

Mikrobiologia

Escherichia coli O157 -bakteerin osoittaminen ja tunnistaminen.

Escherichia coli O157 -bakteerin osoittaminen ja tunnistaminen.

1 Menetelmäviitteet ja poikkeamat

ISO 16654:2001 tai vaihtoehtoisesti

NMKL 164:2005

(Modifioitu tryptonisojaliemi + novobiosiini (mTSB) $41,5 \pm 1$ °C /6 h ja/tai 18-24 h Sorbitoli-MacConkey -agar + kefiksiimi-telluriittilisä (CT-SMAC) ja sorbitoli-MacConkey-agar + BCIG ja kefiksiimi-telluriittilisä (HarlequinTM-CT) tai sorbitoli-MacConkey -agar (SMAC) 37 ± 1 °C /18-24 h PRS-MUG 37 ± 1 °C /18-24 h tai PGUA-kiekot $35-37$ °C 4 h (tai yön yli), EMB 37 ± 1 °C /18-24 h, indoli- ja oksidaasikoe, API 20 E, agglutinaatiotesti O157- antigeenin osoittamiseksi)

- 1) Pesäkkeiden varmistamisessa käytetyt testit: β -glukuronidaasientsyymien tuotto (PRS-MUG -malja tai PGUA-kiekot), laktoosin fermentaatio (EMB-malja), oksidaasitesti, API 20 E
- 2) Pikaindolireagessin käyttö indolitestissä
- 3) Menetelmää voidaan käyttää myös ulosteille, jolloin rikastusaika on 6 h.
- 4) Menetelmää voidaan käyttää myös ympäristönäytteille, jolloin rikastusaika on 6 h ja 18-24 h.

2 Menetelmän tarkoitus ja soveltamisala

Menetelmää voidaan käyttää sorbitoli- ja β -glukuronidaasinegatiivisen *E. coli* O157-bakteerin osoittamiseen elintarvikkeista, rehuista, ulosteista tai ympäristönäytteistä.

3 Määritelmä(t)

Verosytotoksiinia (VT) eli shigatoksiinia (Stx) tuottava *E. coli* O157 - kuuluu ihmisille veristä paksunsuolentulehdusta aiheuttavien *E. coli* -bakteerien ryhmään (EHEC). Sitä on eristetty useista elintarvikkeista, kuten naudan jauhelihasta, pastöimattomasta maidosta ja juustosta sekä vihanneksista. Tyypillinen patogeeninen *E. coli* O157- poikkeaa useimmista *E. coli* -bakteereista seuraavilta ominaisuuksiltaan: käyttää sorbitolia yleensä vain hitaasti (sorbitolinegatiivinen 24 tunnin kuluttua siirrosta), ei tuota β -glukuronidaasientsyymiä. Bakteerin maksimikasvulämpötila on $42,5$ °C.

Mikrobiologia

Escherichia coli O157 -bakteerin osoittaminen ja tunnistaminen.

4 Periaate

E. coli O157 -bakteerin osoitusmenetelmä on nelivaiheinen:

Rikastus: Elintarvike-, rehu- ja ympäristönäytteet rikastetaan koliformeille selektiivisessä rikastusliemessä 6 h ja 18-24 h ajan $41,5 \pm 1$ °C ja ulostenäytteet 6 h ajan $41,5 \pm 1$ °C.

Immunomagneettinen erottaminen (IMS): Immunomagneettisessa erottamisessa *E. coli* O157 -vasta-aineilla päällystetyt magneettikuulat sitoutuvat *E. coli* O157 -bakteerien pinnalla oleviin antigeeneihin, jolloin bakteeri-kuulakompleksit voidaan erotella näytteestä magneetin avulla.

Maljaviljely: 50 µl bakteeri-kuulakompleksia siirrostetaan kiinteille selektiivisille elatusaineille (CT-SMAC ja HarlequinTM-CT tai SMAC), joita inkuboidaan 37 ± 1 °C 18-24 h.

Varmistus: *E. coli* O157 -bakteeriksi epäillyt pesäkkeet varmistetaan biokemiallisin ja serologisin menetelmin.

5 Mahdolliset virhelähteet

Näytteessä olevat stressaantuneet bakteerisolut eivät välttämättä tule esille.

Runsas kilpailijafloora saattaa kasvaa voimakkaammin kuin *E. coli* O157 -bakteeri.

Mikäli maljalla kasvaa runsaasti muita sorbitolinegatiivisia bakteereita, voi *E. coli* O157-bakteeria olla vaikea löytää.

Menetelmällä ei löydetä kefiiksiimi- ja/tai telluriittiherkkiä kantoja.

6 Työturvallisuus

Mikrobiologisessa laboratoriossa työskenneltäessä noudatetaan toimintaohjetta LAB 223 ja turvalaboratoriossa työskenneltäessä toimintaohjeita LAB 017 ja LAB 741/1.

E. coli O157 on ihmiselle tautia aiheuttava bakteeri. Laboratoriotyöskentelyssä tulee noudattaa huolellisuutta ja varovaisuutta. Bakteeria käsiteltäessä tulee käyttää työtakkia ja tarvittaessa suusuojaa (roiskevaaralliset vaiheet). Työvaiheet, joissa on roiskevaara, suositellaan tehtäväksi laminaarivirtauskaapissa. Työskentelyssä syntyvät jätteet autoklavoidaan tai hävitetään ongelmajätteenä (LAB 741/1).

7 Laitteet ja välineet

- 1) Mikrobiologinen perusvälineistö
 - 2) Lämpökaappi $41,5 \pm 1$ °C
 - 3) Magneetti ja magneettiteline , Dynal Biotech[®]
 - 4) Näytesekoittaja
 - 5) Lämpökaappi 37 ± 1 °C
 - 6) UV-laite (366 nm)
-

Mikrobiologia

Escherichia coli O157 -bakteerin osoittaminen ja tunnistaminen.**8 Elatusaineet ja reagenssit**

- 1) Modifioitu tryptonisoijaliemi + novobiosiini 20 mg/l (mTSB)
- 2) Sorbitoli-MacConkey -agar + kefiksiimi-telluriittilisä (SMAC-CT)
- 3) Sorbitoli-MacConkey -agar (SMAC) tai sorbitoli-MacConkey -agar + BCIG (5-bromi-4-kloori-3-indoksyyli- β -D-glukuronidi) ja kefiksiimi-telluriittilisä eli HarlequinTM-CT (HAL)
- 4) Fenolipuna-sorbitoliagar + 4-metyyliumbelliferyyli- β -D-glukuronidi (PRS-MUG)
- 5) Eosiini-metyleenisiniagar (EMB)
- 6) Naudanveriagar (VERIAG)
- 7) Tryptoni(=Tryptikaasi)-soija -agar (TSA)

- 8) Magneettikuulat (Dynabeads[®] anti-*E. coli* O157, Dynal tai CaptiveTM O157, Lab M)
- 9) PBS-Tween eli fosfaattipuskuroitu, Tween-20 sisältävä suolaliuos (PBST20)
- 10) Betaglukuronidaasikiekot (PGUA) Diatabs, Rosco (vaihtoehtoinen)
- 11) Oksidaasireagenssi TestOxidaseTM, Pro-Lab
- 12) Pikaindolireagenssi tai Kovacsin indolireagenssi
- 13) API 20 E
- 14) *E. coli* O157 Latex Test DR0620M, Oxoid
- 15) Fysiologinen suolaliuos (0,9% NaCl)
- 16) *E. coli* O157-antiseerumi, Denka Seiken Co., Ltd

9 Kontrollikannat

- 1) *Escherichia coli* O157:H7 EELA 381
- 2) *Escherichia coli* EELA 42

10 Näytteen esikäsittely

Elintarvike- ja rehunäytteet esikäsitellään tarvittaessa toimintaohjeen LAB 728 (MIBI 028) mukaisesti.

11 Suoritus**11.1 Rikastus**

Elintarvike- ja rehunäytteet: Punnitse 25 g tai mittaa 25 ml näytettä Stomacher-pussiin. Lisää pussiin 225 ml 37 ± 1 °C esilämmitettyä mTSB-lientä. Sekoita huolellisesti käsin puristelemalla tai homogoi Stomacherissa. Inkuboi $41,5 \pm 1$ °C 6 h ja 18-24 h.

Ulostenäyte: Punnitse 10 g ulostetta Stomacher-pussiin. Lisää pussiin 90 ml 37 ± 1 °C esilämmitettyä mTSB-lientä. Sekoita huolellisesti käsin puristelemalla tai homogoi Stomacherissa. Inkuboi $41,5 \pm 1$ °C 6 h.

Ympäristönäytteet (pintasivelynäytteet): Ei punnita. Lisää näytepussiin 225 ml 37 ± 1 °C esilämmitettyä mTSB-lientä. Sekoita huolellisesti käsin puristelemalla. Inkuboi $41,5 \pm 1$ °C 6 h ja 18-24 h.

11.2 Immunomagneettinen erottaminen (IMS)

Kaikille näytteille suoritetaan immunomagneettinen erottaminen 6 h inkubaation jälkeen. Elintarvike-, rehu- ja ympäristönäytteille suoritetaan IMS toisen kerran 18-24 h inkubaation jälkeen.

Mikäli IMS:ssa käytetään positiivista kontrollinäytettä, tulee se kontaminaatiovaaran vuoksi ehdottomasti pitää erillään varsinaisista näytteistä. Putkia avattaessa tulee olla huolellinen ja varovainen, sillä näytteet ristikontaminoituvat helposti.

1. Poista magneetti telineestä. Aseta telineeseen jokaista tutkittavaa näytettä sekä yhtä negatiivista kontrollia varten 1,5 ml Eppendorf-putki ja numeroi putket.
2. Sekoita Dynabeads® anti-*E. coli* O157 -liuosta tai Captive™ O157 -liuosta varovasti koeputkisekoittajalla ja pipetoi jokaiseen putkeen 20 µl liuosta.
3. Lisää filterikärjellisellä pipetillä 1 ml rikastettua näytettä näyteputkiin. Käytä jokaiseen näytteeseen uutta pipetinkärkeä. Lisää negatiivisen kontrollin putkeen 1 ml steriiliä rikastuslientä. Sulje putket.
4. Inkuboi putkia huoneenlämmössä 10 min koko ajan sekoittaen. Käytä näytesekoittajaa tai kääntele telinettä käsin ylösalaisin. Tee inkuboinnin jälkeen nopea, lyhyt ravistelu.
5. Aseta magneetti telineeseen 3 minuutin ajaksi. Kääntele telinettä välillä, jotta magneettikuulat konsentroituvat täpläksi putkien takaseinämiä vasten.
6. Ime supernatantti ja korkissa oleva ylimääräinen neste varovasti pois Pastette -pipetillä. Liu'uta pipetti putken pohjalle putken etuseinämää pitkin. Käytä jokaiseen näytteeseen uutta pipettiä. Varo putkien kontaminoitumista. Putkien kansien avaamisessa voidaan käyttää apuna desinfektioaineella kostutettua imupaperia.
7. Poista magneetti telineestä. Lisää putkiin 1 ml pesuliuosta (PBS-Tween), sulje putket ja sekoita sisältö kääntelemällä telinettä.
8. Aseta magneetti telineeseen 3 minuutin ajaksi. Kääntele telinettä välillä, jotta magneettikuulat konsentroituvat putken takaseinämään. Ime varovasti supernatantti ja korkissa oleva ylimääräinen neste. Poista magneetti telineestä. Lisää 1 ml pesuliuosta (PBS-Tween), sulje putket ja sekoita sisältö kääntelemällä telinettä.
9. Aseta magneetti telineeseen 3 minuutin ajaksi. Kääntele telinettä välillä. Ime varovasti supernatantti ja korkissa oleva ylimääräinen neste. Poista magneetti telineestä.
10. Lisää 100 µl pesuliuosta (PBS-Tween) bakteeri-kuulakompleksiin ja sekoita koeputkisekoittajalla. Siirrosta kiinteille elatusaineille.

Erityisesti rasvapitoisissa näytteissä kuulatäplä voi liukua putken takaseinämästä kohti putken pohjaa, mikä vaikeuttaa supernatantin poistamista niin, ettei magneettikuulia mene mukana. Tällaisessa tapauksessa voidaan jokaisessa pesuvaiheessa jättää putkien pohjalle 50-100 µl nestettä, jolloin rasvan vaikutus saadaan laimenemaan ja kuulat kerättyä talteen.

Mikrobiologia

Escherichia coli O157 -bakteerin osoittaminen ja tunnistaminen.

11.3 Viljely kiinteille, selektiivisille elatusaineille

Siirrosta 50 µl sekoitettua bakteeri-kuulakompleksia CT-SMAC- ja HarlequinTM-CT -maljoille (erikseen sovittaessa SMAC) ja levitä pumpulitikulla hajotusviljelmäksi. Positiivinen kontrollikanta (EELA 381) voidaan viljellä myös em. maljoille helpottamaan tyyppilisten pesäkkeiden tunnistamista. Inkuboi 37 ± 1 °C 18-24 h.

11.4 Maljojen lukeminen

Sorbitoli- ja β-glukuronidaasinegatiivinen *E. coli* O157 kasvaa SMAC-, CT-SMAC- ja HarlequinTM-CT -agareilla vaaleina, läpikuultavina pesäkkeinä, joissa voi olla rusehtava keskus. Sorbitolipositiiviset *E. coli* -kannat kasvavat maljoilla vaaleanpunaisina/punaisina pesäkkeinä.

12 Varmistuskokeet

12.1 Biokemialliset varmistuskokeet

12.1.1 EMB- ja PRS-MUG -maljat

Poimi molemmilta selektiivimaljoilta mahdollisuuksien mukaan 1- 5 tyyppillistä pesäkettä ja tee pesäkkeistä hajotusviljely EMB- ja PRS-MUG -maljoille siten, että yksi pesäke viljellään aina samalla viljelysilmukalla molempien maljojen sektoreille. Mikäli selektiivimaljalla on tyyppillisiä pesäkkeitä vähemmän kuin 5, jatkosiirrostetaan kaikki tyyppilliset pesäkkeet. Inkuboi 37 ± 1 °C 18-24 h.

Tyyppillinen *E. coli* O157- fermentoi laktoosia eli se kasvaa EMB -agarilla tumman- violetteina/mustina pesäkkeinä, joissa on yleensä vihertävä metallinkiilto.

Tarkastele PRS-MUG -maljoja UV-valossa (366 nm). Betaglukuronidaasinegatiivinen *E. coli* O157 muodostaa maljalla fluoresoimattomia pesäkkeitä.

Sorbitolia fermentoivat bakteerikannat muuttavat PRS-MUG -alustan värin kellertäväksi. Sorbitolinegatiiviset kannat eivät muuta alustan väriä. Tyyppillinen *E. coli* O157 on sorbitolinegatiivinen.

12.1.2 Betaglukuronidaasin tuoton testaus kiekkoilla

Bakteerikantojen β-glukuronidaasientsyymien tuottoa voidaan vaihtoehtoisesti tutkia myös PGUA-kiekoilla. Viljele molemmilta selektiivimaljoilta mikäli mahdollista vähintään 5 pesäkettä TSA-maljoille. Viljele TSA-maljalle myös kontrollikannat EELA 381 (β-glukuronidaasinegatiivinen) ja EELA 42 (β-glukuronidaasipositiivinen). Inkuboi 37 ± 1 °C 18-20 h.

Siirrosta tutkittavaa bakteerimassaa tiheäksi suspensioksi koeputkeen, jossa on 0,25 ml fysiologista suolaliuosta (vähintään McFarland 2). Lisää putkeen yksi PGUA-kiekko ja sulje putki. Inkuboi 35–37 °C 4 h (tai yön yli).

Kannan tuottaessa β-glukuronidaasia, muuttuu suspension väri keltaiseksi. Mikäli värinmuutosta ei tapahdu, on reaktio negatiivinen. Tyyppillinen *E. coli* O157 ei tuota β-glukuronidaasia.

Mikrobiologia

Escherichia coli O157 -bakteerin osoittaminen ja tunnistaminen.

12.1.3 Indolikoe

Viljele PRS-MUG- tai TSA-agarilta tyypillisistä viljelmistä erillispesäke (mikäli mahdollista) veriagarille. Inkuboi 37 ± 1 °C 18-24 h. Tee viljelmille indoli- ja oksidaasikoe ja tarvittaessa API 20 E veriagarilta. Tee indolikoe työohjeen LAB 2342 mukaisesti.

Tyypillinen *E. coli* O157 on indoliposiitivinen.

Joitain indolinegatiivisia kantoja on kuvattu.

12.1.4 Oksidaasikoe

Tee oksidaasikoe työohjeen LAB 2055 mukaisesti.

E. coli O157 on oksidaasinegatiivinen.

12.1.5 API 20 E

Tee tarvittaessa API 20 E valmistajan ohjeiden mukaisesti.

Tuloksia tulkittaessa tulee huomioida, että tyypillinen *E. coli* O157 on sorbitolinegatiivinen, mutta myös sorbitoliposiivisia *E. coli* O157 –kantoja on kuvattu.

12.2 Serologiset varmistuskokeet

12.2.1 *E. coli* O157 -antigeenin osoittaminen agglutinaatiokokeella

E. coli O157 -antiseerumeita ja lateksireagensseja käytettäessä tulee noudattaa valmistajan ohjeita ja näytteiden rinnalla tulee aina testata sekä positiivinen että negatiivinen kontrollikanta/kontrolliliuos. Agglutinaatiokoetta varten tutkittavat kannat viljellään veriagarille ja inkuboidaan 37 ± 1 °C 18-24 h.

12.2.1.1 *E. coli* O157 Latex Test (Oxoid)

E. coli O157 Latex Test -kitti (Oxoid) sisältää seuraavat reagenssit:

Testilateksi

Lateksipartikkeleita, jotka on herkistetty somaattiseen O157-antigeeniin reagoivilla spesifisillä kanin vasta-aineilla.

Kontrollilateksi

Lateksipartikkeleita, jotka on herkistetty immunisoimattoman kanin globuliineilla.

Positiivinen kontrolliliuos

Inaktivoituja *E. coli* O157 -soluja puskurissa.

Negatiivinen kontrolliliuos

E. coli O116 -soluja puskurissa.

Escherichia coli O157 -bakteerin osoittaminen ja tunnistaminen.

12.2.1.1.1 Periaate

Testilateksireagenssin agglutinaatio 1 min kuluessa on osoitus *E. coli* O157 -antigeenin olemassa olosta. Tulos on negatiivinen, mikäli agglutinaatiota ei ole havaittavissa 1 min kuluessa. Tutkittava kanta on autoagglutinoiva, mikäli agglutinaatiota on havaittavissa sekä testi- että kontrollilateksireagenssilla.

12.2.1.1.2 Suoritus

Anna lateksireagenssien lämmitä huoneenlämpöisiksi ja sekoita ne hyvin ravistamalla ennen käyttöä. Testaa reagenssien toimivuus jokaisen käyttökerran yhteydessä positiivisen ja negatiivisen kontrolliliuoksen avulla. Testilateksireagenssin kanssa reagoidessaan positiivisen kontrolliliuoksen tulee aiheuttaa näkyvä agglutinaatio 1 min kuluessa. Negatiivisen kontrolliliuoksen ei tule tässä ajassa aiheuttaa agglutinaatiota.

Pudota tippa testilateksireagenssia reaktiokortilla olevaan ympyrään lähelle ympyrän reunaa. Pudota API-pipetillä tippa fysiologista suolaliuosta samaan ympyrään siten, ettei tippa pääse sekoittumaan lateksireagenssin kanssa. Ota veriagarilta 1 µl silmukalla testattavaa bakteerimassaa ja sekoita se tasaiseksi suspensioksi fysiologiseen suolaliuostippaan. Sekoita testilateksitippa bakteerisuspension kanssa ja kallistele reaktiokorttia edes takaisin 1 min ajan. Agglutinaatio tulee havaita paljain silmin.

Testaa tutkittava kanta samalla periaatteella myös kontrollilateksireagenssin kanssa. Mikäli kanta agglutinoi kontrollilateksireagenssin kanssa, on se autoagglutinoiva ja seroryhmää ei voida määrittää.

E. coli O157 Latex Test -kitillä saatu tulos voidaan tarvittaessa varmistaa *E. coli* O157 -antiseerumilla (keitetyillä kannoilla).

12.2.1.2 E.coli O157 -antiseerumi (Denka Seiken)**12.2.1.2.1 Periaate**

E. coli O157 -bakteerin somaattista antigeenia vastaan tuotettu spesifinen antiseerumi on valmistettu tapetuilla bakteereilla immunisoiduissa kaneissa. Seerumi on inaktivoitu kuumentamalla.

Kun fysiologiseen suolaliuokseen suspensoituun, kuumennettuun *E. coli* O157 -viljelmään lisätään *E. coli* O157 -antiseerumia, solut agglutinoituvat ja syntyvät rakeet ovat paljain silmin havaittavissa. Tulos on negatiivinen, jos rakeistumista ei tapahdu.

12.2.1.2.2 Suoritus

Agglutinaatiokoe tehdään ainoastaan puhtasviljelmille. Viljele tutkittavat kannat sekä positiivinen (EELA 381) ja negatiivinen (EELA 42) kontrollikanta veriagarille. Inkuboi maljoja 37 ± 1 °C 18 - 24 h.

Varmista, ettei käytetty *E. coli* O157 -antiseerumi tai fysiologinen suolaliuos ole saastunut. Sekoita keskenään tippa fysiologista suolaliuosta ja tippa *E. coli* O157 -antiseerumia. Agglutinaatiota ei tulisi syntyä. Jos reagenssi kuitenkin agglutinoi, hylkää saastunut reagenssi.

Mikrobiologia

***Escherichia coli* O157 -bakteerin osoittaminen ja tunnistaminen.**

Anna *E. coli* O157 -antiseerumin lämmetä huoneenlämpöiseksi. Valmista tutkittavasta bakteerikannasta suspensio fysiologiseen suolaliuokseen (3 ml fysiologista suolaliuosta ja 10 µl viljelysilmukallinen bakteerimassaa).

Tutkittavat kannat tulee kuumentaa ennen agglutinaatiokoetta, sillä kuumentamattomat kannat voivat antaa agglutinaatiokokeessa sekä virhepositiivisia että virhenegatiivisia tuloksia.

Keitä bakteerisuspensiota 100 °C 1 h. Sentrifugoi 900g 20 min. Poista supernatantti ja suspensoi solupelletti 0,5 ml fysiologista suolaliuosta. Käytä suspensiota antigeeniliuoksena.

Testaa, ettei kanta ole autoagglutinoiva. Pudota tippa fysiologista suolaliuosta objektilasille. Pipetoi tippa antigeeniliuosta fysiologisen suolaliuostipan päälle. Sekoita liukset keskenään kallistelemalla objektilasia edes takaisin 1 min ajan. Tarkkaile muodostuuko suspensioon agglutinaatiota. Agglutinaatio voidaan havaita helpoiten valaisemalla objektilasia altapäin.

Mikäli suspensio pysyy tasaisena, koetta voidaan jatkaa. Jos objektilasilla on havaittavissa rakeistumista, todetaan kanta autoagglutinoivaksi ja koetta ei jatketa.

Pudota tippa *E. coli* O157 -antiseerumia objektilasille. Pipetoi tippa antigeeniliuosta antiseerumitipan päälle. Sekoita liukset keskenään kallistelemalla objektilasia edes takaisin. Agglutinaatio tulee havaita 1 min kuluessa. Tämän jälkeen syntyvää agglutinaatiota ei huomioida.

Mikäli kanta ei agglutinoi, ei seroryhmää pystytä tällä menetelmällä määrittelemään.

13 Tulokset

13.1 Elintarvike- ja rehunäytteet

E. coli O157 todettiin/ei todettu /25 g/ml näytettä.

13.2 Ulostenäytteet

E. coli O157 todettiin/ei todettu /10 g näytettä.

13.3 Ympäristönäytteet

E. coli O157 todettiin/ei todettu

14 Menetelmän validointi

Menetelmän luotettavuus on arvioitu kollaboratiivisessa tutkimuksessa, johon osallistui 14 laboratoriota. Näytemateriaaleina olivat jauheliha, pastöroimaton maito ja salaatti. Tutkimuksen tulokset on kuvattu viitemenetelmässä (NMKL 164:2005)

EELAssa on tutkittu siirrostettuja jauheliha- (12), maito- (8) ja ulostenäytteitä (9). Toteamisraja oli 3-4 solua/tutkittu näytemäärä. Menetelmä totesi vähemmän kuin

Mikrobiologia

Escherichia coli O157 -bakteerin osoittaminen ja tunnistaminen.

5 pmy/g sisältävistä kestromakkaranäytteistä 11/13 ja 5-8 pmy/g sisältävistä kestromakkaranäytteistä 10/10 (Lahti ym. 2001).

15 Menetelmän status

Standardimenetelmä*	<input checked="" type="checkbox"/>
Kansainvälisen menetelmäkokoelman menetelmä	<input checked="" type="checkbox"/>
Virallinen menetelmä*	<input checked="" type="checkbox"/>
Referenssimenetelmä*	<input checked="" type="checkbox"/>
Sisäinen menetelmä	<input type="checkbox"/>

* pätee, kun viitemenetelmänä on ISO 16654:2001

16 Laadunvarmistusmenetelmät

Laboratorioiden väliset vertailututkimukset	<input checked="" type="checkbox"/>
Menetelmävertailut	<input type="checkbox"/>
Vertailukantojen/kontrollikantojen käyttö	<input checked="" type="checkbox"/>
Siirrostetut näytteet	<input type="checkbox"/>
Rinnakkaismäärytykset	<input type="checkbox"/>

17 Viitteet

*ISO 16654:2001. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157.

Lahti, E., Johansson, T., Honkanen-Buzalski, T., Hill, P., Nurmi, E. (2001) Survival and detection of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* during the manufacture of dry sausage using two different starter cultures. Food Microbiology 18, 75-85.

NMKL nro 164, 2. painos, 2005. *Escherichia coli* O157. Osoittaminen elintarvikkeista ja rehuista.

Sosiaali- ja terveysministeriö, Työsuojeluosasto, 2004. Biologisten tekijöiden luokitus. Turvallisuustiedote 43.

* Alkuperäisen menetelmäohjeen liitteenä

18 Muutokset edelliseen versioon

25.9.2015

Työturvallisuus osiota täsmennetty ja lisätty viite LAB 741/1 ohjeeseen
Ohjeen laatija: Saija Hallanvuo