

Mikrobiologi – Livsmedel

Januari 2021

Jonas Ilbäck



Utgåva
Version 1 (2021-04-15)

Ansvarig utgivare
Maria Sitell, avdelningschef, Biologiavdelningen, Livsmedelsverket

Programansvarig
Jonas Ilbäck, mikrobiolog, Biologiavdelningen, Livsmedelsverket

PT januari 2021 har diarienummer 2020/03101 vid Livsmedelsverket.

Kompetensprovning
Mikrobiologi – Livsmedel
Januari 2021

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 <i>Listeria</i> enligt Ottaviani & Agosti
APV 2%	Alkaliskt peptonvatten med 2 % NaCl
BA	Blodagar
BGA	Briljantgrön agar BPV Buffrat peptonvatten
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
HEA	Hektoen enteric agar
ITC	Irgasan-ticarcillin-kaliumklorat-buljong
LMBA	<i>Listeria monocytogenes</i> 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™ <i>Listeria</i>
PALCAM	Polymyxin acriflavine lithium chloride ceftazidime aesculin mannitol agar
Petriefilm AC	3M™ Petriefilm™ Aerobic Count
Petriefilm EB	3M™ Petriefilm™ 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
TEMPO EC	TEMPO® <i>E. coli</i>
TGE	Trypton-glukoseextrakt-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	Livsmedelsverket

Innehåll

Allmän information om utvärdering av resultaten	6
Analysresultat från provtillfället januari 2021	7
- Generellt utfall	7
- Aeroba mikroorganismer, 30 °C	8
- Enterobacteriaceae	10
- Termotoleranta <i>Campylobacter</i>	12
- <i>Listeria monocytogenes</i>	15
- <i>Salmonella</i>	17
- <i>Escherichia coli</i> O157	19
- Patogena <i>Vibrio</i> spp.	20
- <i>Yersinia enterocolitica</i>	21
Utfall av enskilda laboratoriers analysresultat – bedömning	24
- 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

För analyser där 20 eller fler laboratorier rapporterat resultat, identifieras extremvärden statistiskt. Värden 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 exkluderats 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 januari 2021

Generellt utfall

Provmaterial sändes ut till 144 laboratorier, varav 30 i Sverige, 98 i övriga Europa och 16 laboratorier i övriga världen. Av de 139 laboratorier som rapporterade svar hade 44 (32 %) minst ett analys svar med anmärkning. Vid det senaste provtillfället med ungefär samma parametrar (januari 2020) var andelen 24 %.

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 													
		Mikroorganism <i>Campylobacter coli</i> <i>Citrobacter freundii</i> <i>E. coli</i> O157 <i>Listeria monocytogenes</i>				Mikroorganism <i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella</i> Stockholm <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Yersinia enterocolitica</i>				Mikroorganism <i>Campylobacter jejuni</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Salmonella</i> Enteritidis <i>Vibrio parahaemolyticus</i>			
Analys		Målorganism	N	F	X	Målorganism	N	F	X	Målorganism	N	F	X
Aeroba mikroorganism 30 °C		<i>C. freundii</i>	114	0%	4%	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i>	112	0%	3%	<i>P. mirabilis</i>	114	0%	4%
Enterobacteriaceae		<i>C. freundii</i>	98	3%	3%	<i>E. coli</i>	97	0%	2%	<i>P. mirabilis</i>	97	4%	13%
Termotol. <i>Campylobacter</i>	Kvant.	<i>C. coli</i>	17	6%	0%	<i>(E. coli)</i>	16	6%	0%	<i>C. jejuni</i>	17	18%	0%
	Kval.		23	4%	-		23	0%	-		23	4%	-
<i>L. monocytogenes</i>	Kvant.	<i>L. monocytogenes</i>	58	0%	5%	-	58	0%	0%	-	58	0%	0%
	Kval.		94	0%	-		94	1%	-		94	0%	-
<i>Salmonella</i>		<i>(C. freundii)</i>	104	0%	-	<i>S. Stockholm</i>	104	4%	-	<i>S. Enteritidis</i>	104	4%	-
<i>E. coli</i> O157		<i>E. coli</i> O157	29	17%	-	<i>(E. coli)</i>	29	24%	-	-	29	10%	-
Patogena <i>Vibrio</i> spp.		<i>(E. coli</i> O157)	20	5%	-	<i>V. cholerae</i>	20	10%	-	<i>V. parahaemolyticus</i>	20	5%	-
<i>Y. enterocolitica</i>		<i>(C. freundii)</i>	12	0%	-	<i>Y. enterocolitica</i>	12	0%	-	-	13	8%	-

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

Aeroba mikroorganismer, 30 °C

Prov A

Stammen av *C. freundii* förekom i högst koncentration och var därmed huvudsaklig målorganism.

Medelvärdet för Petrifilm AC och TSA var något högre jämfört med medelvärdet för samtliga substrat. Något högre resultat ses förhållandevis ofta för Petrifilm AC och kan därför anses som normalt. Det höga medelvärdet för TSA beror däremot snarare på att ett högt resultat drar upp medelvärdet.

Prov B

Stammarna av *S. aureus* och *E. coli* förekom i högst koncentrationer och var därmed huvudsakliga målorganismer.

Prov C

Stammen av *P. mirabilis* förekom i högst koncentration och var därmed huvudsaklig målorganism.

Svärmande *P. mirabilis* orsakar ibland problem för deltagarna, vilket bland annat kan yttra sig i låga resultat. Vid detta provtillfälle rapporterades dock endast enstaka låga resultat.

Allmänt om analyserna

Som vid tidigare provtillfällen använde laboratorierna främst NMKL 86 (olika versioner), ISO 4833 (olika versioner) eller 3M Petrifilm. Såväl NMKL 86 som ISO 4833 baseras 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.

Ett av laboratorierna som inkuberade på PCA angav att man följde metoden för kontaminerande mikroorganismer i mjölkprodukter (ISO 13559 / IDF 153:2002), vilken dock använder samma temperatur och tid för inkubering som NMKL 86:2013 och ISO 4833-1:2013.

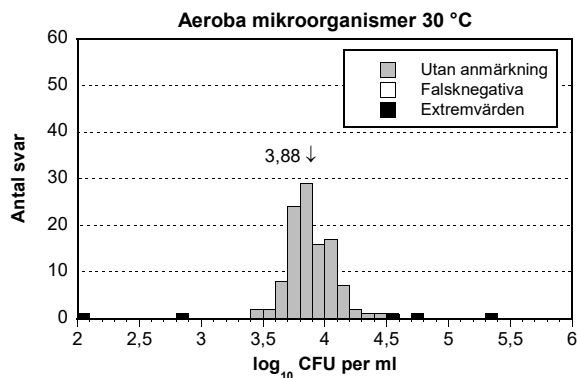
Majoriteten av laboratorierna inkuberade på antingen PCA eller Petrifilm AC. Inkubering på MPCA gjordes främst av laboratorier inom mjölkindustrin. Inkubering på TSA skedde främst vid användning av en företagsspecifik metod.

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.

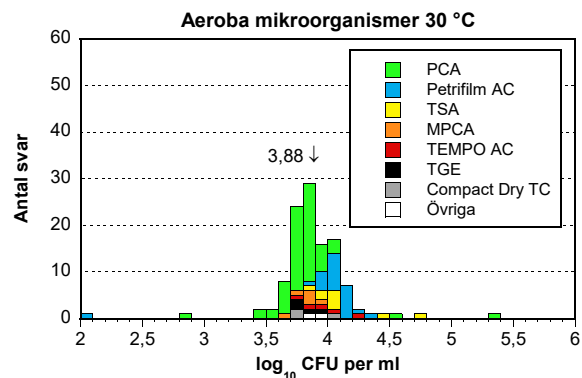
Resultat från analys av aeroba mikroorganismer, 30 °C

Substrat	Prov A							Prov B							Prov C						
	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>
Alla svar	114	109	3,88	0,17	0	2	3	112	109	4,64	0,10	0	3	0	114	110	4,22	0,13	0	2	2
PCA	62	59	3,79	0,12	0	1	2	60	59	4,62	0,09	0	1	0	62	60	4,18	0,11	0	1	1
Petrifilm AC	23	22	4,06	0,11	0	1	0	23	22	4,65	0,10	0	1	0	23	22	4,32	0,12	0	1	0
TSA	9	8	4,06	0,18	0	0	1	9	8	4,72	0,05	0	1	0	9	9	4,25	0,07	0	0	0
MPCA	6	6	3,82	0,10	0	0	0	6	6	4,68	0,12	0	0	0	6	6	4,18	0,18	0	0	0
TEMPO AC	5	5	3,97	0,18	0	0	0	5	5	4,72	0,11	0	0	0	5	5	4,30	0,14	0	0	0
TGE	4	4	-	-	0	0	0	4	4	-	-	0	0	0	4	4	-	-	0	0	0
Compact Dry TC	3	3	-	-	0	0	0	3	3	-	-	0	0	0	3	2	-	-	0	0	1
Övriga	2	2	-	-	0	0	0	2	2	-	-	0	0	0	2	2	-	-	0	0	0

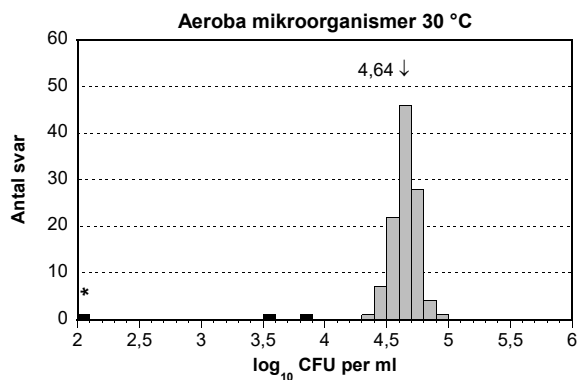
A



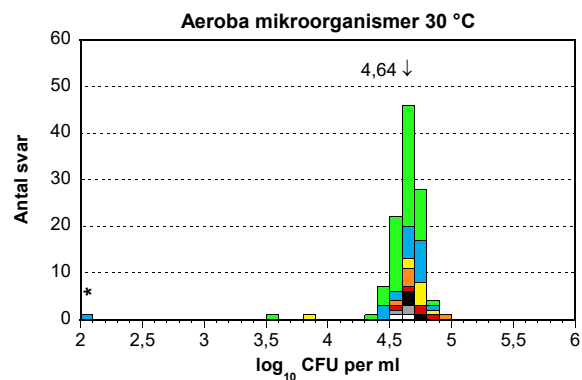
A

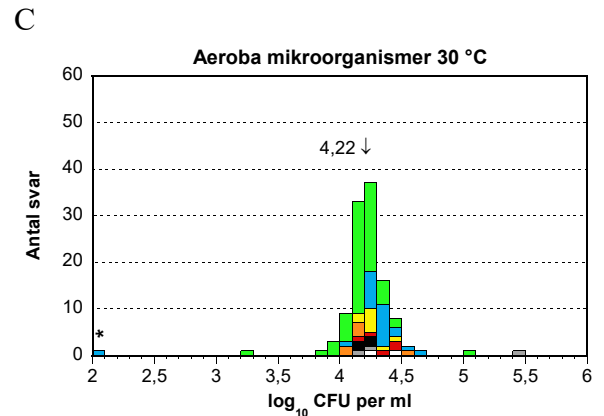
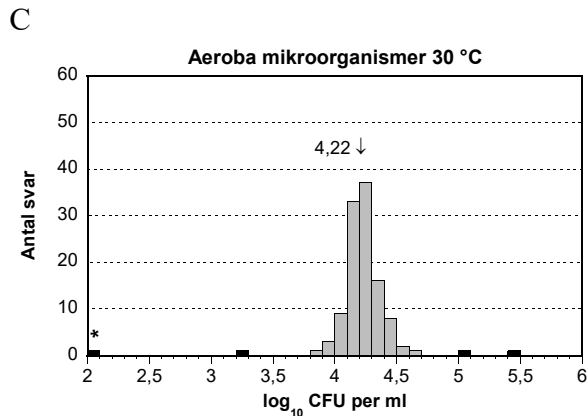


B



B





Enterobacteriaceae

Prov A

Stammarna av *C. freundii* och *E. coli* O157 tillhör Enterobacteriaceae. Stammen av *C. freundii* förekom dock i betydligt högre koncentration än *E. coli* O157 och utgjorde därför majoriteten av kolonierna på plattorna. Stammen av *C. freundii* växer fram på VRGG med typiska röda kolonier omgivna av en utfällningszon. Stammen är oxidationsnegativ.

Prov B

Stammen av *E. coli* var målorganism. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll växte den fram på VRGG med typiska kolonier omgivna av utfällningszon. Stammen är oxidationsnegativ.

Prov C

Stammarna av *P. mirabilis* och *S. Enteritidis* tillhör Enterobacteriaceae. Stammen av *P. mirabilis* förekom dock i betydligt högre koncentration än *S. Enteritidis* och var därför huvudsaklig målorganism.

Tolv laboratorier rapporterade låga extremvärden, sannolikt på grund av svärmande *P. mirabilis*. Majoriteten av de låga extremvärdena rapporterades av laboratorier som inkuberade på VRGG.

Allmänt om analyserna

Enterobacteriaceae är gramnegativa och oxidationsnegativa 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 (45 %) eller en metod med Petrifilm EB (23 %), medan ISO-metoderna (olika versioner) totalt stod för 17 %. ISO 21528-2:2017 är baserad på koloniräkning, medan ISO 21528-1:2017 är baserad på MPN. Den senare metoden rekommenderas när den förväntade halten Enterobacteriaceae är lägre än 100 cfu g⁻¹.

Andelen användare av ISO 21528-2:2017 var högre än ISO 21528-2:2004 (9 % respektive 5 %). Som jämförelse angav tre laboratorier (3 %) den äldre ISO 21528-1:2004.

NMKL 144:2005 anger konfirmering av presumtiva kolonier 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.

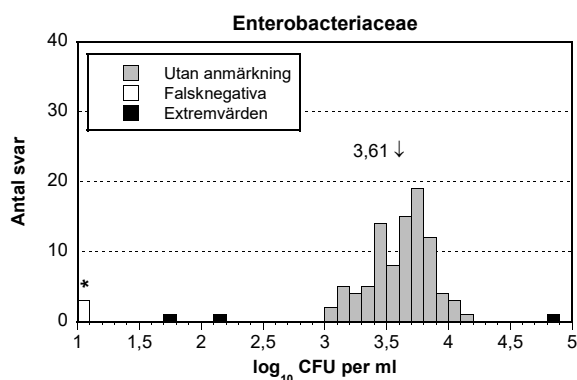
Förutom de låga extremvärdena för prov C, var resultaten för de olika metoder och substrat som användes överlag lika, och det förekom endast ett mindre antal extremvärden och falska resultat. Något högre resultat för TEMPO EB har observerats vid en del tidigare provtillfällen. Vid detta provtillfälle använde endast fyra laboratorier TEMPO EB och de rapporterade resultaten liknade de från övriga metoder och substrat, med ett möjligt undantag för något högre resultat för prov A.

Resultat från analys av Enterobacteriaceae

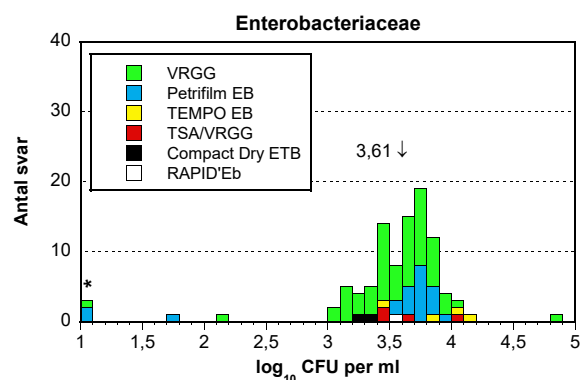
Substrat	Prov A							Prov B					Prov C								
	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>
Alla svar	98	92	3,61	0,24	3	2	1	97	95	4,03	0,22	0	2	0	97	80	4,08	0,15	4	12	1
VRGG	65	62	3,56	0,25	1	1	1	64	63	4,00	0,24	0	1	0	64	52	4,07	0,13	1	10	1
Petrifilm EB	22	19	3,74	0,10	2	1	0	22	21	4,13	0,11	0	1	0	22	18	4,06	0,18	2	2	0
TEMPO EB	4	4	-	-	0	0	0	4	4	-	-	0	0	0	4	4	-	-	0	0	0
TSA/VRGG	4	4	-	-	0	0	0	4	4	-	-	0	0	0	4	4	-	-	0	0	0
Compact Dry ETB	2	2	-	-	0	0	0	2	2	-	-	0	0	0	2	2	-	-	0	0	0
RAPID'Eb*	1	1	-	-	0	0	0	1	1	-	-	0	0	0	1	0	-	-	1	0	0

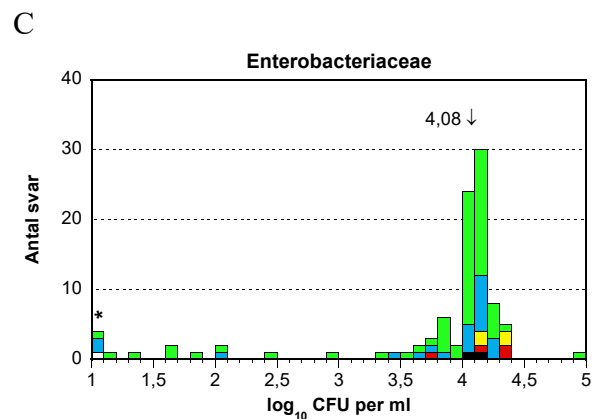
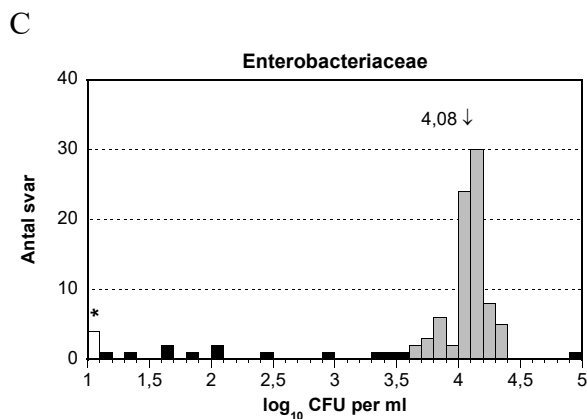
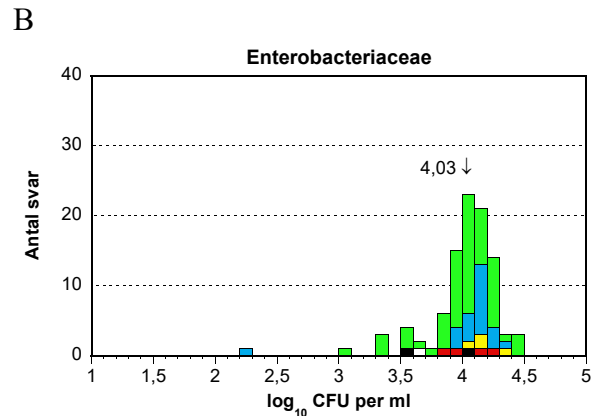
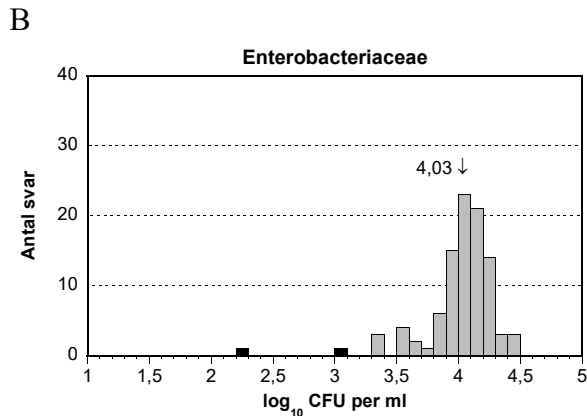
* RAPID'Enterobacteriaceae.

A



A





Termotoleranta *Campylobacter*

Prov A

Stammen av *C. coli* var målorganism. På mCCDA kan den eventuellt växa fram som både mindre kolonier och som större utflytande kolonier. Stammen är positiv vid oxidastest och katalastest. Den är också positiv för hydrolys av indoxylacetat, negativ för hydrolys av hippurat, samt uppvisar för *Campylobacter* typiska rörelser i mikroskop.

Resultaten för den kvantitativa analysen hade en förhållandevis bred fördelning, vilket inte är ovanligt för denna parameter. Eftersom endast 17 laboratorier utförde den kvantitativa analysen bedömdes inte några resultat som extremvärden. Det rapporterades däremot ett falsknegativt resultat.

I den kvalitativa analysen rapporterades resultat av 23 laboratorier. Ett av dessa var falsknegativt.

Prov B

Ingen målorganism fanns i provet, men däremot en stam av *E. coli*, vilken är falskpositiv för analysen. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll växte den fram på mCCDA med gråa kolonier. Vid efterföljande konfirmering på BA var kolonierna omgivna av en tydlig hämolyszon. Stammen är oxidasnegativ och katalaspositiv. Vid mikroskopering kan den enkelt skiljas från *Campylobacter*.

Det enda avvikande resultatet var ett falskpositivt resultat i den kvantitativa analysen.

Prov C

Stammen av *C. jejuni* var målorganism. Den växer fram på mCCDA med typiska kolonier. Stammen är positiv för hydrolys av indoxylacetat och hippurat, samt uppvisar för *Campylobacter* typiska rörelser i mikroskop.

Det rapporterades tre falsknegativa resultat i den kvantitativa analysen och ett falsknegativt resultat i den kvalitativa analysen.

Allmänt om analyserna

Campylobacter spp. är gramnegativa, oxidaspositiva och katalaspositiva bakterier. På mCCDA bildar de vanligen platta eller konvexa kolonier, med gråvit 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. I både den kvantitativa och den kvalitativa analysen utfördes konfirmering, i någon form, av samtliga utom ett laboratorium. De vanligaste formerna av konfirmering var rörlighetstest och/eller oxidastest.

NMKL 119:2007, ISO 10272-1:2017 (kvalitativ) och ISO 10272-2:2017 (kvantitativ) var de mest använda metoderna. I den kvalitativa analysen angav ett laboratorium att man använt ISO 17995, vilket är en metod för detektion av *Campylobacter* i vattenprover.

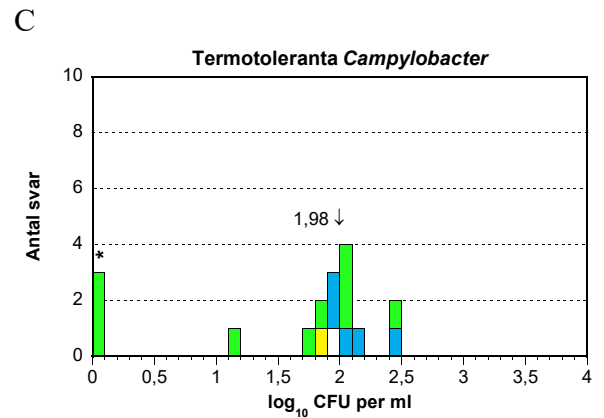
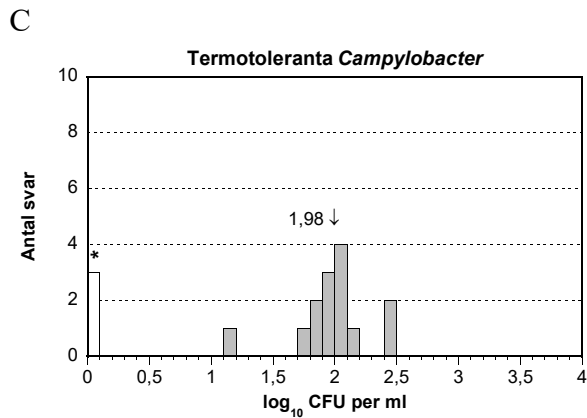
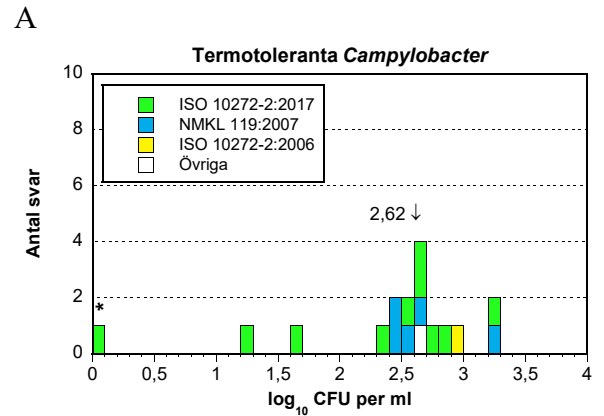
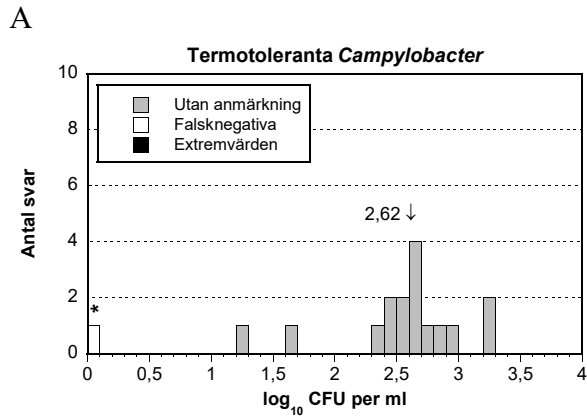
I den kvalitativa analysen använde majoriteten av laboratorier (78 %) Bolton-buljong för anrikningssteget, men även Preston-buljong och CampyFood® broth förekom. I det selektiva steget användes främst mCCDA (87 %), men även Brilliance™ CampyCount-agar och Abeyta-Hunt Bark-agar användes med korrekt resultat.

I den kvantitativa analysen inkuberade 13 av 17 laboratorier på mCCDA. Abeyta-Hunt Bark-agar och RAPID'Campylobacter användes av vardera ett laboratorium med korrekt resultat.

Resultat från kvantitativ analys 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	17	16	2,62	0,51	1	0 0	16	15	-	-	1	- -	17	14	1,98	0,31	3	0 0
ISO 10272-2:2017	10	9	2,63	0,62	1	0 0	9	8	-	-	1	- -	10	7	2,03	0,39	3	0 0
NMKL 119:2007	5	5	2,56	0,36	0	0 0	5	5	-	-	0	- -	5	5	2,00	0,24	0	0 0
ISO 10272-2:2006	1	1	-	-	0	0 0	1	1	-	-	0	- -	1	1	-	-	0	0 0
Övriga	1	1	-	-	0	0 0	1	1	-	-	0	- -	1	1	-	-	0	0 0

* Med = median



*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	23	22	Pos	1	23	23	Neg	0	23	22	Pos	1
NMKL 119:2007	12	11	Pos	1	12	12	Neg	0	12	12	Pos	0
ISO 10272-1:2017	7	7	Pos	0	7	7	Neg	0	7	6	Pos	1
ISO 10272-1:2006	1	1	Pos	0	1	1	Neg	0	1	1	Pos	0
Övriga*	3	3	Pos	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. Stammen växer fram på ALOA med karaktäristiska blågröna kolonier, omgivna av en tydlig opak zon. Stammen är katalaspositiv, uppvisar β -hämolys på blodagar, samt fermenterar rhamnos men inte xylos.

Prov B

Ingen målorganism fanns i provet.

Det rapporterades ett falskpositivt resultat i den kvalitativa analysen.

Prov C

Ingen målorganism fanns i provet.

Inga falskpositiva resultat rapporterades, varken i den kvantitativa eller i den kvalitativa analysen.

Allmänt om analyserna

Metoderna ISO 11290 (olika versioner), NMKL 136:2010 och RAPID'L.mono användes i hög omfattning i såväl den kvantitativa som den kvalitativa analysen. För den kvalitativa analysen var även VIDAS[®] och olika PCR-metoder vanligt förekommande.

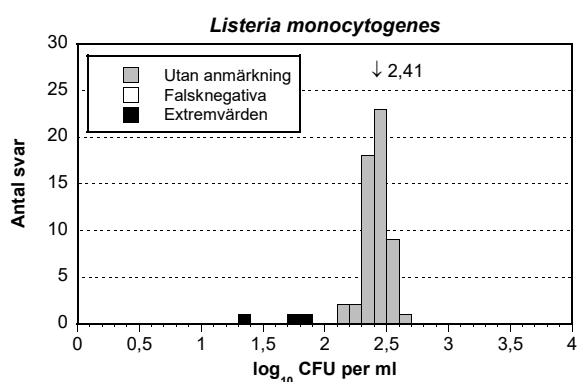
Med NMKL 136:2010 sker detektion och kvantifiering av *L. monocytogenes*. Som jämförelse detekterar ISO 11290-1 (kvalitativ) och ISO 11290-2 (kvantitativ) både *Listeria* spp. och *L. monocytogenes*. Med metoderna sker isolering huvudsakligen på ALOA, på vilket *L. monocytogenes* växer fram som blå-gröna kolonier till följd av β -glukosidas-aktivitet. Hydrolys av inositol i substratet gör också att kolonierna omges av en opak ring, vilken ibland är svag eller inte förekommer alls. RAPID'L.mono använder ett kromogent substrat som identifierar enzymet PI-PLC i *L. monocytogenes*. Med substratet identifieras såväl *Listeria* spp. som *L. monocytogenes* genom att de inte metaboliserar xylos. Listeria Precis[™] använder på liknande sätt det kromogena substratet Brilliance[™] Listeria, på vilket *Listeria* spp. och *L. monocytogenes* genom β -glukosidasaktivitet växer fram som blå kolonier. SwabSURE ListeriaP är ett test baserat på svabbprovtagning, för detektion av *L. monocytogenes* och *L. ivanovii* i ytprover. 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. Förutom de redan nämnda substraten använda många laboratorier något av substraten Oxoid Brilliance[™] Listeria-agar (tidigare OCLA), PALCAM, Oxford Listeria selective agar och/eller LMBA.

L. monocytogenes konfirmeras vanligen genom mikroskopering, katalastest, eller genom test av β -hämolys och kolhydratanvändning (fermentering av rhamnos och xylos). *L. monocytogenes* är katalaspositiv, uppvisar β -hämolys på blodagar, samt fermenterar rhamnos men inte xylos. Konfirmering kan också göras genom att *L. monocytogenes* uppvisar förstärkt respektive minskad β -hämolys i närvaro av *Staphylococcus aureus* och *Rhodococcus equi* (CAMP-test). Konfirmering utfördes av 81 % av laboratorierna i den kvantitativa analysen och av 86 % i den kvalitativa analysen.

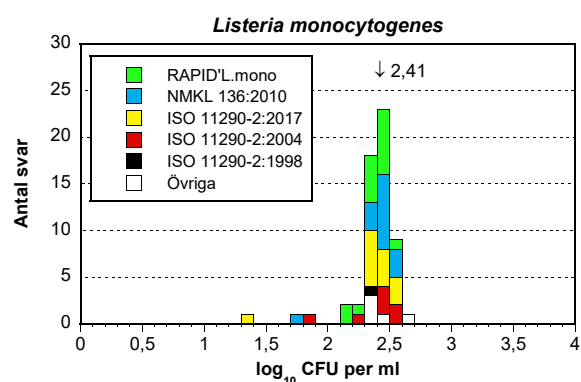
Resultat från kvantitativ analys av *Listeria monocytogenes*

Metod	Prov A							Prov B							Prov C						
	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>	N	n	m	s	F	<	>
Alla svar	58	55	2,41	0,10	0	3	0	58	58	-	-	0	-	-	58	58	-	-	0	-	-
RAPID'L.mono	16	16	2,36	0,11	0	0	0	16	16	-	-	0	-	-	16	16	-	-	0	-	-
NMKL 136:2010	15	14	2,45	0,07	0	1	0	15	15	-	-	0	-	-	15	15	-	-	0	-	-
ISO 11290-2:2017	14	13	2,42	0,08	0	1	0	14	14	-	-	0	-	-	14	14	-	-	0	-	-
ISO 11290-2:1998/Amd 1:2004	7	6	2,44	0,09	0	1	0	7	7	-	-	0	-	-	7	7	-	-	0	-	-
ISO 11290-2:1998	1	1	-	-	0	0	0	1	1	-	-	0	-	-	1	1	-	-	0	-	-
Övriga	5	5	2,42	0,11	0	0	0	5	5	-	-	0	-	-	5	5	-	-	0	-	-

A



A



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	94	94	Pos	0	94	93	Neg	1	94	94	Neg	0
RAPID'L.mono	16	16	Pos	0	16	16	Neg	0	16	16	Neg	0
PCR-metod	16	16	Pos	0	16	16	Neg	0	16	16	Neg	0
VIDAS	14	14	Pos	0	14	14	Neg	0	14	14	Neg	0
ISO 11290-1:2017	13	13	Pos	0	13	13	Neg	0	13	13	Neg	0
NMKL 136:2010	11	11	Pos	0	11	11	Neg	0	11	11	Neg	0
ISO 11290-1/Amd 1:2004	8	8	Pos	0	8	8	Neg	0	8	8	Neg	0
Listeria Precis™	3	3	Pos	0	3	3	Neg	0	3	3	Neg	0
SwabSURE™ ListeriaP	3	3	Pos	0	3	3	Neg	0	3	3	Neg	0
Övriga	10	10	Pos	0	10	9	Neg	1	10	10	Neg	0

Salmonella

Prov A

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

Prov B

Stammen av *S. Stockholm* var målorganism för analysen. Den 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.

Det rapporterades fyra falsknegativa resultat.

Prov C

Stammen av *S. Enteritidis* var målorganism för analysen. Den 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.

Det rapporterades fyra falsknegativa resultat.

Allmänt om analyserna

De två vanligast förekommande metoderna var NMKL 71:1999 (23 %) och ISO 6579-1:2017 (21 %), vilka i stort är väldigt lika. Båda är baserade på preanrikning i BPV, följt av selektiv anrikning i RVS. ISO 6579-1:2017 inkluderar även selektiv anrikning i MKTTn. Det är också möjligt att med ISO-metoden ersätta RVS med semi-solitt MSR/V för analys av rörliga *Salmonella*. Med båda metoderna sker isolering huvudsakligen på XLD och konfirmering görs genom biokemiska (t.ex. mannitol och urea) och serologiska (t.ex. *Salmonella* polyvalent O- och H-antiserum) tester. Konfirmering i någon form utfördes vid denna kompetensprovning av majoriteten (94 %) av laboratorerna.

Förhållandevis många laboratorier angav att man följde 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 β -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 MSR/V 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 MSR/V. Den innehåller även nya avsnitt gällande preanrikning av prover från köttproduktion, avföringsprover och svabbprover.

På XLD, vilket användes av majoriteten av laboratorerna, växer typiska *Salmonella* fram som transparenta röda kolonier med ett svart centrum. Som kompletterande substrat till XLD användes framförallt kromogena substrat som Brilliance™ Salmonella, BGA, Rambach™ agar, Harlequin® Salmonella ABC Medium och HEA.

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.

Det förtjänar här att nämnas att fyra av de fem laboratorier som använde RAPID' Salmonella rapporterade vardera ett falsknegativt resultat. Metoden är baserad på detektion av enzymet C8-esteras hos *Salmonella*. Enzymet frigör en kromofor i RAPID'Salmonella, vilket gör att *Salmonella* växer fram som röd/lila kolonier på plattorna. Andra mikroorganismer hämmas, alternativt växer fram som blå eller ofärgade kolonier. Det är oklart varför användare av RAPID'Salmonella lyckades sämre än andra laboratorier, men det verkar inte uppenbart röra sig om ett specifikt problem med metoden. Två av de fyra laboratorierna rapporterade nämligen falsknegativt för prov B men inte för prov C, medan det motsatta gällde de två andra laboratorierna. En möjlig förklaring kan vara att de fyra laboratorier som rapporterade falsknegativt resultat angav att de endast inkuberat på RAPID'Salmonella. Det femte laboratoriet inkuberade parallellt på XLD. Andra laboratorier som använde metoder baserade på detektion av esteras hos *Salmonella* (t.ex. Brilliance™ Salmonella) lyckades också bra. Även dessa laboratorier inkuberade dock parallellt på ett annat substrat, vanligen XLD.

Resultat från analys av Salmonella

Metod	Prov A				Prov B				Prov C			
	N	n	+/-	F	N	n	+/-	F	N	n	+/-	F
Alla svar	104	104	Neg	0	104	100	Pos	4	104	100	Pos	4
NMKL 71:1999	24	24	Neg	0	24	23	Pos	1	24	24	Pos	0
ISO 6579-1:2017	22	22	Neg	0	22	22	Pos	0	22	22	Pos	0
PCR-metod	20	20	Neg	0	20	19	Pos	1	20	20	Pos	0
VIDAS*	13	13	Neg	0	13	13	Pos	0	13	13	Pos	0
RAPID'Salmonella	5	5	Neg	0	5	3	Pos	2	5	3	Pos	2
ISO 6579:2002	5	5	Neg	0	5	5	Pos	0	5	5	Pos	0
ISO 6579:2002/Amd1:2007	4	4	Neg	0	4	4	Pos	0	4	4	Pos	0
NMKL 187**	3	3	Neg	0	3	3	Pos	0	3	3	Pos	0
Reveal 2.0 Salmonella	2	2	Neg	0	2	2	Pos	0	2	1	Pos	1
Salmonella Precis™	1	1	Neg	0	1	1	Pos	0	1	1	Pos	0
Övriga***	5	5	Neg	0	5	5	Pos	0	5	4	Pos	1

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

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

*** I gruppen övriga ingår oklara metodbeskrivningar, samt nationella och/eller företagsspecifika metoder.

***Escherichia coli* O157**

Prov A

Stammen av *E. coli* O157 var målorganism för analysen. Den växer fram på CT-SMAC med typiska sorbitolnegativa transparenta kolonier med mörkare centrum. Stammen är positiv vid tester för indolproduktion och agglutineringsmed *E. coli* O157-antiserum. Den innehåller genen *eae*, men inga *stx*-gener.

Det rapporterades fem falsknegativa resultat. Tre av dessa kan kopplas till användning av felaktiga metoder.

Prov B

Ingen målorganism fanns i provet. Stammen av *E. coli* var dock falskpositiv för analysen. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll växte den fram med röda kolonier på SMAC. Inga kolonier observerades på CT-SMAC.

Det rapporterades sju falskpositiva resultat. Tre av dessa kan kopplas till användning av felaktiga metoder och ett till en otydligt specificerad metod.

Prov C

Ingen målorganism fanns i provet. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll observerades på SMAC atypiska röda kolonier. Inga kolonier observerades på CT-SMAC.

Det rapporterades tre falskpositiva resultat.

Allmänt om analyserna

Endast 29 laboratorier utförde analysen, vilket gör det svårt att utvärdera resultaten statistiskt. Förekommande falska resultat ser dock främst ut att bero på användning av felaktiga metoder.

Totalt 38 % 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 agglutineringsmed *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).

Som redan nämnts använde åtminstone fyra av de deltagande laboratorierna 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 inkluderats i resultatsammanställningen i gruppen "Övriga". Analysparametrarna *E. coli* och koliforma bakterier ingår annars i provtillfällena april respektive oktober. De två laboratorier som använde TEMPO, samt det som laboratorium som följde NMKL 44, rapporterade två falska resultat vardera.

Som i tidigare kompetensprovningar var de mest använda substraten CT-SMAC, SMAC och CHROMagar™ O157. Med 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). På dessa substrat bildar sorbitolnegativa *E. coli* O157 transparenta kolonier med ett mörkt centrum, medan sorbitolpositiva *E. coli* istället bildar röda

kolonier. Ett laboratorium angav att man använde Harlequin™ SMAC-BCIG, som är en variant av SMAC, där det kromogena substratet BGIC gör att sorbitolnegativa och β -glukuronidaspositiva *E. coli* växer fram som blå/gröna kolonier. På CHROMagar™ växer som jämförelse *E. coli* O157 fram med lila kolonier, vilka kan särskiljas från koliforma (blå) eller andra bakterier (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	29	24	Pos	5	29	22	Neg	7	29	26	Neg	3
ISO 16654:2001*	8	8	Pos	0	8	7	Neg	1	8	7	Neg	1
PCR-metod	6	5	Pos	1	6	6	Neg	0	6	5	Neg	1
NMKL 164:2005	3	2	Pos	1	3	1	Neg	2	3	3	Neg	0
VIDAS	2	2	Pos	0	2	2	Neg	0	2	2	Neg	0
Övriga**	10	7	Pos	3	10	6	Neg	4	10	9	Neg	1

* Inkluderar laboratorier som angett ISO 16654:2001/Amd 1:2017.

** Inkluderar fyra laboratorier som ser ut att ha använt felaktiga metoder.

Patogena *Vibrio* spp.

Prov A

Ingen målorganism fanns i provet. Stammen av *E. coli* O157 kan eventuellt växa fram på TCBS.

Prov B

Stammen av *V. cholerae* var målorganism för analysen. Den växer fram på TCBS med typiska grågula kolonier. Stammen är oxidaspositiv och känslig mot vibriostaticum O129. Stammen av *E. coli* kan växa fram på TCBS med gula och oxidasnegativa kolonier. Även stammen av *S. Stockholm* kan växa fram på TCBS. Samtliga atypiska kolonier som observerades på TCBS vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll var oxidasnegativa vid konfirmering.

Prov C

Stammen av *V. parahaemolyticus* var målorganism för analysen. Den växer fram på TCBS med typiska blågröna kolonier. Stammen är oxidaspositiv och känslig mot vibriostaticum O129.

Vid ett första test av prov C observerades att *P. mirabilis* bildade atypiska små ljusgröna kolonier på TCBS. Dessa kolonier var dock oxidasnegativa och kunde därför särskiljas från *V. parahaemolyticus* efter konfirmering.

Allmänt om analyserna

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

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. Fler laboratorier använde här den nya ISO 21872-1:2017 jämfört med den äldre ISO/TS 21872-1:2007.

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. 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	19	Neg	1	20	18	Pos	2	20	19	Pos	1
NMKL 156:1997	8	8	Neg	0	8	8	Pos	0	8	7	Pos	1
ISO 21872-1:2017	7	6	Neg	1	7	5	Pos	2	7	7	Pos	0
ISO/TS 21872-1:2007	4	4	Neg	0	4	4	Pos	0	4	4	Pos	0
AOAC 988.20:1988*	1	1	Neg	0	1	1	Pos	0	1	1	Pos	0

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

Yersinia enterocolitica

Prov A

Ingen målorganism fanns i provet. Stammen av *C. freundii* var dock falskpositiv för analysen. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll växte denna fram med atypiska rosa kolonier på CIN och med gula kolonier på BS. Stammen av *C. freundii* är oxidasnegativ, samt negativ vid objektglas-agglutineringsmed både O:3 och O:9 antiserum.

Prov B

Stammen av *Y. enterocolitica* var målorganism för analysen. 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-agglutineringsmed O:3 antiserum, och negativ med O:9 antiserum. Stammen innehåller genen *ail*.

Prov C

Ingen målorganism fanns i provet. Vid Livsmedelsverkets kvalitetskontroll observerades inga kolonier på CIN.

Allmänt om analyserna

Vanligast förekommande metod var ISO 10273, främst ISO 10273:2017 men även den äldre 10273:2003. 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.

Även NMKL 117 har genomgått en större revidering och publiceras under 2021 i en ny version. Bland förändringarna kan nämnas att metoden nu är mer lik ISO 10273, med parallell anrikning i PSB och ITC. Kylinkubering är i den reviderade metoden frivilligt att utföra och förfarandet för detta har dessutom reviderats.

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. Anrikning i semi-selektiv PSB eller icke-selektiv TSBY följs här av DNA-extraktion och Realtids-PCR riktad mot *ail*-genen i *Y. enterocolitica*, på motsvarande sätt som i ISO 10273:2017. 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	13	12	Neg	1
ISO 10273:2017	4	4	Neg	0	4	4	Pos	0	5	4	Neg	1
ISO 10273:2003*	2	2	Neg	0	2	2	Pos	0	2	2	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
ISO 18867:2015**	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 laboratorerna angav att de använde en modifierad version av ISO 10273:2003.

** Laboratoriet angav att man följde ISO 18867:2015, med konfirmering enligt ISO 10273:2017.

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

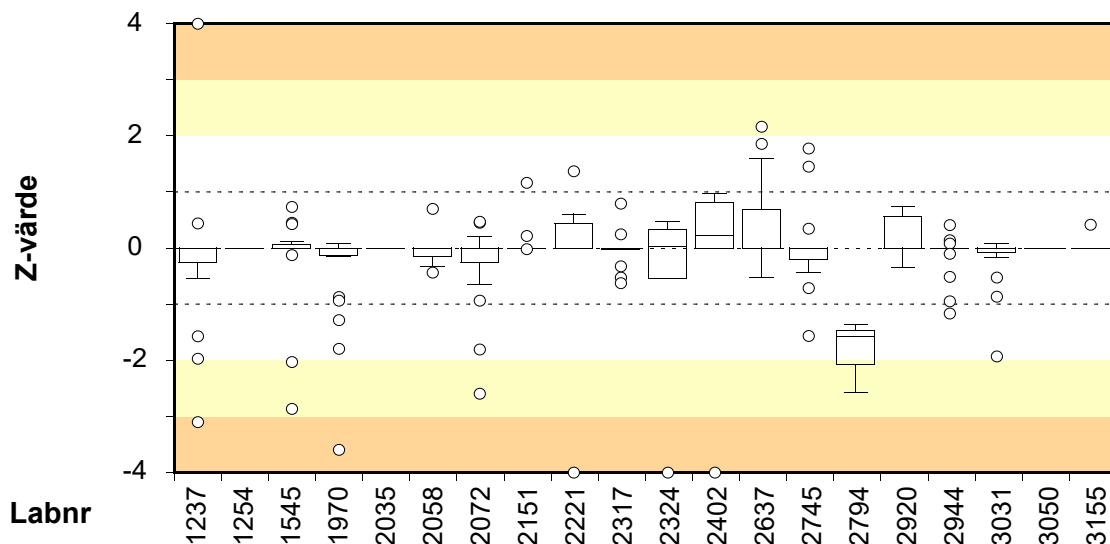
För att möjliggöra jämförelser av resultat från olika analyser och provblandningar med varandra omräknas laboratoriernas resultat från samtliga analyser till standardvärden (z-värden). För kvantitativa analyser blir standardvärdet positivt eller negativt beroende på om resultatet ligger över eller under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

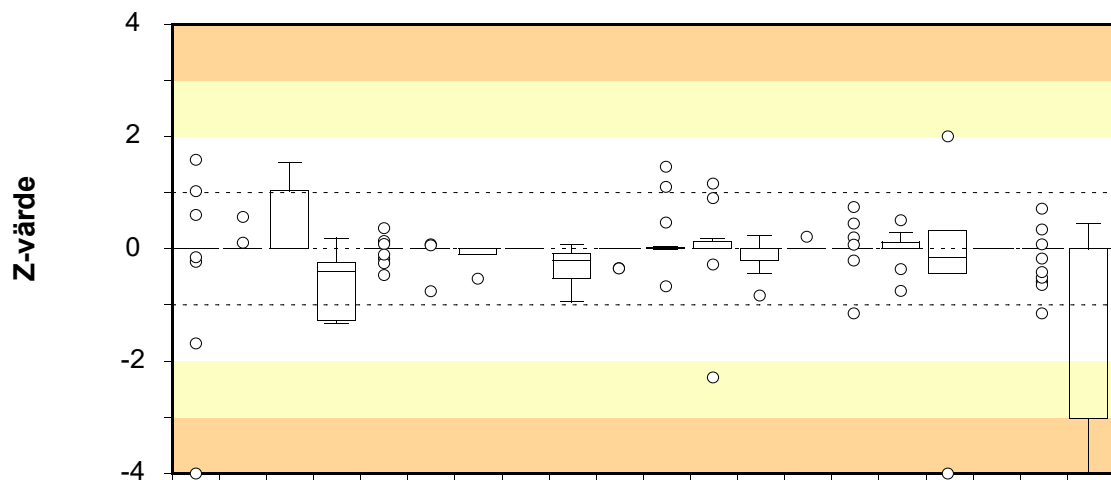
Box-diagram och antal avvikande värden för varje deltagande laboratorium

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



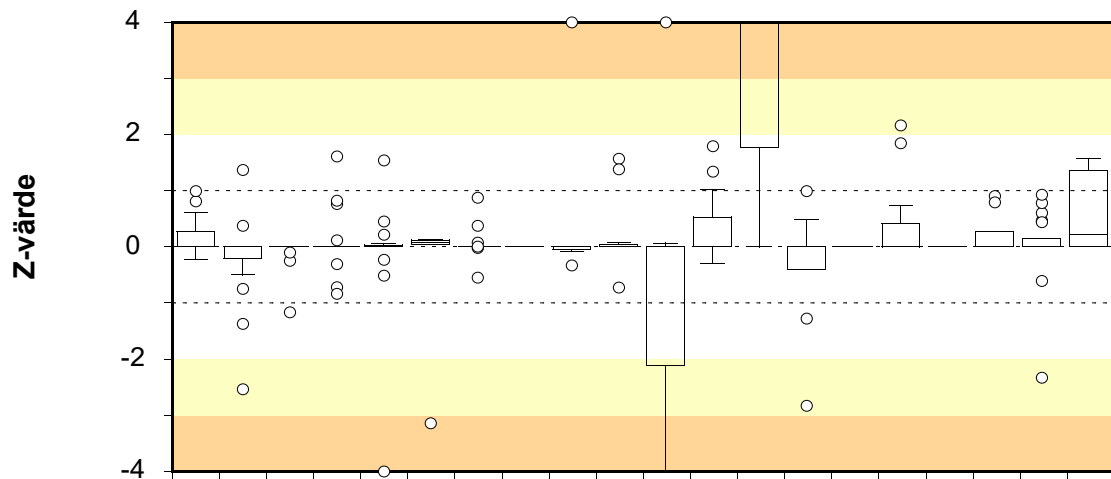
Antal värden	19	6	15	24	-	12	24	12	15	14	6	9	15	15	3	9	18	15	9	9
Falskpositiva	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Falsknegativa	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-
Låga extremer	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Höga extremer	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



Labnr

3305 3457 3515 3587 3626 3825 3878 3897 4064 4100 4171 4246 4288 4339 4352 4358 4400 4560 4562 4635

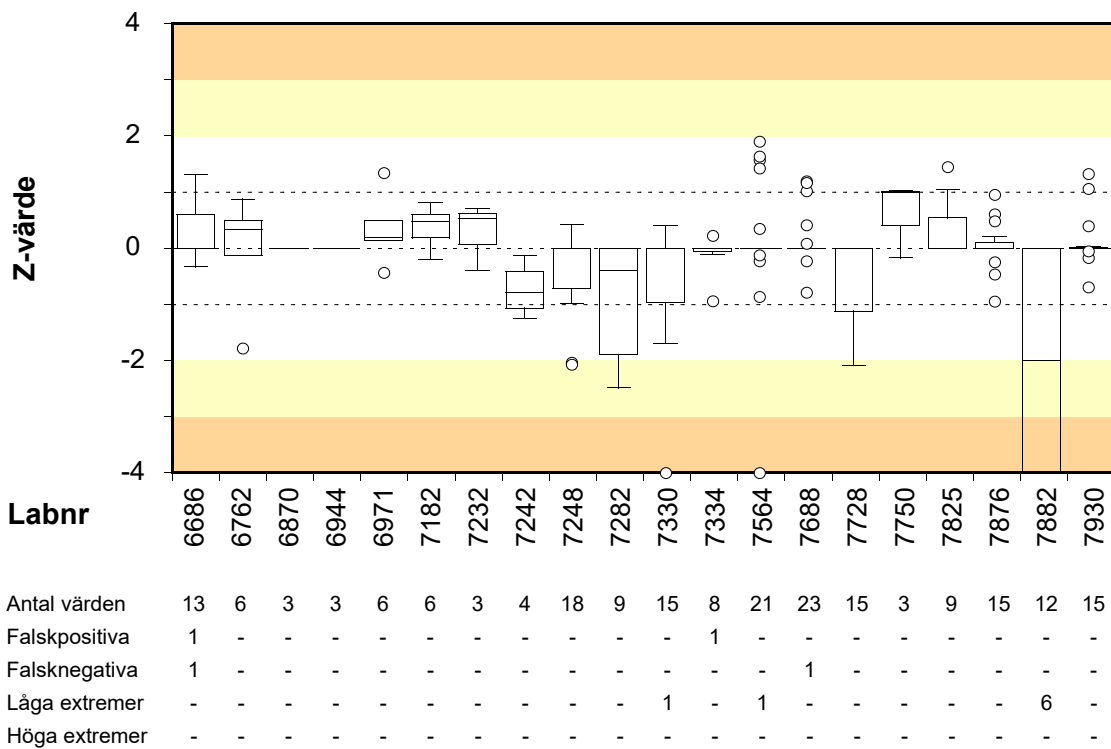
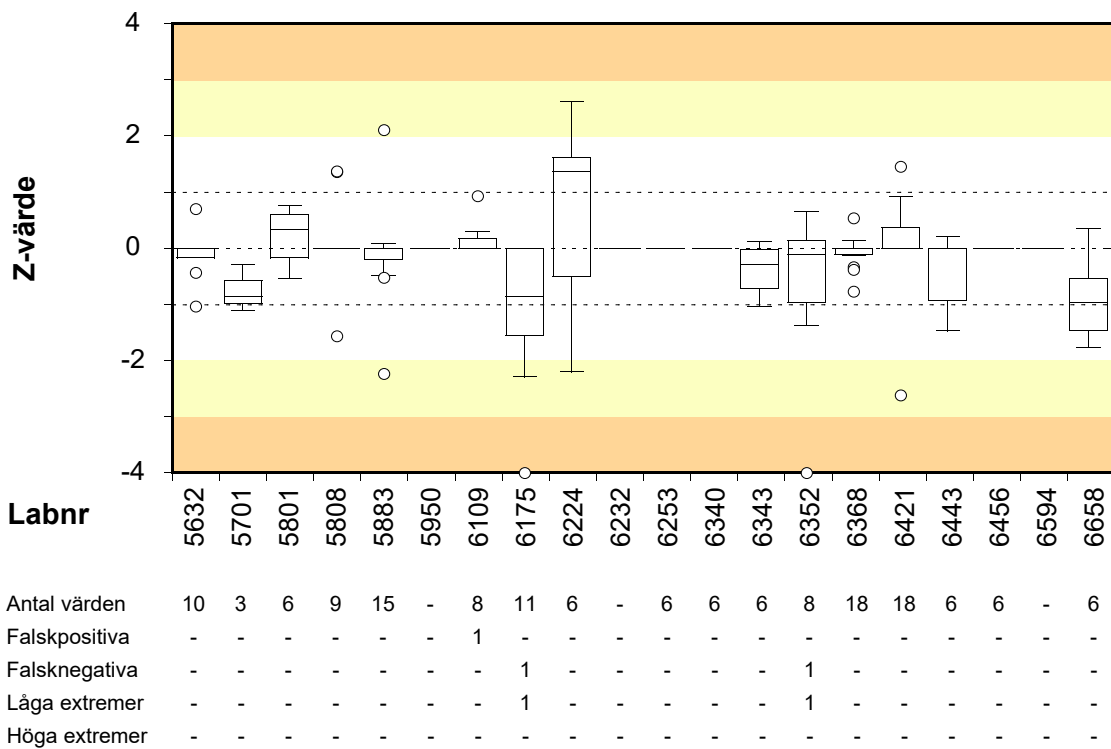
Antal värden	21	12	13	6	19	12	5	-	6	12	15	12	12	15	24	9	6	6	30	12
Falskpositiva	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Falsknegativa	-	3	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Låga extremer	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	3
Höga extremer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

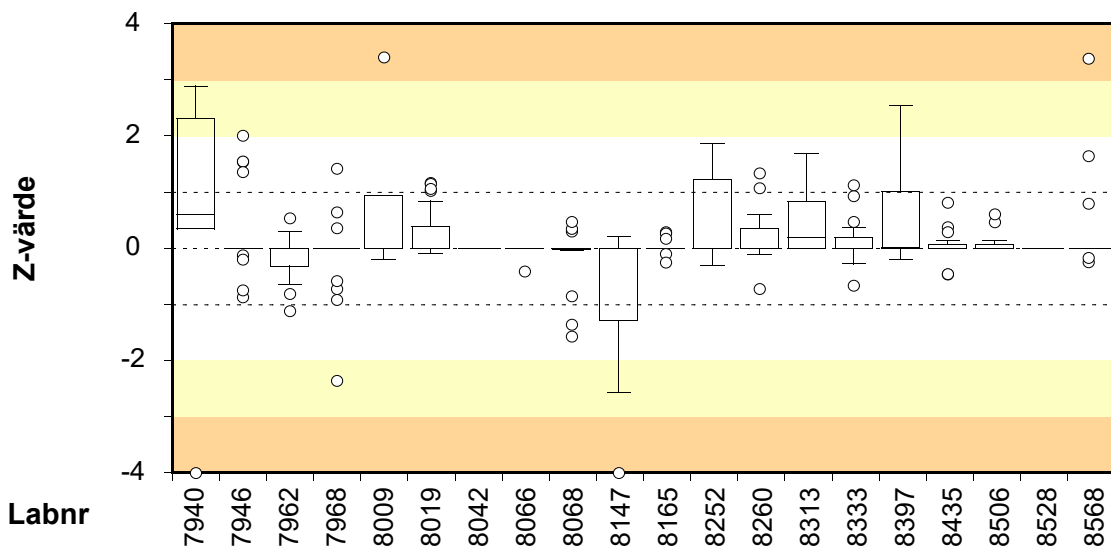


Labnr

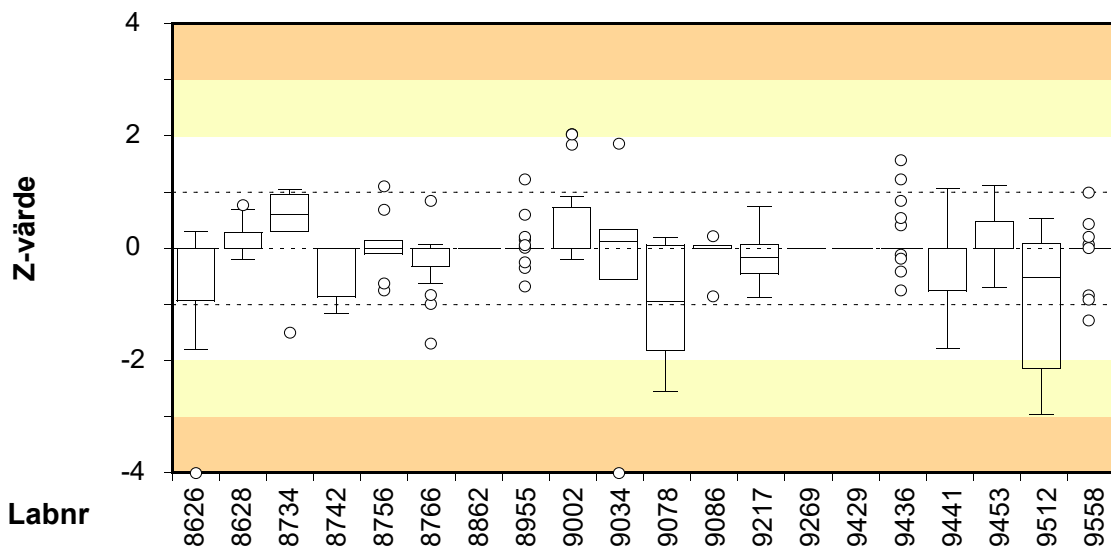
4664 4683 4817 4889 4944 4983 5018 5028 5100 5128 5182 5204 5261 5329 5333 5352 5447 5545 5553 5615

Antal värden	18	23	21	18	15	6	23	3	7	12	9	21	7	9	5	15	3	9	21	12
Falskpositiva	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
Falsknegativa	-	1	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-
Låga extremer	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Höga extremer	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	4	-	-	-	-	-	-	-

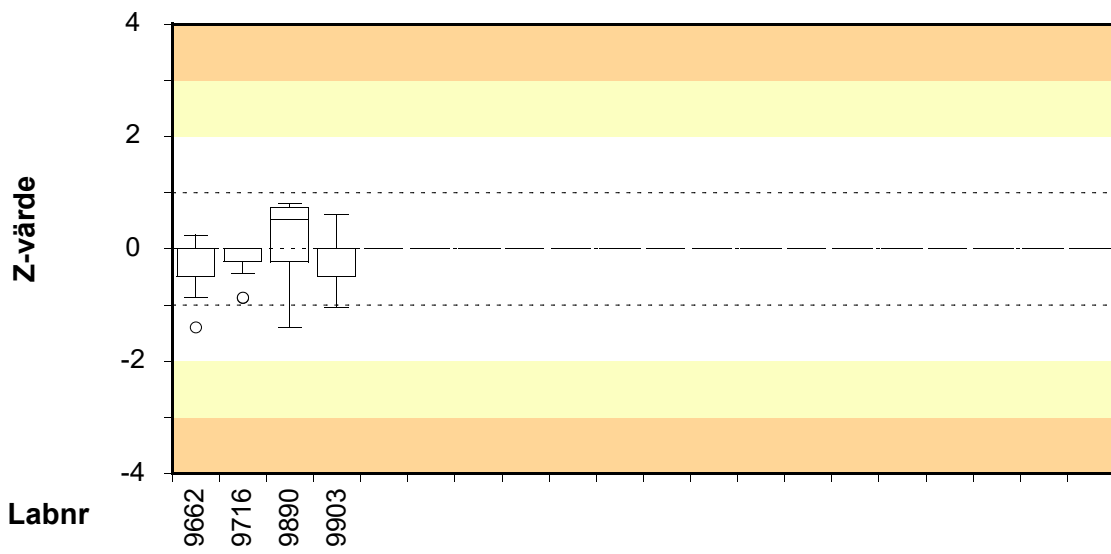




Antal värden	6	25	15	20	6	24	3	9	15	15	20	14	15	12	15	12	15	12	2	14	
Falskpositiva	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Falsknegativa	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Låga extremer	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Höga extremer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



Antal värden	15	18	6	9	10	15	3	28	16	6	6	6	7	3	6	24	15	12	6	28	
Falskpositiva	-	-	-	-	1	-	-	1	1	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-
Falsknegativa	-	-	-	-	1	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Låga extremer	2	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Höga extremer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



Labnr	9662	9716	9890	9903
Antal värden	15	12	5	12
Falskpositiva	-	-	-	-
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	SLV-nr. ²	Ursprung	Referens ³
A	<i>Campylobacter coli</i>	SLV-271	träck, höna	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	mjök	CCUG 44510
B	<i>Escherichia coli</i>	SLV-558	-	-
	<i>Salmonella</i> Stockholm	SLV-390	chokladpulver	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>	SLV-280	ägg	-
	<i>Vibrio cholerae</i>	SLV-507	-	CCUG 34649
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	SLV-408	hundmat	CCUG 45643
C	<i>Campylobacter jejuni</i>	SLV-540	kyckling	-
	<i>Proteus mirabilis</i>	SLV-374	-	CCUG 43605
	<i>Salmonella</i> Enteritidis	SLV-436	-	-
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	SLV-529	-	CCUG 38981

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

² Internt stamnummer på Livsmedelsverket.

³ 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 (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 ml⁻¹.

Analys och metod	A ¹			B ²			C ¹		
	m	I ₂	T	m	I ₂	T	m	I ₂	T
Aeroba mikroorganismer 30 °C NMKL-metod nr. 86:2013	3,93	1,06	1,24	4,65	1,49	1,40	4,31	0,45	1,33
Enterobacteriaceae NMKL-metod nr. 144:2005	3,60	0,49	1,26	4,10	6,75	1,93	4,20	0,49	1,43
Termotoleranta <i>Campylobacter</i> , kvant. NMKL-metod nr. 119:2007	3,16	8,14	1,93	-	-	-	2,61	3,47	1,72
Termotoleranta <i>Campylobacter</i> , kval. NMKL-metod nr. 119:2007	Pos.	-	-	Neg.	-	-	Pos.	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> , kvant. NMKL-metod nr. 136:2010	2,48	1,41	1,54	-	-	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> , kval. NMKL-metod nr. 136:2010	Pos.	-	-	Neg.	-	-	Neg.	-	-
<i>Salmonella</i> NMKL-metod nr. 71:1999	Neg.	-	-	2,21*	2,12*	1,59*	2,02*	0,16*	1,17*
<i>Escherichia coli</i> O157 NMKL-metod nr. 164:2019	1,60*	0,21*	1,14*	Neg.	-	-	Neg.	-	-
Patogena <i>Vibrio</i> spp. NMKL-metod nr. 156:1997	Neg.	-	-	2,16*	1,90*	1,58*	2,83*	1,55*	1,91*
<i>Yersinia enterocolitica</i> NMKL-metod nr. 117:1996	Neg.	-	-	2,59*	0,78*	1,30*	Neg.	-	-

– Ingen målorganism och därför inget värde

¹ n = 5 vialer med dubbelanalyser

² n = 10 vialer med dubbelanalyser

* Från analys av parallell provblandning

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