

Behandling och sammansättning av prover som ingår i programmet för salmonellakontroll

1 Lämplighet

Denna arbetsbeskrivning tillämpas på behandling och sammansättning av organ- och träckprover, ytstryk- och nackskinnsprover av slaktkroppar, kött-, köttskav- och köttberedningsprover och miljöprover. Proverna som ingår i programmet för salmonellakontroll skall behandlas enligt denna beskrivning.

Evira svarar för uppdateringen av denna arbetsbeskrivning och sänder den uppdaterade versionen till de laboratorier som är godkända för analyser inom programmet för salmonellakontroll. Laboratorierna svarar för att den gällande arbetsbeskrivningen följs.

2 Provtagning

Vid provtagning iakttas de förordningar om programmet för salmonellakontroll som Jord- och skogsbruksministeriets avdelning för livsmedel och hälsa har utfärdat.

Analyseringen av proverna inleds senast inom 48 timmar efter att de anlänt. Om en analys inte kan inledas omedelbart, förvaras proverna i kylskåpstemperatur ända fram till analysen och de skall analyseras inom 96 h efter provtagningen.

I slakterier och på slaktplatser tas ytstrykprover av slaktkropparna med hjälp av provtagningssvampar och sterila kompresser. Laboratoriet som analyserar proverna kan tillverka provtagningspåsar som innehåller sterila kompresser. Två sterila plastpåsar (t.ex. Stomacherpåsar) träs aseptiskt på varandra. I den inre påsen placeras med tanke på ytstrykprover av slaktkroppar från nötkreatur två och med tanke på ytstrykprover av slaktkroppar från svin tre sterila kompresser (10 x 10 cm). På kompresserna pipetteras 10 ml sterilt, buffrat peptonvatten. Påsen stängs omsorgsfullt (t.ex. så att mynningen viks ihop och tejpas tätt) och förvaras i kylskåpstemperatur så, att tiden mellan provtagningen och analysen är högst 96 timmar. Om liknande kompresser finns att köpa i handeln kan man använda sådana.

3 Sammansättning av prover för preanrikning

Provmängden som skall analyseras är i allmänhet 25 g och preanrikningsbuljongens (buffrat peptonvatten) volym 225 ml. Om provmängden är någon annan än den ovan nämnda, skall volymen på preanrikningsbuljongen väljas så, att provets mängd i förhållande till preanrikningsbuljongens volym blir cirka 1:9 (provet späds med andra ord ut i förhållandet 1:10 = en del prov + nio delar preanrikningsbuljong).

Provet blandas i preanrikningsbuljongen genom att provkärlet skakas om lätt. Preanrikningsbuljongen inkuberas i 37 ± 1 °C/16 - 20 h. Preanrikningsprovet kan efter

Behandling och sammansättning av prover som ingår i programmet för salmonellakontroll

inkubering flyttas till kylskåp för högst tre dygn, om det inte genast går att fortsätta med anrikningen till exempel under ett veckoslut.

3.1 Kött, köttskav, malet kött och köttberedningar

Väg upp 25 g prov i 225 ml buffrat peptonvatten.

- Kött: Sätt samman ett prov av köttbitar. Om bitarna är stora, sätter du samman provet av ytligt kött från flera bitar.
- Köttskav: Blanda köttskavet omsorgsfullt före vägningen.
- Kött från broilerkyckling, kalkon och höna: De fem proverna som tagits av partiet analyseras varje skilt för sig. Till provet som skall analyseras, 25 g, tas i första hand skinn. Om det inte finns tillräckligt med enbart skinn, tas också ytligt kött med i provet. Om det inte alls finns något skinn, tas enbart ytligt kött som prov.
- De fem proverna/parti som tagits av malet kött och köttberedningar analyseras varje skilt för sig.
 - Malet kött: Blanda omsorgsfullt före vägningen.
 - Köttberedningar: Om bitarna är små, blanda, om stora, ta ytligt kött från flera bitar till provet.

3.2 Nackskinnsprover av broilerkyckling, kalkon och höna

Nackskinnsproverna av slaktkroppar från fjäderfä analyseras som ett samlingsprov av tre prover. Proverna som slås ihop skall vara av slaktkroppar som härstammar från samma flock. Sätt samman samlingsprovet genom att av varje nackskinnsprov som skall slås ihop ta ett delprov på cirka 8 g så, att samlingsprovets vikt är 25 g. Tillsätt 225 ml buffrat peptonvatten.

3.3 Lymfkörtlar

Proverna av lymfkörtlar kan analyseras antingen vart för sig eller som ett samlingsprov av högst fem prov. Vid undersökning av prover vart för sig skall mängden som analyseras vara minst 10 g, varvid preanrikningsbuljongens volym är 90 ml. Vid analys av ett samlingsprov är mängden prov 25 g och preanrikningsbuljongens volym 225 ml.

Då prover undersöks i form av samlingsprov, skall lymfkörtlarna som utgör provet (5 st.) delas i två delar med en separat steril kniv. Förvara delarna i separata påsar i kylskåpstemperatur tills salmonellaundersökningen av samlingsprovet blivit färdig. Slå samman halvor av lymfkörtlar från högst fem djur av samma djurart och finfördela dem exempelvis med en steril sax. Blanda om det finfördelade provet innan du väger upp det för inblandning i preanrikningsbuljongen. Om du konstaterar salmonella i samlingsprovet, skall du analysera varje delprov i samlingsprovet skilt för sig med tanke på salmonella.

3.4 Ytstrykprover av slaktkroppar

Tillsätt 225 ml buffrat peptonvatten i påsen med ytstrykprov.

Efter preanrikningen kan slås samman prover av högst fem djur av samma djurart.

Behandling och sammansättning av prover som ingår i programmet för salmonellakontroll

RVS – anrikningsmetoden: ta 0,1 ml preanrikningsbuljong av var och en av de fem preanrikningsbuljongerna (sammanlagt 0,5 ml) i 50 ml RVS – buljongen.

MSRV – anrikningsmetoden: ta 0,1 ml preanrikningsbuljon av var och en av de fem preanrikningsbuljongerna (sammanlagt 0,5 ml) i ett sterilt provrör. Samlingsprovet blandas och 0,1 ml av blandningen tas på MSRV – anrikningsplattan.

Om salmonella konstateras i samlingsprovet, skall det i kylskåp förvarade preanrikningsprovet av varje djur analyseras skilt för sig.

3.5 Träckprover (nötkreatur och svin)

Träckproverna av nötkreatur eller svin inom programmet för salmonellakontroll anländer till laboratoriet i allmänhet som ett samlingsprov som innehåller högst 20 träckprover.

Samlingsprovet har sammansatts och blandats ihop på gården och av samlingsprovet som anlänt till laboratoriet tas ett delprov på cirka 25 gram som läggs i 225 milliliter buffrat peptonvatten. Mängden träckprover från unga djur kan vara mindre, om det inte finns tillräckligt med träck.

Träckprover från nötkreatur, som ska gå till inseminationsändamål, undersöks skilt för sig, cirka 25 gram som läggs i 225 milliliter buffrat peptonvatten. Om träckprover från nötkreatur eller svin undersöks på basis av kliniska symptom, kan prover av högst fem djur slås ihop. Också under saneringen kan från en salmonellapositiv gård anlända prover av enstaka djur som avsändaren vill ha undersökta skilt för sig.

3.6 Produktionsmiljöprover av nötkreaturs och svins hållningsplatser

Produktionsmiljöprover (fuktade svampar, skumplasttärningar, dukar) anländer i form av samlingsprover på högst fem prover och analyseras så att man tillsätter 80 milliliter buffrat peptonvatten per svamp, duk, tärning eller kompress.

3.7 Pappersunderlag, underlagsmaterial och strykprover från transportlådorna till dagsgamla kycklingar från uppfödningstall för avelshönor, avelsbroilerkycklingar och avelskalkoner och från uppfödningstall för hönor

Pappersunderlagen undersöks som ett samlingsprov med fem papper. För preanrikning av fem papper behövs 1 liter buffrat peptonvatten. Pappersunderlagen kommer till laboratoriet förpackade i plastpåsar fem och fem. Klipp upp påsen så att pappren blir liggande ovanpå plasten. Fukta pappren genom att pipettera på dem en del av det buffrade peptonvatten som behövs för preanrikningen. Klipp de fuktade pappren aseptiskt i bitar och flytta dem till en steril Stomacher-påse. Tillsätt resten av det buffrade peptonvattnet.

Underlagsmaterialen (annat än papper) undersöks som ett samlingsprov från fem transportlådor. Samlingsprovet vägs och materialet flyttas över till en steril Stomacherpåse i vilken tillsätts buffrat peptonvatten så att påsen innehåller en del prov och nio delar buffrat peptonvatten.

Behandling och sammansättning av prover som ingår i programmet för salmonellakontroll

Om det inte används något underlagsmaterial i transportlådorna från uppfödningstill för avelshöner, tas från botten av lådorna sammanlagt tio strykprover som analyseras som två samlingsprover. Från botten av lådorna från uppfödningstill för produktion tas sammanlagt fem strykprover, som undersöks som ett samlingsprov. Av de strykprover som tagits med provtagningssvampar, dukar, skumplasttärningar eller kompresser slås således fem samman och flyttas över i 400 milliliter buffrat peptonvatten och blandas om väl.

3.8 Analys av sockprov från fjäderfä

Med undantag för fjäderfägårdar av typen burhönshus anländer träckproverna av fjäderfä i form av sockprover. Proverna tas med sockor, tubsockor eller tubgasväv med tillräcklig absorptionsförmåga.

Sockprover från fjäderfä kommer till laboratoriet på följande sätt:

- två prover med ett par sockor (2 sockor) per prov
 - flockar från uppfödningstill för avelshöner, avelskalkoner och avelsbroilerkycklingar
 - kalkon- och broileruppfödningflockar (ägaren)
- ett prov med ett par sockor (2 sockor)
 - flockar från värpstall för avelshöner, avelsbroilerkycklingar och avelskalkoner
 - kalkon- och broileruppfödningflockar (officiellt)
- ett samlingsprov med två par sockor (4 sockor)
 - flockar från uppfödningstill för höner och värpstall för produktion
 - flockar från broilerkycklings- eller kalkonuppfödningstill, varifrån fjäderfäkött överläts endast direkt till konsumenten

Samlingsprovet med två par sockor (4 sockor) eller provet med ett par sockor öppnas försiktigt och flyttas över i 225 milliliter buffrat peptonvatten så att den träck som fastnat på sockorna inte lossnar i samband med överflyttningen. Om sockorna inte blir täckta av 225 ml buffrat peptonvatten, tillsätts så mycket vatten att de blir täckta men inte mer. Proverna i det buffrade peptonvattnet blandas om så att träcken lossnar.

Om en förnyad provtagning beror på en misstanke om ett felaktigt analysresultat tas fem par sockor som prov. Vart och ett av paren placeras i separata plastpåsar och undersöks separat i laboratoriet. Varje par sockor placeras i 225 ml buffrat peptonvatten. Om man vid misstanken i fråga inte får tillräckligt med damm från djurhållningsplatsen till laboratoriet, kan sju par sockor som analyseras separat komma till laboratoriet.

Sju prover som analyseras separat (5 träckprover, 2 damm- eller strykdammprover) kan komma också t.ex. vid misstanke om en matförgiftningsepidemi. På grund av att flocken är stor eller någon annan liknande omständighet kan också komma in fler prover än vanligt. Dessa tilläggsprover kan slås ihop, om detta omnämns på remissen.

3.9 Analys av träckprover från fjäderfä

Prover som tagits av föräldraflockar och hönsflockar som hålls i bur anländer till laboratoriet i form av två samlingsträckprover på minst 150 gram.

Behandling och sammansättning av prover som ingår i programmet för salmonellakontroll

Samlingsproverna från föräldraflockar undersöks separat i laboratoriet. Samlingsproverna vägs och vardera provet läggs i buffrat peptonvatten i en volym som motsvarar provets vikt varefter man blandar om allt lätt. Provet får mjukna i 10-15 minuter och blandas därefter lätt om. Efter omblandningen vägs upp 50 g blandning som läggs i 200 milliliter buffrat peptonvatten.

Prover från hönsflockar sammanslås och blandas noga i laboratoriet. Av blandningen tas ett delprov på 25 gram som läggs i 225 milliliter buffrat peptonvatten

Från broilerkyckling- eller kalkonuppfödningstill eller värpstall varifrån fjäderfäkött eller ägg överläts enbart direkt till konsumenterna, kan proverna komma som samlingsprov på minst 100 gram. Av det omblandade provet tas ett delprov på 25 gram som läggs i 225 milliliter buffrat peptonvatten.

Om en förnyad provtagning beror på en misstanke om ett felaktigt analysresultat tas fem träckprover på 150 gram som prov. Vart och ett av dem placeras i separata plastpåsar och analyseras separat i laboratoriet. Varje prov på 150 gram blandas om väl varefter det av blandningen tas ett delprov på 25 g som läggs i 225 ml buffrat peptonvatten.

Om man vid misstanken i fråga inte får tillräckligt med damm från djurhållningsplatsen till laboratoriet, kan det komma sju träckprov som analyseras separat till laboratoriet.

Sju prover som analyseras separat (5 träckprover, 2 damm- eller strykdammprover) kan komma också t.ex. vid misstanke om en matförgiftningsepidemi. På grund av att flocken är stor eller någon annan liknande omständighet kan också komma in fler prover än vanligt. Dessa tilläggsprover kan slås ihop, om detta omnämns på remissen.

3.10 Strykdammprover från uppfödningstill för avelshönor, avelsbroilerkycklingar och avelskalkoner, från värpande hönsflockar och från uppfödningstill för broilerkycklingar och kalkoner

Strykningsdammproverna tas med en eller flera fuktade tygsvabbar eller svampar (total areal minst 900 cm²) som förpackas i samma påse. Samlingsprovet öppnas försiktigt och flyttas över i 225 milliliter buffrat peptonvatten så att det material som fastnat på tygsvabbarna eller svamparna inte lossnar i samband med överflyttningen. Om tygsvabbarna eller svamparna inte blir täckta av 225 ml buffrat peptonvatten, tillsätts så mycket vatten att de blir täckta men inte mer. Proverna i det buffrade peptonvattnet blandas om.

Om en förnyad provtagning beror på en misstanke om ett felaktigt analysresultat, tas två strykdammprover från djurhållningsplatsen utöver de ovan beskrivna sock- eller träckproverna. Strykdammproverna undersöks skilt för sig på det sätt som beskrivits ovan.

3.11 Dammprover från värpstall för produktion (hönor)

Till dammprovet samlas in minst 250 ml och 100 gram damm från olika delar av värpstallet. Dammet vägs och blandas med buffrat peptonvatten i en volym som motsvarar dammets vikt. Dammet får lösas upp i 10-15 minuter. Efter att dammet har löst sig blandas provet lätt och 50 gram av blandningen förs över i 200 milliliter buffrat

Behandling och sammansättning av prover som ingår i programmet för salmonellakontroll

peptonvatten. Vid hantering av dammprover måste man vara särskilt försiktig så att korskontaminering undviks.

Om en förnyad provtagning beror på en misstanke om ett felaktigt analysresultat, tas två strykdammprover från djurhållningsplatsen utöver de ovan beskrivna sock- eller träckproverna. Strykdammproverna undersöks skilt för sig på det sätt som beskrivits ovan.

3.12 Ytrenhetsprover av kläckeriets produktionsmiljö och djurhållningsplats

Av provtagningssvampar, dukar, skumplasttärningar eller kompresser preanrikas 1-5 stycken så att man tillsätter 80 milliliter buffrat peptonvatten per svamp, duk, tärning eller kompress.

Vid sammanslagning skall beaktas att eventuella salmonellapositiva fynd måste kunna hänföras till det provtagningsställe som framgår av remissen (prover från olika delar i kläckeriet slås till exempel inte samman).

3.13 Fodermiljöprover

Fodermiljöproverna (fuktade svampar, skumplasttärningar, dukar) kommer förpackade i separata påsar och analyseras skilt för sig på det sätt som beskrivits ovan.

4 Analys av proverna

Proverna analyseras enligt de senaste utgåvorna av NMKL- eller ISO -metoden. Träck- och produktionsmiljöproverna från fjäderfä, nötkreatur och svin skall analyseras med MSRV-metoden enligt standard ISO 6579:2002, Amendment 1:2007. Lymfkörtel-, slaktkropp-, nackskinn- och kött/köttskavproverna som tagits i ett slakteri eller en styckningsanläggning skall analyseras med metoden ISO 6579:2002, ISO 6579:2002/ändring 1:2007, NMKL N:o 71:1999 eller NMKL nr 187:2007. Vid undersökning av malet kött och köttberedningar kan också användas alternativa metoder, om metoden validerats mot metoden ISO 6579:2002 i enlighet med standard EN/ISO 16140.

Evira svarar inte för att metodbeskrivningen uppdateras till laboratorierna. Man kan höra sig för om en kopia av metoden från Evira genom att kontakta Henry Kuronen (044 720 1782, henry.kuronen@evira.fi) eller Tuula Johansson (050 435 1714, tuula.johansson@evira.fi).

5 Ändringarna sedan föregående version

Denna anvisning sammanställdes av: Henry Kuronen och Tuula Johansson
Arbetsbeskrivning 6002/ bilaga 1 har ändrats som bilaga av metodbeskrivning.