



Smitstofreduktion i biomasse

Det veterinære forsøgsprogram i biogasfællesanlæg

Bind II: Del-rapporter og bilag 1995



Landbrugs- og Fiskeriministeriet

Veterinærdirektoratet

KØBENHAVN 1995

SMITSTOFREDUKTION I BIOMASSE

RAPPORT VEDRØRENDE DET VETERINÆRE FORSØGSPROGRAM I

BIOGASFÆLLESANLÆG

BIND II: DEL-RAPPORTER OG BILAG 1995

UDARBEJDET AF

OLAF BENNETZEN
FLEMMING BOISEN,
BENT ESPENSEN
MAJA KRAGLUND HOLFORT
J. CHR. JØRGENSEN
UFFE S. MIKKELSEN
ERNST TRIBLER
MARIE THISGAARD
FRA MLK LABORATORIERNE

MORTEN ESKILDSSEN
PER HAVE
VIBEKE FRØKJÆR JENSEN
FRA SVIV

BIRGITTE AHRING
BENTE LUND
GERT JUNGENSEN
FRA DTI

KOORDINERET AF

H.J. BENDIXEN

FORORD

I nærværende BIND II: DEL-RAPPORTER OG BILAG findes en samling beretninger om undersøgelser udført som en del af det veterinære forsøgsprogram. De er udarbejdet af de personer, der har udført det pågældende arbejde. Emneområdet er bredt, idet det er hensigten at belyse problemerne omkring smitstofreduktion i biomasse under behandlingen i biogasanlæg fra så mange vinkler som muligt. Bidragene udgives samlet. På den måde udgør de et let tilgængeligt supplement til BIND I: HOVED-RAPPORTEN. I denne gives et koncentreret overblik over resultaterne, i BIND II kan interesserede søge indblik i tekniske detaljer i kildematerialet. De enkelte arbejder vil blive publiceret som videnskabelige artikler eller praktiske meddelelser i relevante tidsskrifter.

Det fremgår af emnerne for de 11 del-rapporter, at det veterinære forsøgsprogram har været baseret på et nært samarbejde mellem personalet ved Miljø- og Levnedsmiddelkontrolens laboratorier. Her er de løbende undersøgelser i biogafællesanlæggene gennemført. Dette basismateriale er i vidt omfang blevet brugt til mere systematisk forsøgsarbejde. Samarbejdet har manifesteret sig i etableringen af en *ad hoc* Laboratoriegruppe, se side IV. Der har været en nær forbindelse til Statens veterinære Institut for Virusforskning (SVIV) og Dansk Teknologisk Institut's afdeling for Bioteknik (DTI), hvor de mere forskningsprægede undersøgelser er gennemført.

Det har været en opmuntring, at BFAernes bestyrelse og driftsledelse har vist stor imødekommenhed, når der skulle indsamles prøver og oplysninger vedrørende anlæggenes drift.

Undersøgelserne påbegyndtes i sommeren 1992 og afsluttedes i foråret 1995. Arbejdet i de forskellige forsøgsprojekter er koordineret af H.J. Bendixen, der har udarbejdet nærværende rapport.

I BIND I: HOVED-RAPPORT findes en oversigt over undersøgelserne og et kort referat af resultaterne. En sammenfatning findes i Kapitel 6 på side 110.

INDHOLDSFORTEGNELSE

BIND II: DEL-RAPPORTER OG BILAG

BILAG I	Metodeforslag - Miljøbiologisk undersøgelse - Bestemmelse af streptococcer i biomasser ved pladespredningsmetoden	11 sider
BILAG II	Olaf Bennetzen og Uffe S. Mikkelsen: FS-metodens anvendelighed som hygiejnisk kontrolparameter	17 sider
BILAG III	Bent Espensen: Praktiske forsøg med smitstofreducerende behandling af husholdningsaffald	18 sider
BILAG IV	Flemming Boisen: Kortlægning af fækale streptococcers vækstforhold i biogasanlæg	17 sider
BILAG V	Uffe S. Mikkelsen og Olaf Bennetzen: Vækstforhold i ubehandlet og termofilt stabiliseret biomasse af evt. patogener belyst ved fækale streptokokkers vækstbetingelser	19 sider
BILAG VI	Flemming Boisen: Patogene bakteriers vækstforhold i biomasse	11 sider
BILAG VII	Olaf Bennetzen: Mikrobiologiske forhold i decentrale biomassetanke i Ribe biogasanlæg	16 sider
BILAG VIII	Maja Kraglund Holfort: Kortlægning af indholdet af sygdoms fremkaldende bakterier i affald, der leveres til biogasanlæg	10 sider
BILAG IX	Uffe S. Mikkelsen og Olaf Bennetzen: Kildesorteret affald i biogasfællesanlæg. Betydningen af varmetransmissionen i knogler for kontrolleret hygiejnisering af kildesorteret affald.	5 sider
BILAG X	Birgitte Ahring, Bente Lund og Gert Jungersen, DTI, og Per Have og Vibeke Frøkjær Jensen, SVIV: Modelstudier vedrørende overlevelse af virus i gyllebaseret biomasse under udrådning i laboratorie-skala biogasanlæg	75 sider
BILAG XI	Vibeke Frøkjær Jensen og Per Have, SVIV: Overlevelse af virus i animalske produkter ved udrådning/hygiejnisering i gylle under anaerobe forhold.	54 sider

AKRONYMER

Biogasfællesanlæg	BFA
Bovint enterovirus	BEV
Bovin virusdiarrhoe	BVD
Dansk Standard	DS
Dansk Teknologisk Institut, Afdeling for Bioteknik	DTI
Fækale streptokokker	FS
Hazard Analysis - Critical Control Points	HACCP
Hydraulisk opholdstid	HRT
Infektøs bovin rhinotracheitis	IBR
Klassisk svinepest	CSF
Miljø- og levnedsmiddelkontrollaboratorium	MLK
Mindste garanterede tilbageholdelsestid	MGRT
Morbus Aujeszkyi, Aujeszky's sygdom	MA
Mund- og klovesyge	MKS
Porcint Parvovirus	PPV
Smitsom mave-tarmbetændelse hos svin	TGE
Statens veterinære Institut for Virusforskning	SVIV
Statens veterinære Serumlaboratorium	SVS
Veterinærdirektoratet	VD

MEDLEMMER AF LABORATORIEGRUPPEN VED DET VETERINÆRE FORSØGSPROGRAM

Stadsdyrlæge Ernst Tribler (indtil maj 1993)
Miljø- og levnedsmiddelkontrollen
Industrivej 30 B 6760 Ribe

Afdelingsdyrlæge Olaf Bennetzen
Miljø- og levnedsmiddelkontrollen
Industrivej 30 B 6760 Ribe

Laboratoriefachef Uffe S. Mikkelsen
MLK Sønderjylland I/S
Ole Rømersvej 30 6100 Haderslev

Afdelingsdyrlæge Bent Espensen
MLK Vestjylland I/S - Herning
Wedelsborgvej 8 7400 Herning

Afdelingsdyrlæge Maja Kraglund Holfort
Hygiejnisk Forvaltning
Ollerupvej 8 9100 Aalborg

Stadsdyrlæge Ulla Brander og dyrlæge J.Chr. Jørgensen
MLK Hjørring
Åstrupvej 53 9800 Hjørring

Stadsdyrlæge Niels-Ole Bjerregaard og dyrlæge Marie Thisgaard
MLK Vestjylland I/S - Holstebro
Gartnerivej 5 7500 Holstebro

Afdelingsdyrlæge Flemming Boisen
MLK FYN I/S
Lille Tornbjerg Vej 24 5220 Odense SØ

Afdelingsforstander Per Have og dyrlæge Vibeke Frøkjær Jensen
Statens Veterinære Institut for Virusforskning
Lindholm 4771 Kalvehave

Dyrlæge Linda Bagge
Miljøstyrelsen
Strandgade 29 1401 København K

Birgitte Ahring, Bente Lund og Gert Jungersen
Dansk Teknologisk Institut, Afdeling for Bioteknik
Gregersensvej, Postboks 141 2630 Taastrup

BILAG I

METODEFORSLAG
MILJØBIOLOGISK UNDERSØGELSE
BESTEMMELSE AF FÆKALE STREPTOCOCCER I BIOMASSER
VED PLADESPREDNINGSMETODEN

BILAG TIL
SMITSTOFREDUKTION I BIOMASSE
RAPPORT VEDRØRENDE
DET VETERINÆRE FORSØGSPROGRAM
I
BIOGASFÆLLESANLÆG

BIND II: DEL-RAPPORTER OG BILAG 1995

METODEFORSLAG

MILJØBIOLOGISK UNDERSØGELSE BESTEMMELSE AF FÆKALE STREPTOCOCCER I BIOMASSER VED PLADESPREDNINGSMETODE

1. FORMÅL

Denne metode (FS-metoden) specificerer en mikrobiologisk teknik til påvisning og tælling af fækale streptococcer i gylle, slam, organisk affald blandet med gylle, o.lign. produkter fra biogasfællesanlæg (biomasse).

2. EMNE OG ANVENDELSESOMRÅDE

FS-metoden kan anvendes til undersøgelse af gylle og slam, samt blandinger af disse, og desuden til undersøgelse af organisk materiale, hvor størsteparten af biomassen består af gylle.

Etableringen af biogasfællesanlæg giver mulighed for behandling af affald bestående af gylle, slam, organisk materiale som slagteriaffald og kildesorteret husholdningsaffald m.v. under produktion af gas samt biomasser, der kan recykleres. Genudlægning af biomasser på jord (landbrug og gartneri) medfører imidlertid en øget risiko for spredning af smitstoffer (bakterier, vira, parasitter) til dyr og mennesker. Herved opstår sikkerhedskrav med hensyn til fjernelse af smitstoffer i gødning og affald (biomasse) før udbringning på jord. For visse kategorier af affald kan smitstofreduktion i tilstrækkeligt omfang opnås ved termofil anaerob stabilisering i reaktortanke. Andre kategorier af affald synes for at være mere smitstofbelastede, hvorfor der kræves en kontrolleret hygiejnisering (minimum 70°C i minimum 1 time, eller tilsvarende hygiejnisering).

Den smitstofreducerende effekt i biogasfællesanlægget ønskes kontrolleret ved hjælp af en mikrobiologisk undersøgelse.

Fækale streptococcer kan benyttes som indikatorbakterier til måling af den smitstofreducerende effekt. Den smitstofregulerende effekt kan opnås i temperaturområdet op til 60°C ved den behandling af biomasse, som udføres i hygiejniseringsstanke og digestionstanke. En reduktion i antal fækale streptococcer pr. gram biomasse på 3-4 log₁₀-enheder svarer til en varme/tid påvirkning, der er i stand til at fjerne en række smitstoffer (f.eks. Svinepestvirus og Salmonellabakterier) samt svække mange parasitters viabilitet (f.eks. Ascaris). Fækale streptococcer kan desuden benyttes som indikatorbakterier til at vurdere et biogasanlægs samlede smitstofreducerende kapacitet, der er et alment udtryk for den hygiejniske standard ved anlægget og den færdigbehandlede biomasses mikrobiologiske kvalitet.

3. DEFINITION

Ved fækale streptococcer forstås i forbindelse med denne metodebeskrivelse Gram positive, ovoide til langovale coccer, der optræder parvis eller i korte kæder, og som på det foreskrevne natriumazid-tetrazoliumsubstrat i løbet af den angivne inkubationstid danner kolonier, som ved reduktion af trifenyl-tetrazoliumklorid til formazan fremtræder med rød, rødbrun eller lyserød farve af hele kolonien eller i centrum, evt. omgivet af en smal hvid zone. Det er en forudsætning for fremkomst af typiske reducerende kolonier, at disse ikke ligger for tæt, da reduktionen af redoksindikatoren ellers kan udeblive. Fækale streptococcer er endvidere katalase negative, æskulin positive og kan vokse ved 44°C.

Definitionen omfatter genus *Enterococcus*: *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus avium*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus durans* (*Enterococcus malodoratus*, *Enterococcus casseliflavus*) samt andre fækale streptococcer: *Streptococcus bovis*, *Streptococcus suis* og *Streptococcus equinus*, der alle tilhører Lancefields gruppe D eller reagerer med gruppe D serum.

4. PRINCIP

Antallet af fækale streptococcer bestemmes ved udsæd af kendte mængder biomasse på overfladen af et egnet selektivt/indikativt substrat, Enterococ-agar efter Slanetz & Bartley. Efter 48 timers inkubation ved 37°C tælles typiske kolonier. Suspekter kolonier verificeres ved Gram-farvning og mikroskopi. Resultatet angives som fækale streptococcer pr. gram eller ml. af den ufortyndede prøve.

5. APPARATUR

- a. Stomacher homogeniseringsudstyr og sterile stomacherposer.
- b. Lufttermostat til $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- c. Autoklave.
- d. Kulturrør, sterile 20 ml.
- e. Petriskåle, sterile \varnothing 14 cm.
- f. Pipetter, sterile til afmåling af 1,0 ml, 0,5 ml og 0,1 ml.
- g. Drigalski spatler eller tilsvarende, sterile.
- h. Mikroskoper (Lysmikroskop og Stereomikroskop).

6. DYRKNINGSSUBSTRAT OG FORTYNDINGSVÆSKE

Alle kemikalier skal være af analysekvalitet.

Ved fremstillingen af substrat og fortyndingsvæske kan i stedet for glasdestilleret vand anvendes vand af tilsvarende kvalitet. I stedet for nedennævnte dyrkningssubstrat kan anvendes kommercielt substrat af tilsvarende kvalitet.

6.1. Fortyndingsvæske

Phosphatbuffer:

Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4), vandfrit	42,5 mg*
Magnesiumchlorid (MgCl_2), vandfrit	190,0 mg*
Destilleret vand	1000,0 ml.

*) Mængden er angivet som vandfrit stof. Der skal derfor korrigeres for molekylært vand.

Autoklaver ved 121°C i 15 minutter. Slut pH skal være $7,0 \pm 0,1$.

6.2 Dyrkningssubstrat (basissubstrat, kommercielt tilvirket)

Enterococcus selektiv Agar efter Slanetz & Bartley.

Pepton	20,0 g
Gærekstrakt	5,0 g
Glukose	2,0 g
Dikaliumhydrogenfosfat ($K_2HPO_4 \cdot 2H_2O$)	4,0 g
Natriumazid (NaN_3)	0,4 g
Agar	10,0 g
Destilleret vand	1000 ml
Tilsætning:	
Tetrazolium (2,3,5 trifenyl-tetrazoliumklorid)	0,1 g

Indstil det færdige substrat på pH $7,2 \pm 0,1$.

Opløs basissubstratet i henhold til forskriften og steriliser ved opvarmning i strømmende damp i 20 minutter.

Tilsæt umiddelbart før brug 1 ml steril filtreret 1% opløsning af tetrazoliumklorid til 100 ml af det smeltede og til $50^\circ C$ afkølede basissubstrat.

Hæld substratet under aseptiske betingelser i mængder af 35 ml i sterile petriskåle (5e), som henstår til agaren er stivnet, og overfladen er tør og fri for kondensvand. Det er hensigtsmæssigt, at petriskålene med substrat tørres, inden brug.

7. FREMGANGSMÅDE VED ANALYSEN

7.1 Homogenisering

Bland prøven ved forsigtig omrøring eller vending af prøvebeholderen 10 gange.

Meget inhomogene prøver skal findeles.

Afvej 20,0 gram prøve i en stomacherpose og tilsæt 180 ml fortyndingsvæske (6.1). Homogeniser blandingen i 30 sekunder i stomacher (5a).

7.2 Fortynding

Fremstil ud fra den homogeniserede prøve (7.1), 10-foldsfortyndinger med fortyndingsvæske (6.1). Afpas fortyndingsgraden til den enkelte type biomasse, således at substratet ikke overvokses, jf. vejledningen under 7.3, udsæd.

7.3 Udsæd

Udså 0,1 ml fra et passende antal fortyndinger af biomassen på overfladen af det stivnede og tørrede dyrkningssubstrat. Fordel prøven jævnt med Drigalski spatel til ca. 1 cm fra kanten af 14 cm petriskålen med en steril, vinkelbøjet glasstav el.lign.

Følgende udsædsmængder er vejledende:

Af gylle fra reaktortank (termofil udrådning) og udgasset biomasse fra lager efter termofil udrådning, samt biomasse efter afsluttet behandling i hygiejniseringskammer udsås 0,1 ml af fortyndingerne 10^{-1} og 10^{-2} .

Af rå gylle, gylle fra reaktortank (mesofil udrådning) og udgasset biomasse fra lager efter mesofil udrådning udsås 0,1 ml af fortyndingerne 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} .

Af biomasse med forventet højt indhold af fækale streptococcer udsås 0,1 ml af fortyndingerne 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} .

Ved udsæd af 0,1 ml af fortyndingen 10^{-1} er FS-metodens påvisningsgrænse 100 pr. gram.

Hvis der ønskes en lavere påvisningsgrænse af hensyn til beregning af log₁₀-differenten kan der udsås: 2 x 0,1 ml af fortyndingen 10^{-1} på 2 plader, svarende til påvisningsgrænse 50 pr. gram, eller 2 x 0,5 ml af fortyndingen 10^{-1} på 2 plader, svarende til påvisningsgrænse 10 pr. gram.

7.4 Dyrkning

Når inokulatet er trukket ind i dyrkningssubstratet, placeres petriskålene med bunden opad i termostatkab (5b) til inkubering ved 37°C i 48 timer.

8 AFLÆSNING OG VERIFIKATION

8.1 Aflæsning

Foretag aflæsning efter 48 timer \pm 2 timer.

Som typiske kolonier tælles kolonier, der er røde, rødbrune til lyserøde af farve, ofte omgivet af en smal hvid zone, hvælvede og helrandede og med en størrelse mellem 0,5 mm og 3 mm. Ufarvede kolonier tælles ikke. Der bør såvidt muligt tælles på agarplader, hvor kolonitallet er mellem 20 og 200. Disse kolonier betragtes som præsumptive fækale streptococcer.

8.2 Verifikation

I nogle biomasser kan der forekomme falske positive kolonier. Disse kolonier kan undertiden erkendes ved stereomikroskopi, idet de ikke fremtræder som runde og helrandede, men nærmest som myceloid-takket til trådformet i kanten. Ved mikroskopi (lysmikroskop eller fasekontrast) af de falske positive kolonier ses disse ofte at bestå af stavbakterier af varierende længde.

Der foretages derfor identifikation af 5-10 kolonier ved gramfarvning og mikroskopi.

Som fækale streptococcer regnes kolonier, der opfylder kriterierne for farve og størrelse, fremtræder runde, helrandede og med glat, let konveks overflade, og som ved mikroskopi fremtræder som ovoide til langovale, små Gram positive coccer, liggende parvis eller i kæder.

Vækst af *Viridans Streptococcus*, *Lactis Streptococcus*, *Leuconostoc* spp., *Pediococcus* spp., *Aerococcus* spp. og *Lactobacillus* spp. kan ikke udelukkes på det anvendte medium, men forekomsten vil ofte give små kolonier, afvigende kolonier eller ændret mikroskopisk billede. I visse tilfælde kan fækale streptococcer vokse som falske negative med kolonistørrelse mindre end 0,5 mm. Ved anvendelse af FS-metoden på biomasser af overvejende fækal oprindelse har disse afvigelser ingen praktisk betydning for beregning af log₁₀-differenten. Såfremt der er behov for yderligere identifikation af fækale streptococcer, f. eks. ved behandling af nye eller væsentlig ændrede biomasser, kan der udføres supplerende biokemiske reaktioner bl.a.: katalasetest (fækale streptococcer er katalase negative) og hydrolyse på galde-æskulin-azid agar ved 44°C i 48 timer (fækale streptococcer giver kolonierne og/eller det omgivende substrat en sort til gyldenbrun farve).

9. UDREGNING OG ANGIVELSE AF RESULTAT

9.1 Antal fækale streptococcer

Beregn antallet af fækale streptococcer som procent (%) verificerede kolonier af det totale antal typiske kolonier (8.1). (Præsumptive fækale streptococcer).

Angiv resultatet som antal fækale streptococcer pr. gram eller ml, med max. 2 betydende cifre.

9.2 Eksempel

Antal præsumptive fækale streptococcer ved udsæd af 0,1 ml af fortyndingen 10^{-4} er talt til 73. Ved verifikation af 10 kolonier er 8 kolonier identificeret som typiske Gram positive langovale parvis eller i kæder liggende coccer:

Antal fækale streptococcer pr. gram eller ml.

$$er = \frac{73 \times 8 \times 10.000}{10} = 58.400 \approx 58.000$$

10

Hvis det er nødvendigt at tælle på 2 plader omkring 20 og 200 er det en forudsætning, at $chi^2 < 3,84$ for at kolonitallene kan indgå i beregningen.

Kolonitallene adderes, og der divideres med den samlede udsædsdosis.

9.3 Måling af smitstofreducerende effekt.

Ved biogasfællesanlæggets smitstofreducerende effekt forstås den samlede virkning på henfaldet af fækale streptococcer ved behandling af biomassen under passagen gennem alle anlæggets afsnit.

Den smitstofreducerende effekt kan udtrykkes kvantitativt ved at bestemme den logaritmiske forskel mellem antal fækale streptococcer i den ubehandlede og den behandlede biomasse.

10. REFERENCER

- Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume 2, section 12, 1986.
- Reuter, G.: Culture media for enterococci and group D-streptococci.
International Journal of Food Microbiology, 17, 101-111, 1992.

Dette metodeforslag er udarbejdet af Flemming Boisen, Odense på baggrund af metodeoplæg fra Irene Simoni, Odense, Uffe Mikkelsen, Haderslev og Olaf Bennetzen, Ribe samt rådgivning fra Bent Espensen, Herning, Marie Thiesgaard, Holstebro, Maja Kraglund Holfort, Ålborg og Jens Chr. Jørgensen, Hjørring ved møde i København d. 25 november 1992. Desuden indgår forslag fra Hans Jørgen Bendixen og vedtagelser på laboratoriegruppens møde i Herning d. 16 marts 1993, og Holstebro den 11. november 1993 samt supplerende bemærkninger fra ovennævnte deltagere.

Appendix: Prøveudtagning af biomasser.

APPENDIX

PRØVEUDTAGNING AF BIOMASSER TIL MILJØBIOLOGISK UNDERSØGELSE AF FÆKALE STREPTOCOCCER

1. REFERENCER.

DS 2250: 1983, Vandundersøgelse. Prøvetagning, transport og opbevaring af prøver til mikrobiologiske analyser.

Særlige regler for prøvetagning m.v. af biomasser kan f.eks. indarbejdes i DS 2250 i forbindelse med en revision af standarden.

Alternativt kan særlige regler for prøvetagning udarbejdes i et appendix til denne metode, efter følgende principper:

2. FØRMGANGSMÅDE VED PRØVEUDTAGNING.

Prøven udtages af særligt trænet personale (kan evt. defineres nærmere). Der udfærdiges en prøvetagningsrapport med oplysninger om prøvens identitet, art, opsamlingssted, tidspunkt for opsamling og eventuelle oplysninger om uregelmæssigheder i driften eller opsamlingsbetingelserne.

3.1 PRØVEUDTAGNINGSMATERIALER.

Prøvehenter, øse, spand, plastbeholder, plastikpose, der rummer 2-5 liter.

Transportkasse/termocontainer.

Ved genbrug af spande og øser m.v. på et anlæg, skal der sikres mulighed for rengøring (og desinfektion) mellem de enkelte prøveudtagninger.

2.2 UDTAGNING AF PRØVER AF BIOMASSEN.

Det bør tilstræbes, at prøven udtages direkte fra tanke, depoter og lignende, og at den udgør et repræsentativt udsnit af biomassen i den del af anlægget, hvorfra den opsamles. Biomassen i tanken skal så vidt muligt være omrørt før prøven udtages.

Prøverne kan udtages med egnede redskaber (prøvefanger, øse, spand) direkte fra beholderen. Prøverne kan også opsamles gennem aftapningshane, der først skal gennemskylles med frisk biomasse, ligesom urenheder må være fjernet, evt. ved flambering.

2.3 PRØVEMÆNGDE.

Prøverne udtages efter forholdene som en samlet prøve eller som 5-10 delprøver, der pooles i en steril plastbeholder, plastpose eller glasbeholder af hensigtsmæssig konstruktion.

Af faste og halvfaste biomasser udtages mindst 1 kg.

Af flydende og halvflydende biomasser udtages mindst 1 liter.

Prøverne transporteres i egnet transportkasse til laboratoriet, hvor undersøgelsen påbegyndes snarest mulig.

Såfremt undersøgelsen ikke påbegyndes senest 4 timer efter prøvetagningstidspunktet skal prøverne opbevares på køl ved 0-5°C.

Laboratorieundersøgelsen skal være påbegyndt senest 24 timer efter prøvetagningstidspunktet.