

## Salmonella. Detektion i livsmedel

### 1 Metodreferenser och avvikelser

NMKL 71:1999

(Buffrat 1 % peptonvatten / steriliserat destillerat vatten + briljantgrön / skummad mjölk- näringsbuljong / buffrat 1 % peptonvatten + Triton X-100 / 37 °C / 16-24h, RVS 41,5 °C / 21-27 h XLD-agar 37 °C / 21-27 h och Rambach-agar 37 °C / 24-48 h, L-lysindekarboxylasbuljong, Urea- och TSI-agar, Brolacin-agar 37 °C / 21-27 h, API 20E; alternativ verifiering Maldi-tof, serotypning)

- 1) Vid undersökning av fjäderfäkött är mängden preanrikningsbuljong 225 ml istället för 1000 ml.
- 2) Vid ympning av RVS- och MKTTn-anrikning på XLD- och Rambach-agar odlas en kontrollplatta om matrisen/handlaget är sådant att det inte går att få isolerade kolonier.
- 3) Typiska kolonier odlas inte till renodlingar på näringsagar för kontrollprover utan direkt på TSI- och urea-agar, L-lysindekarboxylasbuljong och Brolacin-agar, ifall kolonierna växer isolerat.
- 4) Istället för fem typiska eller misstänkta kolonier plockas först en eller flera typiska eller misstänkta kolonier av selektiva plattor för fortsatta undersökningar (ISO 6579:2002).
- 5) Lysindekarboxylasbuljong, urea- och TSI-agar samt API testserie kan ersättas med Maldi-tof-analys.

### 2 Metodens syfte och tillämpningsområde

Metoden lämpar sig för detektion av salmonella i livsmedel.

### 3 Definition(er)

Salmonella är gramnegativa fakultativt anaeroba, rörliga stavbakterier som hör till familjen *Enterobacteriaceae*. *Salmonella*-släktet indelas numera i två arter, S.

*enterica* och *S. bongori*, och arten *S. Enterica* i sin tur i sex underarter (*enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* och *indica*). Man känner till fler än 2500 serotyper av salmonella. Salmonella uppkallas av tradition enligt serotypen, t.ex. *S. Typhimurium*. Ett exaktare namn på denna typ är *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium*. Salmonella orsakar olika slags tarminfektioner och allmänna infektioner hos såväl människor som djur.

## 4 Princip

Metoden för detektion av salmonella indelas i fyra skeden:

**Preanrikning.** En känd provmängd preanrikas i icke-selektivt medium (BPW). Preanrikning är nödvändig, eftersom salmonellacellerna i proverna kan vara stressade eller skadade, t.ex. på grund av upphettningsbehandling, torkning, djupfrysning, upptining och/eller osmotisk chock. Därtill är koncentrationen av salmonella i provet i allmänhet låg.

**Anrikning.** En känd mängd preanrikat prov överförs till en selektiv anrikningsbuljong (RVS). Selektiv anrikning är nödvändig, eftersom proverna kan innehålla rikligt med exempelvis andra enterobakterier som försvårar detektionen av salmonella.

**Odling på platta.** En liten mängd selektiv anrikning breds ut på fasta selektiva medier (XLD och Rambach), på vilka salmonella kan särskiljas från den övriga tillväxten på basis av typiska kolonier.

**Konfirmering.** Kolonier som misstänks vara salmonella konfirmeras

- a) med Malditof
- b) biokemiskt (urea- och TSI-agar och alternativt L-lysindekarboxylasbuljong). Ytterligare konfirmeringar görs biokemiskt (kommersiell testserie för identifiering, API 20E) och serologiskt (omnivalent eller polyvalenta antiserum).

Odlingar som misstänkts vara salmonella och har konfirmerats sänds till Eviras forskningsenhet för djursjukdomsbakteriologi i Kuopio för serotypning.

## 5 Eventuella felkällor

Salmonella kan vara svår att detektera om provet har förvarats länge i värme före undersökningen (transporttemperaturen har stigit) och/eller om det tagit flera dagar för provet att nå fram till laboratoriet.

Korskontaminering mellan proverna eller med laboratoriets kontrollstam är möjlig. Ett felaktigt positivt resultat kan leda till mycket stora ekonomiska följder och därför

måste man vara särskilt uppmärksam på att laboratoriearbetet utförs omsorgsfullt och adekvat utrustning används.

## 6 Arbetssäkerhet

Vid arbete i ett mikrobiologiskt laboratorium iakttas verksamhetsbeskrivning LAB 223 om arbetssäkerhet.

Då det gäller arbetssäkerheten bör beaktas att det är möjligt att en del av stammarna *Salmonella* Typhi och Paratyphi kan detekteras med denna metod. De förekommer ändå mycket sällan i livsmedel.

## 7 Utrustning och redskap

- 1) Mikrobiologisk basutrustning
- 2) Värmeskåp  $37 \pm 1$  °C
- 3) Värmeskåp  $41,5 \pm 0,5$  °C
- 4) Maldi-tof Biotyper, Bruker

## 8 Substrat och reagenser

- 1) Buffrat 1 % peptonvatten (BPW/PPV), i allmänhet 225 ml (+ Triton X)  
Skummad mjölk-näringsbuljong, 225 ml
- 2) Rappaport-Vassiliadis-sojapepton (RVS)- anrikningsbuljong, i allmänhet 10 ml
- 3) Xylos-lysin-deoxycholat-agar (XLD)
- 4) Rambach-agar
- 5) Brolacin-agar
- 6) Triple sugar iron-agar (TSI)
- 7) Urea-agar
- 8) L-lysindekarboxylasbuljong
- 9) O-antiserum, omnivalent, Mast Group
- 10) API 20E eller API Rapid 20E, BioMérieux
- 11) HCCA dosförpackad (cyano-4-hydroxikanelnsyra), Bruker Daltonik GmbH
- 12) Ultrarent vatten
- 13) Dejoniserat, sterilt vatten
- 14) Acetonitril
- 15) Etanol 99,6 %
- 16) 70 % FA (myrsyra)
- 17) Standard (Bruker Bacterial Test Standard, BTS)

## 9 Kontrollstammar

Som kontrollstam används den i Finland sällsynta serotypen *Salmonella* Abony 519 (NCTC 6017) för att upptäcka eventuella korskontamineringar. På grund av risken för korskontaminering rekommenderas att kontrollstammar inte används rutinmässigt jämsides med proverna.

## 10 Förbehandling av prov

Proverna behöver ingen särskild förbehandling (se punkten för provtagning för preanrikning).

## 11 Utförande

Undersökningen av proverna inleds samma dag som de anländer. Om proverna inte kan undersökas genast eller om undersökningen kan utföras vid en senare tidpunkt, förvaras proverna i enlighet med enheternas instruktioner. Om ett prov måste ratas, är det den ansvariga forskaren som fattar detta beslut.

### 11.1 Provtagning för preanrikning

Det buffrade peptonvattnet skall vara rumstempererat innan provet ympas i det.

Provmängden som ska undersökas är i allmänhet 25 g och preanrikningsbuljongens (buffrat peptonvatten) volym 225 ml (utspädningsförhållande 1:10).

Om provmängden är en annan än ovan nämnda ska preanrikningsbuljongens volym väljas så att förhållandet mellan provmängden och preanrikningsbuljongens volym är 1:9 (dvs. provet späds ut i förhållandet 1:10 = en del prov + nio delar preanrikningsbuljong).

Provet blandas väl och 25 g av provet vägs upp i ett sterilt kärl, i vilket sätts 225 ml buffrat peptonvatten (BPW). Provet kan också vägas upp direkt i en skål med färdigt doserad preanrikningsbuljong.

Ett flytande prov blandas i anrikningsbuljongen genom att det skakas om, ett fast prov homogeniseras.

### 11.1.1 Rått fjäderfäkött

Om en djupfryst kropp ska undersökas, tas den ur förpackningen och sätts aseptiskt i en Stomacher 3500 påse. Låt kroppen tina i kylskåp i högst ett dygn. Om du undersöker färska, styckade kroppsdelar, ska du väga upp den bestämda mängden (i allmänhet cirka 500 g) i en Stomacher 3500 påse. Sätt 225 ml buffrat peptonvatten i påsen. Skaka kraftigt i tre minuter så, att peptonvattnet sköljer hela kroppen eller de styckade kroppsdelarna. Lyft provet ur påsen. Inkubera hela vätskemängden eller dekantera en lämplig mängd (minst 100 ml) i en steril skål för förinkubation.

### 11.1.2 Annat rått helt kött

Skär totalt 25 g prov av köttets yta på flera ställen, och sätt det i 225 ml buffrat peptonvatten. Blanda genom att skaka om provkärlet eller Stomacher-påsen lätt. Om ett djupfryst prov ska undersökas, kan det antingen tinas upp i kylskåp i högst ett dygn eller så kan man ta ett prov medan det ännu är fruset om undersökningen är brådslande.

### 11.1.3 Torrmjölksprodukter

Väg upp 25 g prov i 225 ml buffrat peptonvatten. Blanda inte, utan låt skålen stå i rumsvärme i  $60 \pm 10$  min. Skaka därefter om skålen så att provet upplöses helt.

### 11.1.4 Örter, kryddor och livsmedel som innehåller kraftigt svällande substanser

I stället för det normala utspädningsförhållandet 1:10 kan man använda t.ex. utspädningsförhållande 1:100 för att kunna eliminera effekten av komponenter som förhindrar tillväxt och kunna homogenisera provet väl.

### 11.1.5 Kasein, ost

Väg upp 25 g prov i en Stomacherpåse. Sätt en del av det i förväg uppvärmda (cirka 40 °C) buffrade peptonvattnet (225 ml) i påsen. Blanda med en Stomacher homogenisator, tills provet är upplöst (1 - 3 minuter). Håll blandningen tillbaka i preanrikningsskålen eller sätt resten av det buffrade peptonvattnet i en Stomacher-påse.

### 11.1.6 Smör, margariner, oljor, glass, parfait

Väg upp 25 g prov i uppvärmt buffrat peptonvatten (cirka 40 °C). Skaka om. Sätt i värmeskåp (37 °C) och skaka om efter en timme.

### 11.1.7 Produkter som innehåller kakao

Blanda ett prov på 25 g i 225 ml skummad mjölk-näringsbuljong. Om du undersöker choklad, värm upp buljongen i förväg till cirka 40 °C.

### 11.1.8 Kokos och liknande produkter med mycket hög fetthalt

Bland ett prov på 25 g i 225 ml buffrat peptonvatten. Tillsätt därefter 2-3 droppar Triton X-100, som minskar på ytspänningen som feta produkter åstadkommer på preanrikningsbuljong.

### 11.1.9 Sura produkter

Kontrollera att pH inte sjunker under 4,5 under preanrikningen.

## 11.2 Preanrikning.

Inkubera preanrikningsbuljongen vid  $37 \pm 1$  °C / 16 – 24 h.

Efter inkuberingen kan preanrikningen sättas i kylskåp (2-8 °C) för högst 72 timmar, om det inte är möjligt att fortsätta med anrikningen omedelbart (Nilsson och Peterz, 1992).

## 11.3 Anrikning

Värm upp anrikningsbuljongen (RVS) till inkuberingstemperatur före ympningen. Om preanrikningen har förvarats i kylskåp (t.ex. över veckoslutet), ska den inkuberas i  $37 \pm 1$  °C / 2 h före ympningen i anrikningsbuljong för att undvika stora temperaturvariationer.

Blanda preanrikningen lätt. Ympa 0,1 ml i 10 ml RVS-buljong. Ympningen kan alternativt göras utan att blanda preanrikningen, nära preanrikningens yta.

Blanda RVS-buljongen med provrörsblandare efter ympningen. Inkubera i värmeskåp vid  $41,5 \pm 0,5$  °C / 21 - 27 h.

Efter inkuberingen kan RVS-anrikningen förvaras i kylskåp (2-8 °C) i högst 72 timmar, om det inte går att odla omedelbart på plattor (D'Aoust et al., 1983; Nilsson och Peterz, 1992).

## 11.4 Odling på agarplattor

Blanda RVS-anrikningen. Ympa en ögla (10 µl) av den på XLD- och Rambach-agar som utspridd odling på så sätt, att det blir klart skilda kolonier. Ympningen kan alternativt göras utan att blanda anrikningen, nära anrikningens yta.

För att få fram tydligt skilda kolonier kan RVS-anrikning odlas på två små XLD- och Rambach-plattor efter varandra. Den senare plattan är en s.k. kontrollplatta som odlas med samma ögla som användes till att odla den första plattans sista sektor, utan att väta ögla på nytt i anrikningen. Nödvändigheten av att odla en "kontrollplatta" bedöms enligt matrisen och handlaget hos den som utför ympningen.

RVS-anrikning som har kylförvarats odlas på plattor på samma sätt som anrikning som har tagits direkt ur värmeskåpet.

Selektiva plattor som odlas dagen före ett veckoslut eller en helgdag, kan förvaras odlade i kylskåp (2-8 °C) i högst 48 timmar och därefter sättas i värmeskåp om man vill avläsa dem färskt därpå följande arbetsdag.

Inkubera XLD- och Rambach-plattorna vid 37 ± 1 °C / 21 - 27 h. Inkuberade plattor kan förvaras i kylskåp i 1-3 dygn innan de avläses.

## 11.5 Avläsning av plattorna

### 11.5.1 XLD

En typisk salmonellakoloni är rödaktig, ganska genomskinlig och har ett svart centrum. Nästan alltid (i synnerhet i samband med en kraftig salmonellatillväxt) ses en bredare eller smalare ljusröd eller röd zon i substratet som omger kolonierna. Svavelvätenegativa salmonellabakterier (t.ex. *S. Paratyphi A*) växer som rödaktiga/ljusröda kolonier med ett mörkare centrum som skiftar från ljusrött till orange. Laktospositiva salmonellabakterier är gula och de kan ha ett svart centrum (svavelvätepositiva). Både svavelvätenegativa och laktospositiva stammar är sällsynta.

### 11.5.2 Rambach

97-99 % av salmonellabakterierna växer som klarröda kolonier på Rambach-agar. *S. Typhi* och *S. Paratyphi* bildar dock färglösa kolonier.

## 12 Konfirmeringstester

Typiska/misstänkta kolonier konfirmeras alternativt:

- a) med Maldi-tof
- b) med traditionella biokemiska (TSI- och urea-agar och lysindekarboxylasbuljong; en lämplig kommersiell identifieringstestserie som API 20E) och serologiska metoder (polyvalenta antiserum).

Den slutliga konfirmeringen och serotypningen utförs i överensstämmelse med metodbeskrivning Evira 6004 vid Eviras verksamhetsställe i Kuopio.

### 12.1 Att köra Maldi-tof

Konfirmera kolonierna genom att köra en direkt ympning enligt arbetsbeskrivning LAB 7085 som tre parallella provpunkter i Maldi-tof.

Score-värdena beaktas vid bedömningen av resultatets pålitlighet. Av resultaten granskas både bästa identifiering (best match) och nästbästa identifiering (second best match). Stammen sänds till Eviras enhet i Kuopio för serotypning, om en av identifieringarna ger resultatet "*salmonella sp*" med ett score-värde om minst 1,700 (grön eller gul färgkod).

Om resultatet för **alla** provpunkter visar "**no peaks found**", ska du göra en snabb extraktion av stammen på Maldi-plattans provpunkter: bakteriemassa + 1 ul 70 % FA -> torkning + 1 ul matris. Om även detta resultat visar "no peaks found" är stammen inte salmonella.

Körningen kan ge resultatet "**not reliable identification**". Detta kan bero på två orsaker. Spektrumet är läsbart, men det finns ingen tillräcklig motsvarighet i biblioteket. Score-värdet är då lågt, mellan 0,000–1,699 och identifikationen lyckas inte. Det är också möjligt att provpunkten är av dålig teknisk kvalitet.

Om resultatet är "**not reliable identification**" **antingen** i kolumnen för best match **eller** i kolumnen för second best match, ska man se på rankningslistan med topp tio för provpunkten. Om *salmonella sp.* finns på listan ska en snabbextraktion göras av stammen på Maldi-plattans provpunkter: bakteriemassa + 1 ul 70 % FA -> torkning + 1 ul matris. Om resultatet fortfarande visar "**not reliable identification**" men salmonella inte finns på rankningslistan (topp tio) är stammen inte salmonella. Om salmonella fortfarande finns kvar på listan, tolkas stammen som misstänkt salmonella och en ytterligare konfirmering ska göras genom serotypning.

Konfirmeringsförfarandet kan vid behov kompletteras före serotypningen genom konfirmeringar enligt ISO 6579, t.ex. med Omnivalent eller OBIS-test.

Ympa kolonin som enligt körningen av Maldi-tof misstänktes vara salmonella på en selektiv platta och sänd den till serotypning.



## 12.2 Traditionell biokemisk konfirmering och ytterligare konfirmeringar

### 12.2.1 Urea- och TSI-agar, L-lysindekarboxylasbuljong och selektivt agar

Välj, av både XLD- och Rambach-plattor, en typisk eller misstänkt koloni som växer isolerat för fortsatta undersökningar.

Om det visar sig att de valda kolonierna inte är salmonella, ska du plocka ytterligare fyra kolonier för fortsatta undersökningar.

Om du på plattan kan urskilja typiska eller misstänkta kolonier som inte växer isolerat, fortsatt odla kolonier på selektivt agar så, att du får isolerade kolonier. Gör konfirmeringstest för de isolerade kolonierna.

Odla av samma isolerade koloni (t.ex. med 1 µl ögla) först på **urea**-agar som ytstryk och på **TSI**-agar som ytstryk och "stickodling", sedan i lysindekarboxylasbuljong och till sist på **Brolacin**-agar eller XLD- eller **Rambach**-agar som utspridd odling. Med Brolacin-agar får man ett snabbare resultat av serotypningen. Lysindekarboxylasbuljong övertäcks med steril mineral- eller paraffinolja efter odlingen. Märk! Kolonin vidrörs endast en gång, inte efter varje medium som ska odlas. Inkubera i 37 ± 1 °C / 21-27 h.

#### **Urea-agar**

Salmonella hydrolyserar inte urea utan mediet förblir gult.

#### **TSI-agar**

Salmonella använder glukos, men inte laktos eller sackaros, samt reducerar sulfat till sulfid, som fälls ut som svart järnsulfid i underlaget. En typisk odling med TSI-agar har en alkalisk (röd) lutande yta. Rörets nedre och/eller mellersta del är sur (gul) och bildningen av järnsulfid ses i form av en ring som svartnar kring sticket (i cirka 90 % av fallen). En kraftig bildning av järnsulfid kan svartfärga rörets hela nedre del. Även då kan i allmänhet den gula färgen urskiljas på rörets botten och/eller i den mellersta delen då man ser mot ljuset. I röret kan konstateras gasbildning som upptäcks i form av sprickor eller luftbubblor i agarmediet.

Stammar som inte reducerar sulfat till sulfid bildar ingen svart färg på TSI-agar. Sådana stammar är sällsynta (8 %) och de ska konfirmeras noggrannare biokemiskt, t.ex. med hjälp av kommersiella testserier, liksom även laktos- och/eller sackarospositiva (1 %) stammar, som ändrar hela TSI-agarmediets färg till gul (av t.ex. *S. Arizona*-stammarna är 26-75% laktospositiva).

### **Lysindekarboxylasbuljong**

Salmonella dekarboxylerar lysin, varför grumlighet och bibehållande av buljongens purpurröda färg i lysindekarboxylasbuljong är ett tecken på en positiv reaktion. Om buljongens färg ändras till gul påvisar detta ett negativt resultat (lysinet har inte brutits ner).

### **Brolacin-agar**

Kontrollera odlingarnas renhet. Salmonella växer som genomskinliga gråaktiga kolonier på Brolacin-agar och substratets färg ändras från blågrön till blå (laktosnegativ). Laktospositiva salmonellabakterier och andra laktospositiva bakterier ändrar substratets färg till gul. Om odlingarna inte är rena utan växer som typiska isolerade kolonier, ska du välja en typisk koloni av varje och odla den vidare på TSI- och urea-agar, i L-lysindekarboxylasbuljong och på Brolacin-agar.

## **12.2 Ytterligare konfirmeringar**

Gör ytterligare en serologisk och en biokemisk konfirmering av en typisk renodling, t.ex. med en kommersiell identifieringstestserie.

Gör en serologisk konfirmering genom ett agglutinationsprov med omnivalent antiserum eller polyvalenta antiserum i enlighet med tillverkarens anvisningar. Kontrollera att den stam som undersöks inte autoagglutinerar (= utfällning i NaCl-lösning). Om stammen autoagglutinerar går det inte att påvisa antigener.

Gör den biokemiska konfirmeringen med testet API 20 E enligt tillverkarens anvisningar.

## **12.3 Serotypning**

Isolerade stammar som misstänks vara salmonella sänds helst i Brolacin-agar för serotypning till Eviras forskningsenhet i Kuopio.

Serotypningen utförs i överensstämmelse med Kauffmann-White-systemet (Metodbeskrivning Evira 6004) vid forskningsenheten i Kuopio.

## **12.4 Resultat**

Kuopio forskningsenhet ger resultatet av serotypningen som ett internt svar till laboratoriernas datasystem.  
Kuopio forskningsenhet ger resultaten av fagtypningen som externt tilläggssvar.

Undersökningresultaten meddelas enligt följande:

”Salmonella konstaterades inte/konstaterades/25 g eller ml” av provet eller undersökt provmängd eller yta. Innan resultatet av serotypningen är klart, meddelar laboratoriet resultatet som misstänkt salmonella.

Dessutom meddelas om undersökning av proverna som ett samlingsprov. Serotypen anges i det slutliga svaret.

### 13 Validering av metoden

Metoden har validerats genom kollaborativ undersökning, där provmaterialet utgjordes av malet kött och äggpulver, till vilka salmonellabakterier hade tillsatts. Dessutom undersöktes renodlingar av salmonella bland konkurrerande mikrober som isolerats från livsmedel (Wiberg, 1997). Salmonellahalten i de undersökta proverna varierade mellan 30-130 cfu/25 g. Metodens sensitivitet var 82,7 %. EELA:s bakteriologiska forskningsenhet/Livsmedelsmikrobiologi deltog i undersökningen.

Att köra Maldi-tof som alternativt konfirmeringsförfarande validerades år 2014 för tagande i bruk vid sektionen för foder- och gödslingsmedel. Utgående från valideringsresultaten för foder kan Maldi-tof även lämpa sig för identifiering av salmonellabakterier av livsmedelsursprung (Johansson Tuula, 08.05.2014).

### 14 Metodens status

Standardmetod	<input type="checkbox"/>
Metoden ingår i en internationell methodsamling	<input checked="" type="checkbox"/>
Officiell metod (om konfirmering inte görs med Maldi-tof)	<input checked="" type="checkbox"/>
Referensmetod	<input type="checkbox"/>
Intern metod	<input type="checkbox"/>

### 15 Metoder för kvalitetssäkring

Laboratoriernas inbördes jämförande undersökningar	<input checked="" type="checkbox"/>
Metodjämförelser	<input checked="" type="checkbox"/>
Användning av referensstammar/kontrollstammar vid behov	<input checked="" type="checkbox"/>
Ympade prover (vid inskolning)	<input checked="" type="checkbox"/>
Parallella analyser	<input type="checkbox"/>

### 16 Referenser

\*)NMKL 71:1999. *Salmonella*. Osoittaminen elintarvikkeista.

ISO 7218:2007. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance for microbiological examinations.

D'Aoust, J.-Y., Beckers, H.J., Boothroyd, M., Mates, A., McKee, C.R., Moran, A.B., Sado, P., Spain, G.E., Sperber, W.H., Vassiliadis, P., Wagner, D.E. and Wiberg, C. (1983) ICMSF Methods Studies. XIV. Comparative study on recovery of *Salmonella* from refrigerated preenrichment and enrichment broth cultures. J. Food Prot. 46:391-399.

Johansson Tuula (08.05.2014) Salmonellan tunnistaminen elintarvikkeista Bruker Maldi-tof - Biotyper –laitteella. Validointiraportti.

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.

WHO Collaborative Centre for Reference and Research of *Salmonella* (Institut Pasteur-Paris): Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars, Kauffmann-White Scheme supplemented by the formulae approved up to December 31, 2000.

Wiberg, C. (1997) Collaborative study of *Salmonella* methods: Revised NMKL no 71 and ISO 6579:1993. Biology Division, National Food Administration, Uppsala, Sweden.

\*) Bilaga till den ursprungliga metodbeskrivningen

## 17 Ändringar sedan föregående version

Utarbetad av: Tuula Johansson

30.07.2014

Maldi-tof har lagts till som ett alternativt konfirmeringsförfarande.

Texten har samordnats med metodbeskrivning Evira 3543/8 vad gäller konfirmeringstester.