

## Nyhetsbulletengen for Nordisk Metodikkomité for Næringsmidler

### Innhold:

#### Side 2

##### Nye NMKL-metoder

- Koliforme bakterier. Bestemmelse i næringsmidler og fôr.
- Mikrobiologiske undersøkelser av helkonserver.

#### Side 3

##### Nye NMKL-metoder

- *Aeromonas*, mesofile arter. Bestemmelse i næringsmidler og fôr.
- Klorid (salt). Bestämning i livsmedel med potensiometrisk titrering.

##### Nytt fra NordVal

#### Side 4

##### Nye NMKL-prosedyrer

- Sensval: Retningslinjer for egenkontroll i sensoriske analyselaboratorier.
- Temperaturkontroll på mikrobiologiske laboratorier.

Opplag:  
1100 i skandinavisk versjon  
+ 600 engelske

ISSN 1100-5386

Hjemmeside:

[www.nmkl.org](http://www.nmkl.org)

E-post:

[nmkl@vetinst.no](mailto:nmkl@vetinst.no)

### NMKL kurs i skattning og angivande av mätosäkerhet vid kemiska analyser

Kursen kommer att baseras på version 2 av NMKL procedur nr 5: Skattning och angivande av mätosäkerhet vid kemiska analyser. Teori och praktik i form av övningar kommer att varvas. De olika stegen för att beräkna en mätosäkerhet som krävs för ackreditering enligt ISO 17025 kommer att gå igenom, som:

- Specifikation av mätstorheten
- Identifiering av osäkerhetskällor
- Förenkling genom att använda befintlig information
- Kvantifiering av komponenter
- Omvandling av komponenter till standardosäkerhet
- Beräkning av sammanlagd mätosäkerhet
- Rekommendationer för hur den skattade mätosäkerheten ska rapporteras

Övningar på grundläggande statistik kommer att ingå. Hur kalkyler i Excel kan förenkla beräkningar kommer att visas. Tyngdpunkten kommer att ligga på hur man på bästa sätt kan utnyttja data från valideringsförsök.

Joakim Engman, Livsmedelsverket, Uppsala, forfatter av prosedyren, vil avholde kursene:

Mandag 15. november 2004, Livsmedelsverket, Uppsala, Sverige

Torsdag 18. november, EELA, Helsingfors, Finland (holdes på engelsk)

Mandag 22. november på DFVF, Mørkhøy bygade 19, Søborg, Danmark

Torsdag 25. november på Veterinærinstituttet, Oslo, Norge

Mandag 29. november, Umhverfisstofnun, Reykjavik, Island (holdes på engelsk).

Kursavgift: NOK 1200,- Påmeldingsfrist: 1. november

Påmelding skjer til NMKLs generalsekretariat (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: +46 64870046, e-post: [nmkl@vetinst.no](mailto:nmkl@vetinst.no)

NMKLs Formann: Ole Bjørn Jensen, Scanpharm A/S. Danmark.

## Nye NMKL-metoder

NMKL metode nr 44, 6. utg., 2004:

### Koliforme bakterier.

#### Bestemmelse i næringsmidler og fôr.

Denne metoden ble revidert for å inkludere resultater fra en kollaborativ metodeprøving. Metodeprøvingen ble arrangert av Gro S. Johannessen og Marianne Økland ved Veterinærinstituttet, Oslo. NMKL fikk økonomisk støtte fra EK-Livs til å gjennomføre metodeprøvingen.

Følgende laboratorier deltok i metodeprøvingen:

Fødevareregion Nordjylland,  
Fødevareregion København,  
Fødevareregion Vejle,  
Fødevareregion Nordøstsjælland,  
Fødevareregion København, Lokalkontor Bornholm,  
Fødevareregion Århus,  
Eurofins Danmark AS,  
Næringsmiddeltilsynet Haugaland,  
Norsk Matanalyse,  
Næringsmiddeltilsynet Midt-Rogaland,  
Umhverfisstofnun,  
Rannsóknafjónustan Sýni h.f.,  
Miljöcentralens miljölaboratorium, Helsingfors,  
Steins Laboratorium AB, Lund,  
Arla Food Innovation, Stockholm.

Valide resultater for kjøttdeig, salat og hele korn ble mottatt fra 12 laboratorier. Ost inngikk også i metodeprøvingen, men da flere laboratorier benyttet en annen inkubasjonstemperatur (37 °C) enn den som er beskrevet i metoden (30 °C), måtte disse resultatene utgå. Resultatene fra de øvrige matrikser er inkludert i metodeteksten. Metodeprøvingen viste at resultatenes reproducerbarhet ser ut til å være matriksavhengig. Reproducerbarheten var best for kjøttdeig, mens den ikke var særlig tilfredsstillende for salat og hele korn. Salat gror nær jord og vil dermed ha bakterier til stede som kan gi falske positive. *Erwinia* spp, som hører til *Enterobacteriaceae*, er en del av den naturlige floraen i hele korn, vil interferere i analysen av koliforme. Dette ble tydelig observert ved lave nivåer, hvor det var mange falske negative resultater. Bakgrunnsfloraen overskygget bakterier som skulle bestemmes. Resultatene indikerer også at avlesning av skåler kan være vanskelig, og at det er særdeles viktig med trenet personale for dette arbeidet.

Metoden kan brukes på alle typer næringsmidler og fôr. Innhold av andre sukkerarter enn laktose, f.eks. sakkaroze, kan imidlertid føre til at ikke-koliforme bakterier kan danne kolonier som ligner koliforme.

Det er kjent at arter av bl.a. *Aeromonas*, *Flavobacterium* og *Erwinia* som kan finnes i prøver fra saltvann, rå fisk, rå grønnsaker og korn, vil kunne utvikle seg med tilnærmet typiske kolonier i det anvendte medium. Også her bør det gjennomføres en konfirmasjon av utvalgte kolonier.

NMKL metode nr 59, 4. utg., 2004:

### Mikrobiologisk undersøkelse av helkonserver.

Denne metoden er revidert av Jan Thomas Rosnes, Norconserv, Stavanger. Metoden er en rutinemetode for mikrobiologisk undersøkelse av helkonserverte næringsmidler, dvs. næringsmidler som er pakket i en emballasje som beskytter mot inntrengning av mikroorganismer under og etter varmebehandling. Formålet med analysen er å undersøke om innholdet i helkonserver er sterilt, eller om det inneholder mikroorganismer som følge av understerilisering eller rekontaminering.

Varmebehandlingen må være tilstrekkelig alene, eller i kombinasjon med andre behandlinger, til å uskadeliggjøre helseskadelige mikroorganismer og forhindre at mikroorganismer formerer seg under de betingelser som næringsmiddelet normalt distribueres og lagres ved. Undersøkelsen tar sikte på å konstatere om det kan påvises aktuelle levende mikroorganismer, ved uttak og dyrking av ca. 1 g store prøver på angitte næringssubstrater.

Som supplement til de mikrobiologiske dyrkinger foretas direkte mikroskopi av prøvematerialet, måling av pH, inspeksjon og undersøkelse av emballasjen og sensorisk bedømmelse av innholdet.

Rosnes meddeler at hovedendringene i denne versjonen i forhold til forrige versjon er følgende:

1. Det er gjort endringer i pre-inkuberingstiden for analysen. Den gjennomføres nå slik at den harmoniserer mer med gjeldende forskrifter i de nordiske landene. Videre er det satt inn inkubasjon for termofile bakterier.
2. Det er satt inn et eget tolkningsskjema for undersøkelser av hele boksen, inklusive emballasje, fals og sensorisk vurdering av innhold.
3. Tidligere var det stor infeksjonsfare ved at en måtte ta ut opptil fire prøver fra samme boks. Uttak av prøver skal nå gjøres med overføring av representativt innhold fra boksen til sterile petriskåler. Sekundære prøver til buljong, agar og mikroskopi tas ut herifra.
4. Enkelte endringer i komponenter tilsatt i medier, slik at disse harmoniserer med dagens dehydrerte ferdiglagde medier.

**Obs Obs!!** Til dere som har elektronisk metodeabonnement, men som ikke har oppgitt deres e-postadresse, tilsendes metodene på e-postadresser funnet på institusjonens/bedriftens hjemmesider (f.eks. [info@xxx.xx](mailto:info@xxx.xx)). Forhåpentligvis blir metodene videresendt til rette vedkommende. Hvis dere har innbetalt NOK 600, og ikke mottar PDF-filer, vennligst send oss en e-post med rett e-postadresse, helst med henvisning til abonnementsnummer (ABxxx).

NMKL metode nr 150, 3. utg., 2004:

***Aeromonas, mesofile arter.***

**Bestemmelse i næringsmidler og fôr.**

Øyvind Ørmen, Norges Veterinærhøgskole, NVH, har revidert denne metoden. Ørmen meddeler at en noe uventet artssammensetning av innsamlede miljøisolater ledet til mistanken om at den biokjemiske artstypingen ikke kunne være riktig. Ørmen og hans kollegaer tok kontakt med Dr Maria Jose Figueras ved Universitat Rovira i Virgili (Spania) som i lengre tid har arbeidet med genetisk diagnostikk på *Aeromonas* spp. Gjennom dette miljøet etablerte de en RFLP teknikk basert på ribosomale gener. De typet vel 200 kliniske og miljø/næringsmiddel isolater fra NVH, Folkehelse Instituttet og Universitetet i Barcelona og kom frem til følgende: På miljøisolatene er det under 5% overensstemmelse og på de kliniske stammene ca 50% overensstemmelse. Divergensen var i henhold til annen litteratur. Det genetiske resultatet hadde en mer riktig artsammensetning (klinikk/miljø) og lot seg samtidig reproducere. En riktig biokjemisk diagnose krever mange ulike tester og numerisk avlesning av disse kombinert med lang erfaring. Miljø- og næringsmiddelisolater er i tillegg mer variable enn de kliniske, og kan i mindre grad plasseres biokjemisk. *Aeromonas* genuset med sine 17 arter er en kompleks gruppe å forholde seg til. Ørmen og hans kollegaer så det som hensiktsmessig å begrense NMKL metoden til genusbestemmelse, for å unngå ytterligere forvirring på feltet. Metoden Ørmen og hans kolleger har valgt er basert på tidligere NMKL metode, egne erfaringer og litteratur.

Bestemmelse av *Aeromonas* spp. skjer ved overflateutsæd av prøvematerialet på Stivelse-Ampicillin-Agar (SAA). Skålene inkuberes ved 37 °C i 24 timer.

Gule eller honningfarvede kolonier med en diameter på 2-3 mm, og omgitt av en lys sone med en bredde på 2-3 mm, regnes som presumptive *Aeromonas* spp. Ved å helle noen få mL med Lugols væske over skålen, vil de amylose-positive koloniene visualiseres med en klar sone av hydrolysert stivelse på en mørk bakgrunn.

**Prisliste NMKL-publikasjoner.**

Ekspedisjonsgebyr pr. faktura/ordre: NOK 50,-

	NOK
Abonnement PDF-filer pr. år	600
Abonnement hardcopies (papir) pr. år	800
Komplett samling NMKL-metoder	2.500
Metoder (i løssalg) pr. stk.	200
Rapporter pr. stk.	200 / 250
Prosedyrer pr. stk.	300

NMKL metode nr 178, 2004:

**Klorid (salt). Bestämning i livsmedel med potentiometrisk titrering.**

Denne metoden er redigert av Helena Liukkonen-Lilja, VTT Bioteknik, og Harriet Wallin, Livsmedelsverket, Helsingfors. Metoden er anvendelig for bestemmelse av klorid i næringsmidler fra 0,03%, som tilsvarer 0,05% natriumklorid.

Løselig klorid ekstraheres fra prøven og titreres deretter potensiometrisk med sølvnitrat.

Tilsvarende metoder er avprøvd i to kollaborative metodeprøvinger, som er publisert i J. AOAC International. Én av metodeprøvingene, og som danner grunnlaget for en offisiell AOAC metode, er utført av 10 laboratorier på 12 forskjellige næringsmidler. Den andre metodeprøvingen base-res også på AOAC metoder, hvor to metoder, basert på Volhard titreringer, sammenliknes med den potensiometriske metoden. Denne sammenlikningen er gjort på 7 laboratorier med 3 prøver av gaudaost. Den potensiometriske metoden i denne sammenlikningen danner grunnlaget for metoder/standarder for kloridbestemmelse i ost og osteprodukter utgitt av IDF, ISO og AOAC International.

Denne NMKL metoden harmoniserer dermed med følgende metoder: AOAC official method 983.14 og 971.27, IDF Standard 88A:1988 og ISO 5943:1988.



**Nytt fra NordVal**

NordVal har i 1. halvår 2004 valideret og certificeret følgende alternative mikrobiologiske metoder:

- Bioline Salmonella Elisa Test Selecta
- 3M Petrifilm Select E.coli Count Plate
- Transia Plate Salmonella Gold

NordVal har endvidere fornyet følgende sertifikater for yderligere 2 år:

- Certificate for 3M Petrifilm Enterobacteriaceae Count Plate.
- Certificate for Oxoid Listeria Rapid Test
- Certificate for AccuProbe Listeria monocytogenes
- Certificate for AccuProbe Campylobacter

Certifikaternes godkendelsesområde og nøjagtige gyldighedsperiode kan findes på NordVals sider på NMKL's hjemmeside. For yderligere oplysninger henvises til firmaernes brugervejledninger.

*På NordVal's vegne Sven Qvist*

## Nye NMKL-prosedyrer

NMKL-prosedyre nr 14, 2004:

### **SENSVAL: Retningslinjer for egenkontroll i sensoriske analyselaboratorier.**

Denne prosedyren er utarbeidet av en prosjektgruppe i NMKL, med ekstern finansiering fra den nordiske Embetsmannskomiteen for Næringsmiddelspørsmål (EK-Livs).

Prosjektgruppen har bestått av:

**Per Lea**, Matforsk, Norge (prosjektleder og forfatter),  
Robert Green Nielsen, Bioteknologisk Institutt, Danmark,  
Ulla Appelbye, Valio Oy, Finland,  
Þyri Valdímarsdóttir, da ansatt ved Rannsóknastofnunar fiskiðnaðarins, Island,  
Halina Agerhem, da ansatt ved Köttforskningsinstituttet, Sverige.

EU-prosjektet Profisens, som startet opp omtrent samtidig med at denne prosedyren ble påbegynt, omfatter mye teoretisk stoff om kollaborative metodeprøvinger. Denne prosedyren legger mest vekt på den interne kvalitetskontrollen. Det er ønskelig at analysene skal gi (omtrent) samme resultat uavhengig av hvem og når analysene utføres. Sammenliknende laboratorieprøvinger, også kalt ringtester, er ofte mye benyttet til å demonstrere dette. Det skilles mellom laboratorieprøvinger og metodeprøvinger. Laboratorieprøvinger er en prestasjonstest for laboratoriene, mens metodeprøvinger er en test av selve metoden. Tittelen på denne prosedyren inneholder ordet "retningslinjer", da det i prosedyren legges mer vekt på generelle råd enn detaljerte prosedyrer for hvordan den interne kontrollen skal utføres.

I NMKL-prosedyre nr 14 deles og beskrives den interne kvalitetskontrollen opp i følgende hovedpunkter:

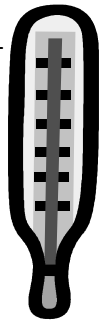
- Utvelgelse av dommere
- Kontroll av dommere
- Grunnsmaktester
- Manipulerte produkter
- Ordinære prosjekter/forsøk
- Kontroll av gjennomføringen av et sensorisk forsøk
- Kontroll av data
- Sammenliknende laboratorieprøvinger

NMKL-procedur No 15, 2004:

### **Temperaturkontroll på mikrobiologiske laboratorier.**

Denne NMKL prosedyren er utarbeidet av en prosjektgruppe i NMKL, som har bestått at:

**Lennart Larsson**, (prosjektleder og forfatter) LaVet, Sverige,  
Lisbeth Lund, Erhvervsfremmestyrelsen, Danmark,  
Margareta Peterzens, ESBO, Finland,  
Dóra S Gunnarsdóttir, Miljö- og livsmedelsstyrelsen, Island,  
Gro Johnsen, Næringsmiddeltilsynet for Midt-Rogaland, Norge.



Prosedyren gir en praktisk veiledning i den daglige temperaturkontrollen på et mikrobiologisk laboratorium uansett om kvikksølv- eller elektroniske termometre benyttes.

Prosedyren er generell. Det er viktig å poengtere at instruksjonene/prosedyrene må tilpasses hvert enkelt laboratorium sitt utstyr og behov. Kontrollene forutsetter bruk av bruks-termometre som er sporbart kalibrert til SI-enheter (ISO 17025) i henhold til laboratoriets dokumenterte prosedyre.

NMKL-prosedyre nr. 14 og 15 finnes foreløpig kun på skandinavisk språk (nr 14 på norsk og nr 15 på svensk). Prosedyrene vil bli oversatt til engelsk.

NMKL-procedur nr 5, 2003, 2. version:  
**Skattning och angivande av mätosäkerhet vid kemiska analyser,**  
er nå også tilgjengelig på engelsk.

Se NMKLs hjemmeside: [www.nmkl.org](http://www.nmkl.org)

for informasjon om kurs, arbeidsprogram, sammenliknende laboratorieprøvinger m.m., samt NMKLs webshop for informasjon om metoder og andre publikasjoner.