

## Nyhetsbulletengen for Nordisk Metodikkomité for Næringsmidler

### Innhold:

### NMKLs 57. årsmøte på Marstrand, 23-26. august 2003

#### Nye NMKL-metoder.

##### Side 2:

- *Staphylococcus aureus*. Bestemmelse i næringsmidler.
- Aflatoxin M<sub>1</sub> i mjølk og torr-mjølk. Bestämning med HPLC efter opprening på immunoaffinitetskolonn.

##### Side 3:

- *Enterococcus*. Bestemmelse i næringsmidler og fôr.
- Proteiner. Kvalitativ metod för att påvisa vissa proteiner (allergener) i livsmedel med immunodiffusion.

#### Inndragelse av metoder.

##### Side 2:

- Aerobe mikroorganismer. Antall ved 30°C. Bestemmelse i næringsmidler ved petrifilm.
- Koliforme bakterier og *Escherichia coli* i næringsmidler. Bestemt ved petrifilmTM.

#### Nye priser side 2

#### Ekspertlaboratorier i Norden side 3

#### GMO seminar side 4

#### NordVal side 4

Den svenske nasjonalkomiteen i NMKL, med Ulla Edberg, Statens Livsmedelsverk, som leder, inviterte NMKLs medlemmer til å avholde sitt 57. årsmøte på Marstrand, en bilfri øy på Sveriges vakre vestkyst. Omkring 60 medlemmer deltok. NMKLs medlemmer er utvalgte eksperter innenfor næringsmiddelanalyser, som representerer næringsmiddelmyndigheter, - industri og aktuelle forskningsinstitusjoner. Medlemmene nedlegger et stort stykke arbeide i å fremskaffe gode analysemetoder og prosedyrer. Mye arbeid gjøres utenom ordinær arbeidstid og med stort engasjement. Årsmøtene er ingen unntak i så henseende. Samtlige emner, (>50) på arbeidsprogrammet ble gjennomgått. En oppdatert liste over emnene, samt hvor de befinner seg i NMKL-systemet, finnes på NMKLs webside under arbeidsprogram.



Store deler av årsmøtet foregår i følgende fagkomiteer:

- Kjemi, som ledes av Prof. Kåre Julshamn, IFES, Norge
- Mikrobiologi, som ledes av Dr. Maija Hatakka, Livsmedelsverket, Finland
- Sensorikk, som ledes av Dr. Halina Agerhem, SIK, Sverige

I plenum, som ledes av NMKLs formann Ole Bjørn Jensen, Scanpharm AS, informeres det fra NMKLs samarbeidspartnere; NordVal, CEN, IDF samt EK-Livs og dets arbeidsgrupper. I de siste årene har NMKL også invitert en referent til å informere om arbeidet med å utarbeide metoder og validere dem kollaborativt. Årets referent var stipendiat Gro Johannessen, Veterinærinstituttet, som har utarbeidet og avprøvd flere metoder i NMKL, deriblant metoden for *Staphylococcus aureus*, som beskrives i dette NMKL-nytt.

Hjemmeside:  
[www.nmkl.org](http://www.nmkl.org)  
E-post:  
[nmkl@vetinst.no](mailto:nmkl@vetinst.no)

NMKL tar gjerne imot innspill og kommentarer til NMKL-nytt og til NMKLs arbeidsprogram.

NMKL v/Generalsekretær Hilde Skår Norli  
Veterinærinstituttet, PB 8156 Dep., N-0033 Oslo  
Tel: +47 64870046, Fax: +47 23216202, e-post: [nmkl@vetinst.no](mailto:nmkl@vetinst.no)  
NMKLs Formann: Ole Bjørn Jensen, Scanpharm A/S. Danmark.

Opplag:  
1100 i skandinavisk  
versjon  
+ 600 engelske

ISSN 1100-5386

## Nye NMKL-metoder

NMKL-metode nr. 66, 4.utg., 2003:  
*Staphylococcus aureus*. Bestemmelse i næringsmidler.

Denne NMKL-metoden er revidert av Gro S. Johannessen, Veterinærinstituttet i Oslo.

I metoden beskrives den reviderte utgaven av NMKL-metode nr. 66 ”*Staphylococcus aureus*. Kvantifisering i næringsmidler”. Tittelen er endret fra ”Koagulase positive stafylokokker. ....” til ”*Staphylococcus aureus*. ....” I tillegg er det skjedd endringer i definisjonen fordi Rabbit Plasma Fibrinogen agar (RPF) er tatt med som et alternativt medium til Baird-Parker agar (BP) og blodagar. Hensikten med å inkludere RPF-agar som et alternativ er at man kan avlese koagulase-reaksjonen direkte på dette mediet og at man sparer både tid og arbeid. Metoden har blitt avprøvd med godt resultat i en kollaborativ avprøving der 15 laboratorier deltok. Under avprøvingen ble de tre mediene i metoden sammenliknet mot hverandre. Det var kun statistisk signifikant forskjell mellom RPF-agar og blodagar i to tilfeller (kokt skinke og ferdig-salat med lavt innhold av bakterier), ellers kunne man ikke påvise noen forskjeller mellom agarene. Det anbefales allikevel at blodagar ikke benyttes alene da høy bakgrunnsflora kan gi vanskeligheter med avlesningen.

Innholdet av *S. aureus* i en prøve kvantifiseres ved overflateutsæd av passende fortyninger av prøvematerialet på BP-agar og/eller RPF-agar og/eller blodagar. Etter inkubering i 24 og 48 timer telles kolonier med typisk og mistenkelig utseende. Hvis man benytter BP-agar eller blodagar må et utvalg av disse konfirmeres ved å teste for koagulaseproduksjon. Ved bruk av RPF-agar testes det for koagulaseproduksjon direkte på skålene. Denne vil da sees som en opak utfellingssone rundt kolonien.

Gro S. Johannessen

### Inndraging av metoder:

På NMKLs årsmøtet i fjor, 2002, besluttet NMKL å inndra følgende to metoder:

- ✓ Aerobe mikroorganismer. Antall ved 30°C. Bestemmelse i næringsmidler ved petrifilm. (NMKL-metode nr. 146, 1993)
- ✓ Koliforme bakterier og *Escherichia coli* i næringsmidler. Bestemt ved petrifilmTM. (NMKL-metode nr. 147, 1993)

Metodene ble besluttet inndratt fordi metodene baseres på bruk av alternative metoder (test-kits). Da produsentene i fjor ble informert om vedtaket, bad de om en utsettelse av tilbaketrekkningen av metodene. Dette for eventuelt å få tid til å oppnå en NordVal godkjenning av test-kitsene. Metodene dras derfor først inn nå, ett år etter.

NMKL-metode nr 175, 2003: Aflatoxin M<sub>1</sub> i mjølk och torrmjølk. Bestämning med HPLC efter opprening på immunoaffinitetskolonn.

Tord Möller, Livsmedelsverket i Uppsala, har utarbeidet denne metoden for NMKL. Metoden er opprinnelig avprøvd i IDFs regi i 2 avprøvninger. Det er foretatt en liten modifisering av den ene avprøvd metode ved at kloroform, som ble benyttet som løsemiddel for standardene, er erstattet med acetonitril. Lambert K. Sørensens og Helga Hansen ved Steins Laboratorium, Danmark, har foretatt en validering av denne modifiseringen.

Metoden baseres på bruk av en immunoaffinets kolonne med antistoffer mot aflatoksin M<sub>1</sub>. Aflatoksin M<sub>1</sub> i prøvene bindes til antistoffene i kolonnen og elueres siden ut og analyseres ved omvendt fase kromatografi på HPLC med fluorescens deteksjon. Metoden er anvendelig for melk og melkepulver.

Den første avprøvingen ble foretatt i 1992 ved the State Institute for Quality Control of Agricultural Products, Wageningen, Nederland. 16 laboratorier fra 11 land deltok. Konsentrasjonen av Aflatoksin M<sub>1</sub> i prøvene varierte fra 80-600 ng/kg melkepulver. I januar 1999 satt EU grenseverdien for Aflatoksin M<sub>1</sub> til 0,05 ng/mL. Siden det laveste validerte nivået var på 0,08 ng/mL, var det behov for en ytterligere avprøving. European Commission Standards Measurement and Testing Program for Validation besluttet derfor å foreta en full kollaborativ validering, som tok hensyn til de nye kravene. Avprøvingen ble ledet av Sylviane Dragacci, AFSSA, Frankrike. 12 laboratorier deltok i avprøvingen, hvor konsentrasjonen av aflatoksin M<sub>1</sub> i prøvene varierte fra 23 til 103 ng/L. Ved denne avprøvingen var kloroform erstattet med acetonitril som løsemiddel. Metoden er dermed vist anvendelig for konsentrasjonsområdet 23 – 600 ng/L.

I en prøveperiode har noen abonnenter mottatt metoder både elektronisk og som papirkopier. Nå bes abonnentene gi beskjed hvis de ønsker metodene som pdf filer, ellers får de kun papirkopi fra 2004. NB! Merk at abonnementsprisen er dyrere for papirkopi enn pdf filer. Husk også å gi beskjed om eventuelle adresseendringer.

Nye priser i NMKL	NOK
Abonnement PDF-filer pr. år (minst 6 metoder)	600
Abonnement hardcopies (papir) pr. år (minst 6 metoder)	800
Komplett samling NMKL-metoder	2.500
Metoder (i løssalg) pr. stk.	200
Ringperm (hvit med innlegg) pr. stk.	40
Rapporter pr. stk. (bortsett fra nr. 8)	200
Rapport nr. 8 pr. stk.	250
Prosedyrer pr. stk.	300

NMKL-metode nr 68, 3. utg., 2003: *Enterococcus*. Bestemmelse i næringsmidler og fôr.

Laurits Rossebø, Næringsmiddeltilsynet i Haugealand har revidert denne NMKL-metoden.

Revisjonen har hovedsakelig vært av redaksjonell karakter samt å harmonisere angivelse av vekt, pH, tid, vannbad og inkubasjonstemperaturer med tilsvarende parametere i øvrige NMKL metoder.

Metoden beskriver kvantitativ bestemmelse av enterokokker i alle typer næringsmidler og fôr.

Enterokokker kan benyttes som indikator for et næringsmiddels bakteriologisk/hygieniske kvalitet. Antall enterokokker bestemmes ved utsæd av kjente mengder av prøven på overflaten av et selektivt medium, enterokokk-agar etter *Slanetz & Bartley*.

NMKL-metode nr 176, 2003: Proteiner. Kvalitativ metod for ått påvise vissa proteiner (allergener) i livsmedel med immundiffusion.

Ingrid Malmheden Yman, Livsmedelsverket i Uppsala, har utarbeidet og arrangert kollaborativ avprøving av denne metoden.

Proteiner fra melk, egg, peanøtter og hasselnøtter er vanlige allergener for en stor gruppe allergikere, både barn og voksne. En uavhengig offisiell kollaborativt validert metode har vært etterlyst på dette området i lengre tid. Endelig er den her! Metoden er avprøvd på laboratorier i Sverige, Finland, Norge, Frankrike, Nederland og Tyskland; totalt 12 laboratorier. Valideringen var omfattende og inkluderte 17 ulike prøvetyper, 5 for analyse av kaseiner (melkeprotein), 4 for analyse av ovalubmin (eggprotein), 4 for corylin (hasselnøttprotein) og 4 for peanøttprotein. Metoden begrenses ikke til de proteiner som her er nevnt, men kan benyttes for bestemmelse av de proteiner hvor det finnes tilgjengelige antistoffer. Metoden er egnet for alle typer næringsmidler. Mørk sjokolade krever imidlertid spesiell behandling for at ekstraksjonen av proteiner skal bli fullstendig.

Prinsippet for metoden er at antigen og antistoffer passivt kan diffundere i løpet av 18-24 timer i en 1% agarosegel, støpt på ett objektglas. Utfelling dannes når antistoff reagerer med sitt spesifikke antigen. Utfelling er en indikasjon på en positiv reaksjon.



## Database over Nordiske Ekspertlaboratorier

På NMKLs hjemmeside: [www.nmkl.org](http://www.nmkl.org), finnes en database over analyser som utføres av ekspertlaboratorier i Norden. Databasen er ment som en service til næringsmiddelmyndigheter, -industri og -laboratorier til lett å kunne finne hvem som kan kontaktes for informasjon om analyser/parametere, utførelse av spesialanalyser, rådgiving etc.. 245 parametere er lagt inn fordelt på 19 ekspertlaboratorier. For å bli innlemmet i databasen stilles det krav til at laboratoriet har utstrakt FoU virksomhet. Hvilke laboratorier som kan innlemmes i databasen besluttes av en nordisk gruppe som møtes årlig, og består av følgende personer:

**Sverige:** (prosjektledere) Håkan Johnsson ([hajo@slv.se](mailto:hajo@slv.se)), Per Norberg ([per.norberg@slv.se](mailto:per.norberg@slv.se)), Halina Agerhem ([ha@sik.se](mailto:ha@sik.se))

**Danmark:** Inge Meyland ([ime@fdir.dk](mailto:ime@fdir.dk)), Niels Ladefoged Nielsen ([nln@vfd.dk](mailto:nln@vfd.dk))

**Finland:** Christina Bäckman ([christina.backman@eela.fi](mailto:christina.backman@eela.fi)), Tuula Pihonen ([tuula.pirhonen@eela.fi](mailto:tuula.pirhonen@eela.fi))

**Island:** Kristin Olafsdóttir ([stinaola@hi.is](mailto:stinaola@hi.is)), Franklín Georgsson ([franklin@ust.is](mailto:franklin@ust.is)),

**Norge:** Kåre Julshamn ([kaare.julshamn@nutr.fiskeridir.no](mailto:kaare.julshamn@nutr.fiskeridir.no)), Kofitsyo S. Cudjoe ([kofitsyo.cudjoe@vetinst.no](mailto:kofitsyo.cudjoe@vetinst.no))

For eventuelle spørsmål, ta kontakt med en av prosjektmedlemmene i ditt land eller NMKLs generalsekretariat.

Parameters:	Method:	Institution:	Country:
Aerobic bacteria	DIN 54 379/54 378	SIK - The Swedish Institute for Food and Biotechnology	Sweden <a href="#">Details</a>
Aerobic spores		SIK - The Swedish Institute for Food and Biotechnology	Sweden <a href="#">Details</a>
Aeromonas spp enterotoxins		The Norwegian School of Veterinary Science	Norway <a href="#">Details</a>
Aeromonas spp.		University of Helsinki, Faculty of Agriculture and Forestry	Finland <a href="#">Details</a>
Aeromonas spp.	NMKL 150	The Norwegian School of Veterinary Science	Norway <a href="#">Details</a>
Anaerobic spores		SIK - The Swedish Institute for Food and Biotechnology	Sweden <a href="#">Details</a>
Aspergillus flavus/parasiticus		National Food Administration	Sweden <a href="#">Details</a>



## Invitation

Course for competent authorities, industry and analytical laboratories in Europe,  
February 5th and 6th in Oslo

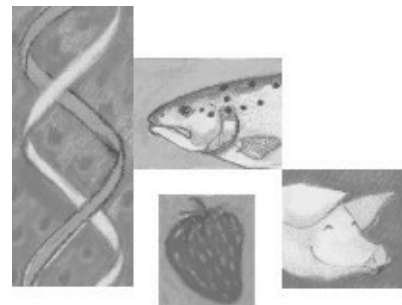
### Quantitative GMO analyses

Use and abuse, possibilities and pitfalls

**Aims/content:** Participants will learn about typical problems connected to qualitative and quantitative GMO testing. The aim is to improve the participants' understanding of certificates and analytical results, and to improve the ability to communicate between suppliers, customers, public officials and consumers. The aim of the course is also to increase compliance with regulations in the GMO area. The course will be problem-oriented and different cases from GMO analysis and interpretation will be discussed.

**The focus will be on the following issues:**

- Developments in the GMO area
- European collaboration and harmonisation
- Genes and DNA: properties and stability
- Basic PCR theory
- Different PCR applications
- Biology and genetics of GMOs
- Quantitative real-time PCR
- Alternative methods for GMO detection (protein, DNA-chips)
- Challenges in the GMO area
- Limits of detection and quantification for GMO
- Interpretation of analytical results of GMO analyses
- Design of certificates
- Case studies



**Practical details:** The duration of the course is two full days and the course language is English. The registration fee is 700 € and includes course material, lunch, dinner and refreshments. Register by December 5th to Knut G. Berdal (knut.berdal@vetinst.no). Norwegian National Veterinary Institute, POB. 8156 Dep., 0033 Oslo, Norway. (www.vetinst.no)

### NMKL rapport nr 20, 2003:

#### REFERENTVEJLEDNING

for det mikrobiologiske område

#### Udarbejdelse af analysemetoder indenfor NMKL.

Formålet med rapporten er å veilede og informere eksperter, som skal utarbeide og avprøve analysemetoder innen mikrobiologi.

Veilederen er utarbeidet av en prosjektgruppe i NMKL bestående av:

- Danmark:** Niels Skovgaard (prosjektleder), Birthe Jessen, Sven Qvist  
**Finland:** Maija Hatakka, Tuula Johansson, Janne Lunden og Seppo Siväla  
**Island:** Franklin Georgsson  
**Norge:** Laurits Rossebø  
**Sverige:** Elisabet Waak

#### Behov for laboratorier til avprøving av følgende metoder:

- fosfataseaktivitet (kolorimetrisk metode) i melk og melkeprodukter.
- sensorisk kvalitetskontroll av drikkevann
- fett i melk med Gerber
- biogene aminer – HPLC metode
- *Clostridium perfringens*

Hvis dere har mulighet til å delta i metodeavprøving for en eller flere av disse metodene, vennligst ta kontakt med NMKLs generalsekretariat: [nmkl@vetinst.no](mailto:nmkl@vetinst.no).

#### NordVal

I forrige NMKL-nytt ble det listet opp alternative metoder godkjent av NordVal. Dessverre ble følgende kit uteglemt: Hygicult TPC for Surface Hygiene Monitoring fra Orion Diagnostica, Finland.

NordVal har nå godkjent enda en alternativ mikrobiologisk metode: VIDAS Immuno-concentration Salmonella til påvisning af Salmonella i alle fødevarer. Immunokonsentrasjonsteknikken muliggjør å oppnå et negativt analyseresultat innen 24 timer.

Se [www.nmkl.org](http://www.nmkl.org) for informasjon om NordVal og hvilke alternative metoder som NordVal har godkjent.

Har du registrert deg på NMKLs hjemmeside som interessant, men ikke mottatt e-mail? Vennligst registrer deg igjen, da det kan være at e-mailadressen inneholdt en feil. Sekretariatet får nemlig svært mange "feilmeldinger" ved masseutsendelse.