Afd. Mikrobiologie 1981-06-09

VERSLAG 81.47 Pr.nr. 505.0030

Onderwerp: Mikrobiologisch onderzoek van diepgevroren vis en visprodukten.

Verzendlijst: Van Doesburgh, adj. direkteur, sektorhoofd (3x), direktie V.K.A. Mw. Ten Holder, afd. Microbiologie (3x), leesportefeuille (5x), Elenbaas, Normalisatie, Projectbeheer.

8147

AFDELING MIKROBIOLOGIE 1981-06-09

VERSLAG 81.47 Pr.nr. 505.0030

Project: Ontwikkeling van het mikrobiologisch onderzoek van diverse landbouw- en visserijprodukten.

Onderwerp: Mikrobiologisch onderzoek van diepgevroren vis en visprodukten.

Doel

Enige ervaring opdoen in het mikrobiologisch onderzoek van diepgevroren vis en visprodukten.

Samenvatting

Om de technische kennis paraat te hebben, om t.b.v. de werkgroep keuring vis en visprodukten enig onderzoek te verrichten zijn de afgelopen periode een aantal diepgevroren vis en visprodukten mikrobiologisch onderzocht. Aan de hand van publicaties en contacten met IVP-TNO hebben wij intern enkele afspraken gemaakt over de gebruikte methodes van onderzoek.

Conclusie

Wij kunnen momenteel diepgevroren vis en visprodukten onderzoeken op hun mikrobiologische kwaliteit. De gebruikte methodes zullen wij spoedig op schrift stellen.

Verantwoordelijk: N. Broex

Medewerkers/Samenstellers: H. van Velzen en N. Broex

1. Inleiding

Door de instelling van een departementale werkgroep keuring en vis en visprodukten is het wenselijk gebleken dat ook het RIKILT over mogelijkheden beschikt om diepgevroren vis en visprodukten mikrobiologisch te onderzoeken.

Voor de instelling van deze werkgroep had ons instituut nooit enig onderzoek aan deze produkten uitgevoerd en wij zijn oriënterend begonnen.

Kontakten met IVP-TNO vertelden ons iets over de monstervoorbereiding en over de methodes van onderzoek evenals enige literatuurpublicaties.

Vervolgens hebben wij intern aan de hand van deze gegevens concept methodes vastgesteld.

Van de Dienst der Nederlandse Haringcontrole in Den Haag hebben wij een aantal diepgevroren vis en visprodukten ontvangen als zg. proefmonsters en deze mikrobiologisch onderzocht. De bepalingen die in de verschillende monsters uitgevoerd moesten worden werden veelal aangegeven door bovengenoemde dienst.

Om enig inzicht te krijgen in de verschillende resultaten werden de monsters tweemaal onderzocht. In de periode tussen het eerste en tweede onderzoek werden de monsters in de vrieskast bewaard bij -25°C.

2. Monsters

Alle monsters werden door de Dienst der Nederlandse Haringcontrole in diepgevroren toestand bij ons afgeleverd. Aan het begin van het onderzoek werd aseptisch een deel van het diepgevroren monster genomen en het restmonster in een steriele plastic zak bewaard bij -25°C.

3. Monstervoorbereiding

a. Afgewogen werd steeds 5 g monster.
b. Het monster werd vervolgens met behulp van zg. stomacher gehomogeniseerd met als verdunningsvloeistof Ringeroplossing.
c. Na homogeniseren werden decimale verdunningen in Ringeroplossing gemaakt en de verschillende bepalingen uitgevoerd.
d. Salmonella ophoping vond plaats door 20 g monster met behulp van voorophopingsmedium te homogeniseren en vervolgens te incuberen.

4. Methode van onderzoek

4.1 Mesofielkiemgetal.
t°C 30° ± 0,1°
medium plate count agar + melk + 0,5% NaCl
Incubatie 3 dagen.

4.2 Gisten/schimmels telling
t°C 25° ± 0,1°
medium Phyton yeast agar
Incubatie 5 dagen.

4.3 Enterobacteriaceae telling
t°C 37° ± 0,1°
medium Violet Red bile agar + 1% glucose
Incubatie 24 h
Indien pos werd een representatief aantal kolonies m.b.v. Api 20 systeem bevestigd en werd het aantal Enterobacteriaceae per gram berekend.

4.4 E.coli ophoping 5 voudig
t°C 44° ± 0,1°
medium Brillant green Bile
Incubatie 48 h
Indien pos (gasvorming in Durhambuisjes)
Identificatie op E-coli m.b.v. Api 20.

4.5 Staphylococcen (Coagulase pos) telling
St.aureus
t°C 37° ± 0,1°
medium: Baird Parker agar.
Incubatie 3 dagen
indien pos - bevestiging m.b.v. coagulase varkens/konijneplasma
vervolgens berekening van aantal staphylococcen.

4.6 Salmonella bact. ophoping
t°C voorophoping 37° 1 dg.
t°C selectieve ophoping 43° 1 en 2 dg.
t°C Brillantgroen plaat 37° 1 dg.
bevestiging Salmonella m.b.v. z.g. korte bonte reeks nl.
Ureumsplitsing
LDC lysinedecarboxylering
TSI triple sugar-iron-agar.

5.1 Resultaten eerste onderzoek.

No.	Product	enterobact.	Coag. pos st.aureus	E-coli	gist	schim.	salmonella	30° kiemgetal
1	gefil.haring	90	<10	neg	<10	<10	neg	$1,8 \times 10^4$
2	verse makreel	<10	<10	neg	<10	<10	-	1×10^3
3	zeehaan	<10	<10	neg	<10	<10	-	3×10^3
4	gefil.haring in rookaroma	2×10^2	<10	neg	20	30	neg	1×10^5
5	wijting	$1,8 \times 10^2$	<10	neg	<10	90	-	1×10^5
6	vissticks	20	<10	neg	<10	1×10^2	neg	1×10^5
7	kabelj.fil.	<10	<10	neg	<10	<10	neg	$2,5 \times 10^3$
8	koolvisfil.	$1,6 \times 10^3$	<10	neg	<10	<10	neg	2×10^4
9	koolvisfil.	<10	<10	neg	<10	<10	neg	6×10^4
10	gemengde vis o.a. Horsmakr.	<10	<10	neg	<10	<10	-	$1,4 \times 10^2$
11	gerookte zalm vacuum verpakt	$1,1 \times 10^3$	<10	neg	<10	60	neg	$1,5 \times 10^4$
12	rolmops	-	-	-	<10	<10	-	-
13	rolmops	-	-	-	<10	<10	-	-
14	braadmarin.	-	-	-	<10	4×10^3	-	-
15	steurharing	<10	<10	neg	-	-	-	$2,5 \times 10^5$
16	oliefilet	7×10^3	<10	neg	-	-	-	$6,5 \times 10^6$
17	kab.filet	<10	<10	neg	-	-	-	$6,8 \times 10^2$
18	kab.filet	<10	<10	neg	-	-	-	$6,5 \times 10^2$
19	koolvisfilet	<10	<10	neg	-	-	-	$1,8 \times 10^3$
20	koolvisfilet	<10	<10	neg	-	-	-	$2,3 \times 10^3$
21	schelvisfilet	<10	<10	neg	-	-	-	1×10^5
22	koolvisfilet	<10	<10	neg	-	-	-	$3,4 \times 10^4$
23	vissticks	<10	<10	neg	-	-	-	5×10^4
24	vissticks	<10	<10	neg	-	-	-	1×10^5
25	zeeschnitsel	<10	<10	neg	-	-	-	$1,2 \times 10^5$
26	garnalen	<10	<10	neg	-	-	neg	$1,5 \times 10^5$
27	garnalen	30	3×10^2 2×10^2	neg	-	-	neg	3×10^6
28	vissticks	<10	<10	neg	-	-	-	$1,3 \times 10^5$
29	filet	<10	<10	neg	-	-	-	$3,8 \times 10^3$
30	koolvisfilet	<10	<10	neg	-	-	-	1×10^2

No.	Product	enterobact.	Coag. pos st.aureus	E-coli	gist	schim.	salmonella	30° kiemgetal
31	koolvisfilet	70	<10	neg	-	-	-	9×10^3
32	kabelj.filet	<10	<10	neg	-	-	-	<100
33	vissticks	<10	<10	neg	-	-	-	$8,8 \times 10^3$
34	china rode garn.	<10	-	neg	-	-	neg	6×10^4
35	china zwarte garn.	<10	-	neg	-	-	neg	8×10^4

5.2 Resultaten tweede onderzoek.

No.	Product	enterobact.	Coag. pos st.aureus	E-coli	gist	schim.	salmonella	30° kiemgetal
1	gefil.haring	60	<10	neg	<10	<10	neg	1×10^4
2	verse makreel	<10	<10	neg	<10	<10	-	<100
3	zeehaan	<10	<10	neg	<10	<10	-	<100
4	gefil.haring in rookaroma	$6,4 \times 10^2$	<10	neg	<10	40	neg	$1,1 \times 10^5$
5	wijting	<10	<10	neg	<10	<10	-	<100
6	vissticks	50	<10	neg	<10	$1,7 \times 10^2$	neg	$2,3 \times 10^4$
7	kabelj.fil.	<10	<10	neg	<10	<10	neg	$1,2 \times 10^3$
8	koolvisfil.	6×10^2	<10	neg	<10	<10	neg	3×10^3
9	koolvisfil.	20	<10	neg	<10	<10	neg	$5,7 \times 10^4$
10	gemengde vis o.a. Horsmakr.	<10	<10	neg	<10	<10	-	<100
11	gerookte zalm vacuum verpakt	2×10^2	<10	neg	<10	50	neg	$1,2 \times 10^4$
12	rolmops	-	-	-	<10	<10	-	-
13	rolmops	-	-	-	<10	<10	-	-
14	braadmarin.	-	-	-	<10	2×10^2	-	-
15	steurharing	<10	<10	neg	-	-	-	8×10^4
16	oliefilet	$1,8 \times 10^2$	<10	neg	-	-	-	$4,4 \times 10^7$
17	kab.filet	<10	<10	neg	-	-	-	$1,2 \times 10^2$
18	kab.filet	<10	<10	neg	-	-	-	$2,2 \times 10^2$
19	koolvisfilet	<10	<10	neg	-	-	-	$3,8 \times 10^3$
20	koolvisfilet	<10	<10	neg	-	-	-	4×10^3
21	schelvisfilet	<10	<10	neg	-	-	-	$5,3 \times 10^3$
22	koolvisfilet	<10	<10	neg	-	-	-	$3,3 \times 10^4$
23	vissticks	30	<10	neg	-	-	-	$1,2 \times 10^5$
24	vissticks	<10	<10	neg	-	-	-	8×10^4
25	zeeschnitsel	1×10^2	<10	neg	-	-	-	$6,8 \times 10^4$
26	garnalen	<10	<10	neg	-	-	neg	$2,4 \times 10^5$
27	garnalen	<10	5×10^2 1×10^2	neg	-	-	neg	$3,4 \times 10^6$
28	vissticks	60	<10	neg	-	-	-	$1,3 \times 10^4$
29	filet	<10	<10	neg	-	-	-	2×10^3
30	koolvisfilet	<10	<10	neg	-	-	-	7×10^3

No.	Product	enterobact.	Coag. pos st.aureus	E-coli	gist	schim.	salmonella	30° kiemgetal
31	koolvisfilet	$3,2 \times 10^2$	<10	neg	-	-	-	2×10^3
32	kabelj.filet	<10	<10	neg	-	-	-	<100
33	vissticks	<10	<10	neg	-	-	-	$1,2 \times 10^4$
34	china rode garn.	<10	-	neg	-	-	neg	4×10^4
35	china zwarte garn.	<10	-	neg	-	-	neg	$5,4 \times 10^4$

6. Opmerkingen naar aanleiding 1e en 2e onderzoek

6.1 De monsters nrs 2, 3, 5 en 10 gaven bij het tweede onderzoek een lager kiemgetal te zien dan bij het eerste onderzoek. De oorzaak is waarschijnlijk dat bij het eerste onderzoek geen rekening gehouden is met het feit dat de huid van de vis veel meer micro-organisme bevatte dan het vlees, nl.:

nr. 2 8×10^3 kiemen per cm^2
nr. 3 4×10^4 " " "
nr. 5 8×10^4 " " "
nr.10 4×10^3 " " "

Bij het tweede onderzoek werd de huid van de vis eerst grondig met 70% alcohol gedesinfecteerd en daarna zorgvuldig vlees uitgesneden om dit te onderzoeken.

6.2 Voor een aantal verschillen in resultaten kunnen wij op dit moment nog geen oorzaak geven. Wij zullen dit nog verder moeten onderzoeken. Allereerst zullen wij de verschillende bepalingsmethodieken op schrift stellen om deze te gebruiken bij een volgende serie monsters.

7. Literatuur

7.1 Kwaliteitszorg in de visserij. H. Houwing et al
Voedingsmiddelentechnologie 1978, nr. 17.

7.2 Kwaliteitszorg in de visserij. H. Houwing
Voedingsmiddelentechnologie 1981, nr. 1.

7.3 Het bepalen van het aantal coagulase positieve stafylococcen in visserijprodukten. L. Toepoel et al.

7.4 Bepaling van het aëroob mesofiel kiemgetal van rauwe vis binnen 24 uur. L. Toepoel
Voedingsmiddelentechnologie 1980, nr. 1.

7.5 Het selectief kweken van pseudomonadaceae afkomstig van visserijprodukten. K. v. Spreekens
Voedingsmiddelentechnologie 1971, nr. 21.

7.6 Determinative bacteriology
Bergeijs Manual.

7.7 Methoden voor het mikrobiologisch onderzoek van levensmiddelen.
Prof. dr D.A.A. Mossel, 2e uitgave.

7.8 The suitability of a Modification of Long and Hemmer's Medium for the Enumeration of more Fastidion Bacteria from Fresh Fishery Products Archiv für Lebensmittelhygiene, 1974, nr. 10.