

Eläintautibakteriologia

Salmonella. Osoittaminen eläinten elin- ja ulostenäytteistä sekä tuotantoympäristönäytteistä MSR-v-menetelmällä.

Salmonella. Osoittaminen eläinten elin- ja ulostenäytteistä sekä tuotantoympäristönäytteistä MSR-v-menetelmällä.

1 Menetelmäviitteet ja menetelmän liitteet

- ISO 6579-1:2017

(Puskuroitu peptonivesi 34 - 38 °C / 16-20 h, MSRv 41,5 °C / 2 x 24 ± 3 h, XLD-agar ja valinnainen selektiivinen agar [esim. Rambach-agar 37 °C / 24 ± 3 h), L-lysiinidekarboksylaasiliemi, Urea-, TSI- ja/tai API 20E; Brolacin- agar (tai XLD tai Rambach) 37 °C / 24 ± 3 h; vaihtoehtoisena varmistuksena Maldi-tof)

Liite 1: Kansallisen salmonellavalvontaohjelman mukaisten näytteiden käsittely ja koostaminen

Liite 2: Eläinlajispesifisten salmonellojen eristyksen erityispiirteitä

2 Menetelmän tarkoitus ja soveltamisala

ISO-menetelmä on tarkoitettu salmonellojen osoittamiseen eläinten ulosteista ja alkutuotannon ympäristönäytteistä. Sitä sovelletaan myös eläinten elinnäytteiden tutkimiseen.

Epäiltäessä liikkumattomia salmonelloja (kuten *S. Gallinarum*) eläinten taudinaiheuttajaksi tehdään rikastuksen lisäksi viljelyt myös suoraan veriagarille ja selektiivisille agareille. Tunnistaminen tehdään tämän menetelmäohjeen mukaisesti.

3 Määritelmä(t)

Salmonellat ovat *Enterobacteriaceae*-heimoon kuuluvia, gramnegatiivisia, fakultaatiivisesti anaerobisia, sauvabakteereita. *Salmonella*-suku jaetaan nykyisin kahteen lajiin, *S. enterica* ja *S. bongori*, ja laji *S. enterica* kuuteen alalajiin (*enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* ja *indica*). Salmonelloja tunnetaan yli 2600 serotyyppiä. Salmonellat nimetään perinteisesti serotyypin mukaan, esim. *S. Typhimurium*. Täsmällisempi nimi tälle tyyppille on *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium*. Salmonellat aiheuttavat erilaisia suolisto- ja yleisinfektioita sekä ihmisessä että eläimissä.

4 Periaate

Salmonellojen osoittaminen on nelivaiheinen:

Esirikastus. Tunnettu määrä näytettä esirikastetaan ei-selektiivisessä elatusaineessa (BPW) 34 - 38 °C:ssa 16 - 20 tuntia.

Rikastus. Tunnettu määrä esirikastettua näytettä siirretään selektiiviselle rikastusmaljalle (MSRV) ja inkuboidaan 41,5 ± 1 °C:ssa 24 ± 3 tuntia sekä toiset 24 ± 3 tuntia, jos maljalla ei ole tyyppillistä kasvua 24 ± 3 h inkuboinnin jälkeen.

Eläintautibakteriologia

Salmonella. Osoittaminen eläinten elin- ja ulostenäytteistä sekä tuotantoympäristönäytteistä MSRv-menetelmällä.

Maljaviljely. Rikastusmaljoilta siirretään kasvustoa kiinteille, selektiivisille elatusaineille (XLD ja Rambach), joita inkuboidaan 37 ± 1 °C:ssa 24 ± 3 tuntia.

Varmistus. Salmonellaksi epäiltyä kasvustoa siirrostetaan sopivalle elatusaineelle ja varmistetaan

- a) Maldi-tofilla
- b) biokemiallisin menetelmin

5 Mahdolliset virhelähteet

Salmonella voi olla vaikeasti osoitettavissa, mikäli näyte on ollut pitkään lämpimässä ennen tutkimusta (kuljetuslämpötila noussut) ja/tai viipynyt useita päiviä matkalla laboratorioon.

Jos eläintä on ehditty hoitaa antibiooteilla ennen näytteenottoa, salmonellat voivat jäädä toteamatta.

Jos MSRv-maljojen inkubointilämpötila on alhaisempi kuin $41,5 \pm 0,5$ °C, voivat jotkut enterobakteerit (esim. *Citrobacter* spp., *E.coli*, *Enterobacter cloacae*) kasvaa myös leviävänä kasvustona.

Ristikontaminaatio näytteiden välillä tai laboratorion kontrollikannan kanssa on mahdollinen. Virhepositiivinen tulos voi johtaa eläin- ja elintarvikepuolella hyvinkin suuriin taloudellisiin seurauksiin, joten huolelliseen laboratoriotyöskentelyyn ja asianmukaisten välineiden käyttöön on kiinnitettävä erityistä huomiota.

6 Työturvallisuus

Mikrobiologisessa laboratoriossa työskenneltäessä noudatetaan työturvallisuutta koskevaa toimintaohjetta LAB 223.

7 Laitteet ja välineet

- 1) Mikrobiologinen perusvälineistö
- 2) Lämpökaappi $34 - 38$ °C
- 3) Lämpökaappi $41,5 \pm 1$ °C
- 4) Maldi-tof Biotyper, Bruker

8 Elatusaineet ja reagenssit

- 1) Puskuroitu peptonivesi (BPW)
- 2) Modified semisolid Rappaport-Vassiliadis (MSRV)
- 3) Ksyloosi-lysiini-deoksikolaatti-agar (XLD)
- 4) Rambach/muu valinnainen
- 5) Veriagar
- 6) Brolacin-agar
- 7) Triple sugar iron-agar (TSI)
- 8) Urea-agar
- 9) L-lysiinidekarboksylaasiliemi
- 10) API 20E, BioMérieux
- 11) HCCA-annospakattu (syano-4-hydroksikanelihappo), Bruker Daltonik GmbH
- 12) Ultrapuhdas vesi

Eläintautibakteriologia

Salmonella. Osoittaminen eläinten elin- ja ulostenäytteistä sekä tuotantoympäristönäytteistä MSR-v-menetelmällä.

- 13) Deionisoitu, steriili vesi
- 14) Asetonitrili
- 15) Etanoli 99,6 %
- 16) 70 % FA (muurahaishappo)
- 17) Standardi (Bruker Bacterial Test Standard, BTS)

9 Kontrollikannat

Kontrollikantana käytetään Suomessa harvinaista serotyyppiä *Salmonella* Tranaroa (NCTC 10252) mahdollisten ristisaastumisten havaitsemiseksi. Ristisaastumismahdollisuuden vuoksi kontrollikantojen rutiininomaista käyttöä näytteiden rinnalla ei suositella.

10 Näytteen esikäsittely

Näytteet eivät yleensä tarvitse erityistä esikäsittelyä (ks. kohta näytteenotto esirikastusta varten).

11 Suoritus

Näytteiden tutkiminen aloitetaan niiden saapumispäivänä. Jos näytteitä ei pystytä tutkimaan heti, näytteet säilytetään yksiköiden toimintaohjeiden mukaisesti. Yli kolmen vuorokauden ikäisten ulostenäytteiden osalta harkitaan erikseen, onko näyte enää tutkimuskelpoinen. Hylkäämisestä päättää tällöin vastaava tutkija.

11.1 Näytteenotto esirikastusta varten

Puskuroidun peptoniveden on oltava huoneenlämpöisiä ennen kuin siihen siirrostetaan näyte.

Kansallisen salmonellavalvontaohjelman mukaisten uloste-, tossu-, imusolmuke-, liha- ja tuotantoympäristönäytteiden tutkimimista varten näytteet käsitellään ja koostetaan ohjeen Evira 6002 liitteen 1 mukaisesti.

11.1.1 Elin- ja ulostenäytteet

Elin- ja ulostenäytteitä tutkittaessa näytemäärä on n. 1 g ja esirikastusliemen tilavuus 9 ml. Mikäli näytemäärä on jokin muu kuin edellä mainitut, on esirikastusliemen tilavuus valittava siten, että näytemäärän suhde esirikastusliemen tilavuuteen on noin 1:9 (eli näyte laimenee suhteessa 1:10 = yksi osa näytettä + yhdeksän osaa esirikastuslientä).

Ota yhteensä noin 1 g elimiä (yleensä maksa, perna ja suoli) tai noin 1 g ulostetta, mikäli mahdollista, 9 ml:aan puskuroitua peptonivettä. Sekoita näyte esirikastusliemeen ravistelemalla näyteastiaa kevyesti.

11.2 Esirikastus

Inkuboi esirikastusliemiä 34 - 38 °C / 16 - 20 h. Esirikaste voidaan siirtää inkuboinnin jälkeen jääkaappiin (2 - 8 °C) enintään 72 tunniksi, mikäli rikastusta ei voida välittömästi jatkaa (Nilsson ja Peterz, 1992; Davies et al., 2001).

Eläintautibakteriologia

Salmonella. Osoittaminen eläinten elin- ja ulostenäytteistä sekä tuotantoympäristönäytteistä MSRV-menetelmällä.

11.3 Rikastus

MSRV-maljojen on oltava huoneenlämpöisiä ennen siirrostamista. Halkeilleita tai nesteytyneitä maljoja ei saa käyttää. Mikäli esirikaste on ollut jääkaapissa (esim. viikonloppu katkaisee työt), inkuboi sitä $37 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C} / 2 \text{ h}$ ennen rikastusliemeen siirrostamista suuren lämpötilavaihtelun välttämiseksi.

Siirrosta esirikastetta 0,1 ml kolmena tippana tasaisin välein MSRV-maljalle kertakäyttöpipetillä. Otettaessa näytettä esirikasteesta on tärkeää, että näytettä ei sekoiteta. Näyte otetaan kohdasta, jossa vapaata nestettä on mahdollisimman paljon. Jos nesteen pinnalla on partikkeleita, on suositeltavaa ottaa näyte syvemmältä.

Inkuboi MSRV-maljoja lämpökaapissa $41,5 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C} 24 \pm 3 \text{ h}$.

MSRV-maljoja ei saa kääntää vaan ne inkuboidaan kannet ylöspäin.

Liikkuvat salmonellat muodostavat leviävän, vaalean, selvärajaisen vyöhykkeen siirrostustippojen ympärille.

Jos MSRV-maljoilla ei ole tyyppillistä kasvua $24 \pm 3 \text{ h}$ inkuboinnin jälkeen, inkuboi toiset $24 \pm 3 \text{ h}$. MSRV-maljat voidaan siirtää 24 tai 48 h:n inkuboinnin jälkeen jääkappiin ($2 - 8 \text{ }^\circ\text{C}$) enintään 72 tunniksi, mikäli mahdollista viljelyä selektiivisille maljoille ei voida välittömästi suorittaa. Tarvittaessa MSRV-maljoja voidaan inkuboida $72 \pm 3 \text{ h}$ esim. viikonlopun yhteydessä (Kuronen H 2016).

11.4 Viljely selektiivisille maljoille

XLD-maljan ja valinnaisen selektiivimaljan on oltava huoneenlämpöisiä ennen siirrostamista.

Selektiivimaljoille otetaan kasvustoa leviävän vyöhykkeen reunoilta. Siirros otetaan 1 μl :n silmukalla kasvuvyöhykkeen ulkoreunasta siten, että agarია tulee mahdollisimman vähän mukaan siirrokseen. Kummallekin maljalle otetaan näyte omalla steriilillä silmukalla ja viljellään hajotusviljelmäksi siten, että saadaan selvästi erillisiä pesäkkeitä. Käytettäessä 1 μl silmukkaa riittää normaalikokoinen (90 - 100 mm) malja kumpaakin selektiivistä agarია erillisten pesäkkeiden saamiseksi.

24 h:n inkuboinnin jälkeen kielteiset MSRV-maljat laitetaan uudelleen inkuboitumaan $24 \pm 3 \text{ h}$. Ko. maljoilta viljellään selektiivisille maljoille vain, jos ne ovat 48 h:n jälkeen muuttuneet positiivisiksi (= leviävää kasvua).

Inkuboi XLD-maljoja ja Rambach -maljoja maljoja $37 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C} 24 \pm 3 \text{ h}$. Inkuboituja maljoja voidaan säilyttää jääkaapissa 1 - 3 vrk ennen niiden lukemista.

11.5 Maljojen lukeminen

11.5.1 XLD

Tyyppillinen salmonellapesäke on punertava, läpinäkyvä ja sillä on musta keskusta. Lähes aina (erityisesti voimakkaan salmonellakasvun yhteydessä) on nähtävissä pesäkkeitä ympäröivässä elatusaineessa laajempi tai kapeampi

Eläintautibakteriologia

Salmonella. Osoittaminen eläinten elin- ja ulostenäytteistä sekä tuotantoympäristönäytteistä MSRv-menetelmällä.

vaaleanpunainen tai punainen vyöhyke. Rikkivetynegatiiviset salmonellat (esim. *S. Paratyphi A*) kasvavat punertavina/vaaleanpunaisina pesäkkeinä ja niillä on tummempi, vaaleanpunaisesta oranssiin vivahtava keskusta. Laktoosiposiitiviset salmonellat ovat keltaisia ja niillä voi olla musta keskusta (rikkivetypositiiviset). Sekä rikkivetynegatiiviset että laktoosiposiitiviset kannat ovat harvinaisia.

11.5.2 Rambach

Salmonella (lukuun ottamatta Typhi-serotyyppejä) kasvaa Rambach-maljalla kirkkaanpunaisina pesäkkeinä.

97 - 99 % salmonelloista kasvavaa Rambach-agarilla kirkkaanpunaisina pesäkkeinä. *S. Typhi* ja *S. Paratyphi* muodostavat kuitenkin värittömiä pesäkkeitä.

12 Varmistuskokeet

Tyypilliset/epäillyt pesäkkeet varmistetaan vaihtoehtoisesti:

- a) Maldi-tofilla
- b) perinteisin biokemiallinen (TSI- ja urea- agar ja lysiinidekarboksylaatioliemi; sopiva kaupallinen tunnistustestisarja kuten API 20E) ja serologisin menetelmin (polyvalentit antiseerumit).

Lopullinen varmistus ja serotyyppitys tehdään menetelmäohjeen Evira 6004 mukaisesti Eviran Kuopion toimipaikassa.

12.1 Maldi-tof -ajo

Varmista pesäkkeet Maldi-tof -ajolla suoralla siirrostuksella työhöjeen LAB 7085 mukaisesti kahtena tai kolmena rinnakkaisena näytespottina.

Tuloksen luotettavuutta arvioitaessa kiinnitetään huomiota score-arvoihin. Tuloksista tarkastellaan sekä parasta tunnistusta (best match) että toiseksi parasta (second best match). Kanta lähetetään Eviran Kuopion yksikköön serotyyppitettäväksi mikäli jompikumpi tunnistus antaa tulokseksi "*Salmonella sp*" score-arvon ollessa vähintään 1,700 (vihreä tai keltainen värikoodi).

Mikäli ajon tulos on kannan **kaikilla** näytespoteilla "**no peaks found**", tee kannalle pikauutto Maldi-levyn spotilla: bakteerimassa + 1 ul 70 % FA -> kuivaus + 1 ul matriisi. Mikäli tämänkin tulos on "no peaks found" kanta ei ole salmonella.

Maldi-tof -ajo voi antaa tulokseksi "**not reliable identification**". Tähän voi olla kaksi syytä. Muodostettu spektri on lukukelpoinen, mutta vastaavuus kirjastoon ei ole ollut riittävä. Score-arvo jää tuolloin matalaksi välille 0,000 - 1,699 eikä tunnistus enää onnistu. Toinen vaihtoehto on, että spotti on teknisesti huonolaatuinen.

Mikäli spotille saadaan "**not reliable identification**" -tulos **joko** best match- **tai** second best match-sarakkeeseen, katsotaan spottikohtainen 10 parhaimman ranking-listaus. Mikäli listalla on *Salmonella sp.*, tee kannalle pikauutto Maldi-levyn spotilla: bakteerimassa + 1 ul 70 % FA -> kuivaus + 1 ul matriisi. Mikäli tulos on edelleen "**not reliable identification**" ja 10 ranking-listalla ei ole salmonellaa, kanta

Eläintautibakteriologia

Salmonella. Osoittaminen eläinten elin- ja ulostenäytteistä sekä tuotantoympäristönäytteistä MSR V-menetelmällä.

ei ole salmonella. Mikäli listalla on edelleen salmonella, kanta tulkitaan salmonellaepäilyksi ja jatkovarmistetaan serotyypityksellä.

Tarvittaessa varmistusmenettelyä voidaan täydentää ennen serotyypitystä ISO 6579:n mukaisilla varmistuksilla, esimerkiksi Omnivalentilla tai OBIS-testillä.

Siirrosta Maldi-tof ajon salmonellaksi epäilty pesäke hajotusviljelmä selektiiviselle maljalle serotyypitykseen lähetettäväksi.

12.2 Perinteinen biokemiallinen varmistus ja jatkovarmistukset

12.2.1 Urea- ja TSI-agar ja lysiinidekarboksylaasiliemi tai API 20 E

Valitse molemmilta käyttämiltäsi maljoilta yksi tyypillinen tai epäilty pesäke jatko-tutkimuksiin. Mikäli pesäke on selvästi erillään muista pesäkkeistä, siirrosta samasta pesäkkeestä samalla 1 µl:n silmukalla ensin urea-agarille pintaviljelynä ja TSI-agarille pinta- sekä pistoviljelynä, sitten lysiinidekarboksylaasiliemeen ja lopuksi Brolacin-, XLD- tai Rambach- maljalle hajotusviljelynä. Huom. pesäkettä kosketetaan vain kerran, ei jokaisen viljeltävän elatusaineen jälkeen. Peitä lysiinidekarboksylaasiliemi viljelyn jälkeen steriilillä mineraali- tai paraffiiniöljyllä. Inkuboi 37 ± 1 °C / 24 ± 3 h.

Jos valitut pesäkkeet eivät olleet salmonellaa, ota neljä pesäkettä lisää jatkotutkimuksiin.

Mikäli maljalla on havaittavissa tyypillisiä tai epäiltyjä pesäkkeitä, mutta ne eivät kasva erillisinä, viljele pesäkkeistä selektiiviselle agarille jatkoviljelmät siten, että saat erillisiä pesäkkeitä. Tee erillisistä pesäkkeistä varmistuskokeet.

Salmonella ei hydrolysoi **ureaa**, joten elatusaineen väri säilyy keltaisena.

Salmonella käyttää glukoosia, mutta ei laktoosia eikä sakkaroosia, sekä pelkistää sulfaattia sulfidiksi, joka saostuu alustassa mustana rautasulfidina. Siten se muuttaa **TSI**-agarin värin puna-musta-keltaiseksi tai punamustaksi (voimakas rautasulfidin muodostus). Kannat, jotka eivät pelkistä sulfaattia sulfidiksi, eivät muodosta mustaa väriä. Tällaiset kannat ovat harvinaisia ja ne varmistetaan esim. kaupallisesti saatavissa olevilla testisarjoilla.

Salmonella dekarboksyloi lysiiniä, joten sameus ja liemen purppuranpunaisen värin säilyminen **lysiinidekarboksylaasiliemessä** on osoitus positiivisesta reaktiosta. Liemen värin muuttuminen keltaiseksi on osoitus negatiivisesta tuloksesta (lysiiniä ei ole hajotettu).

Tarkista viljelmien puhtaus. Salmonella kasvaa **Brolacin**-agarilla läpikuultavina, harmaitavina pesäkkeinä alustan värin muuttuessa sinivihreästä siniseksi (laktoosinegatiivinen). Laktoosiposiitiviset salmonellat sekä muut laktoosiposiitiviset bakteerit muuttavat alustan värin keltaiseksi. Mikäli viljelmät eivät ole puhtaita, mutta kasvavat tyypillisiä erillispesäkkeitä, valitse kultakin tyypillinen pesäke ja viljele siitä edelleen TSI- ja urea- agarille, L-lysiinidekarboksylaasiliemeen ja Brolacin-agarille.

Urea-, TSI- ja lysiinidekarboksylaasiliemikokeet voidaan korvata **API 20 E -testisarjalla**.

Eläintautibakteriologia

Salmonella. Osoittaminen eläinten elin- ja ulostenäytteistä sekä tuotantoympäristönäytteistä MSRv-menetelmällä.

12.2.2 Jatkovarmistukset

Mikäli viljelit biokemiallisena varmistuksena TSIn, urean ja lysiinidekarboksylaasiliemen, voit tehdä tarvittaessa lisäksi jatkovarmistuksen kaupallisella tunnistustestisarjalla, esim API 20 E.

13 Tulokset

Kukin salmonellanäytteitä tutkiva yksikkö vastaa itse negatiiviseksi toteamansa näytteen tutkimustuloksen:

'Salmonellabakteereita ei todettu'

Epäillessään näytteessä salmonellaa Maldi-tofin tai perinteisen biokemiallisen tunnistuksen ja mahdollisen polyvalentti-serotyyppityksen perusteella Helsingin, Seinäjoen ja Oulun toimipaikat voivat antaa tutkimuksesta alustavan salmonellaepäily-tuloksen.

Muista kuin Eviran laboratorioista suoraan Kuopioon tulleiden näytteiden sekä Eviraan tulleiden tuotantoeläinten (nauta, sika, siipikarja ja hevonen) ulostenäytteiden osalta Kuopio vastaa serotyyppitystuloksen suoraan tutkimuksen tilaajalle.

Kuopio kirjaa ja hyväksyy patologisten näytteiden ja elintarvikkeiden osalta serotyyppitystulokset ELMOon. Patologit vastaavat patologisten näytteiden osalta tuloksen yhteisvastauksena ulkoisesti asiakkaalle ja asianmukaisille tiedoksisaajille.

Kansalliseen salmonellavalvontaohjelmaan kuuluvien eläinten (nauta, sika, siipikarja) rajoittavien määräysten antamista varten patologit tekevät välittömästi välivastauksen serotyyppitystuloksesta, jos muut tutkimukset ovat vielä kesken.

Kuopio vastaa faagityypitystulokset ulkoisena lisävastauksena.

14 Menetelmän validointi

Menetelmän validoinnista on laadittu erilliset validointiraportit Evira 6002/Kuronen, 2007 ja versio 2, 2016 sekä Evira 6002/liha/Johansson, Pekkanen 2012.

Maldi-tof -ajo vaihtoehtoiseksi varmistusmenettelyksi käyttöönottovalidoitiin Helsingin Evirassa vuonna 2014 (Johansson T. sekä Pelkola K.). Tähän validointiaineistoon sisältyvien salmonellaserotyyppien perusteella Maldi-tofin todettiin soveltuvan salmonellakantojen biokemialliseen varmistamiseen.

15 Menetelmän status

Standardimenetelmä	<input checked="" type="checkbox"/>
Kansainvälisen menetelmäkokoelman menetelmä	<input checked="" type="checkbox"/>
Virallinen menetelmä (mikäli ei varmistusta Maldi-tofilla)	<input checked="" type="checkbox"/>
Referenssimenetelmä (mikäli ei varmistusta Maldi-tofilla)	<input checked="" type="checkbox"/>
Sisäinen menetelmä	<input type="checkbox"/>

Eläintautibakteriologia

Salmonella. Osoittaminen eläinten elin- ja ulostenäytteistä sekä tuotantoympäristönäytteistä MSRv-menetelmällä.

16 Laadunvarmistusmenetelmät

Laboratorioiden väliset vertailututkimukset	<input checked="" type="checkbox"/>
Menetelmävertailut	<input type="checkbox"/>
Vertailukantojen / kontrollikantojen käyttö tarvittaessa	<input checked="" type="checkbox"/>
Siirrostetut näytteet (perehdytyksessä)	<input checked="" type="checkbox"/>
Rinnakkaisanalyysit	<input type="checkbox"/>

17 Viitteet

ISO 6579-1:2017 (E). Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* spp. – Part 1: Detection of *Salmonella* spp.

Davies, R.H., Bedford S., Shankster S. (2001), Enhanced culture techniques for the detection of *Salmonella*, The Veterinary Record, April 28, 2001, p. 539-540.

Johansson, T. ja Pekkanen, K. (2012) MSRv-menetelmän (Evira 6002) toimivuus tutkittaessa salmonellaa lihanäytteistä, Validointiraportti

Johansson, T. Salmonellan tunnistaminen Bruker MALDI-TOF Biotyper -laitteella; elintarvikkeet. Validointiraportti, 08.05.2014

Kuronen H. Validointiraportti 6002, 16.2.2007 ja versio 2, 16.9.2016

Nilsson, A.-C. and Peterz, M. (1992) Collaborative study on recovery of *Salmonella* from refrigerated pre-enrichment and Rappaport-Vassiliadis broth cultures. Proceedings. Posters. Salmonella and salmonellosis. September 15-17, 1992. Ploufragan/Saint-Brieuc, France.

Pelkola, K. Salmonellan tunnistaminen Bruker MALDI-TOF Biotyper -laitteella, eläinten elin- ja ulostenäytteet sekä tuotantoympäristönäytteet. Validointiraportti 10.9.2014.

WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. Patrick A.D. Grimont, Francois-Xavier Weill, Institut Pasteur, Paris, France: Antigenic Formulas of the *Salmonella* serovars, 2007, 9th edition.

18 Muutokset edelliseen versioon

Menetelmäohjetta päivitettiin uuden standardiversion perusteella ja siitä poistettiin elintarvikkeiden tutkimista koskeva osuus.

19 Vastuuhenkilöt

Helsinki: Teresa Skrzypczak
Kuopio: Henry Kuronen
Oulu: Varpu Hirvelä-Koski
Seinäjoki: Mirja Raunio-Saarnisto