis	4	4	Pos	0	4	4	Neg	0	4	4	Pos	0
SwaBSure ListeriaP	3	3	Pos	0	3	3	Neg	0	3	2	Pos	1
Övriga	10	10	Pos	0	10	10	Neg	0	10	10	Pos	0

## *Salmonella*

### Prov A

Ingen målorganism för analysen fanns i provet. Trots detta rapporterades fyra falskpositiva resultat.

### Prov B

Stammen av *S. Enteritidis* var målorganism och förekom med cirka log<sub>10</sub> 2,0 cfu ml<sup>-1</sup> i provet. Stammen växer fram med typiska röda kolonier med svart centrum på XLD. På Brilliance™ *Salmonella* växer den fram med typiska lila kolonier. Stammen är positiv för agglutinerings mot både O- och H-antigen.

### Prov C

Ingen målorganism för analysen fanns i provet. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll växte dock *C. freundii* fram på XLD och Brilliance™ *Salmonella* med atypiska kolonier.



## Allmänt om analyserna

De två vanligast förekommande metoderna var NMKL 71:1999 (26 %) och ISO 6579-1:2017 (17 %), vilka i stort är väldigt lika. Båda är baserade på preanrikning i BPV, följt av selektiv anrikning i RVS. Utstryk sker sedan på XLD och ett andra selektivt substrat som väljs av laboratoriet. Till skillnad från NMKL 71:1999 inkluderar ISO 6579-1:2017 även selektiv anrikning i MKTTn. Det är också möjligt att med ISO-metoden ersätta RVS med semi-solitt MSRV för analys av rörliga *Salmonella*. Konfirmering sker genom biokemiska (t.ex. mannitol och urea) och serologiska (t.ex. *Salmonella* polyvalent O- och H-antiserum) tester.

Majoriteten av de totalt 30 laboratorier som analyserade enligt ISO 6579 följde den nya ISO 6579-1:2017, även om några fortfarande angav någon av de äldre ISO 6579:2002 eller ISO 6579:2002/Amd 1:2007. Versionen från 2017 skiljer sig bland annat genom att detektion av  $\beta$ -galaktosidas och indol är valfritt vid konfirmeringen, medan ett positivt resultat för agglutinerings mot både O- och H-antigen krävs för att en stam ska bedömas som *Salmonella*.

Användare av NMKL-metoder kan för analys av *Salmonella* förutom NMKL 71:1999 även följa NMKL 187:2016. Den senare metoden är avsedd för detektion av rörliga *Salmonella*, och använder på motsvarande sätt som ISO 6579-1:2017 MSRV istället för RVS vid den selektiva anrikningen. Två av de tre laboratorier som följde NMKL 187 angav dock att de följde den äldre NMKL 187:2006. Versionen från 2016 innehåller förtydliganden gällande valet av det selektiva substrat som ska komplettera XLD, samt koncentrationen av novobiocin i MSRV. Den innehåller även nya avsnitt gällande preanrikning av prover från köttproduktion, avföringsprover och svabbprover.

På XLD, vilket användes av majoriteten av laboratorierna, bildar typiska *Salmonella* transparenta röda kolonier med ett svart centrum. Som kompletterande substrat till XLD användes framförallt kromogena substrat som Brilliance™ *Salmonella*, BGA, Rambach™ agar och Harlequin® *Salmonella* ABC Medium. Liksom vid tidigare kompetensprovningar valde flera laboratorier att analysera med alternativa metoder som RAPID'*Salmonella* eller VIDAS®, vilka är validerade av AFNOR och/eller NordVal gentemot ISO 6579-1:2017. Även PCR-baserade metoder var vanligt förekommande. Inga uppenbara skillnader i resultat mellan de olika metoder som användes kunde dock identifieras.

Konfirmering i någon form utfördes av majoriteten (95 %) av laboratorierna. Av de fyra falska resultat som rapporterades för prov A var endast ett ifrån ett laboratorium som inte konfirmerade.

## Resultat från analys av Salmonella

Metod	Prov A				Prov B				Prov C			
	N	n	+/-	F	N	n	+/-	F	N	n	+/-	F
Alla svar	111	107	Neg	4	112	112	Pos	0	111	111	Neg	0
NMKL 71:1999	29	29	Neg	0	29	29	Pos	0	29	29	Neg	0
ISO 6579-1:2017	19	18	Neg	1	19	19	Pos	0	19	19	Neg	0
PCR-metod	18	18	Neg	0	18	18	Pos	0	18	18	Neg	0
VIDAS*	16	15	Neg	1	16	16	Pos	0	16	16	Neg	0
RAPID' Salmonella	7	6	Neg	1	7	7	Pos	0	7	7	Neg	0
ISO 6579:2002	6	5	Neg	1	6	6	Pos	0	6	6	Neg	0
ISO 6579:2002 /Amd 1:2007	5	5	Neg	0	5	5	Pos	0	5	5	Neg	0
NMKL 187**	3	3	Neg	0	3	3	Pos	0	3	3	Neg	0
Övriga***	8	8	Neg	0	9	9	Pos	0	8	8	Neg	0

\* I gruppen VIDAS ingår två laboratorier som analyserade med MINI VIDAS®.

\*\* Inkluderar både NMKL 187:2007 och NMKL 187:2016

\*\*\* I gruppen övriga ingår Oxoid Salmonella PreciS™, vattenmetoden ISO 19250, samt nationella och/eller företagsspecifika metoder.

## Escherichia coli O157

### Prov A

Stammen av *E. coli* O157 var målorganism och förekom med cirka  $\log_{10}$  0,8 cfu ml<sup>-1</sup> i provet. Stammen växer på CT-SMAC fram med typiska sorbitolnegativa transparenta kolonier med mörkare centrum. Stammen är positiv vid tester för indolproduktion och agglutinerings med *E. coli* O157-antiserum. Den innehåller genen *eae*, men inga *stx*-gener.

### Prov B

Ingen målorganism för analysen fanns i provet. Samtliga resultat var korrekt negativa.

### Prov C

Stammen av *E. coli* O157 (ej identisk med den i prov A) var målorganism och förekom med cirka  $\log_{10}$  1,7 cfu ml<sup>-1</sup> i provet. Stammen växer på CT-SMAC fram med typiska sorbitolnegativa transparenta kolonier med mörkare centrum. Stammen är positiv vid tester för indolproduktion och agglutinerings med *E. coli* O157-antiserum. Den innehåller genen *eae*, men inga *stx*-gener.

### Allmänt om analyserna

Endast 28 laboratorier utförde analysen, vilket gör det svårt att utvärdera resultaten statistiskt. Förekommande falska resultat fördelade sig heller inte uppenbart till någon specifik metod eller substrat.

Totalt 43 % av laboratorierna följde någon av de odlingsbaserade metoderna NMKL 164:2005 eller ISO 16654:2001, vilka följer en liknande metodik. Anrikning sker i mTSB med novobiocin och följs av immunomagnetisk separation och isolering på CT-SMAC samt ytterligare ett valfritt substrat. Konfirmering sker genom test för indolproduktion samt agglutinerings med *E. coli* O157-antiserum. ISO 16654:2001 granskades av ISO senast år 2018 och är fortfarande aktuell. NMKL-metoden finns

däremot i en ny version, NMKL 164:2019. Den stora förändringen från föregående upplaga är att presumtiva *E. coli* O157 ska skickas till referens/expert-laboratorium för bestämning av virulensprofil (*eae* och *stx*-gener).

Åtminstone tre av de deltagande laboratorierna använde metoder och/eller substrat som inte primärt är tänkta för analys av *E. coli* O157. Bland dessa märks NMKL 44 (koliforma bakterier), TEMPO EC (*E. coli*) och Compact Dry EC (koliforma bakterier och *E. coli*). Dessa resultat har undantagsvis inkluderats i resultatsammanställningen. Analysparametrarna *E. coli* och koliforma bakterier ingår annars i provtillfällena april respektive oktober.

Som i tidigare kompetensprovningar var de mest använda substraten CT-SMAC och SMAC, men även CHROMagar™ O157 förekom. På CT-SMAC och SMAC särskiljs bakterier som fermenterar sorbitol (de flesta icke-patogena *E. coli*) från de som inte kan göra detta (de flesta *E. coli* O157). CT-SMAC är genom tillsatsen av cefixim och tellurit mer selektivt än SMAC och inhiberar växt av bland annat *Proteus* spp. och *Aeromonas* spp., vilka ofta är sorbitolnegativa. Sorbitolnegativa *E. coli* O157 bildar på CT-SMAC och SMAC transparenta kolonier, vilka är cirka 1-2 mm i diameter och med ett mörkt centrum. Sorbitolpositiva *E. coli* bildar istället röda kolonier. Som jämförelse växer på CHROMagar™ *E. coli* O157 fram med lila kolonier, vilka kan särskiljas från de andra kolonier (blå eller ofärgade) som eventuellt kan växa fram på detta substrat.

#### Resultat från analys av *Escherichia coli* O157

Metod	Prov A				Prov B				Prov C			
	N	n	+/-	F	N	n	+/-	F	N	n	+/-	F
Alla svar	28	23	Pos	5	28	28	Neg	0	28	25	Pos	3
ISO 16654:2001	8	7	Pos	1	8	8	Neg	0	8	7	Pos	1
PCR-metod	6	5	Pos	1	6	6	Neg	0	6	5	Pos	1
NMKL 164:2005	4	4	Pos	0	4	4	Neg	0	4	4	Pos	0
VIDAS	2	2	Pos	0	2	2	Neg	0	2	2	Pos	0
Övriga*	8	5	Pos	3	8	8	Neg	0	8	7	Pos	1

\* I gruppen Övriga ingår bland annat nationella och/eller företagsspecifika metoder, samt laboratorier för vilka det är oklart om de använt metoder specifika för *E. coli* O157.

## Patogena *Vibrio* spp.

### Prov A

Stammen av *V. cholerae* var målorganism och förekom med cirka  $\log_{10}$  3,4 cfu ml<sup>-1</sup> i provet. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll växte denna fram på TCBS med typiska gula kolonier. Stammen är oxidaspositiv och känslig mot vibriostaticum O129.

### Prov B

Stammen av *V. cholerae* (ej identisk med den i prov A) var målorganism och förekom med cirka  $\log_{10}$  2,9 cfu ml<sup>-1</sup> i provet. Stammen växer fram på TCBS med typiska gula kolonier. Vid konfirmering är den oxidaspositiv och känslig mot vibriostaticum O129.

Stammen av *S. Enteritidis* som finns i provet kan eventuellt ha vuxit fram på TCBS.

## Prov C

Ingen målorganism för analysen fanns i provet. Stammen av *E. coli* O157 som finns i provet kan eventuellt ha vuxit fram på TCBS.

### Allmänt om analyserna

Endast 20 laboratorier utförde analysen, och de flesta använde likvärdiga metoder och substrat. Majoriteten av laboratorierna rapporterade även korrekta resultat. Resultaten är därför svåra att utvärdera statistiskt. Samtliga laboratorier utom ett (95 %) angav att de utförde någon form av konfirmering.

Som vid tidigare kompetensprovningar följde majoriteten av laboratorierna antingen NMKL 156:1997 eller någon version av ISO 21872. Den senaste av dessa, ISO 21872-1:2017, ersätter såväl ISO/TS 21872-1:2007 som ISO/TS 21872-2:2007. Användningen av någon av de äldre versionerna var här fortfarande större än användningen av den nya ISO 21872-1:2017.

ISO 21872-1:2017 innehåller flera förändringar, bland annat vad gäller utförandet av konfirmering med biokemiska tester och/eller med PCR-metoder. I huvudsak följer den dock samma princip som tidigare versioner. Primär och sekundär anrikning sker i APV 2 % och följs av ansättning på TCBS. Ytterligare ett substrat, vilket väljs av laboratoriet, ansätts parallellt med TCBS. Proceduren i NMKL 156:1997 påminner om den i ISO 21872-1:2017, men inkluderar även anrikning i SP. NMKL-metoden innehåller också endast biokemiska konfirmeringssteg.

Samtliga laboratorier angav att kolonier isolerades på TCBS. Ett laboratorium angav att man ansatte parallellt på CHROMagar™ Vibrio. Gallsalter i TCBS hämmar växt av grampositiva mikroorganismer medan ett högt pH främjar växt av *V. cholerae*. På detta substrat bildar *Vibrio* spp. antingen gröna eller gula kolonier, beroende på om de fermenterar sukros eller inte. *V. parahaemolyticus* och *V. vulnificus* (sukrosnegativa) bildar vanligen blå-gröna kolonier, medan *V. cholerae* (sukrospositiv) vanligen bildar gula kolonier.

### Resultat från analys av patogena *Vibrio* spp.

Metod	Prov A				Prov B				Prov C			
	N	n	+/-	F	N	n	+/-	F	N	n	+/-	F
Alla svar	20	18	Pos	2	20	18	Pos	2	20	19	Neg	1
NMKL 156:1997	8	7	Pos	1	8	8	Pos	0	8	8	Neg	0
ISO/TS 21872-1:2007	5	5	Pos	0	5	5	Pos	0	5	5	Neg	0
ISO 21872-1:2017	4	4	Pos	0	4	3	Pos	1	4	3	Neg	1
ISO/TS 21872-1:2007 /Cor 1:2008	1	1	Pos	0	1	1	Pos	0	1	1	Neg	0
AOAC 988.20:1988*	1	1	Pos	0	1	1	Pos	0	1	1	Neg	0
Övriga	1	0	Pos	1	1	0	Pos	1	1	1	Neg	0

\* Laboratoriet har angett att man använt en modifierad version av AOAC 988.20:1988

## *Yersinia enterocolitica*

---

### Prov A

Ingen målorganism för analysen fanns i provet. Däremot innehöll provet en väldigt låg koncentration (cirka 1-2 cfu ml<sup>-1</sup>) av *Y. intermedia*, vilken är falskpositiv för analysen. Denna växer fram på BS med typiska gula kolonier. Stammen är oxidasnegativ, men negativ vid objektglas-agglutineringsmedel med både O:3 och O:9 antiserum. Den innehåller heller inte genen *ail*, vilken används för PCR-detektion av *Y. enterocolitica*. Stammen kan vara svår att identifiera med API 20 E.

Eftersom samtliga laboratorier ser ut att ha använt metoder som innefattar någon form av anrikningssteg, bör *Y. intermedia* ha kunnat detekteras trots den låga halten. Det kan dock inte uteslutas att enskilda laboratorier erhållit negativt resultat enbart på grund av den låga halten. Vid Livsmedelsverkets egen kontroll detekterades *Y. intermedia* efter 3 veckors kylkubering i PSB följt av utspridning på CIN. Sådan kylkubering är obligatorisk med NMKL 117:1996, men valfri med ISO 10273:2017.

### Prov B

Stammen av *Y. enterocolitica* var målorganism och förekom med cirka log<sub>10</sub> 2,4 cfu ml<sup>-1</sup> i provet. Stammen växer fram på CIN med typiska kolonier med mörkrött centrum omgivna av en transparent yttre zon. På BS växer den fram med typiska gula kolonier. Stammen är oxidasnegativ, samt positiv vid objektglas-agglutineringsmedel med O:3 antiserum, och negativ med O:9 antiserum. Stammen innehåller genen *ail*.

### Prov C

Ingen målorganism för analysen fanns i provet. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll växte dock *C. freundii* som fanns i provet fram med atypiska rosa kolonier på CIN och med gula kolonier på BS.

### Allmänt om analyserna

Endast 12 laboratorier utförde analysen, och samtliga rapporterade korrekta resultat. Resultaten går därför inte att utvärdera statistiskt. Samtliga laboratorier utom ett uppgav att de utförde någon form av konfirmering.

Majoriteten av laboratorierna följde ISO 10273, fördelat ungefär lika mellan ISO 10273:2017 och den äldre 10273:2003. Den nya ISO 10273:2017 innehåller flera viktiga förändringar jämfört med den tidigare versionen. Bland annat kan karaktäristiska *Y. enterocolitica* konfirmeras antingen med de traditionella biokemiska metoderna, eller med detektion av den kromosomala virulens-associerade genen *ail* med Realtids-PCR. Här kan nämnas att även NMKL 117:1996 är under revidering och den nya versionen kommer sannolikt att i stora delar vara väldigt lik ISO 10273:2017. Det finns dock i nuläget inget datum för när en ny NMKL-version kommer att publiceras.

Metoden i ISO 10273:2017 är baserad på parallell anrikning i PSB och ITC. Selektiv ansättning görs på CIN samt (valfritt) på ett ytterligare kromogent substrat. Karaktäristiska kolonier konfirmeras sedan genom biokemiska metoder eller med Realtids-PCR. Kylanrikning kan även utföras vid exempelvis utbrottsanalyser, men är inte obligatorisk. Metoden i NMKL 117:1996 är istället baserad på pre- och kylanrikning i PSB, såväl som selektiv anrikning i MRB. Efter anrikningsstegen ansätts provet på CIN, men SSDC kan också användas. Presumptiva kolonier renstryks på BS och sukrospositiva kolonier (gula) väljs ut för konfirmering.

På CIN växer kolonier av *Y. enterocolitica* fram med ett typiskt utseende; ett mörkrött centrum ("bull's eye") omgivet av en ofärgad transparent zon. Samtliga laboratorier utom ett angav att de inkuberade på CIN, i en del fall i kombination med annat substrat. Kromogena substrat som kan användas parallellt med CIN är till exempel YECA (2), YeCM (3) och CHROMagar™ *Y. enterocolitica*.

För laboratorier som använder NMKL-metoder finns även en metod baserad på realtids-PCR att tillgå, NMKL 163:2013. Provet anrikas här i semi-selektiv PSB eller icke-selektiv TSBY. Anrikningen följs av DNA-extraktion och realtids-PCR riktad mot *ail*-genen i *Y. enterocolitica*, på motsvarande sätt som i ISO 10273:2017. Ansättning från anrikningsbuljong till CIN är frivilligt i metoden. NMKL 163:2013 är lämplig för prover med höga halter av *Y. enterocolitica*, och det rekommenderas att istället följa NMKL 117:1996 eller ISO-metoden om provet förväntas innehålla endast låga halter.

#### Resultat från analys av *Yersinia enterocolitica*

Metod	Prov A				Prov B				Prov C			
	N	n	+/-	F	N	n	+/-	F	N	n	+/-	F
Alla svar	12	12	Neg	0	12	12	Pos	0	12	12	Neg	0
ISO 10273:2017	4	4	Neg	0	4	4	Pos	0	4	4	Neg	0
ISO 10273:2003*	3	3	Neg	0	3	3	Pos	0	3	3	Neg	0
PCR-metod	2	2	Neg	0	2	2	Pos	0	2	2	Neg	0
NMKL 117:1996	1	1	Neg	0	1	1	Pos	0	1	1	Neg	0
Övriga	2	2	Neg	0	2	2	Pos	0	2	2	Neg	0

\* Ett av laboratorierna angav att de använde en modifierad version av ISO 10273:2003.

## **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](http://www.livsmedelsverket.se/PT-extra)

### **Z-värden, box-diagram och avvikande svar**

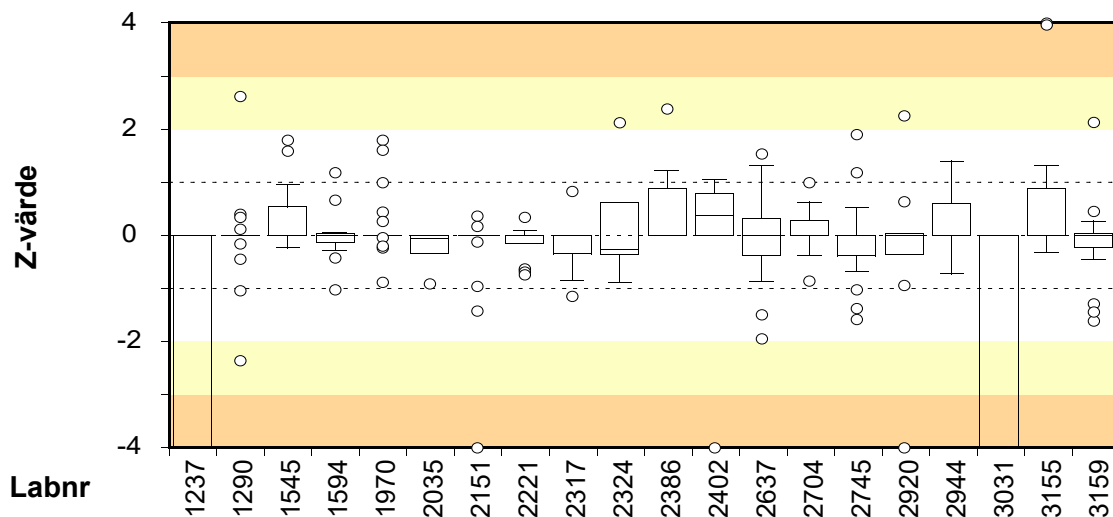
För att möjliggöra jämförelser av resultat från olika analyser och provblandningar med varandra omräknas laboratoriernas resultat från samtliga analyser till standardvärden (z-värden). För kvantitativa analyser blir standardvärdet positivt eller negativt beroende på om resultatet ligger över eller under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

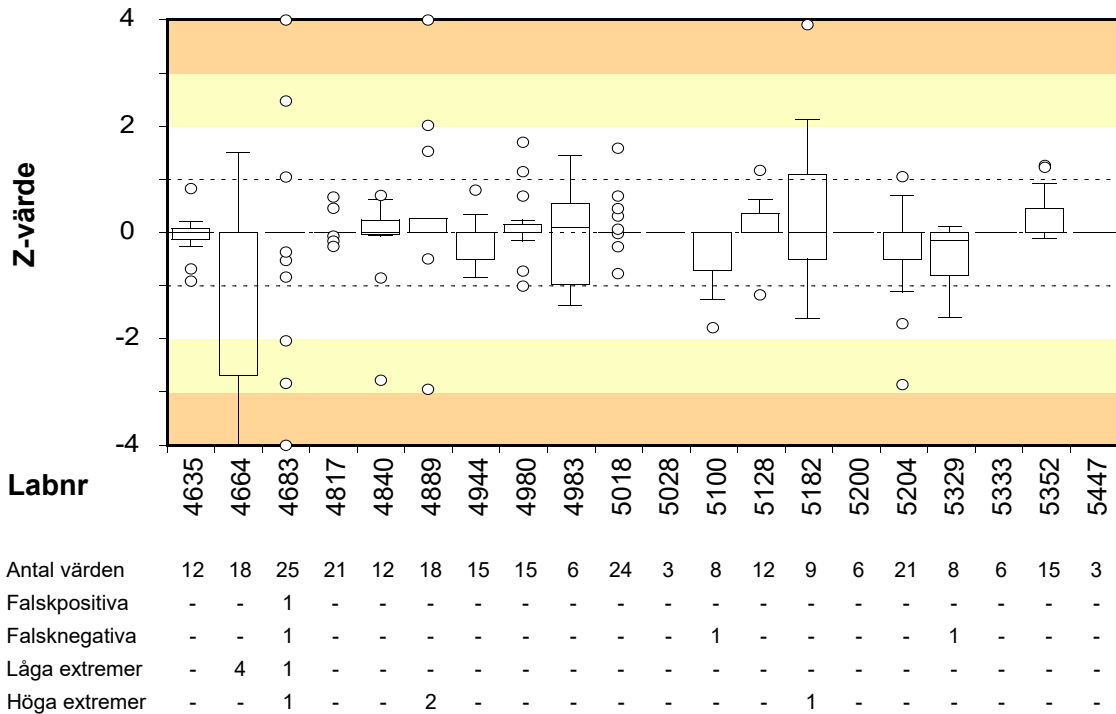
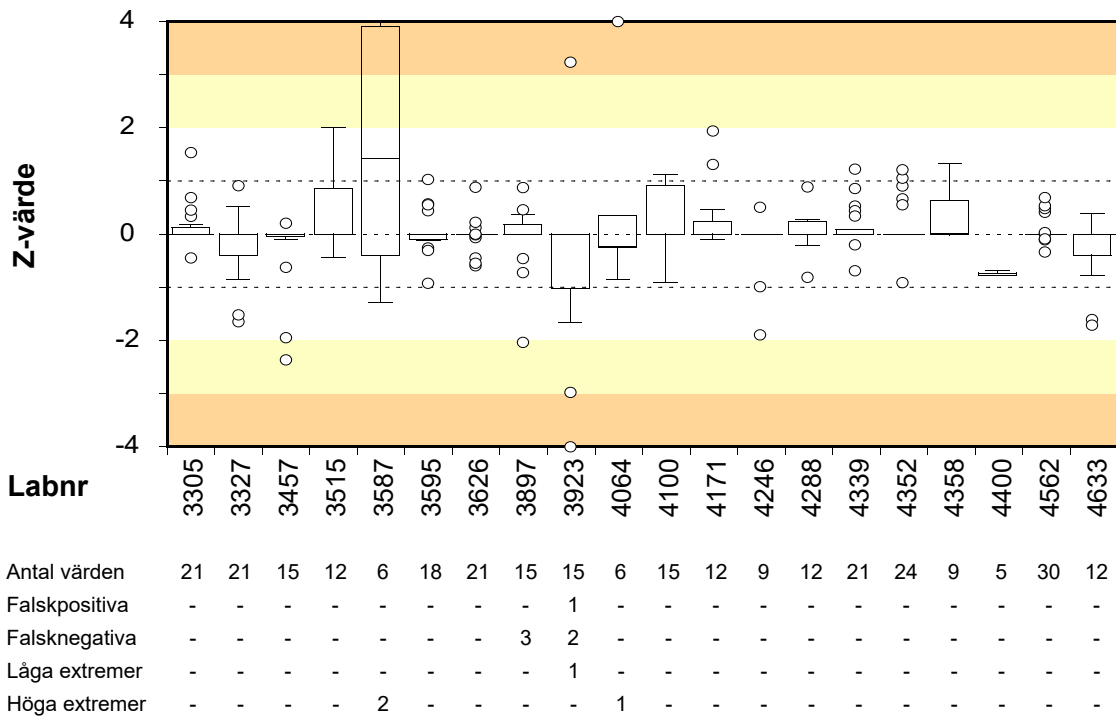
- Z-värden beräknas enligt formeln:  $z = (x - m)/s$ , där  $x$  är enskilt laboratoriums resultat,  $m$  är medelvärde beräknat från deltagande laboratoriers svar och  $s$  är standardavvikelse beräknad från deltagande laboratoriers svar, med extremvärden och falska svar borttagna.
- Extremvärden ingår 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.

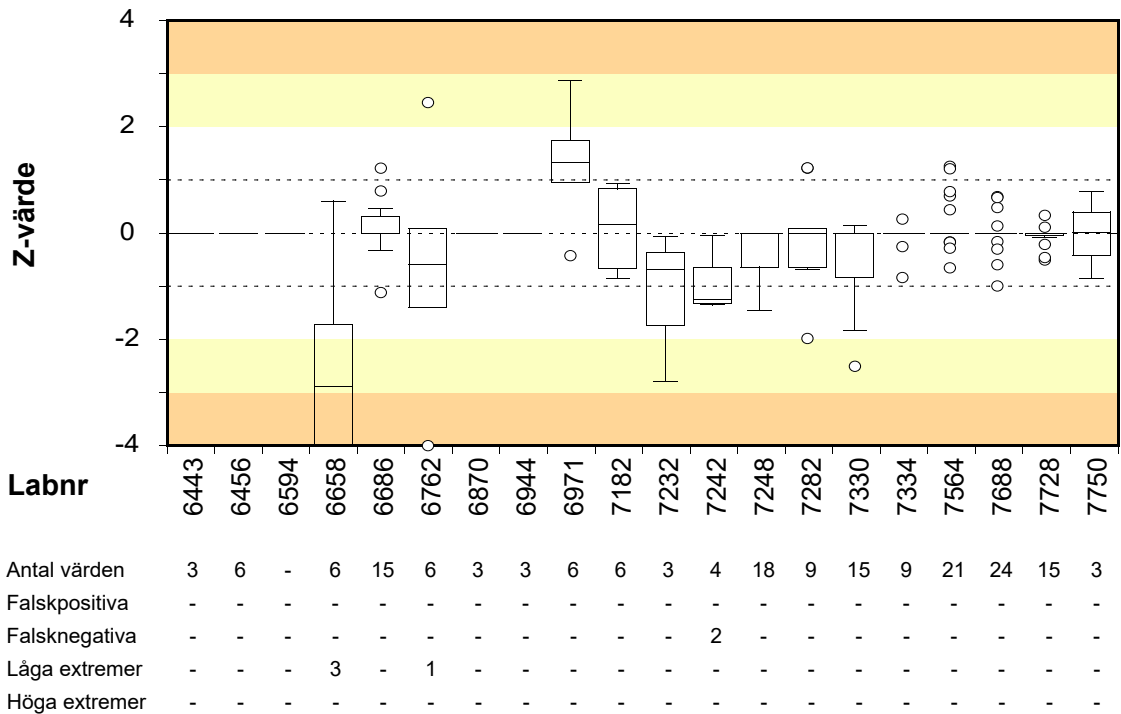
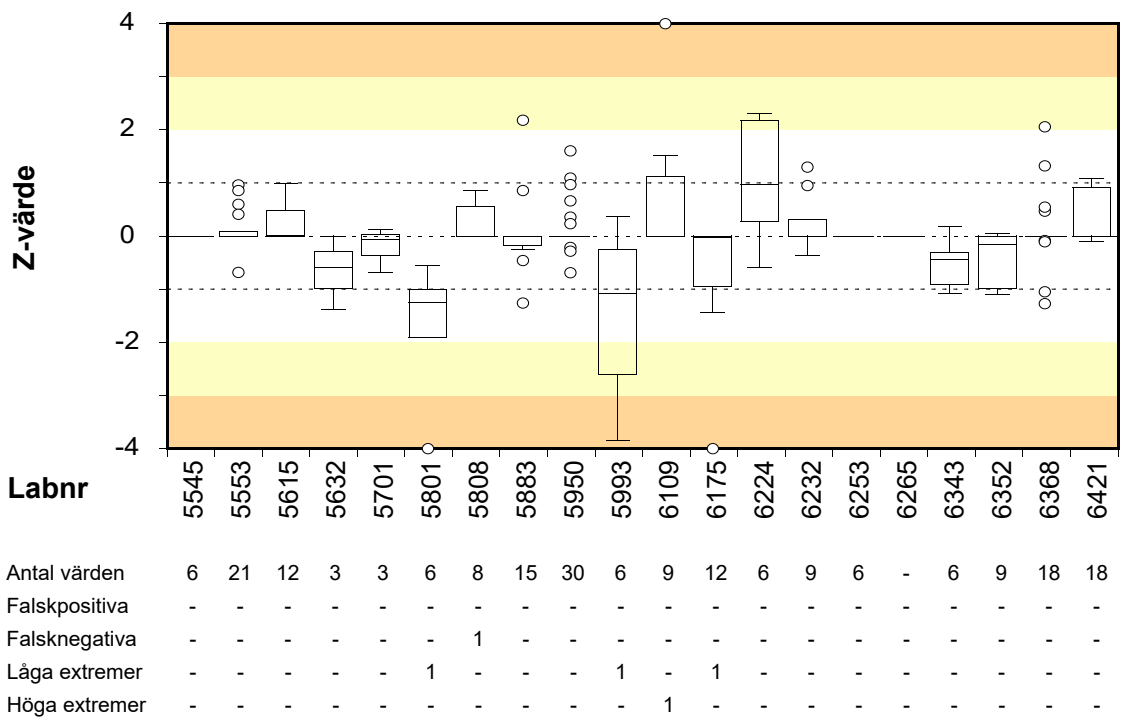
\*  $< [\text{boxens minsta värde} - 1,5 \times (\text{boxens största värde} - \text{boxens minsta värde})]$  eller  $> [\text{boxens största värde} + 1,5 \times (\text{boxens största värde} - \text{boxens minsta värde})]$ .

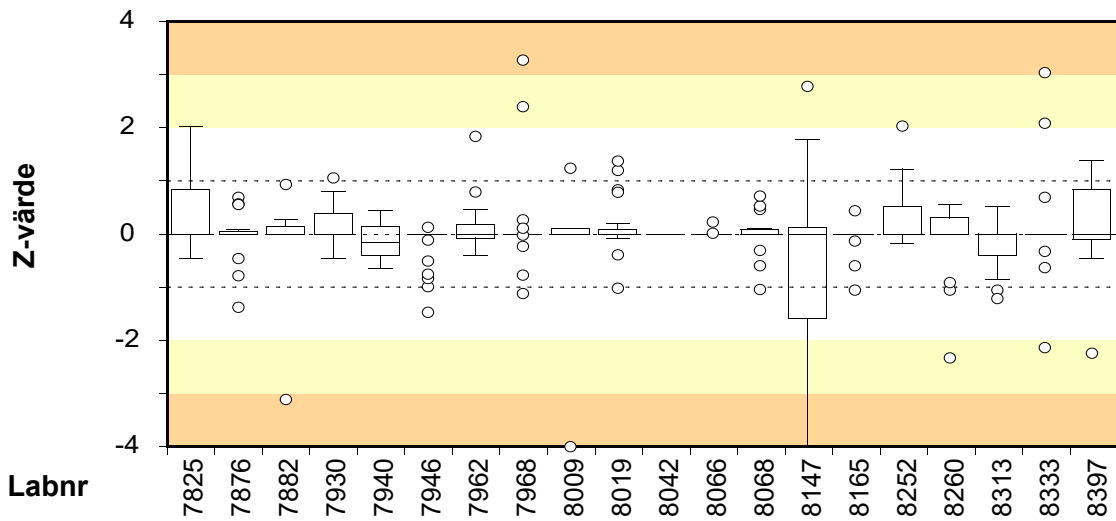


Antal värden	13	21	15	12	24	6	18	18	15	5	9	9	15	15	15	9	18	15	15	15
Falskpositiva	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Falsknegativa	6	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Låga extremer	4	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	5	-	-
Höga extremer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-

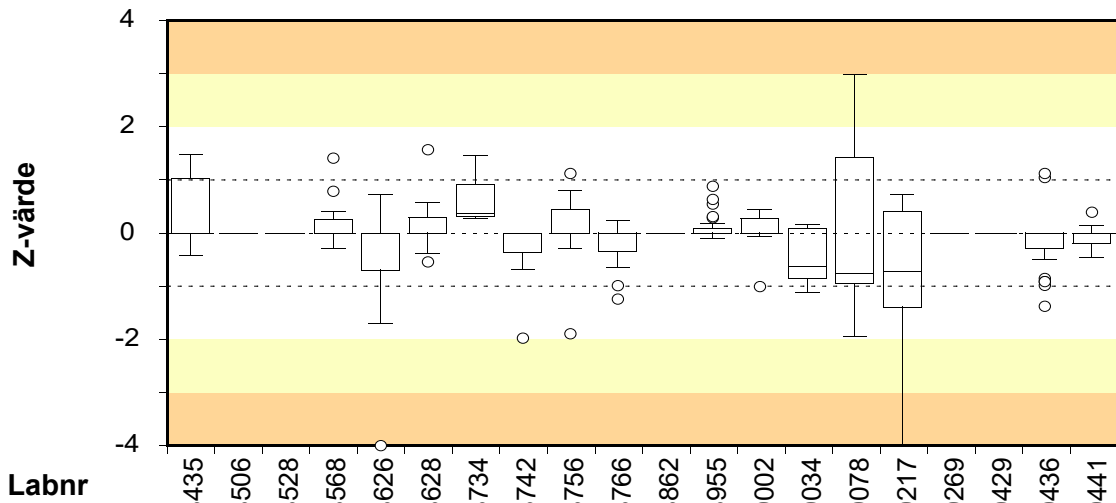




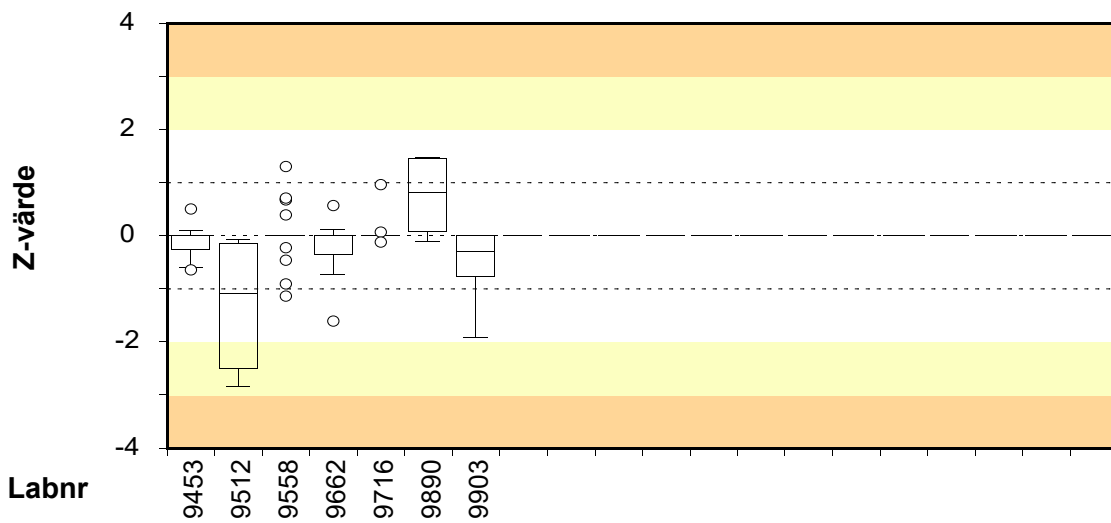




Antal värden	15	15	8	15	3	26	15	18	6	20	3	9	15	14	21	15	15	15	15	12
Falskpositiva	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Falsknegativa	-	-	-	-	-	4	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Låga extremer	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-
Höga extremer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



Antal värden	12	-	3	15	15	17	3	9	10	15	3	30	18	6	6	6	3	6	24	15
Falskpositiva	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Falsknegativa	-	-	-	-	-	1	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Låga extremer	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
Höga extremer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



Antal värden	12	6	30	15	12	6	12
Falskpositiva	-	-	-	-	-	-	-
Falsknegativa	-	-	-	-	-	-	-
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 <sup>1</sup>	Mikroorganism	Stambeteckning	
		SLV-nr. <sup>2</sup>	Referens <sup>3</sup>
A	<i>Escherichia coli</i> O157	SLV-528	CCUG 47557
	<i>Hafnia alvei</i>	SLV-015	CCUG 45642
	<i>Listeria monocytogenes</i>	SLV-361	gravad lax
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	SLV-013	CCUG 45100
	<i>Vibrio cholerae</i>	SLV-507	CCUG 34649
	<i>Yersinia intermedia</i>	SLV-472	ATCC 29909
B	<i>Bacillus cereus</i>	SLV-516	CCUG 44740
	<i>Kocuria rhizophila</i>	SLV-055	CCUG 35073
	<i>Salmonella</i> Enteritidis	SLV-436	-
	<i>Vibrio cholerae</i>	SLV-530	CCUG 45388
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	SLV-408	CCUG 45643
C	<i>Campylobacter coli</i>	SLV-271	CCUG 45147
	<i>Citrobacter freundii</i>	SLV-091	CCUG 43597
	<i>Escherichia coli</i> O157	SLV-479	SMI 811 86
	<i>Listeria monocytogenes</i>	SLV-513	CCUG 44510

<sup>1</sup> För koppling av slumpad provbeteckning till respektive provblandning hänvisas till bilaga 1.

<sup>2</sup> Internt stamnummer på Livsmedelsverket.

<sup>3</sup> Ursprung eller stamsamling (ATCC: American Type Culture Collection, CCUG: Culture Collection University of Gothenburg, Sweden, SMI: Folkhälsomyndigheten)

### 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 (I<sub>2</sub>) inte samtidigt överskrider gränsvärdena 2,6 respektive 2,0. (För definitioner av T och I<sub>2</sub>, se referenserna 6 respektive 7.)

**Tabell 3:** Medelvärden av halter (m), I<sub>2</sub>- och T-värden från kvalitetskontroll av provblandningarna; m anges i log<sub>10</sub> cfu (colony forming units) per ml prov.

Analys och metod	A <sup>1</sup>			B <sup>1</sup>			C <sup>2</sup>		
	m	I <sub>2</sub>	T	m	I <sub>2</sub>	T	m	I <sub>2</sub>	T
Aeroba mikroorganism 30 °C NMKL-metod nr. 86:2013	4,82	<b>2,65</b>	1,50	4,61	1,83	1,53	3,98	0,87	1,21
Enterobacteriaceae NMKL-metod nr. 144:2005	4,37	<b>2,76</b>	1,94	2,09	<b>2,06</b>	2,05	3,59	<b>2,44</b>	1,64
Termotoleranta <i>Campylobacter</i> , kvant. NMKL-metod nr. 119:2007	Neg	-	-	Neg	-	-	3,18	<b>5,12</b>	1,44
Termotoleranta <i>Campylobacter</i> , kval. NMKL-metod nr. 119:2007	Neg	-	-	Neg	-	-	Pos	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> , kvant. NMKL-metod nr. 136:2010	2,46	0,89	1,43	Neg	-	-	2,47	0,82	1,38
<i>Listeria monocytogenes</i> , kval. NMKL-metod nr. 136:2010	Pos	-	-	Neg	-	-	Pos	-	-
<i>Salmonella</i> NMKL-metod nr. 71:1999	Neg	-	-	1,96 <sup>3</sup>	0,50 <sup>3</sup>	1,37 <sup>3</sup>	Neg	-	-
<i>Escherichia coli</i> O157 NMKL-metod nr. 164:2005	0,81 <sup>3</sup>	1,93 <sup>3</sup>	1,34 <sup>3</sup>	Neg	-	-	1,67 <sup>3</sup>	1,13 <sup>3</sup>	1,32 <sup>3</sup>
Patogena <i>Vibrio</i> spp. NMKL-metod nr. 156:1997	3,36 <sup>3</sup>	<b>5,57<sup>3</sup></b>	1,91 <sup>3</sup>	2,89 <sup>3</sup>	0,49 <sup>3</sup>	1,36 <sup>3</sup>	Neg	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i> NMKL-metod nr. 117:1996	0,18 <sup>3,4</sup>	<b>4,20<sup>3,4</sup></b>	1,99 <sup>3,4</sup>	2,37 <sup>3</sup>	1,95 <sup>3</sup>	1,44 <sup>3</sup>	Neg	-	-

- Ingen målorganism och därför inget värde

<sup>1</sup> n = 5 vialer med dubbelanalyser

<sup>2</sup> n = 10 vialer med dubbelanalyser

<sup>3</sup> Analys av parallell provblandning

<sup>4</sup> Ej målorganism för analysen

## Referenser

1. Kelly, K. 1990. Outlier detection in collaborative studies. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 73:58–64.
2. Denis, M., Houard, E., Labbé, M., Fondrevez, M. & Salvat., G. 2011. A selective chromogenic plate, YECA, for the detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica*: specificity, sensitivity, and capacity to detect pathogenic *Y. enterocolitica* from pig tonsils. *J. Pathog.* 2011:2962p75.
3. Weagant, S.D. 2008. A new chromogenic agar medium for detection of potentially virulent *Yersinia enterocolitica*. *J. Microbiol. Methods.* 72:185–190.
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-Lockefeer, N.G.W.M., Havelaar, A.H., Mooijman, K.A., in't Veld, P.H., Notermans, S.H.W., Maier, E.A. ; Griepink, B. 1993. Statistical analysis of certification trials for microbiological reference materials. Luxembourg: Commission of the European Communities, Report EUR 15008 EN.

## **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](http://www.livsmedelsverket.se/RM-micro)