

Mikrobiologi – Livsmedel

April 2016

Jonas Ilbäck



Utgåva
Version 1 (2016-06-22)

Ansvarig utgivare
Hans Lindmark, avdelningschef, Biologiavdelningen, Livsmedelsverket

Programansvarig
Jonas Ilbäck, mikrobiolog, Biologiavdelningen, Livsmedelsverket

KP April 2016 har diarienummer 2016/01313 vid Livsmedelsverket.

Kompetensprovning
Mikrobiologi – Livsmedel

April 2016



1457
ISO/IEC 17043

Kvantitativa analyser

- Aeroba mikroorganismer, 30 °C
- Psykrotrofa mikroorganismer
- Enterobacteriaceae
- *Escherichia coli*
- Presumtiv *Bacillus cereus*
- Koagulaspositiva stafylococker
- Mjölksyrabakterier
- *Clostridium perfringens*
- Anaeroba sulfitereducerande bakterier
- Aeroba mikroorganismer i fiskprodukter, 20-25 °C
- Vätesulfidproducerande bakterier i fiskprodukter
- Jäst
- Mögel

Förkortningar

Substrat

BA	Blodagar
BA-P	Blodagar inklusive Polymyxin
BcsA	<i>Bacillus cereus</i> -selektiv Agar
BcsA-P	<i>Bacillus cereus</i> -selektiv Agar inklusive Polymyxin
BP	Baird-Parker-agar
BP + RPFA	Baird-Parker-agar med Rabbit-Plasma-Fibrinogen
DG18	Dikloran-Glycerol-agar
DRBC	Dichloran-Rose-Bengal-kloramfenikol-agar
ISA	Järnsulfit-agar
LTLSB	Laktos-Trypton-Laurylsulfat-Buljong
mCP	Membran- <i>Clostridium perfringens</i> -agar
MPCA	Milk Plate Count agar
MPN	Most Probable Number
MRS	de Man, Rogosa and Sharpe-agar
MRS-aB	de Man, Rogosa and Sharpe-agar med amphotericin
MRS-S	de Man, Rogosa and Sharpe-agar med sorbinsyra
MYP	Manitol-egg-Yolk-Polymyxin agar
OGYE	Oxytetracyklin-Glukos-jästextrakt-agar
PAB	Perfringens-Agar-Bas
PCA	Plate Count Agar
RPFA	Kanin-Plasma-Fibrinogen-Agar
SC	Sulfit-Cykloserin-agar
SFP	Shahidi-Ferguson-Perfringens-agar
TBX	Trypton-Bile-X-glukuronid-agar
TSA	Trypticase-Soja-Agar
TSC	Tryptos-Sulfit-Cykloserin-agar
VRB	Violettröd-galla-agar
VRBG	Violettröd-galla-Glukos-agar
YGC	Jästextrakt-Glukos-kloramfenikol-agar

Organisationer

ISO	International Organization for Standardization
NMKL	Nordisk Metodikkomité for Næringsmidler
SLV/NFA	Livsmedelsverket/National Food Agency, Sweden

Innehåll

Allmän information om utvärdering av resultaten	4
Analysresultat från provtillfället april 2016	5
- Generellt utfall	5
- Aeroba mikroorganismer, 30°C	6
- Psykrotrofa mikroorganismer	7
- Enterobacteriaceae	9
- <i>Escherichia coli</i>	10
- Presumtiv <i>Bacillus cereus</i>	11
- Koagulaspositiva stafylokocker	13
- Mjölksyrabakterier	14
- <i>Clostridium perfringens</i>	15
- Anaeroba sulfitereducerande bakterier	15
- Aeroba mikroorganismer i fiskprodukter, 20-25 °C	17
- Vätesulfidproducerande bakterier i fiskprodukter	17
- Jäst	19
- Mögel	19
Utfall av enskilda laboratoriers analysresultat – bedömning	22
- Boxdiagram	23
Testmaterial och kvalitetskontroll	29
- Testmaterial	29
- Kvalitetskontroll	30
Referenser	31
Bilaga 1 – Deltagarnas analyssvar	
Bilaga 2 – z-värden	

Allmän information om utvärdering av resultaten

Statistisk utvärdering av resultaten

Värden som ligger utanför en strikt normalfördelning 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 blandningarna. 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 rapporterar analys svar för. Metoduppgifterna kan vara svåra att tolka, eftersom många laboratorier t.ex. har uppgivit substrat, som skiljer från vad den refererade standarden anger. Resultat från laboratorier med sådana svårtydliga metoduppgifter har antingen exkluderats eller lagts till gruppen "Övriga", tillsammans med resultat från metoder och substrat som endast använts av enstaka laboratorier.

Mätosäkerhet för åsatt värde

Mätosäkerhet för ett åsatt värde beräknas som standardavvikelsen från provomgången dividerat med kvadratroten ur antalet godkända svar. Åsatt värde är medelvärdet av deltagarnas godkända 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 (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

Frekvensdiagrammen visar fördelningen av deltagarnas resultat för varje blandning. Analysens medelvärde anges ovanför staplarna.

	värden inom accepterat intervall (bilaga 1)
	extremvärden
	falsknegativa resultat
*	värden utanför X-axelns intervall

Analysresultat av provtillfälle april 2016

Generellt utfall

Provmaterial sändes ut till 201 laboratorier, varav 45 i Sverige, 134 i övriga Europa och 22 laboratorier i övriga världen. Av de 186 laboratorier som rapporterade utvärderade svar hade 150 (81 %) minst ett analys svar med anmärkning. Vid det senaste provtillfället med ungefär samma parametrar (april 2015) var andelen 72 %.

Individuella resultat finns på hemsidan efter inloggning: www2.slv.se/absint.

Tabell 1: Blandningsinnehåll och % av avvikande resultat (F: falsksvar, E: extremvärden).

	Blandning A			Blandning B			Blandning C		
% deltagare med									
Organismer	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Candida glabrata</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i>			<i>Hafnia alvei</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Carnobacterium piscicola</i> <i>Clostridium bifermentans</i> <i>Penicillium verrucosum</i>			<i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Bacillus thuringiensis</i> <i>Shewanella putrefaciens</i>		
Analys	Målorganism	F %	E %	Målorganism	F %	E %	Målorganism	F %	E %
Aeroba mikroorganism, 30 °C	<i>P. aeruginosa</i> <i>L. plantarum</i>	1	6	<i>H. alvei</i> <i>C. piscicola</i>	0	5	<i>S. saprophyticus</i>	0	4
Psykrotrofa mikroorganismer	<i>C. cladosporioides</i>	69	0	<i>H. alvei</i> <i>C. piscicola</i>	0	7	-	0	0
Enterobacteriaceae	(<i>P. aeruginosa</i>)	7	-	<i>H. alvei</i>	1	7	<i>E. coli</i>	0	9
<i>E. coli</i>	-	1	-	-	4	-	<i>E. coli</i>	16	6
Presum. <i>B. cereus</i>	-	3	-	<i>B. cereus</i>	32	1	<i>B. thuringiensis</i>	2	7
Koagulaspositiva stafylokocker	<i>S. aureus</i>	1	7	-	1	-	(<i>S. saprophyticus</i>)	1	-
Mjölksyrabakterier	<i>L. plantarum</i>	2	2	<i>C. piscicola</i>	66	0	(<i>S. saprophyticus</i>)	17	-
<i>C. perfringens</i>	<i>C. perfringens</i>	3	9	-	19	0	-	0	-
Anaerob. sulfited. bakterier	<i>C. perfringens</i>	1	3	<i>C. bifermentans</i>	9	0	-	0	-
Aeroba mikroorg. i fiskprodukter	<i>P. aeruginosa</i> <i>L. plantarum</i>	3	3	<i>H. alvei</i> <i>C. piscicola</i>	0	6	<i>S. saprophyticus</i>	0	6
H ₂ S-prod. bakterier i fiskprodukter	-	3	-	<i>H. alvei</i>	3	3	<i>S. putrefaciens</i>	48	0
Jäst	<i>C. glabrata</i>	0	16	-	6	-	-	0	-
Mögel	<i>C. cladosporioides</i>	11	4	<i>P. verrucosum</i>	5	6	-	1	-

-: saknar målorganism; (mikroorganism):falskpositiv före konfirmering

Aeroba mikroorganismer, 30 °C

Blandning A

I blandning A förekom stammar av *Pseudomonas aeruginosa* och *Lactobacillus plantarum* i de högsta koncentrationerna och utgjorde därför de flesta kolonierna på plattorna.

Blandning B

I blandning B förekom stammar av *Hafnia alvei* och *Carnobacterium piscicola* i de högsta koncentrationerna och utgjorde därför de flesta kolonierna på plattorna.

Blandning C

I blandning C förekom en stam av *Staphylococcus saprophyticus* i den högsta koncentrationen och utgjorde därför de flesta kolonierna på plattorna.

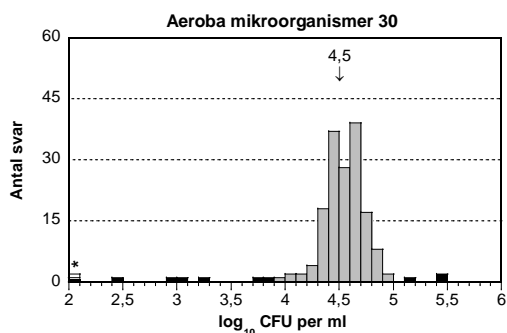
Allmänt om analyserna

Alla tre blandningar uppvisade en god fördelning av resultaten, även om resultaten för blandning C uppvisade en något bredare fördelning jämfört med blandning A och B. Endast ett fåtal höga och låga extremvärden rapporterades.

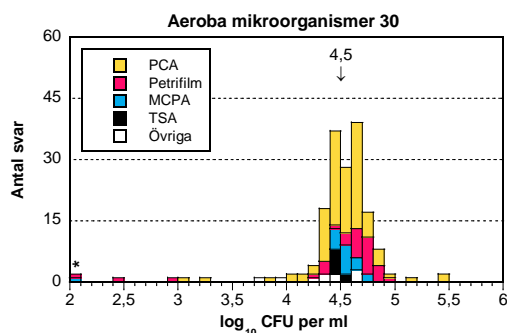
Resultat från analys av aeroba mikroorganismer

Substrat	N	Blandning A						Blandning B						Blandning C					
		n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>
Alla svar	171	158	4,54	0,17	1	7	3	162	4,71	0,14	0	7	2	164	4,55	0,30	0	6	0
PCA	103	95	4,52	0,17	0	3	3	100	4,69	0,14	0	3	0	102	4,55	0,30	0	0	0
Petrifilm™	32	29	4,65	0,17	0	3	0	28	4,76	0,11	0	3	1	27	4,60	0,26	0	5	0
MCPA	18	17	4,56	0,10	1	0	0	17	4,69	0,10	0	1	0	17	4,56	0,21	0	1	0
TSA	8	8	4,48	0,05	0	0	0	8	4,67	0,12	0	0	0	8	4,39	0,30	0	0	0
Övriga	10	9	4,42	0,22	0	1	0	9	4,80	0,20	0	0	1	10	4,62	0,43	0	0	0

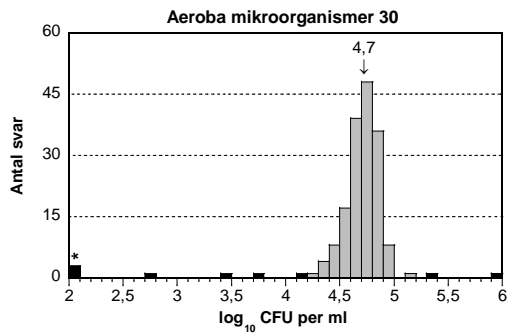
A



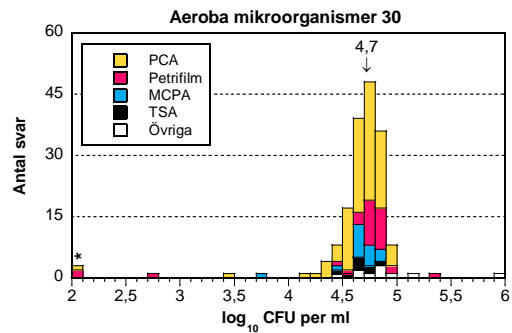
A



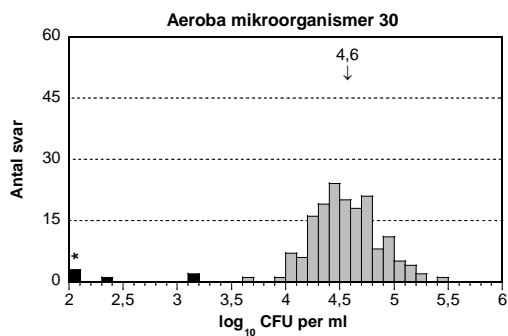
B



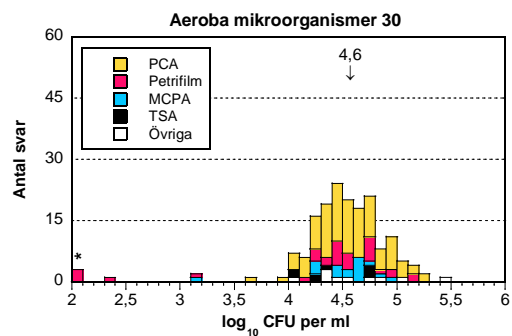
B



C



C



Psykrotrofa mikroorganismer

Blandning A

På Livsmedelsverket bildade *Cladosporium cladosporioides* kolonier på PCA efter 10 dagars inkubering vid 6,5 °C (NMKL 86:2013). Kolonierna som observerades var väldigt små och lupp krävdes vid avläsning, vilket kan förklara att 9 av de 13 laboratorier som utförde analysen rapporterade falsknegativa resultat. De falsknegativa resultaten kunde inte kopplas till någon specifik metod, substrat eller inkuberingstemperatur.

Blandning B

I blandning B förekom stammar av *Hafnia alvei* och *Carnobacterium piscicola* i de högsta koncentrationerna och utgjorde därför de flesta kolonierna på plattorna. Enda avvikande resultat var ett lågt extremvärde.

Blandning C

I blandning C fanns ingen målorganism för denna analys. På Livsmedelverket bildade heller ingen av de ingående stammarna kolonier på PCA efter 10 dagars inkubering vid 6,5 °C. Vid högre temperatur, som används utifrån en del standarder, kan dock mikroorganismer i blandningen växa, varför både negativa och positiva resultat bör betraktas som korrekta för denna analys. På grund av svårigheterna med analysen är resultaten inte utvärderade, och ger därför inte några z-värden. Resultaten är heller inte medräknade i tabellerna under boxdiagrammen.

Allmänt om analyserna

Samtliga laboratorier utom två använde sig av antingen PCA eller MCPA som substrat. Inkuberingstid och temperatur skiljde sig däremot beroende på vilken metod som användes. Så varierande inkuberingsförhållanden som 6,5 °C / 10 dygn (NMKL 86:2006), 17 °C / 20 h + 7 °C / 3 dygn (NMKL 74:2000) och 21 °C / 24 h (ISO 8552:2004) rapporterades av laboratorierna. NMKL 86:2013, som ersatt NMKL 86:2006 och NMKL 74:2000 föreskriver dessutom inkubering antingen vid 6,5 °C / 10 dygn, alternativt vid 17 °C / 20 h, följt av 7 °C / 3 dygn. Dessa skillnader i inkuberingsförhållanden kan förklara den stora spridningen i resultaten, men väcker också frågan om definitionen på psykotrofa mikroorganismer. Här kan nämnas att en viss trend kunde observeras för blandning C, där högre inkuberingstemperatur sammanföll med högre rapporterat antal mikroorganismer.

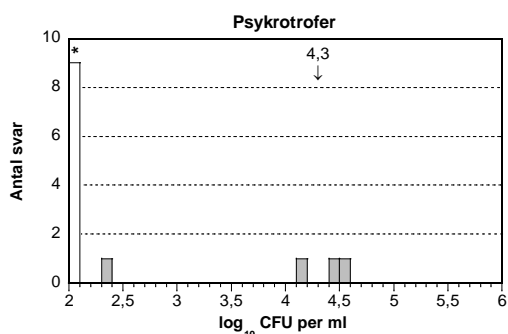
Variationerna i inkuberingsförhållanden, kombinerat med ett lågt antal deltagande laboratorier, gör det svårt att statistiskt utvärderas resultaten. Därför redovisas också i tabellen nedanför medianvärde istället för medelvärde för analyserna.

Resultat från analys av psykotrofa mikroorganismer

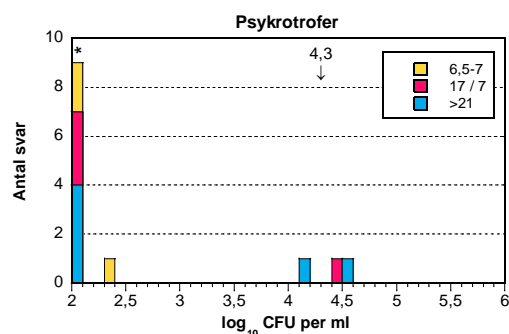
Temperatur	N	Blandning A						Blandning B						Blandning C					
		n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>
Alla svar	14	4	4,31*	-	9	-	-	13	4,60*	-	0	1	0	13	3,99*	-	0	-	-
6,5–7 °C	3	1	2,34*	-	2	-	-	3	4,67*	-	0	0	0	2	0*	-	0	-	-
17 °C / 7 °C	4	1	4,48*	-	3	-	-	4	4,55*	-	0	0	0	4	2,78*	-	0	-	-
≥21 °C	7	2	4,37*	-	4	-	-	6	4,47*	-	0	1	0	7	4,30*	-	0	-	-

* Median

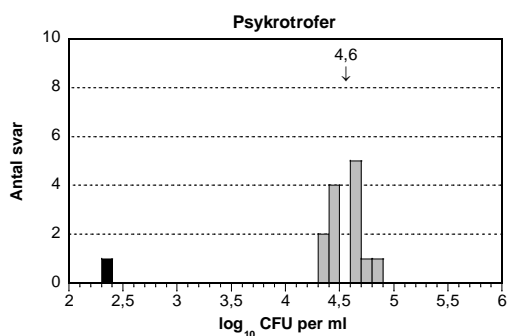
A



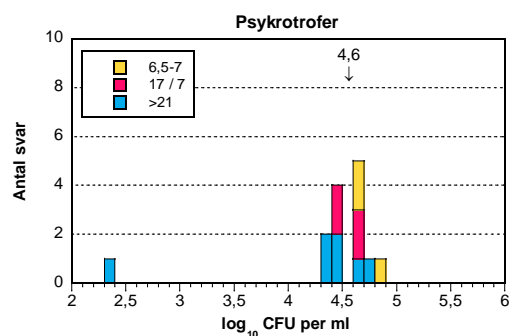
A

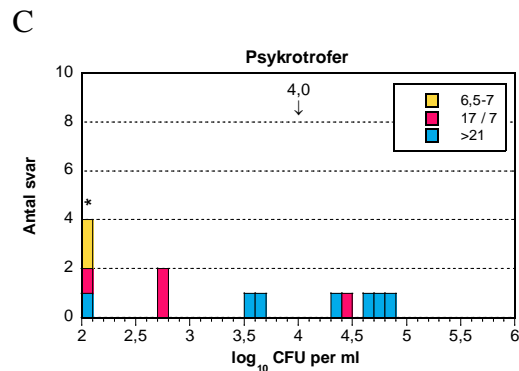
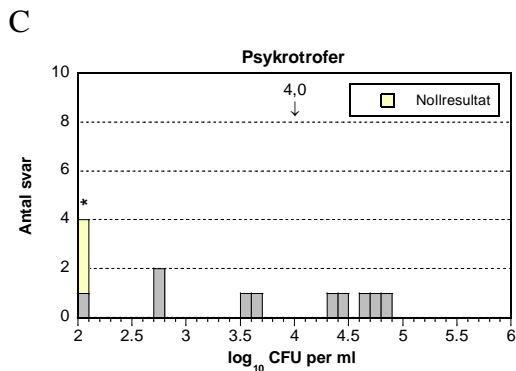


B



B





Enterobacteriaceae

Blandning A

I blandning A fanns ingen målorganism för denna analys. På Livsmedelsverket bildade *Pseudomonas aeruginosa* små atypiska, beiga kolonier på VRBG. Detta skulle kunna förklara att 11 laboratorier rapporterade falskpositiva resultat för Enterobacteriaceae, särskilt med tanke på att endast 2 av dessa utförde konfirmeringsteg.

Blandning B

En stam av *Hafnia alvei* var målorganism för analysen. Resultaten hade en bra fördelning, med några avvikande extremvärden och ett falskt negativt resultat.

Blandning C

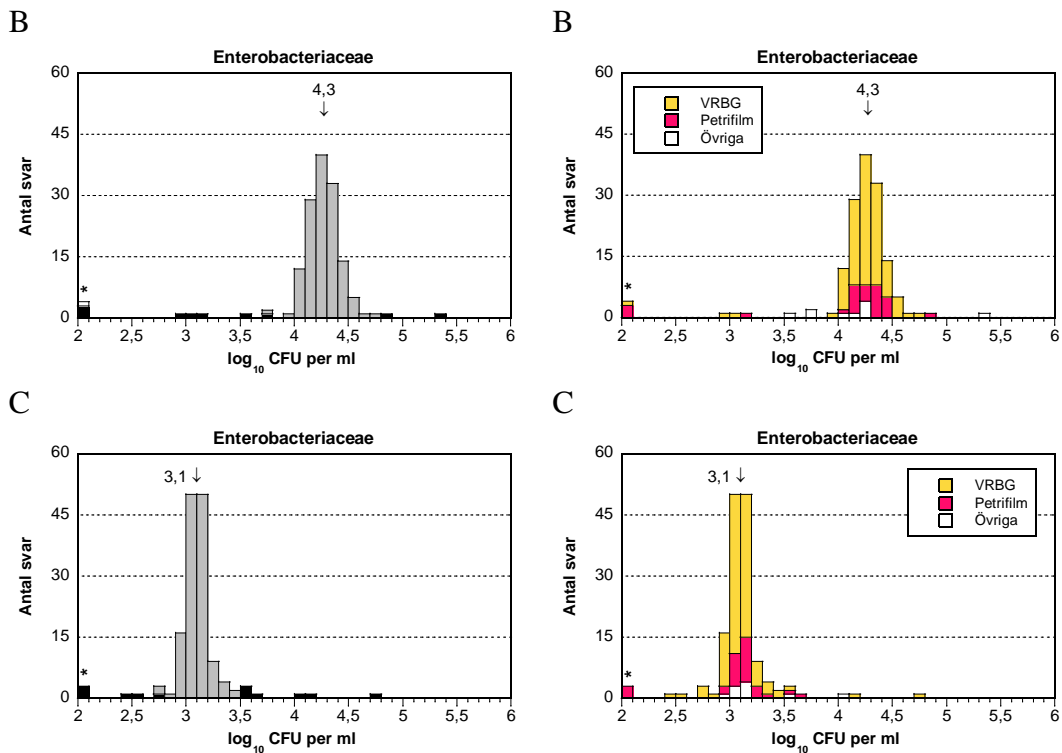
En stam av *Escherichia coli* var målorganism för analysen. Resultaten fördelade sig bra, med ett mindre antal extremvärden.

Allmänt om analyserna

De flesta laboratorier använde VRBG eller 3M™ Petrifilm™ Enterobacteriaceae för analys av Enterobacteriaceae och samstämmiga medelvärden erhöles också för dessa substrat.

Resultat från analys av Enterobacteriaceae

Substrat	N	Blandning A					Blandning B					Blandning C							
		n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>
Alla svar	148	136	-	-	11	-	-	137	4,27	0,14	1	8	2	134	3,09	0,11	0	6	7
VRBG	108	99	-	-	8	-	-	105	4,27	0,14	0	3	0	101	3,08	0,11	0	3	3
Petrifilm™	30	27	-	-	3	-	-	25	4,29	0,11	1	3	1	25	3,12	0,09	0	3	2
Övriga	10	10	-	-	-	-	-	7	4,16	0,17	0	2	1	8	3,07	0,07	0	0	2



Escherichia coli

Blandning A

I blandning A fanns ingen målorganism för analysen av *E. coli*. Endast ett falskt positivt resultat rapporterades.

Blandning B

Ingen målorganism för *E. coli* fanns i denna blandning. Fem av 122 laboratorier rapporterade trots detta falskpositiva resultat.

Blandning C

En stam av *E. coli* var målorganism för analysen. Falsknegativa resultat rapporterades av 19 laboratorier. Av dessa använde sig 11 av metoden 3M™ Petrifilm™ *E. coli*/Coliform count plate (Petrifilm™ EC/CC), vilket tyder på att stammen av *E. coli* var svårt att identifiera med denna metod.

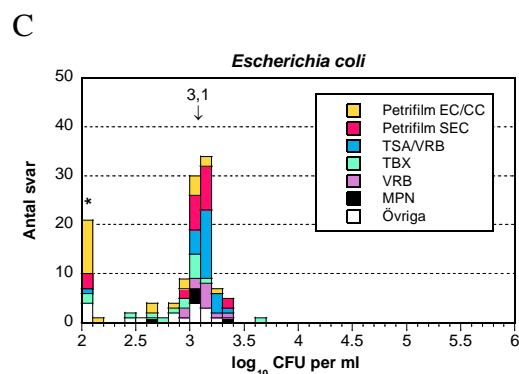
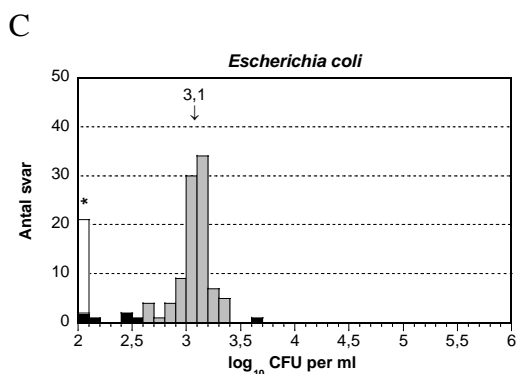
Allmänt om analyserna

För analysen av *E. coli* fanns en förhållandevis stor variation i de substrat som användes, men ungefär samma medelvärden erhöles oberoende av substrat. Problem med utförd eller utebliven konfirmering förklarar troligtvis merparten av de rapporterade falskpositiva och negativa resultaten. För *E. coli* rekommenderar NMKL 125:2005 konfirmering av presumtiva kolonier genom test av gas- och indolproduktion i LTLSB-buljong vid 44 °C, medan konfirmering i 3M™ Petrifilm™ Select *E. coli* Count (Petrifilm™ SEC) och ISO 16649-2:2001 baseras på detektion av β-glukuronidasaktivitet hos *E. coli* vid 42 °C respektive 44 °C. Petrifilm™ EC/CC, som gav upphov till de flesta falsknegativa resultaten, inkluderar både test av β-

glukuronidasaktivitet och gasproduktion, men inkubering utförs istället vid 37 °C. Den aktuella *E. coli*-stammen har på Livsmedelsverket observerats ha en svag β -glukuronidasaktivitet, och kan därför ha varit svår att urskilja från övriga koliforma bakterier vid användning av Petrifilm™ EC/CC.

Resultat från analys av *E. coli*

Substrat	N	Blandning A					Blandning B					Blandning C							
		n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>
Alla svar	122	120	-	-	1	-	-	117	-	-	5	-	-	94	3,08	0,15	19	6	1
Petrifilm™ EC/CC	24	23	-	-	0	-	-	22	-	-	2	-	-	12	2,98	0,20	11	1	0
Petrifilm™ SEC	23	22	-	-	1	-	-	23	-	-	0	-	-	20	3,11	0,10	2	1	0
TSA/VRB	25	25	-	-	0	-	-	25	-	-	0	-	-	24	3,15	0,09	1	0	0
TBX	15	15	-	-	0	-	-	15	-	-	0	-	-	11	2,96	0,15	1	2	1
VRB	11	11	-	-	0	-	-	10	-	-	1	-	-	11	3,12	0,10	0	0	0
MPN	7	7	-	-	0	-	-	7	-	-	0	-	-	5	3,03	0,25	0	0	0
Övriga	24	17	-	-	0	-	-	15	-	-	2	-	-	11	3,05	0,13	4	2	0



Presumtiv *Bacillus cereus*

Blandning A

I blandning A fanns ingen målorganism för denna analys. Fyra laboratorier rapporterade trots detta falskpositiva resultat. Tre av dessa angav att de använde blodagar (BA) samt metoden NMKL 67:2010, vilken föreskriver konfirmering av misstänka kolonier från blodagar på BcsA eller Cereus-Ident-Agar (kromogent substrat). Inget av dessa laboratorier angav dock att de utförde sådant konfirmeringssteg.

Blandning B

En stam av *Bacillus cereus* var målorganism för denna analys. Stammen bildar atypiska blanka kolonier med smal hämolyszon på BA. På BcsA bildar den ljusblå kolonier med svag utfällningszon. Det atypiska utseendet bidrog troligen till att 41 av 127 laboratorier rapporterade falsknegativa resultat; dessa resultat kunde heller inte kopplas till användning av någon specifik metod eller substrat.

Blandning C

En stam av *Bacillus thuringiensis*, som tillhör gruppen presumtiv *Bacillus cereus*, var målorganism för denna analys. Resultaten var fördelade bra, med ett fåtal extremvärden och falsknegativa resultat.

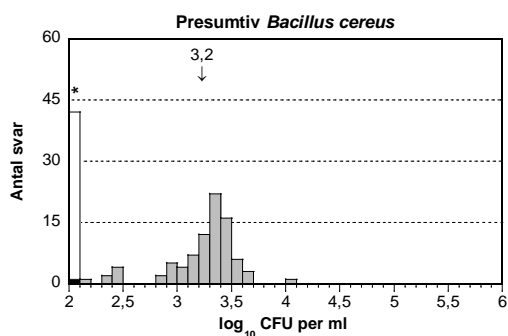
Allmänt om analyserna

De flesta laboratorier rapporterade att de utförde analyser enligt antingen NMKL 67:2010 eller ISO 7923:2004. Ingen skillnad i resultat mellan dessa båda metoder kunde observeras för varken blandning B eller C.

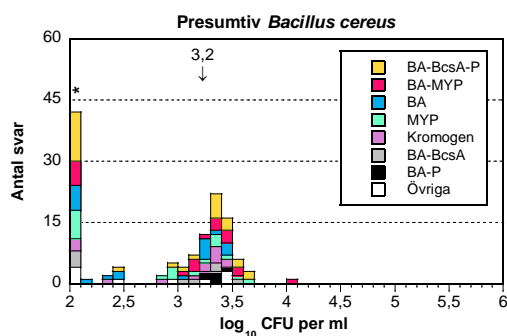
Resultat från analys av presumtiva *B. cereus*

Substrat	N	Blandning A					Blandning B					Blandning C							
		n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>
Alla svar	127	123	-	-	4	-	-	85	3,23	0,32	41	1	0	115	3,14	0,20	3	6	3
BA-BcsA-P	28	28	-	-	0	-	-	17	3,31	0,28	12	0	0	29	3,16	0,17	0	0	0
BA-MYP	21	21	-	-	0	-	-	14	3,37	0,24	6	0	0	18	3,13	0,21	0	1	2
BA	20	17	-	-	3	-	-	14	3,04	0,46	6	0	0	15	3,06	0,19	2	2	0
MYP	19	19	-	-	0	-	-	12	3,22	0,27	7	0	0	18	3,11	0,19	0	0	1
Kromogen	14	14	-	-	0	-	-	11	3,19	0,33	2	1	0	12	3,21	0,18	0	2	0
BA-BcsA	9	9	-	-	0	-	-	5	3,28	0,21	4	0	0	9	3,19	0,27	0	0	0
BA-P	6	5	-	-	1	-	-	6	3,30	0,08	0	0	0	6	3,15	0,23	0	0	0
Övriga	10	10	-	-	0	-	-	6	3,16	0,40	4	0	0	8	3,11	0,27	1	1	0

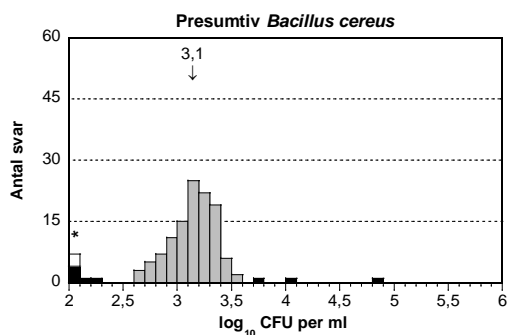
B



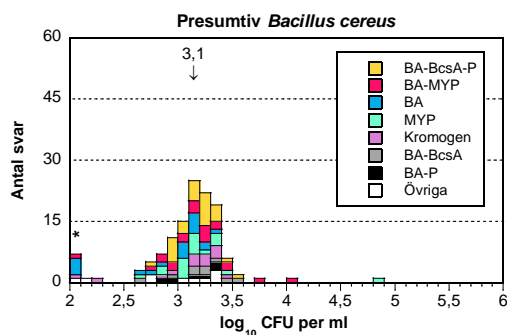
B



C



C



Koagulaspositiva stafylokocker

Blandning A

En stam av *Staphylococcus aureus* var målorganism för denna analys. Fördelningen av resultaten var bra, och endast ett fåtal laboratorier rapporterade extremvärden.

Blandning B

I blandning B fanns ingen målorganism för denna analys. Endast ett laboratorium rapporterade falskpositivt resultat.

Blandning C

I blandning C fanns inte någon koagulaspositiv stam av stafylokocker. Endast ett laboratorium rapporterade falskpositivt resultat.

Allmänt om analyserna

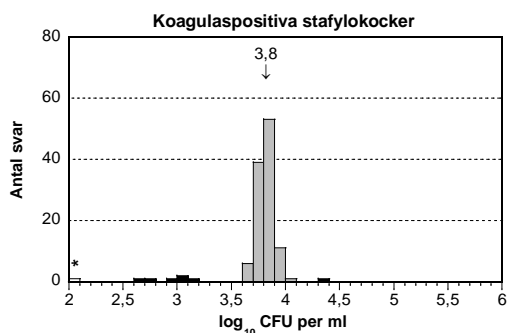
Analyserna medförde inga svårigheter för laboratorierna, och ingen skillnad beroende på substrat eller använd metod kunde heller observeras. Vid tidigare PT-omgångar har höga extremvärden och falskpositiva resultat kopplats till användning av BP-agar. På detta substrat testas inte koagulasreaktionen, varför ytterligare konfirmeringssteg måste utföras. Endast enstaka falskpositiva resultat och extremvärden rapporterades för denna provomgång, vilket troligen hör samman med att 67 av de 70 laboratorier som använde BP-agar utförde ytterligare konfirmeringssteg.

Resultat från analys av koagulaspositiva stafylokocker

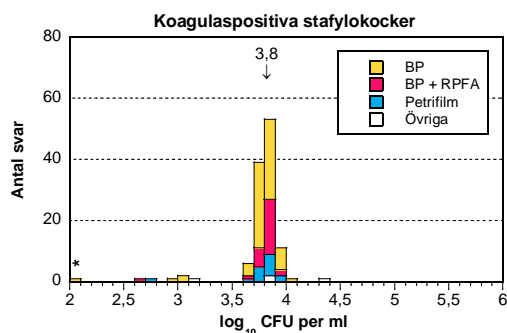
Substrat	N	Blandning A						Blandning B						Blandning C					
		n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>
Alla svar	120	110	3,81	0,07	1	6	2	119	-	-	1	-	-	118	-	-	1	-	-
BP	70	66	3,81	0,07	1	3	0	70	-	-	0	-	-	70	-	-	0	-	-
BP + RPFA	29	27	3,82	0,06	0	1	0	29	-	-	0	-	-	29	-	-	0	-	-
Petrifilm™	17	15	3,81	0,07	0	1	1	16	-	-	1	-	-	15	-	-	1	-	-
Övriga	4	2	3,87*	-	0	1	1	4	-	-	0	-	-	4	-	-	0	-	-

* Median

A



A



Mjölksyrabakterier

Blandning A

En stam av *Lactobacillus plantarum* var målorganism för analysen. Räkningen av kolonier medförde inga svårigheter och även fördelningen av resultaten var bra; endast två avvikande resultat rapporterades. Ingen skillnad i resultaten på grund av substrat eller metod kunde heller påvisas.

Blandning B

En stam av *Carnobacterium piscicola* var målorganism för analysen. Denna är känsligare för lägre pH än andra mjölksyrabakterier, vilket kan förklara varför 38 av 58 laboratorier rapporterade falsknegativa resultat. På grund av svårigheterna med att identifiera stammen, får därför alla laboratorier som rapporterat positiva resultat anses vara godkända. Spridningen i resultaten gör då samtidigt att standardavvikelseerna blir väldigt höga. Även medelvärdet för MRS dras ner på grund av inkluderingen av två väldigt låga resultat.

Blandning C

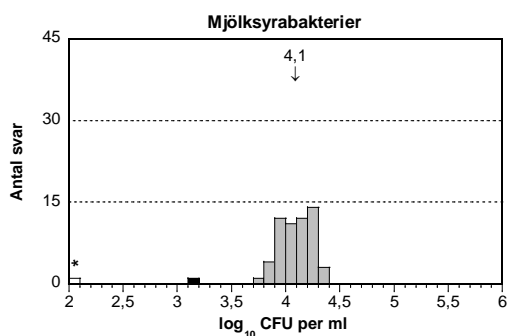
Blandning C innehöll ingen målorganism för denna analys. På Livsmedelsverket bildade dock *Staphylococcus saprophyticus* små kolonier på MRS-aB efter fem dagars anaerob inkubering vid 25 °C. I tidigare provomgångar har stammen även visats växa på MRS. Detta kan förklara de avvikande resultaten för denna analys; 9 av de 10 laboratorier som rapporterade falskpositiva resultat angav att de använde antingen MRS eller MRS-aB. Merparten av de rapporterade koncentrationerna motsvarade även halten för *S. saprophyticus* i blandningen.

Resultat från analys av mjölksyrabakterier

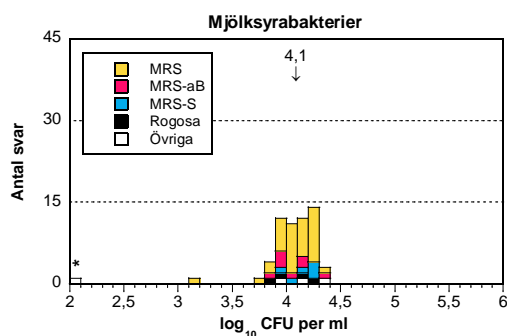
Substrat	N	Blandning A						Blandning B						Blandning C					
		n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>
Alla svar	59	57	4,08	0,14	1	1	0	20	4,25	0,56	38	0	0	49	-	-	10	-	-
MRS	37	36	4,06	0,21	0	1	0	13	4,12	0,63	23	0	0	29	-	-	7	-	-
MRS-aB	9	8	4,04	0,14	0	0	0	4	4,44*	-	5	0	0	7	-	-	2	-	-
MRS-S	6	6	4,11	0,12	0	0	0	2	4,58*	-	4	0	0	6	-	-	0	-	-
Rogosa	4	4	4,01*	-	0	0	0	0	-	-	4	0	0	4	-	-	0	-	-
Övriga	3	3	4,10*	-	1	0	0	1	4,93*	-	2	0	0	3	-	-	1	-	-

* Median

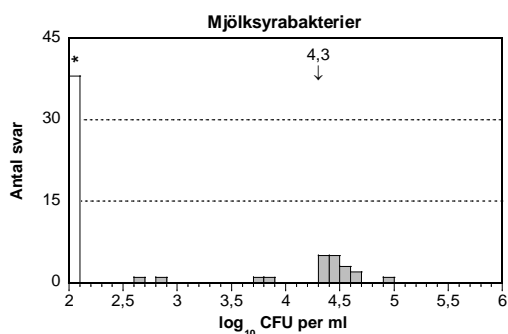
A



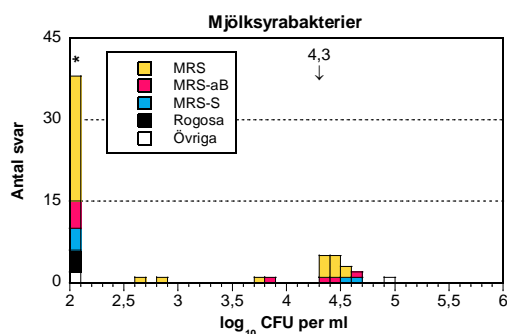
A



B



B



C. perfringens och anaeroba sulfitreducerande bakterier

Blandning A

En stam av *C. perfringens* var målorganism för båda analyserna. Resultaten var väl fördelade för båda analyserna, men med en svans av låga extremvärden för *C. perfringens*. För *C. perfringens* rekommenderar NMKL 95:2009 användning av TSC och/eller mCP som substrat. Majoriteten av laboratorerna (79 %) angav här att de använde TSC. Tre av de totalt sex laboratorier som använde mCP rapporterade låga extremvärden, och resterande tre fick resultat med noterbart lägre medelvärde än övriga substrat, vilket antyder att stammen var svår att identifiera med mCP. Det kan här nämnas att mCP ofta används för analyser av vatten med membranfilter och att det där funnits resultera i lägre halter av *C. perfringens* jämfört med TSC (2, 3, 4). Jämförande studier på livsmedel har också rekommenderat TSC som substrat vid analys av *C. perfringens* (5, 6).

Blandning B

Blandning B innehöll en stam av *C. bifermentans*, som endast var målorganism för analys av anaeroba sulfitreducerande mikroorganismer. Den kan särskiljas från *C. perfringens* genom konfirmering, till exempel genom att *C. bifermentans* är rörlig. Utebliven eller bristfällig konfirmering kan förklara varför 13 av 68 laboratorier rapporterade falskpositiva resultat för *C. perfringens*. Fördelningen av resultaten för anaeroba sulfitreducerande bakterier var förhållandevis bred och 6 av 63 laboratorier rapporterade falsknegativa resultat – dock ej kopplat till något specifikt substrat.

Blandning C

I blandning C fanns ingen målorganism för dessa analyser. Inga falskpositiva resultat rapporterades för någon av analyserna.

Allmänt om analyserna

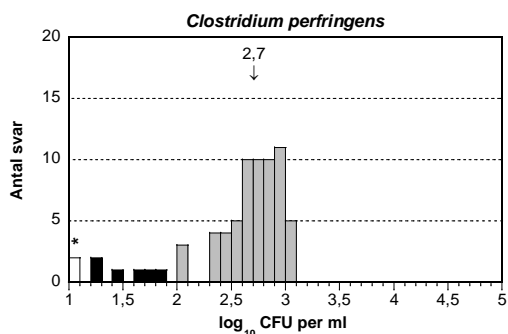
Av de totalt 70 laboratorier som analyserade *C. perfringens*, använde majoriteten någon av metoderna NMKL95:2009 eller EN ISO 7937:2004. Ingen skillnad mellan dessa metoder kunde observeras. För analysen av anaeroba sulfitreducerande bakterier dominerade NMKL 56:2008 och ISO 15213:2003. Inte heller här kunde någon metodberoende skillnad i resultaten observeras.

Resultat från analys *C. perfringens*

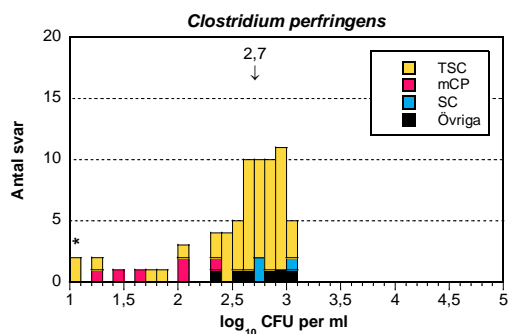
Substrat	N	Blandning A					Blandning B					Blandning C							
		n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>
Alla svar	70	62	2,71	0,24	2	6	0	55	-	-	13	-	-	70	-	-	0	-	-
TSC	55	50	2,73	0,20	2	3	0	44	-	-	11	-	-	54	-	-	0	-	-
mCP	6	3	2,08*	-	0	3	0	5	-	-	0	-	-	7	-	-	0	-	-
SC	3	3	2,76*	-	0	0	0	2	-	-	1	-	-	3	-	-	0	-	-
Övriga	6	6	2,71	0,25	0	0	0	4	-	-	1	-	-	6	-	-	0	-	-

* Median

A



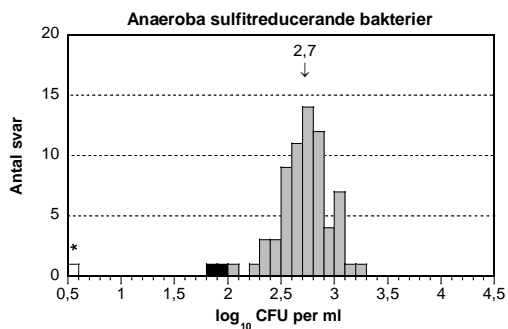
A



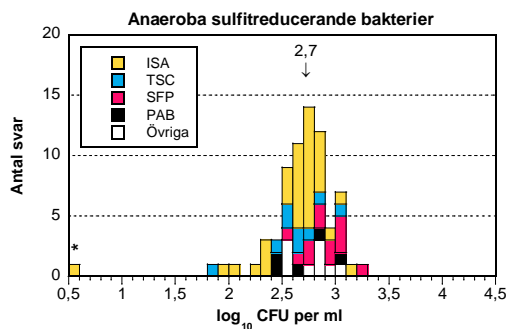
Resultat från analys av anaeroba sulfitreducerande bakterier.

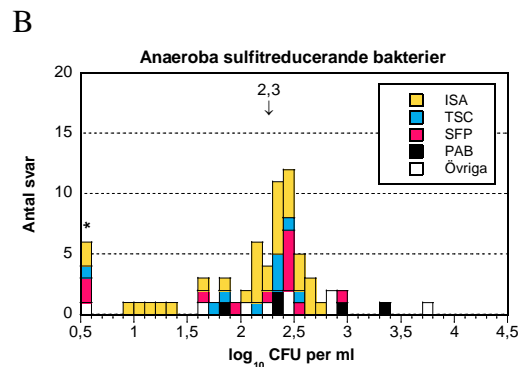
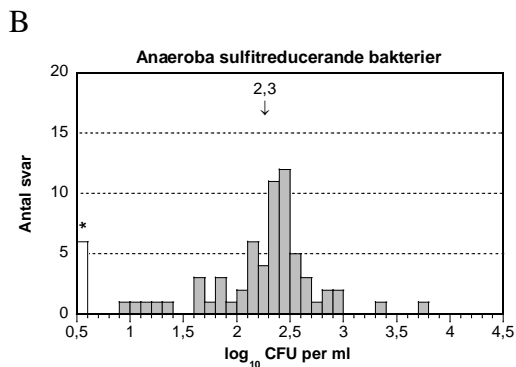
Substrat	N	Blandning A					Blandning B					Blandning C							
		n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>
Alla svar	70	67	2,72	0,22	1	2	0	63	2,26	0,50	6	0	0	69	-	-	0	-	-
ISA	35	33	2,66	0,22	1	1	0	32	2,13	0,50	2	0	0	34	-	-	0	-	-
SFP	12	12	2,88	0,19	0	0	0	10	2,34	0,35	2	0	0	12	-	-	0	-	-
TSC	9	8	2,70	0,19	0	1	0	8	2,24	0,28	1	0	0	9	-	-	0	-	-
PAB	5	5	2,70	0,26	0	0	0	5	2,54	0,58	0	0	0	5	-	-	0	-	-
Övriga	9	9	2,76	0,18	0	0	0	8	2,54	0,65	1	0	0	9	-	-	0	-	-

A



A





Aeroba mikroorganismer vid 20-25°C och H₂S-producerande bakterier i fisk och fiskprodukter

Blandning A

Liksom vid analys av aeroba mikroorganismer vid 30 °C var stammar av *Pseudomonas aeruginosa* och *Lactobacillus plantarum* målorganismer för analysen av aeroba mikroorganismer i fisk. Endast två avvikande resultat rapporterades och resultaten var i övrigt bra fördelade. Ingen målorganism för H₂S-producerande bakterier fanns i blandningen och endast ett laboratorium rapporterade här falskt positivt resultat.

Blandning B

Stammar av *Hafnia alvei* och *Carnobacterium piscicola* var målorganismer för analysen av aeroba mikroorganismer, som inte gav upphov till några anmärkningsvärda resultat. För H₂S-producerande bakterier utgjorde en stam av *Hafnia alvei* målorganism. Även här fördelade sig resultaten bra och endast två laboratorier rapporterade avvikande resultat.

Blandning C

Liksom vid analys av aeroba mikroorganismer vid 30 °C var en stam av *Staphylococcus saprophyticus* målorganism för analysen av aeroba mikroorganismer. Analyssvaren fördelade sig bra och enda avvikande resultat var två låga extremvärden. En stam av *Shewanella putrefaciens* var målorganism för H₂S-producerande bakterier och förekom i låg koncentration i blandningen. På Livsmedelsverket observerades små kolonier i outspätt prov (0), vilka var lätta att missa. Troligen är dessa två faktorer bidragande orsaker till att hälften av laboratorerna rapporterade falsknegativa resultat för denna analys.

Allmänt om analyserna

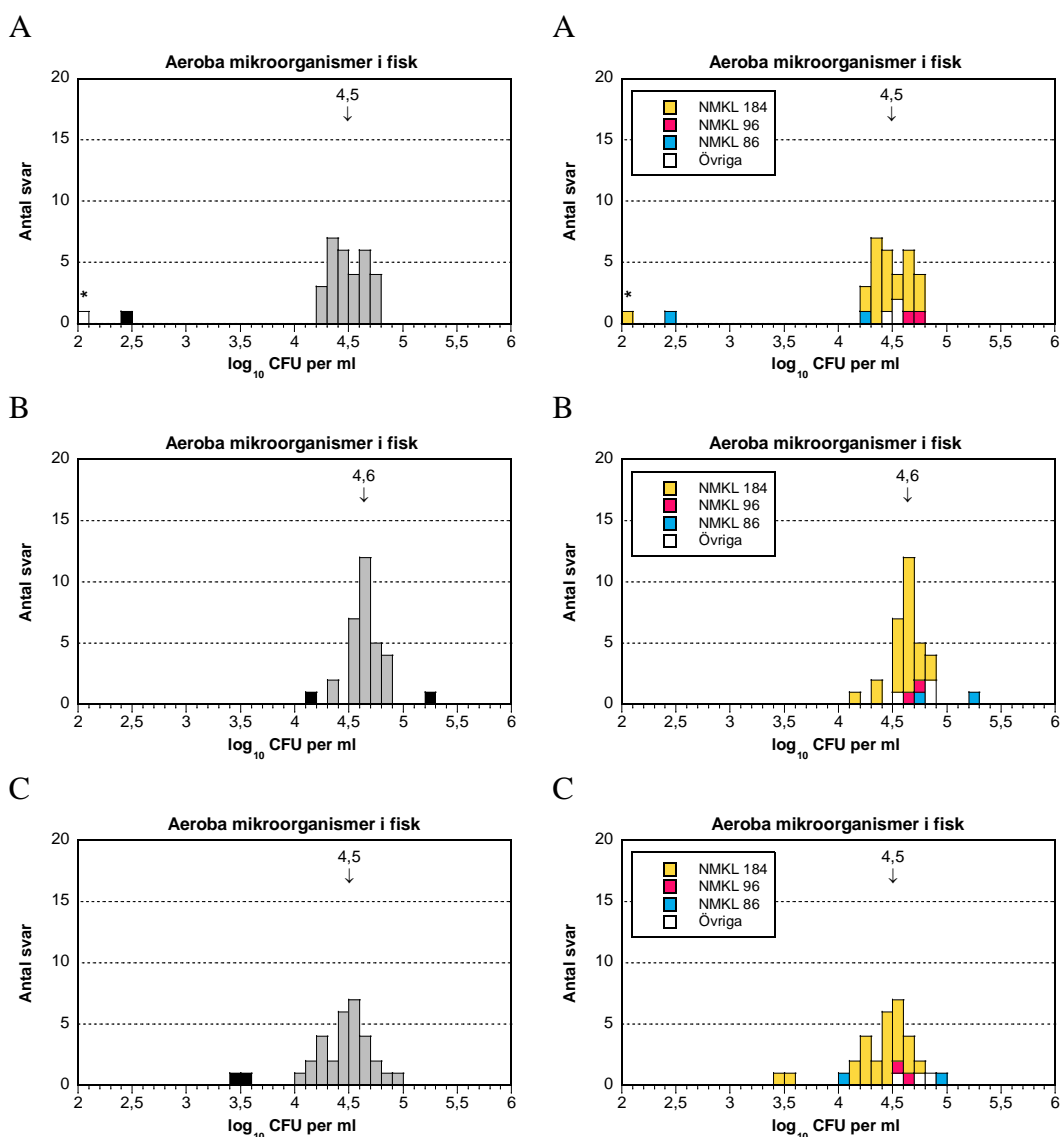
De flesta laboratorier som utförde båda analyserna angav att de använde järnagar och NMKL 184:2006, som beskriver bestämning av aeroba mikroorganismer och specifika förruttelseorganismer i fisk och fiskprodukter. Jämförelser med andra använda metoder och substrat (PCA och Petrifilm™) var svåra att göra på grund av det låga antalet laboratorier. Det bör dock nämnas att NMKL 86:2006 (Bestämning av aeroba mikroorganismer i livsmedel) och NMKL 96:2003 (Mikrobiologisk analys av färsk och fryst fisk och skaldjur) ersatts av NMKL 86:2013 respektive NMKL 96:2009, och att

desså båda metoder hänvisar till NMKL 184:2006 för just analys av fisk och fiskprodukter.

Resultat från analys av aeroba mikroorganismer i fiskprodukter.

Metod	N	Blandning A					Blandning B					Blandning C							
		n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>
Alla svar	32	30	4,49	0,16	1	1	0	30	4,64	0,12	0	1	1	30	4,48	0,21	0	2	0
NMKL 184:2006	25	24	4,48	0,17	1	0	0	24	4,62	0,12	0	1	0	23	4,44	0,17	0	2	0
NMKL 96:2003	2	2	4,67*	-	0	0	0	2	4,70*	-	0	0	0	2	4,59*	-	0	0	0
NMKL 86:2006	2	1	4,28*	-	0	1	0	1	4,72*	-	0	0	1	2	4,49*	-	0	0	0
Övriga	3	3	4,50*	-	0	0	0	3	4,80*	-	0	0	0	3	4,72*	-	0	0	0

* Median

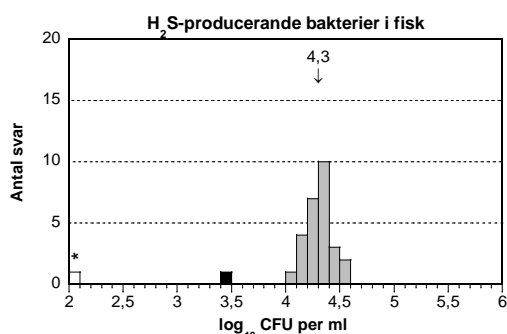


Resultat från analys av H₂S-producerande bakterier i fiskprodukter.

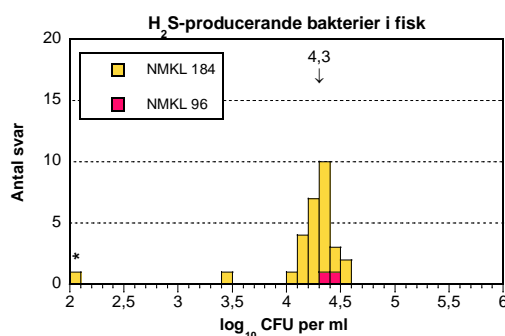
Metod	N	Blandning A					Blandning B					Blandning C							
		n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>
Alla svar	29	28	-	-	1	-	-	27	4,30	0,12	1	1	0	15	1,48*	-	14	0	0
NMKL 184:2006	27	26	-	-	1	-	-	25	4,29	0,12	1	1	0	13	1,48*	-	14	0	0
NMKL 96:2003	2	2	-	-	0	-	-	2	4,39*	-	0	0	0	2	1,38*	-	0	0	0
Övriga	0	0	-	-	0	-	-	0	-	-	0	0	0	0	-	-	0	0	0

*Median

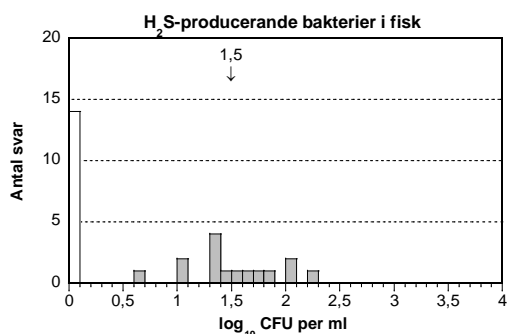
B



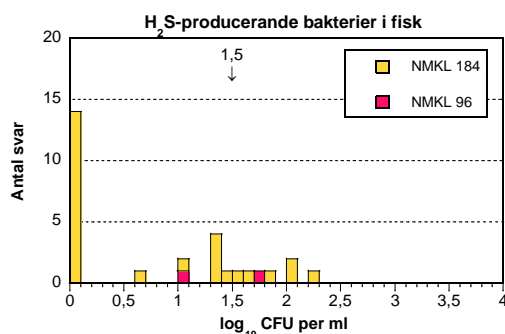
B



C



C



Jäst och mögel

Blandning A

En stam av *Candida glabrata* var målorganism för analysen av jäst. Resultaten fördelades med en tydlig topp kring 2,4 log₁₀ CFU/ml följt av en mindre topp kring 4,0 log₁₀ CFU/ml med höga extremvärden. De senare rapporterades vid användning av YGC, DG18/DRBC och DRBC, men förekom i något högre grad vid användning av YGC. Den enda organism i blandningen som förekom i halter motsvarande dessa extremvärden var *Staphylococcus saprophyticus*. Denna ska dock normalt inte växa ut på substraten om antibiotika tillsatts i föreskriven mängd. På Livsmedelsverket observerades inga andra kolonier förutom jäst och mögel på varken DG18 eller DRBC efter 7 dagars inkubering vid 25 °C. För mögel utgjorde en stam av *Cladosporium cladosporioides* målorganism för analysen. Falsknegativa resultat rapporterades av 16 av

146 laboratorier. Även här kunde skönjas en viss överrepresentation bland laboratorier som använde YGC. Gruppen som rapporterade falsknegativa resultat för mögel och gruppen som rapporterade extremvärden för jäst överlappade med endast två laboratorier, varför ett systematiskt fel i utförande av analysen sannolikt kan uteslutas.

Blandning B

I blandning B fanns ingen målorganism för analys av jäst. Trots detta rapporterade 8 av 145 laboratorier falskpositiva resultat. De rapporterade koncentrationerna varierade från 1,15 log₁₀ CFU/ml till 4,02 log₁₀ CFU/ml och ingen koppling till använd metod eller substrat kunde hittas. En stam av *Penicillium verrucosum* var målorganism för analysen av mögel. Resultaten var bra fördelade, med ett mindre antal extremvärden. Åtta laboratorier rapporterade falsknegativa resultat, men ingen koppling till metod eller använt substrat kunde identifieras.

Blandning C

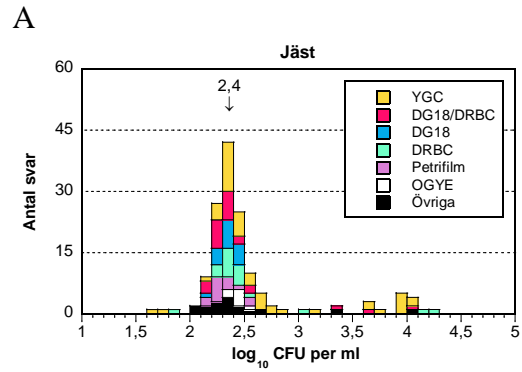
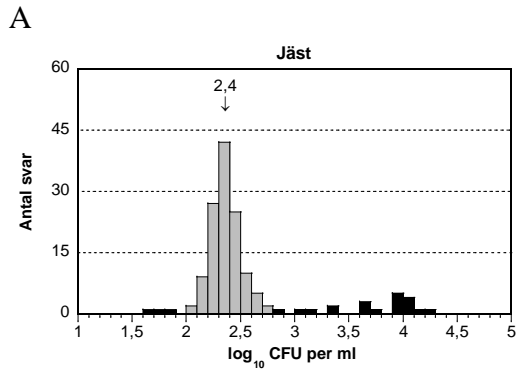
I blandning C fanns ingen målorganism för någon av dessa analyser. Enda avvikande resultat utgjordes av två falskpositiva svar för mögel.

Allmänt om analyserna

De använda metoderna var i princip identiska för analyserna av jäst och mögel och inkluderade främst NMKL 98:2005, ISO 6611:2004/IDF 94:2004 och ISO 21527:2008. Användning av YGC kopplades i blandning A i viss mån till både höga extremvärden för jäst och falsknegativa resultat för mögel. Jämförelser med tidigare provtillfällen där liknande blandningar använts, visar dock inte på någon skillnad i detektionen vid användning av YGC jämfört med andra substrat. Varken i blandning B eller C observerades någon uppenbar substratberoende skillnad i resultaten, varför variationen för YGC troligen är ett slumpmässigt utfall.

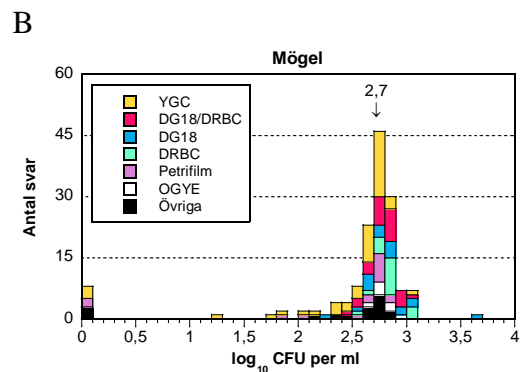
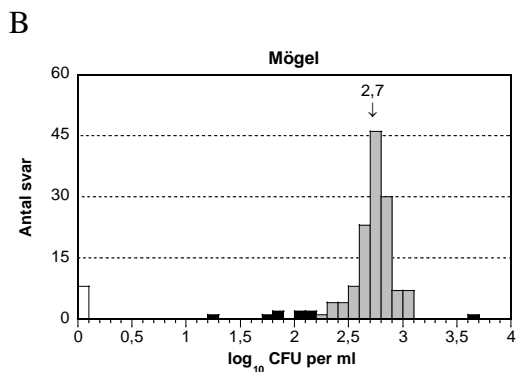
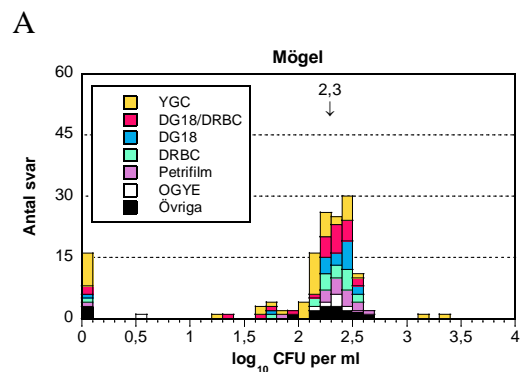
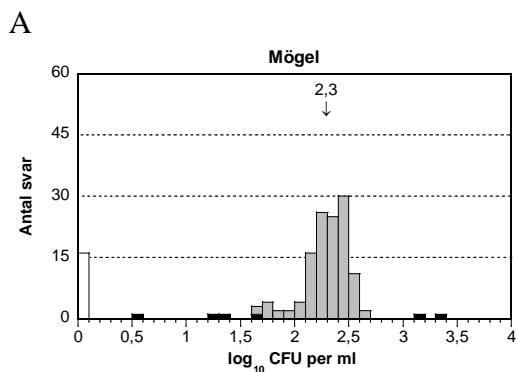
Resultat från analys av jäst.

Substrat	N	Blandning A						Blandning B						Blandning C					
		n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>
Alla svar	145	122	2,36	0,13	0	3	20	137	-	-	8	-	-	143	-	-	0	-	-
YGC	46	32	2,42	0,15	0	2	12	44	-	-	3	-	-	46	-	-	0	-	-
DG18/DRBC	24	21	2,30	0,11	0	0	3	24	-	-	0	-	-	24	-	-	0	-	-
DG18	17	17	2,33	0,09	0	0	0	16	-	-	1	-	-	16	-	-	0	-	-
DRBC	20	16	2,38	0,08	0	1	3	19	-	-	0	-	-	19	-	-	0	-	-
Petriefilm™	14	14	2,31	0,11	0	0	0	12	-	-	2	-	-	14	-	-	0	-	-
OGYE	7	7	2,42	0,06	0	0	0	7	-	-	0	-	-	7	-	-	0	-	-
Övriga	17	15	2,30	0,16	0	0	2	15	-	-	2	-	-	17	-	-	0	-	-



Resultat från analys av mögel.

Substrat	N	Blandning A						Blandning B						Blandning C					
		n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>	n	m	s	F	<	>
Alla svar	146	124	2,29	0,20	16	4	2	130	2,73	0,15	8	8	1	142	-	-	2	-	-
YGC	44	32	2,19	0,21	8	2	2	37	2,66	0,14	3	5	0	44	-	-	0	-	-
DG18/DRBC	26	23	2,29	0,22	2	1	0	26	2,77	0,14	0	0	0	25	-	-	0	-	-
DG18	18	17	2,34	0,18	1	0	0	17	2,75	0,20	0	0	1	17	-	-	1	-	-
DRBC	18	17	2,31	0,19	1	0	0	18	2,82	0,12	0	0	0	16	-	-	1	-	-
Petrifilm™	16	15	2,36	0,19	1	0	0	12	2,74	0,07	2	2	0	16	-	-	0	-	-
OGYE	7	6	2,33	0,11	0	1	0	7	2,79	0,08	0	0	0	7	-	-	0	-	-
Övriga	17	14	2,33	0,18	3	0	0	13	2,69	0,16	3	1	0	17	-	-	0	-	-



Utfallet av enskilda laboratoriers analysresultat – bedömning

Alla laboratoriers samtliga inrapporterade svar redovisas i Bilaga 1, där även lägsta och högsta accepterade värde för varje analys redovisas. I tabellen är också svar med anmärkning markerade.

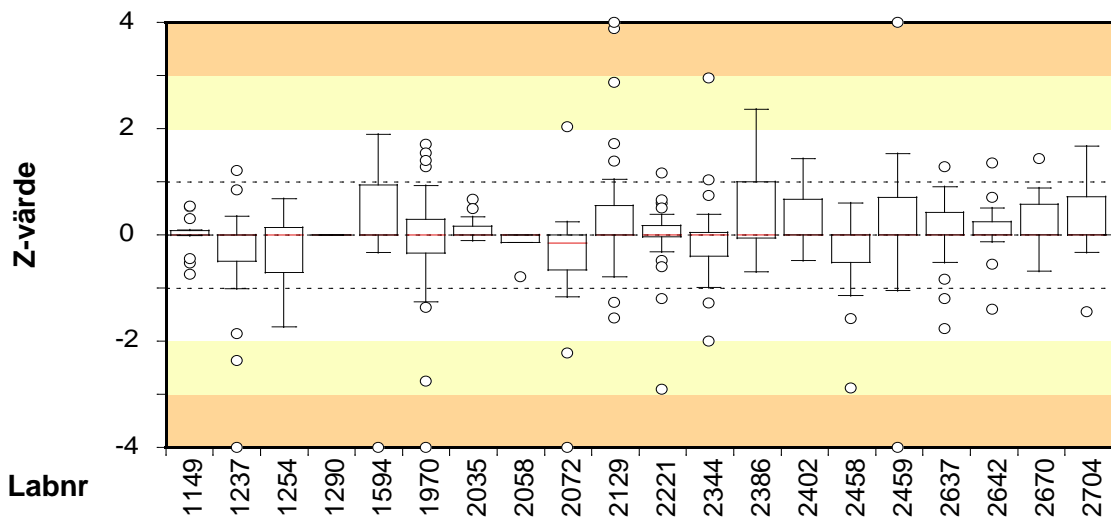
För att göra det möjligt att jämföra resultat från olika analyser och provblandningar med varandra omräknas laboratoriernas resultat från samtliga analyser till standardvärden (z-värden). För kvantitativa analyser blir standardvärdet positivt eller negativt beroende på om resultatet ligger över eller under laboratoriernas gemensamma medelvärde. Z-värden redovisas i bilaga 2 och används med fördel vid laboratoriernas egen uppföljning av resultaten.

En sammanfattande bild över varje enskilt laboratoriums resultat inklusive extremvärde ges av ett boxdiagram, som baseras på z-värdena i bilaga 2. En liten box, centrerad kring noll, indikerar att det individuella laboratoriets resultat, med falska resultat exkluderade, ligger nära medelvärdena av samtliga laboratoriers svar. Laboratorierna är här inte grupperade eller rangordnade utifrån sina resultat. För varje enskilt laboratorium listas dessutom antalet falska svar och extremvärden i tabellerna under boxdiagrammen.

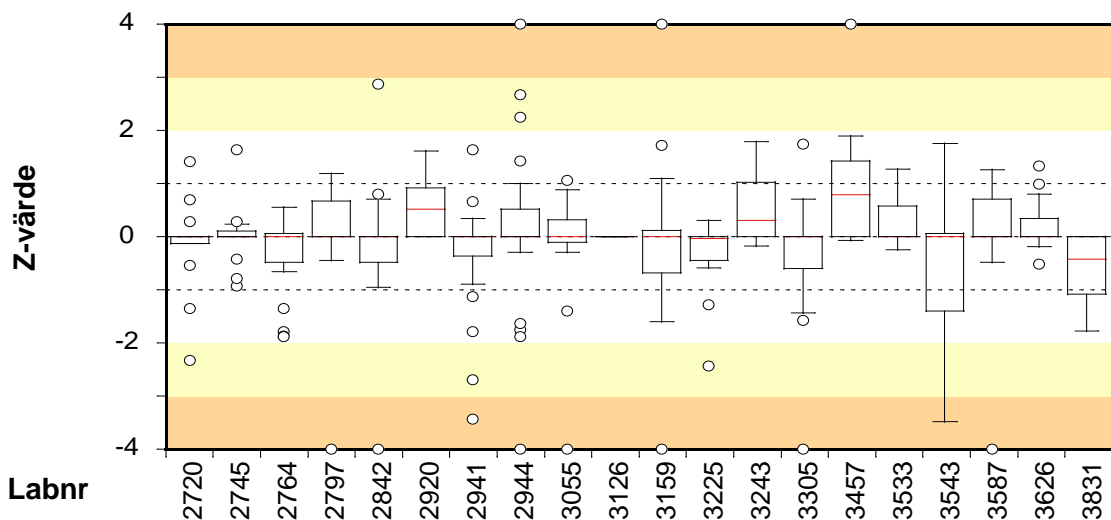
Verksamhetsprotokollet (7) beskriver hur analysresultaten är bearbetade och ger kortfattade rekommendationer om hur resultaten kan följas upp. Extra prov för uppföljning av analyser med avvikande svar kan beställas utan kostnad via webbsidan till www.livsmedelsverket.se/PT-extra

Boxdiagram och antal avvikande värden för varje laboratorium.

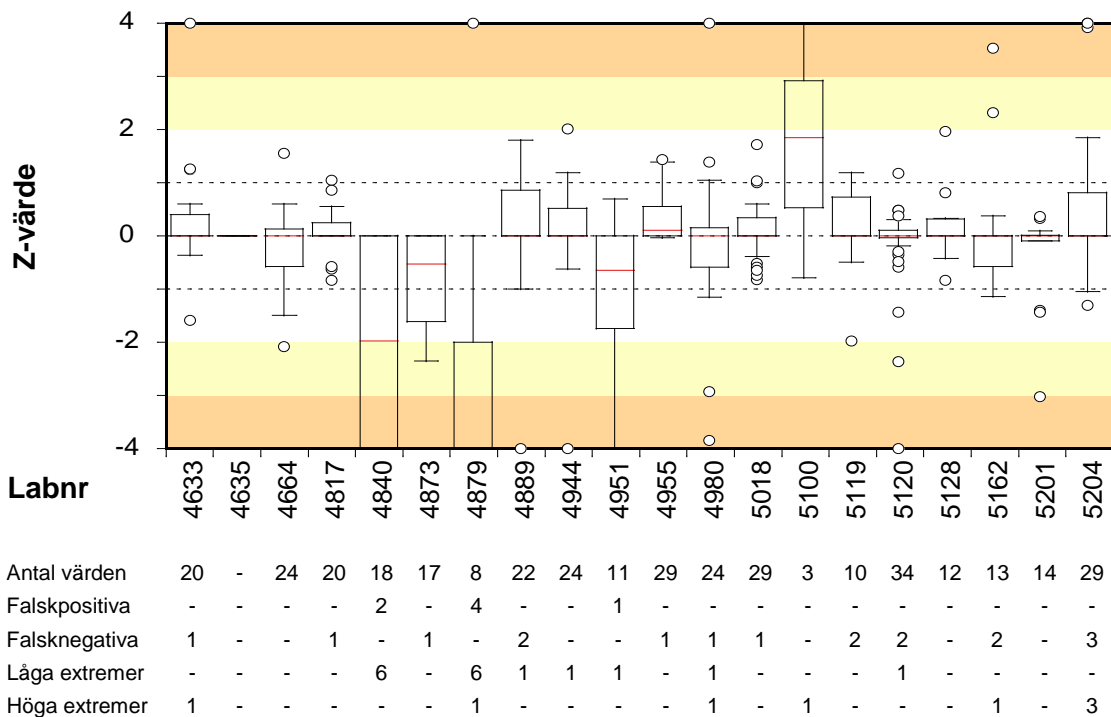
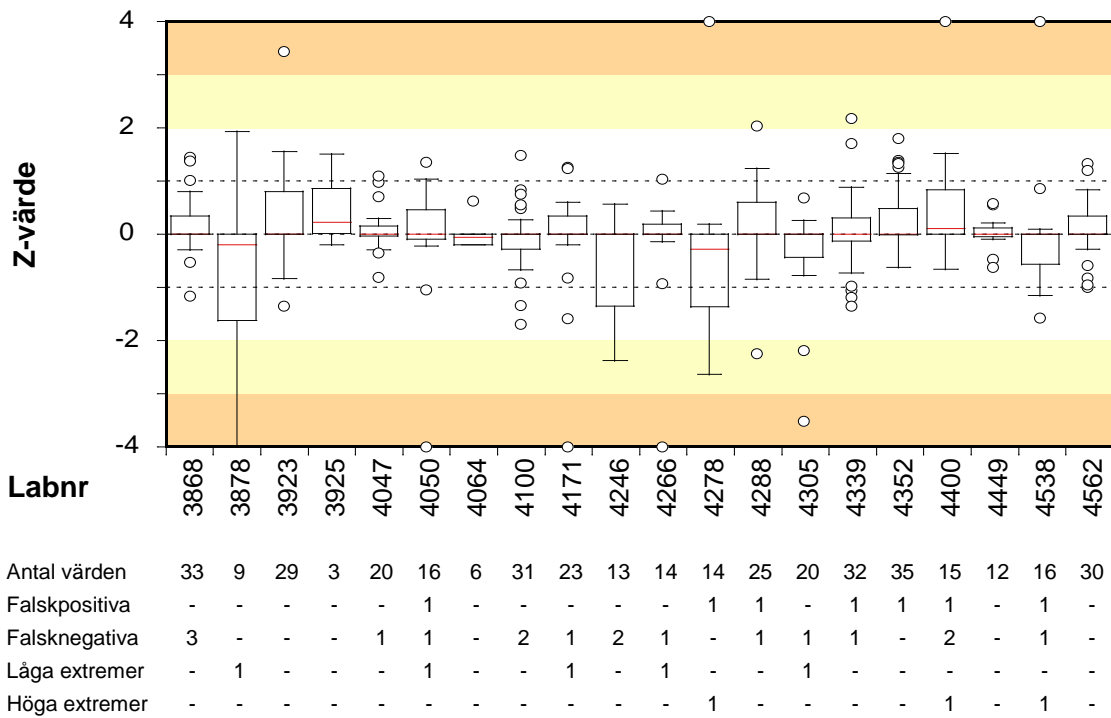
- *Diagrammen är baserade på laboratoriernas svar från samtliga analyser. Svaren är omräknade till standardvärden (z-värden) enligt formeln: $z = (x - m)/s$, där x är enskilt laboratoriums resultat, m är medelvärde beräknat från deltagande laboratoriers svar och s är standardavvikelse beräknad från deltagande laboratoriers svar.*
- *Korrekta negativa resultat för kvantitativa analyser utan målorganism har erhållit z-värdet noll.*
- *Laboratoriets medianvärde markeras med 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 ringarna.*
- *Mycket avvikande värden markeras med en ring och beräknas enligt formeln:
< [boxens minsta värde - 1,5 × (boxens största värde - boxens minsta värde)]
eller
> [boxens största värde + 1,5 × (boxens största värde - boxens minsta värde)].*
- *Standardvärden högre än +4 respektive mindre än -4 har i figuren fått värdena +4 respektive -4.*
- *Bakgrunden är uppdelad med linjer och i olika skuggade fält för att visa inom vilket intervall ett laboratoriums värden hamnade.*

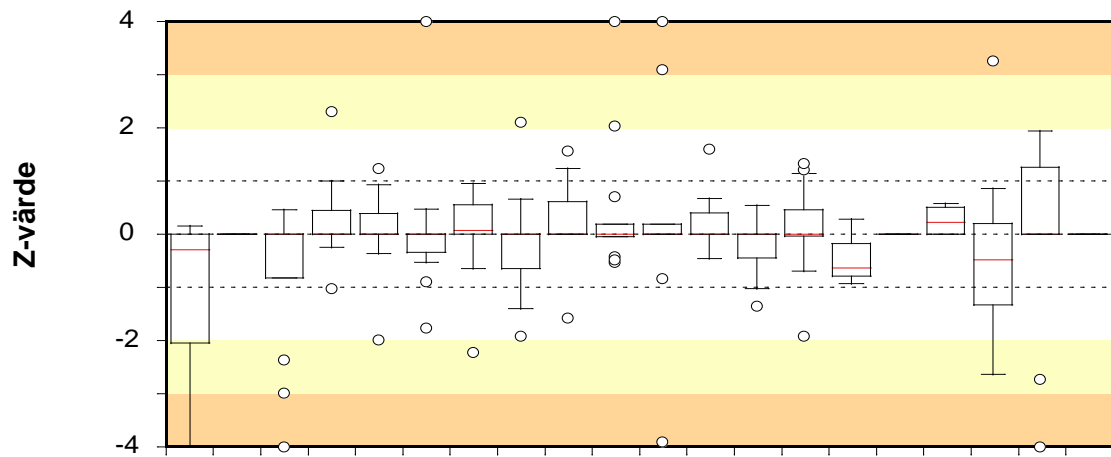


Labnr	1149	1237	1254	1290	1594	1970	2035	2058	2072	2129	2221	2344	2386	2402	2458	2459	2637	2642	2670	2704
Antal värden	17	22	24	-	27	33	14	6	28	29	28	23	18	14	27	17	29	17	9	22
Falskpositiva	-	-	-	-	-	1	-	1	1	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-
Falsknegativa	1	2	3	-	-	4	1	2	3	1	2	-	-	1	-	-	1	3	-	2
Låga extremer	-	1	-	-	1	1	-	-	2	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
Höga extremer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-

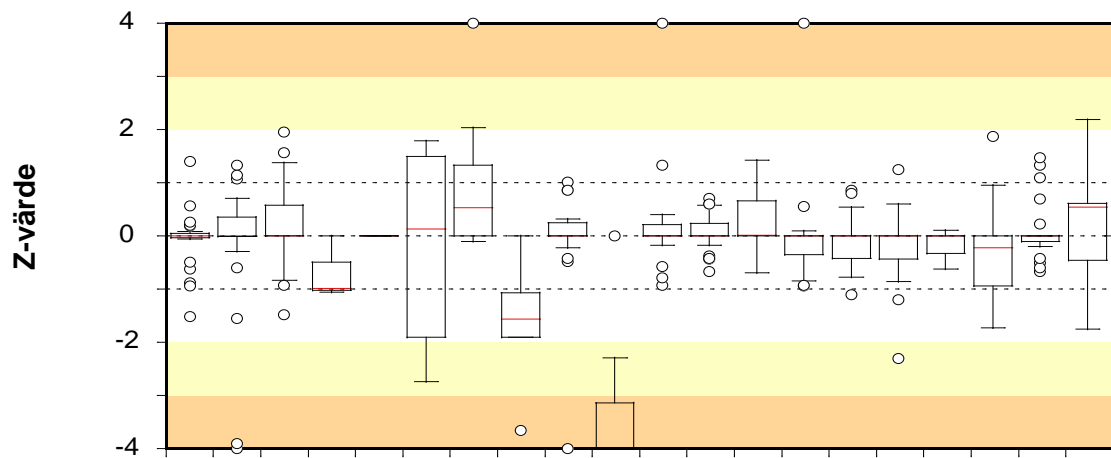


Labnr	2720	2745	2764	2797	2842	2920	2941	2944	3055	3126	3159	3225	3243	3305	3457	3533	3543	3587	3626	3831
Antal värden	15	17	20	30	24	12	26	28	14	-	21	15	6	35	17	9	16	25	17	13
Falskpositiva	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
Falsknegativa	-	1	1	-	2	-	1	2	-	-	3	-	-	1	1	-	1	2	1	1
Låga extremer	-	-	-	1	1	-	1	1	1	-	1	-	-	1	-	-	-	1	-	-
Höga extremer	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-

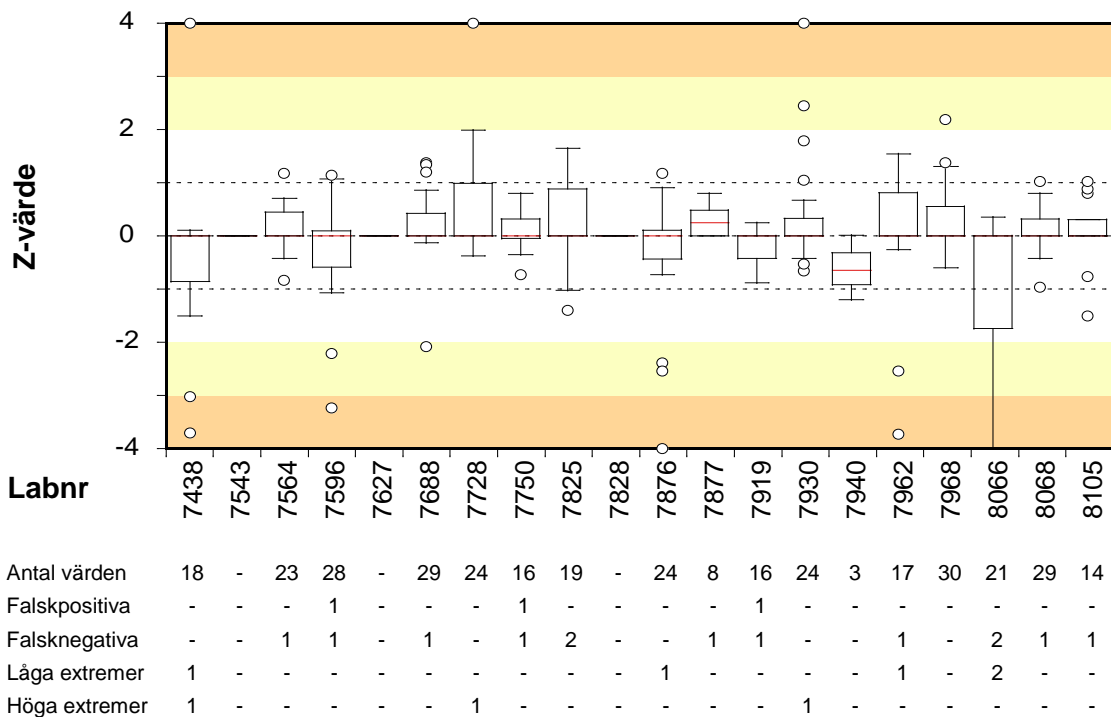
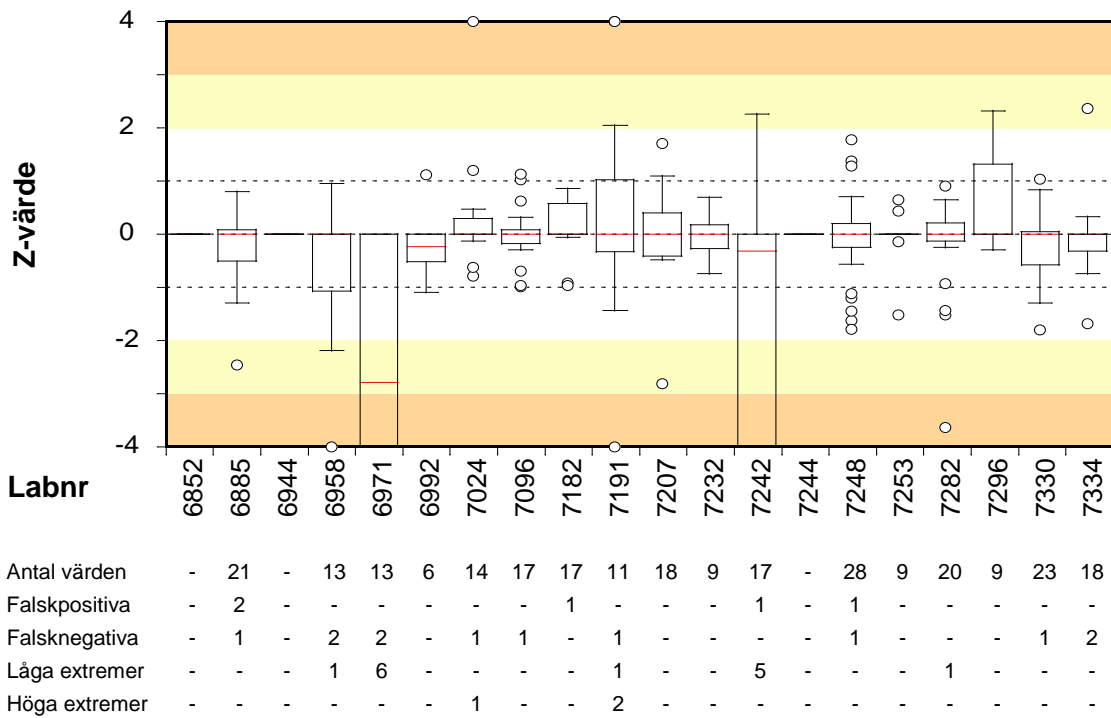


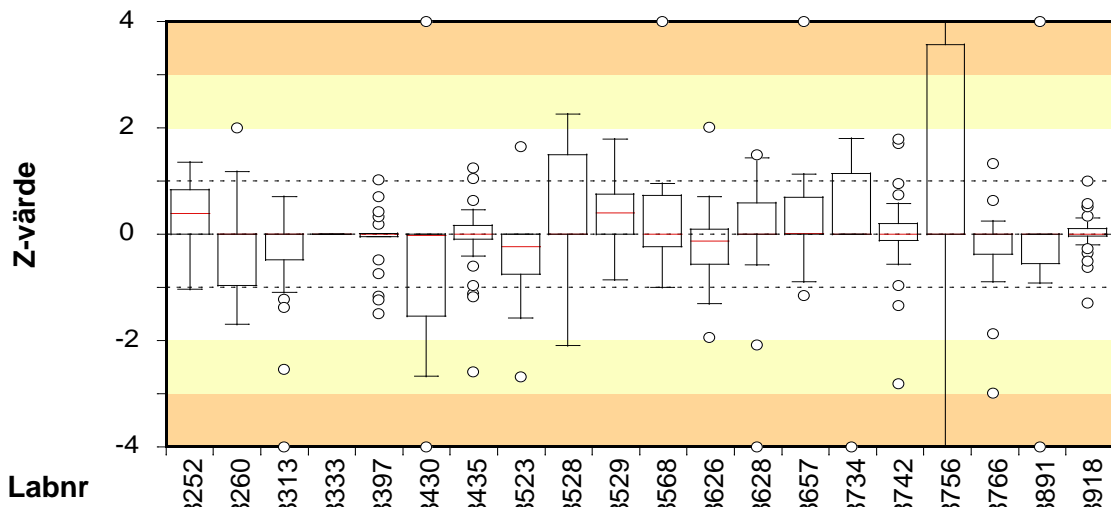


Labnr	5220	5221	5250	5304	5329	5333	5338	5342	5352	5494	5545	5553	5615	5632	5701	5764	5774	5801	5808	5856
Antal värden	17	-	14	17	20	24	12	17	19	14	14	18	26	16	3	-	6	11	12	-
Falskpositiva	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	3	1	-
Falsknegativa	1	-	1	-	1	-	-	1	1	-	1	-	1	1	-	-	-	1	2	-
Låga extremer	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-
Höga extremer	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-

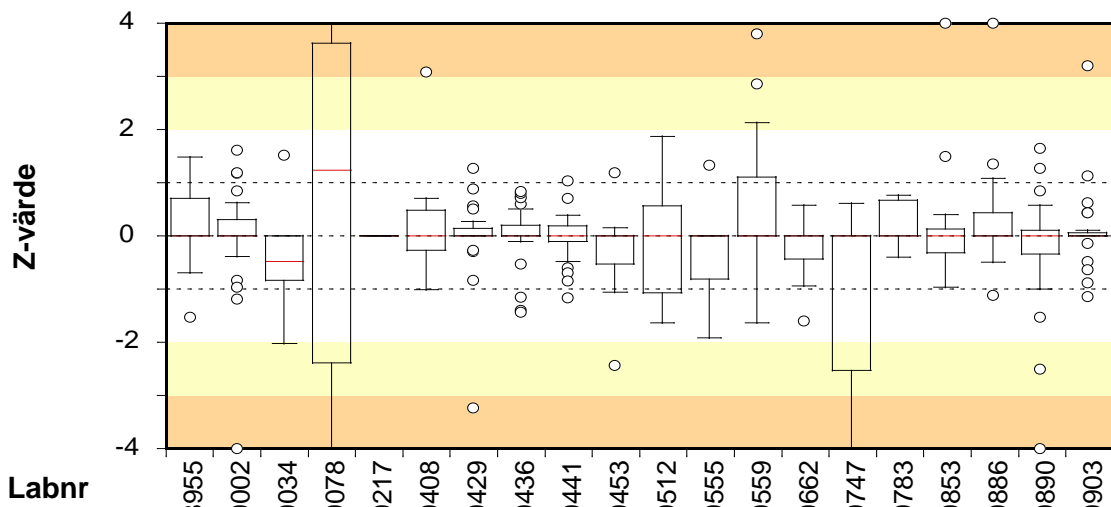


Labnr	5883	5933	5950	5993	6109	6175	6224	6232	6253	6258	6343	6352	6368	6456	6490	6594	6647	6658	6686	6762
Antal värden	24	23	33	3	-	8	9	6	24	11	21	25	26	25	21	17	11	13	23	7
Falskpositiva	-	-	-	-	-	1	-	-	-	2	1	-	-	-	-	1	-	2	1	-
Falsknegativa	-	1	2	-	-	-	-	-	-	1	2	2	1	1	-	-	-	-	-	-
Låga extremer	-	2	-	-	-	-	-	1	1	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Höga extremer	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-

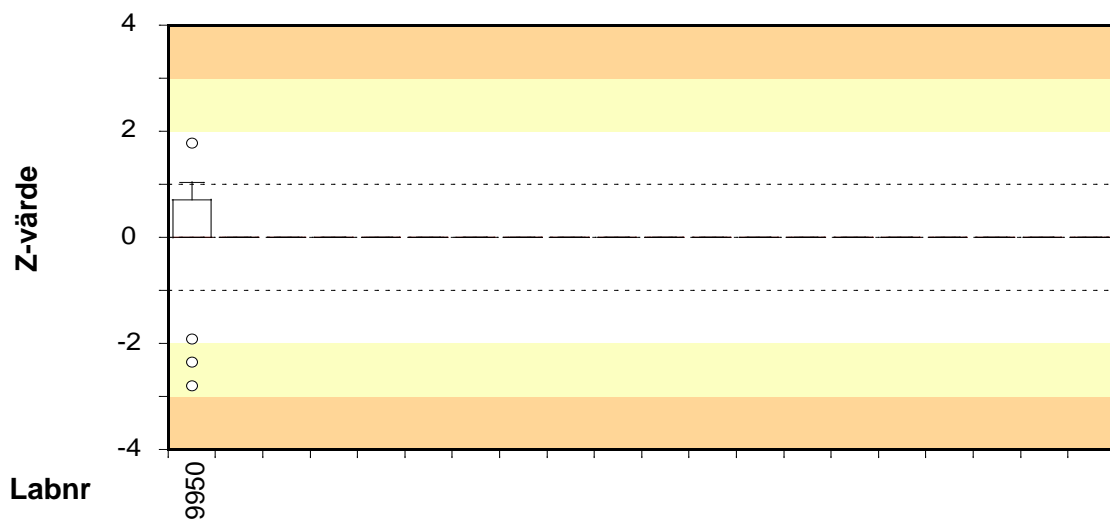




Labnr	8252	8260	8313	8333	8397	8430	8435	8523	8528	8529	8568	8626	8628	8657	8734	8742	8756	8766	8891	8918
Antal värden	15	26	27	-	22	12	33	16	6	29	20	12	33	12	5	26	19	23	11	26
Falskpositiva	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	1	-	-	1	-
Falsknegativa	-	1	-	-	1	-	-	1	-	-	1	-	2	-	1	-	2	1	1	1
Låga extremer	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	2	-	1	-
Höga extremer	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	5	-	1	-



Labnr	8955	9002	9034	9078	9217	9408	9429	9436	9441	9453	9512	9555	9559	9662	9747	9783	9853	9886	9890	9903
Antal värden	29	25	11	4	-	30	26	29	34	17	14	23	25	27	11	9	15	28	23	23
Falskpositiva	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	1	2	-	-	-	1	-	-
Falsknegativa	1	2	3	1	-	2	1	3	3	1	-	1	1	1	1	-	-	3	1	1
Låga extremer	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-
Höga extremer	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	1	-	-



Antal värden	13
Falskpositiva	-
Falsknegativa	2
Låga extremer	-
Höga extremer	-

Testmaterial och kvalitetskontroll

Testmaterial

Testmaterialet bestod av tre frystorkade vialer från mikroorganismblandningar, A-C, som tillverkades och frystorkades portionsvis (0,5 ml) i vialer enligt beskrivning av Peterz och Steneryd (8). Varje laboratorium erhöll en vial av varje blandning. Före provansättning skulle innehållet i en vial lösas upp i 254 ml steril spädningsvätska. Innehållet i provblandningarna framgår av tabell 2.

Tabell 2. Mikroorganismer i respektive provblandning

Blandning ¹	Mikroorganism	Stambeteckning
A	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SLV-429
	<i>Staphylococcus aureus</i>	SLV-280
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	SLV-475
	<i>Clostridium perfringens</i>	SLV-442
	<i>Candida glabrata</i>	SLV-052
	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	SLV-488
B	<i>Hafnia alvei</i>	SLV-015
	<i>Bacillus cereus</i>	SLV-517
	<i>Carnobacterium piscicola</i>	SLV-519
	<i>Clostridium bifermentans</i>	SLV-009
	<i>Penicillium verrucosum</i>	SLV-544
C	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	SLV-013
	<i>Escherichia coli</i>	SLV-295
	<i>Bacillus thuringiensis</i>	SLV-564
	<i>Shewanella putrefaciens</i>	SLV-520

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

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" blandning används och den sista kvalitetskontroll 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 på 2,6 respektive 2,0.

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

Analys och metod	A			B			C		
	m	T	I ₂	m	T	I ₂	m	T	I ₂
Aeroba mikroorganismer, 30°C NMKL-metod nr. 86:2013	4,691	1,32	0,96	4,792	1,25	0,78	4,548	1,97	4,26
Psykrotrofa mikroorganismer NMKL metod nr. 86:2013	2,473	1,33	0,58	4,769	1,30	1,06	-	-	-
Enterobacteriaceae NMKL-metod nr. 144:2005	-	-	-	4,313	1,59	5,62	3,190	1,17	0,50
<i>Escherichia coli</i> NMKL-metod nr. 125:2005	-	-	-	-	-	-	3,143	1,25	0,92
Presumptiv <i>Bacillus cereus</i> NMKL-metod nr. 67:2010	-	-	-	3,575	1,32	0,741	3,295	1,44	0,65
Koagulaspositiva stafylokocker NMKL-metod nr. 66:2009	3,897	1,33	1,63	-	-	-	-	-	-
Mjölksyrabakterier NMKL-metod nr. 140:2007	4,110	1,56	3,23	4,356	1,47	1,17	-	-	-
<i>Clostridium perfringens</i> NMKL-metod nr. 95:2009	2,693	1,40	1,42	-	-	-	-	-	-
Anaeroba sulfitreducerande bakterier NMKL-metod nr. 56:2008	2,754	1,37	1,33	2,304	1,90	2,02	-	-	-
Aeroba mikroorganismer i fiskprodukter NMKL-metod nr. 184:2006	4,779	1,50	2,50	4,732	1,26	0,73	4,377	1,92	26,33
H ₂ S-producerande bakterier i fiskprodukter NMKL-metod nr. 184:2006	-	-	-	4,462	1,29	0,48	1,783	1,63	0,421
Jäst NMKL-metod nr. 98:2005, DRBC	2,422	1,34	0,56	-	-	-	-	-	-
Mögel NMKL-metod nr. 98:2005, DRBC	2,501	1,45	1,15	3,004	1,34	1,23	-	-	-

- Ingen målorganism eller ingen värde

Referenser

1. Kelly K. 1990. Outlier detection in collaborative studies. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 73(1):58–64.
2. Bisson JW, Cabelli VJ. 1979. Membrane filter enumeration method for *Clostridium perfringens*. *Applied and Environmental Microbiology*, 37(1):55-66.
3. Sartory DP, Field M, Curbishley SM, Pritchard AM. 1998. Evaluation of two media for the membrane filtration enumeration of *Clostridium perfringens* from water. *Letters in Applied Microbiology*, 27(6):323–327.
4. Araujo M, Sueiro RA, Gómez MJ, Garrido, MJ. 2004. Enumeration of *Clostridium perfringens* spores in groundwater samples: comparison of six culture media, *Journal of Microbiological Methods*, 57(2):175–180.
5. de Jong AEI, Eijhusen GP, Brouwer-Post EJJ, Grand M, Johansson T, Kärkkäinen T, Marugg J, in't Veld PH, Warmerdam FHM, Wörner G, Zicavo A, Rombouts FM, Beumer RR. 2003. Comparison of media for enumeration of *Clostridium perfringens* from foods, *Journal of Microbiological Methods*, 54(3):359–366.
6. Byrne B, Scannell AGM, Lyng J, Bolton DJ. 2008. An evaluation of *Clostridium perfringens* media, *Food Control* 19(11):1091–1095
7. Anonym. 2012. Verksamhetsprotokoll, Mikrobiologi, Dricksvatten & Livsmedel, Livsmedelsverket.
8. Peterz M, Steneryd, AC. 1993. Freeze-dried mixed cultures as reference samples in quantitative and qualitative microbiological examinations of food. *Journal of Applied Bacteriology*, 74(2):143–148.

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 (KP) 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: www2.slv.se/absint

Livsmedelsverkets referensmaterial

Som ett komplement till kompetensprovning tillverkar Livsmedelsverket även 8 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