

Elatusaineiden laadunvarmistus esimerkki tulkinnasta ISO- standardimenetelmässä



Saija Hallanvuo
Erikoistutkija
Mikrobiologian tutkimusyksikkö, Evira

Salmonellan osoitusmenetelmän EN ISO 6579-1 elatusalustojen testaus standardin ISO 11133:2014 mukaisesti

- Minimivaatimukset kuiva-aine-erille esitetty aukikirjoitettuna
- Kursiivilla on esitetty yksi vaihtoehto keittoeräkohtaiselle testaukselle. Laboratorion tulee harkita oma käytäntönsä keittoerien toimivuuden varmistamiseksi

Salmonella osoittaminen ISO 6579-1 Evira

Liite B

Table B.1 — Performance testing for the quality assurance of the culture media

Medium	Function	Incubation	Control strains	WDCM numbers ^a	Criteria ^b
BPW	Productivity	18 h ± 2 h/ 34 °C to 38 °C	<i>Salmonella</i> Typhimurium ^{c,d} <i>Salmonella</i> Enteritidis ^{c,d}	00031 00030	Turbidity (1–2)
MKTn broth	Productivity	24 h ± 3 h/ 37 °C ± 1 °C	<i>Salmonella</i> Typhimurium ^{c,d} <i>Salmonella</i> Enteritidis ^{c,d} + <i>Escherichia coli</i> ^d + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	00031 00030 00012 or 00013 00025	>10 characteristic colonies on XLD agar or other medium of choice
	Selectivity		<i>Escherichia coli</i> ^d	00012 or 00013	Partial inhibition ≤100 colonies on TSA
			<i>Enterococcus faecalis</i> ^d	00009 or 00087	<10 colonies on TSA
RVS broth	Productivity	24 h ± 3 h/ 41,5 °C ± 1 °C	<i>Salmonella</i> Typhimurium ^{c,d} <i>Salmonella</i> Enteritidis ^{c,d} + <i>Escherichia coli</i> ^d + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	00031 00030 00012 or 00013 00025	>10 characteristic colonies on XLD agar or other medium of choice
	Selectivity		<i>Escherichia coli</i> ^d	00012 or 00013	Partial inhibition ≤100 colonies on TSA
			<i>Enterococcus faecalis</i> ^d	00009 or 00087	<10 colonies on TSA
MSRV agar	Productivity		<i>Salmonella</i> Typhimurium ^{c,d}	00031	Grey-white, turbid zone extending out from inoculated drop(s).

BPW (puskuroitu peptonivesi)

- BPW, 1 kpl 10 ml putki
- 1 x 10 ml putki, jossa yhtä mikrobikantaa
- Salmonella Enteritidis (Eviran suosittelema kanta Salmonella enterica subsp. salamae serotype Tranaroa) ≤ 100 pmy/10 ml

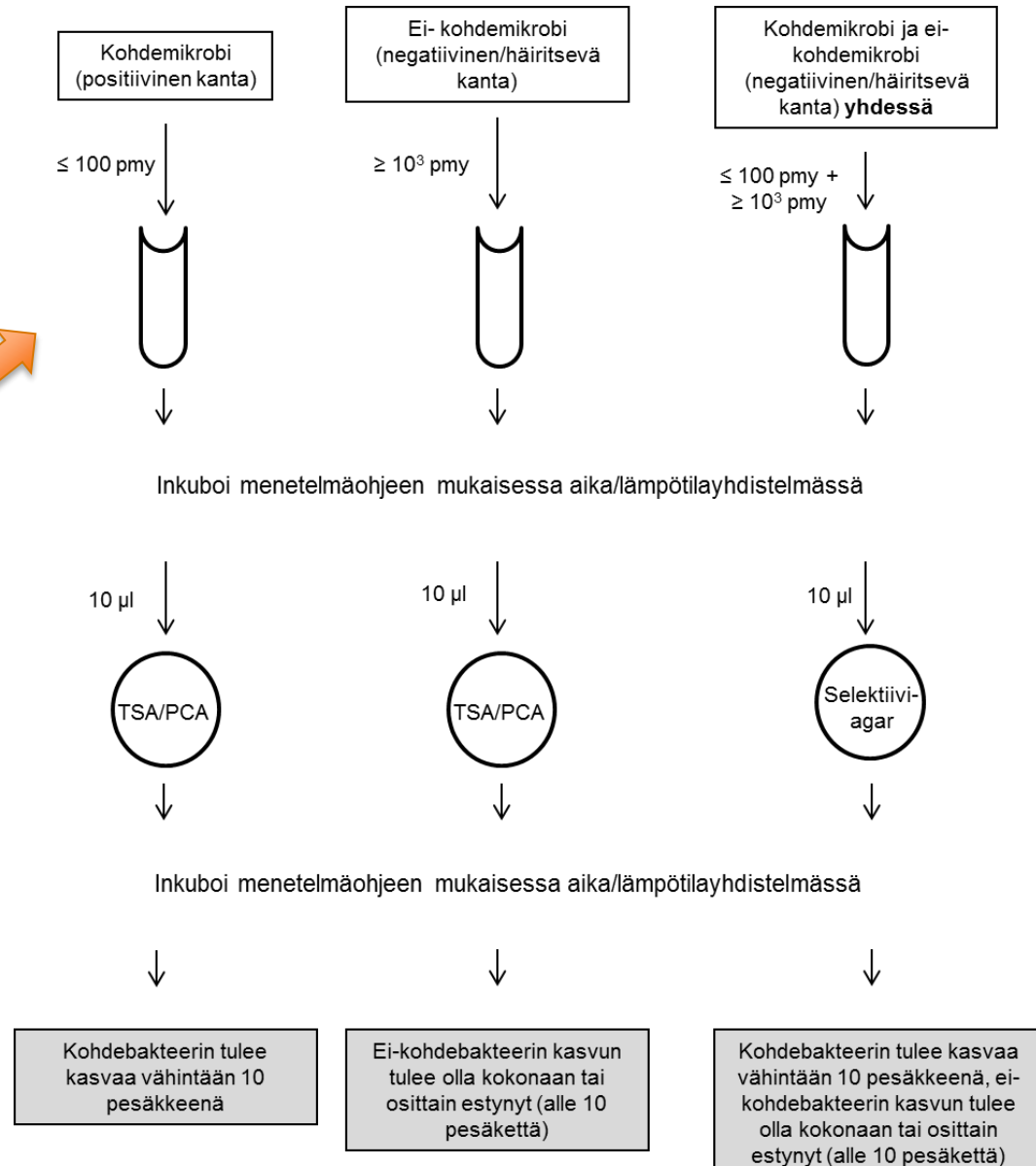
TAI

- Salmonella Typhimurium ≤ 100 pmy/10 ml
- Inkubointi ISO 6579:n mukaisesti, kts. liite B, taulukko B.1.
- Hyväksyntäkriteeri: heikko sameus – voimakas sameus.
- *Keittoerien testaus esimerkiksi kuten yllä.*

Selektiiviset rikasteet

- ISO 11133:n mukainen >perusperiaate (kukin standardi antaa tarkemmat ohjeet)

Seuraavissa dioissa esitetyissä esimerkeissä testauskaaviota yksinkertaistettu ensimmäisen putken osalta (jos seos ei toimi, testataan myös tämä)



MKTTn (Muller-Kauffmann tetrationsaattinovobiosiini) 1/3

- MKTTn, 3 kpl 10 ml putkia

TUOTTAVUUSTESTAUS:

- 1 x 10 ml putki, jossa kolmea eri mikrobia
- Salmonella Enteritidis (Eviran suosittelema kanta Salmonella enterica subsp. salamae serotype Tranaroa) ≤ 100 pmy/10 ml TAI
- Salmonella Typhimurium WDCM 00031 ≤ 100 pmy/10 ml

SEKÄ

- Escherichia coli WDCM 00012 $\geq 1\ 000$ pmy/10 ml TAI
- Escherichia coli WDCM 00013 $\geq 1\ 000$ pmy/10 ml

SEKÄ

- Pseudomonas aeruginosa WDCM 00025 $\geq 1\ 000$ pmy/10 ml

>Inkubointi ISO 6579:n mukaisesti, kts. liite B.1. Putkesta viljellään 10 μ l silmukallinen XLD-maljalle tai muulle ISO 6579:n selektiiviselle maljalle.

- Hyväksyntäkriteeri: >10 salmonellalle tyypillistä pesäkettä

MKTTn (Muller-Kauffmann tetrationsaattinovobiosiini) 2/3



SELEKTIIVISYYSTESTAUS, kahdella eri mikrobilla, omissa putkissaan

- 1 x 10 ml putki, jossa yhtä mikrobikantaa
 - Escherichia coli WDCM 00012 $10^4 - 10^6$ pmy/10 ml TAI
 - Escherichia coli WDCM 00013 $10^4 - 10^6$ pmy /10 ml
- Inkubointi ISO 6579:n mukaisesti, kts. liite B, taulukko B.1. Putkesta viljellään 10 µl silmukallinen TSA-maljalle.
- Hyväksyntäkriteeri: Osittainen inhibitio, ≤ 100 pesäkettä TSA-maljalla.

SEKÄ

- 1 x 10 ml putki, jossa yhtä mikrobikantaa
 - Enterococcus faecalis WDCM 00009 $10^4 - 10^6$ pmy/10 ml TAI
 - Enterococcus faecalis WDCM 00087 $10^4 - 10^6$ pmy/10 ml

>Inkubointi ISO 6579:n mukaisesti, kts. liite B, taulukko B.1. Putkesta viljellään 10 µl silmukallinen TSA-maljalle.

- Hyväksyntäkriteeri: < 10 pesäkettä TSA-maljalla.

MKTT (Muller-Kauffmann tetrationsaattinovobiosiini) 3/3

Keittoerien testaus esimerkiksi:

TUOTTAVUUSTESTAUS:

1 x 10 ml putki, jossa yhtä mikrobikantaa

- *Salmonella Enteritidis* (Eviran suosittalema kanta *Salmonella enterica* subsp. *salamae* serotype *Tranaroa*) ≤ 100 pmy/siirros TAI
- *Salmonella Typhimurium* WDCM 00031 ≤ 100 pmy/siirros

>Inkubointi ISO 6579:n mukaisesti, putkesta viljellään 10 μ l silmukallinen TSA-maljalle viivana tai hajotusviljelynä.

Hyväksyntäkriteeri: Yhtenäisen kasvun viiva tai ≥ 10 pesäkettä.

SELEKTIIVISYYSTESTAUS:

1 x 10 ml putki, jossa yhtä mikrobikantaa

- *Enterococcus faecalis* WDCM 00009 $> 10^4$ pmy/siirros TAI
- *Enterococcus faecalis* WDCM 00087 $> 10^4$ pmy/siirros

- RVS, 3 kpl 10 ml putkia

TUOTTAVUUSTESTAUS:

- 1 x 10 ml putki, jossa kolmea eri mikrobia
- Salmonella Enteritidis (Eviran suosittelema kanta Salmonella enterica subsp. salamae serotype Tranaroa) ≤ 100 pmy/10 ml TAI
- Salmonella Typhimurium WDCM 00031 ≤ 100 pmy/10 ml

SEKÄ

- Escherichia coli WDCM 00012 $\geq 1\ 000$ pmy/10 ml TAI
- Escherichia coli WDCM 00013 $\geq 1\ 000$ pmy/10 ml

SEKÄ

- Pseudomonas aeruginosa WDCM 00025 $\geq 1\ 000$ pmy/10 ml

>Inkubointi ISO 6579:n mukaisesti, kts. liite B.1. Putkesta viljellään 10 μ l silmukallinen XLD-maljalle tai muulle ISO 6579:n selektiiviselle maljalle.

- Hyväksyntäkriteeri: >10 salmonellalle tyypillistä pesäkettä

SELEKTIIVISYYSTESTAUS, kahdella eri mikrobilla, omissa putkissaan

- 1 x 10 ml putki, jossa yhtä mikrobikantaa
 - Escherichia coli WDCM 00012 $10^4 - 10^6$ pmy/10 ml TAI
 - Escherichia coli WDCM 00013 $10^4 - 10^6$ pmy /10 ml
- Inkubointi ISO 6579:n mukaisesti, kts. liite B, taulukko B.1. Putkesta viljellään 10 µl silmukallinen TSA-maljalle.
- Hyväksyntäkriteeri: Osittainen inhibitio, ≤ 100 pesäkettä TSA-maljalla.

SEKÄ

- 1 x 10 ml putki, jossa yhtä mikrobikantaa
 - Enterococcus faecalis WDCM 00009 $10^4 - 10^6$ pmy/10 ml TAI
 - Enterococcus faecalis WDCM 00087 $10^4 - 10^6$ pmy/10 MI

>Inkubointi ISO 6579:n mukaisesti, kts. liite B, taulukko B.1. Putkesta viljellään 10 µl silmukallinen TSA-maljalle.

- Hyväksyntäkriteeri: < 10 pesäkettä TSA-maljalla.

Keittoerien testaus esimerkiksi:

TUOTTAVUUSTESTAUS:

1 x 10 ml putki, jossa yhtä mikrobikantaa

- *Salmonella Enteritidis (Eviran suosittelema kanta Salmonella enterica subsp. salamae serotype Tranaroa) ≤ 100 pmy/siirros TAI*
- *Salmonella Typhimurium WDCM 00031 ≤ 100 pmy/siirros*

>Inkubointi ISO 6579:n mukaisesti, putkesta viljellään 10 μ l silmukallinen TSA-maljalle viivana tai hajotusviljelynä.

Hyväksyntäkriteeri: Yhtenäisen kasvun viiva tai ≥ 10 pesäkettä.

SELEKTIIVISYYSTESTAUS:

1 x 10 ml putki, jossa yhtä mikrobikantaa

- *Enterococcus faecalis WDCM 00009 $> 10^4$ pmy/siirros TAI*
- *Enterococcus faecalis WDCM 00087 $> 10^4$ pmy/siirros*

MSRV (Modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis agar) 1/3

- MSRV, 3 kpl maljoja

TUOTTAVUUSTESTAUS:

- 1 x malja, jolla yhtä mikrobikantaa
 - Salmonella Enteritidis (Eviran suosittelema kanta Salmonella enterica subsp. salamae serotype Tranaroa) 10^3 - 10^4 pmy/siirros TAI
 - Salmonella Typhimurium WDCM 00031 10^3 - 10^4 pmy/siirros

Viljely maljalle 0,1 ml pisaroina (1-3 kpl). Inkubointi ISO 6579:n mukaisesti kts. liite B, taulukko B.1.

- Hyväksyntäkriteeri: Harmaanvalkea saostumavyöhyke levittäytyy siirrostuskohdasta. 24 h – 48 h kuluessa saostumavyöhyke peittää koko alustan. Mahdollinen lisävarmistus: tyypilliset pesäkkeet XLD:lle siirrostamisen jälkeen.

MSRV (Modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis agar) 2/3

SELEKTIIVISYYSTESTAUS, kahdella eri mikrobilla, omilla maljoillaan

- 1 x malja, jolla yhtä mikrobikantaa
 - Escherichia coli WDCM 00012 $10^4 - 10^6$ pmy/10 ml TAI
 - Escherichia coli WDCM 00013 $10^4 - 10^6$ pmy /10 ml

Viljely maljalle 0,1 ml pisaroina (1-3 kpl). Inkubointi ISO 6579:n mukaisesti kts. liite B, taulukko B.1.

- Hyväksyntäkriteeri: Mahdollisesti kasvua siirrostuskohdissa, ei saostumavyöhykettä

SEKÄ

- 1 x malja, jolla yhtä mikrobikantaa
 - Enterococcus faecalis WDCM 00009 $10^4 - 10^6$ pmy/10 ml TAI
 - Enterococcus faecalis WDCM 00087 $10^4 - 10^6$ pmy/10 MI

>Viljely maljalle 0,1 ml pisaroina (1-3 kpl), kts. liite B, taulukko B.1.

- Hyväksyntäkriteeri: Ei kasvua.

MSRV (Modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis agar) 3/3



Keittoerien testaus esimerkiksi:

TUOTTAVUUSTESTAUS:

1 x malja, jolla yhtä mikrobikantaa

- *Salmonella Enteritidis* (Eviran suosittelema kanta *Salmonella enterica* subsp. *salamae* serotype *Tranaroa*) $10^3 - 10^4$ pmy/siirros TAI
- *Salmonella Typhimurium* WDCM 00031 $10^3 - 10^4$ pmy/siirros

Viljely maljalle 0,1 ml pisaroina (1-3 kpl). Inkubointi ISO 6579:n mukaisesti kts. liite B, taulukko B.1.

Hyväksyntäkriteeri: Hyväksyntäkriteeri: Harmaanvalkea saostumavyöhyke levittäytyy siirrostuskohdasta. 24 h – 48 h kuluessa saostumavyöhyke peittää koko alustan.
Mahdollinen lisävarmistus: tyypilliset pesäkkeet XLD:lle siirrostamisen jälkeen.

SELEKTIIVISYYSTESTAUS:

1 x malja, jolla yhtä mikrobikantaa

- *Enterococcus faecalis* WDCM 00009 $10^4 - 10^6$ pmy/siirros TAI
- *Enterococcus faecalis* WDCM 00087 $10^4 - 10^6$ pmy/siirros

Viljely maljalle 0,1 ml pisaroina (1-3 kpl). Inkubointi ISO 6579:n mukaisesti kts. liite B, taulukko B.1. Hyväksyntäkriteeri: Ei kasvua.

- XLD, 3 kpl maljoja

TUOTTAVUUSTESTAUS:

- 1 x malja, jolla yhtä mikrobikantaa
 - Salmonella Enteritidis (Eviran suosittelen kanta Salmonella enterica subsp. salamae serotype Tranaroa) 10^3 - 10^4 pmy/siirros TAI
 - Salmonella Typhimurium WDCM 00031 10^3 - 10^4 pmy/siirros

>Viljely maljalle siten, että muodostuu erillispesäkkeitä. Inkubointi ISO 6579:n mukaisesti, kts. liite B, taulukko B.1.

- Hyväksyntäkriteeri: Hyvä kasvu, pesäkkeiden koko ja ulkonäkö tyypilliset.

SELEKTIIVISYYSTESTAUS, kahdella eri mikrobilla, omilla maljoillaan

- 1 x malja, jolla yhtä mikrobikantaa
 - Escherichia coli WDCM 00012 $10^4 - 10^6$ pmy/10 ml TAI
 - Escherichia coli WDCM 00013 $10^4 - 10^6$ pmy /10 ml
- Viljely 1 μ l silmukalla maljalle esimerkiksi viivaksi. Inkubointi ISO 6579:n mukaisesti, kts. liite B, taulukko B.1.
- Hyväksyntäkriteeri: Heikko kasvu tai ei kasvua, mahdolliset pesäkkeet keltaisia.

SEKÄ

- 1 x malja, jolla yhtä mikrobikantaa
 - Enterococcus faecalis WDCM 00009 $10^4 - 10^6$ pmy/10 ml TAI
 - Enterococcus faecalis WDCM 00087 $10^4 - 10^6$ pmy/10 MI
- Viljely 1 μ l silmukalla maljalle esimerkiksi viivaksi. Inkubointi ISO 6579:n mukaisesti, kts. liite B, taulukko B.1.
- Hyväksyntäkriteeri: Ei kasvua.

XLD (Xylose Lysine Deoxycholate agar) 3/3



Keittoerien testaus esimerkiksi:

TUOTTAVUUSTESTAUS:

1 x malja, jolla yhtä mikrobikantaa

- *Salmonella Enteritidis* (Eviran suosittelema kanta *Salmonella enterica* subsp. *salamae* serotype *Tranaroa*) $10^3 - 10^4$ pmy/siirros TAI
- *Salmonella Typhimurium* WDCM 00031 $10^3 - 10^4$ pmy/siirros

Viljely maljalle siten, että muodostuu erillispesäkkeitä. Inkubointi ISO 6579:n mukaisesti kts. liite B, taulukko B.1.

Hyväksyntäkriteeri: Hyvä kasvu, pesäkkeiden koko ja ulkonäkö tyyppilliset.

SELEKTIIVISYYSTESTAUS:

1 x malja, jolla yhtä mikrobikantaa

- *Enterococcus faecalis* WDCM 00009 $10^4 - 10^6$ pmy/siirros TAI
- *Enterococcus faecalis* WDCM 00087 $10^4 - 10^6$ pmy/siirros

Viljely 1 μ l silmukalla maljalle esimerkiksi viivaksi. Inkubointi ISO 6579:n mukaisesti, kts. liite B, taulukko B.1.

Hyväksyntäkriteeri: Ei kasvua.