

af 2.6.6

Fiskeridirektoratets
Bibliotek

FISKERI-DIREKTORATET

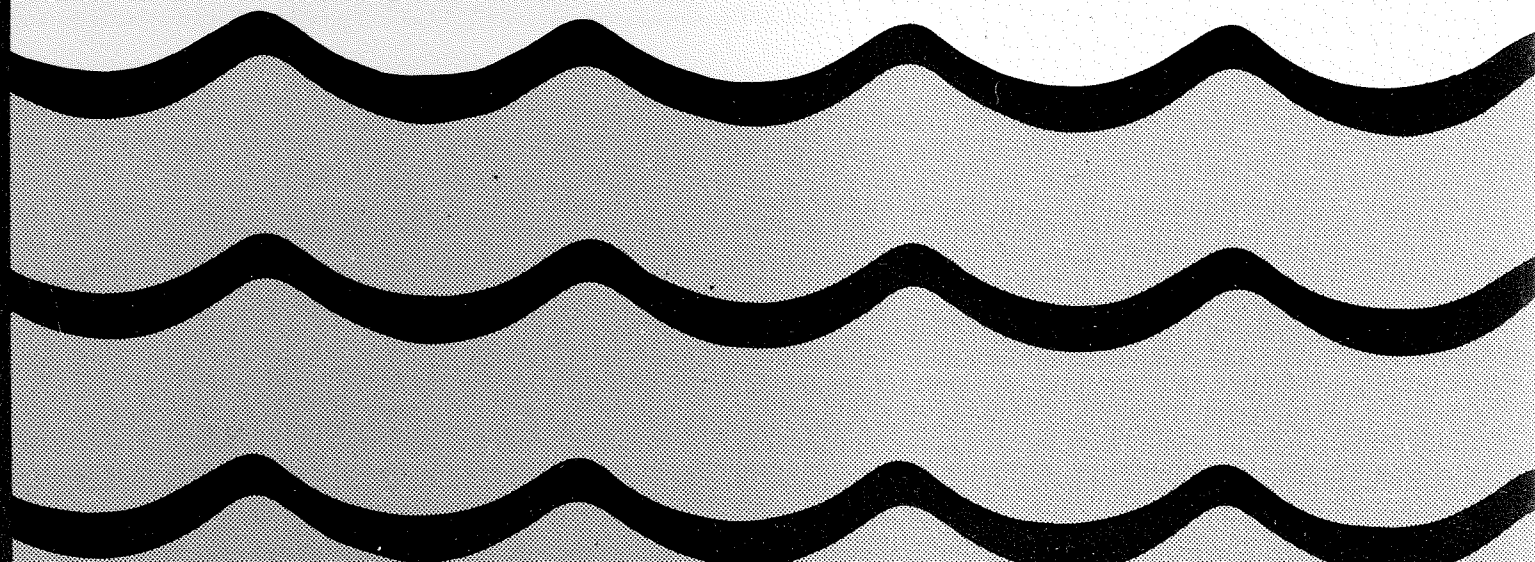
Rapporter og meldinger

Nr. 5/78

BAKTERIOLOGISKE UNDERSØKELSER
AV SILDEMEL

av

Jan Gjerde



FISKERIDIREKTORATET
SENTRALLABORATORIET
Møllendalsv. 4, Bergen

Nr. 5/78

BAKTERIOLOGISKE UNDERSØKELSER
AV SILDEMEL

av

Jan Gjerde

FISKERIDIREKTORATET
Bergen, mai 1978

BAKTERIOLOGISKE UNDERSØKELSER
AV SILDEMEL

Sammendrag

Som et ledd i kartlegging av de bakteriologiske/hygieniske forhold i sildemelindustrien, er det ved siden av direkte kontroll for Salmonella også utført en mer omfattende bakteriologisk undersøkelse av sildemel. I undersøkelsen inngår sildemelprøver fra fire melfabrikker og omfatter melproduksjon i løpet av et år.

Salmonella ble ikke påvist i noen av prøvene. Resultatene fra undersøkelsen viser videre at varmeresistente bakteriegrupper som fecale streptokokker og sulfitreducerende clostridier vanlig etablerer seg i sildemel slik produksjonen foregår i dag. Coliforme/fecale coliforme bakterier finnes også, men mer sjelden og i lavt antall pr. gram. Lecitinasespaltende baciller påvises også vanlig, men i lavt antall. Koagulase positive stafylokokker synes ikke å kontaminere dette produktet.

En bakteriologisk kartlegging av ferdigproduktet, som omfatter en eller flere av de angitte bakteriologiske undersøkelser, kan gi informasjon om de hygieniske forhold i sildemelindustrien.

Innledning

Fra 1960 og utover ble det påvist Salmonella i fiskemel fra en rekke land. Disse funn ble fulgt opp med undersøkelser for å klarlegge hvor i produksjonsprosessen Salmonella etablerte seg, og videre hvilke smittekilder som fantes. Det ble videre satt i verk tiltak på den hygieniske side for å få kontroll med Salmonella-infeksjonene i sildemel (Garrett, 1973).

Også i norsk sildemel ble det påvist Salmonella, som fortsatt er et problem i sildemelproduksjonen. Også i fremtiden må en regne med at i denne industriproduksjon vil kontaminasjon med Salmonella stadig være en mulighet som kan forårsake store problemer for bedriftene. Forekomst av Salmonella i sildemel kan imidlertid kontrolleres og holdes på et svært lavt nivå. Som et ledd i dette arbeidet har Sildemelkontrollen intensivert prøveuttak av sildemel for Salmonella-kontroll slik at det fra hver eksportforsendelse tas ut prøver som underkastes en undersøkelse for Salmonella før skipning.

Salmonella kan i dag isoleres og diagnostiseres med pålitelige metoder. Imidlertid vil Salmonella bare finnes i en liten del av et infisert parti og svært ujevnt fordelt. Med de store kvanta sildemel som produseres vil det bare være en svært liten del som direkte kan undersøkes for Salmonella. Muligheten for påvisning av bakterien i et infisert parti vil derfor være tilfeldig med mindre partiet er gjennominfisert.

Ved bakteriologisk matvareundersøkelse benyttes vanligvis påvisning av indikatorbakterier som kan gi informasjon om den generelle hygieniske standard, samt muligheten for forekomst av patogene bakterier. Selv om slike metoder ikke kan erstatte den direkte undersøkelse for Salmonella eller andre patogene bakterier, kan forekomst av indikatorbakterier, f.eks. i sildemel fortelle om den generelle hygieniske standard under produksjonen. Mens direkte undersøkelse av Salmonella i en prøve kun gir svar påvist Salmonella eller ikke, vil en mer omfattende bakteriologisk undersøkelse for indikatorbakterier gi holdepunkter om hygienien i produksjonsprosessen i den enkelte fabrikk. Disse

opplysninger kan gi informasjon om hvilke muligheter Salmonella har for oppvekst dersom bakterien finnes i miljøet. Sannsynligheten for at Salmonella skal påvises i prøver hvor en ikke finner indikatorbakterier er svært liten (Drion and Mossel, 1977).

Som et ledd i kartlegging av bakteriologiske/hygieniske forhold i sildemel, ble det ved siden av direkte undersøkelse for Salmonella også utført en mer omfattende bakteriologisk undersøkelse. Formålet med dette arbeidet var å kartlegge forekomsten av grupper av indikatorbakterier i sildemel. Arbeidet ble utført for å fremskaffe data om hvilke indikatorbakterier som etablerer seg i sildemel og hvordan påvisning av disse grupper kan nyttes i arbeidet for å redusere forekomsten av Salmonella. Arbeidet er utført med assistanse av ingeniør F. Iversen.

Materialer og metoder

Sentrallaboratoriet har i løpet av 1977 utført bakteriologisk undersøkelse av 260 melprøver fra fire sildemelfabriker. Prøvene, hver på 300 g mel emballert i plastposer, var gjennomsnittsprøver fra sildemelpartier klargjort for eksportforsendelse.

Følgende undersøkelser og metoder ble utført for hver prøve:

1. Salmonella, (Nordisk Metodikk-komite metode nr. 71, 1975). Prøvene ble preinkubert 20 timer i en fosfatbuffer og deretter overført til selenitbuljong Merck nr. 7717 og tetrationsatbuljong Merck nr. 5285. Fra de selektive medier ble det strøket over på selektivt fast medium: bromtymolblåagar. Mistenkelige kolonier på bromtymolblåagar ble undersøkt på T.S.1 agar Merck nr. 3915, Christensens urea agar Merck nr. 8492 og Sim medium Merck nr. 5430 og Merck polyvalente Salmonella-anti-serum nr. I, II og III.
2. Fecale streptokokker. (Nordisk Metodikk-komite nr. 68, 1968). Det ble foretatte overflateutsæd på enterokokk-agar, Difco nr. 0746-01 og skålene ble inkubert 72 timer ved 37°C.
3. Coliforme bakterier og fecal coliforme bakterier. AOAC

(Association of Official Analytical Chemists 1970). Undersøkelsen ble utført etter prinsippet "Most probable number" (MPN). Det ble foretatt primærutsæd for de coliforme bakterier i laurylsulfatbuljong Merck nr. 10266 og verifisering av de coliforme i brilliantgrønn-galle-lactose-buljong Merck nr. 5454. Påvisning av fecal coliforme bakterier ble utført i Eijkmans lactose broth Merck nr. 7655 ved inkubasjon i termostatregulert vannbad ved 44.5°C.

4. Koagulase positive stafylokokker. Primærutstryk ble foretatt på Baird Parkers medium Merck nr. 5406 og skålene inkubert i 48 timer ved 37°C. Svarte kolonier med en smal, hvit sone rundt kolonien og en videre oppklaret sone i mediet ble undersøkt for koagulaseproduksjon i kaninplasma.
5. Sulfitreduserende clostridier. Prøven ble innstøpt i SPS-agar (Perfringens-Selektivagar nach Angelotti) Merck Kat.nr. 10235 og inkubert ved 37°C i 48 timer i anaerobkolbe (Gaspak).
6. Lecitinasespaltende baciller. Det ble foretatt overflateutstryk på Cereus-Selektiv agar nach Mossel, Merck kat.nr. 5267 og skålene ble inkubert 48 timer ved 37°C.
7. Totalantall levende bakterier. Det ble foretatt overflateutstryk på Plate count agar Merck Kat.nr. 5463 og skålene ble inkubert i 48 timer ved 37°C.

Resultat og diskusjon

Tabell 1 viser resultatene for totalantall levende bakterier pr. gram sildemel. Resultatene er summert for hvert kvartal og angitt som et geometrisk gjennomsnitt pr. gram prøvemateriale, og videre er angitt høyeste og laveste registrerte resultat.

Tabell 1

Resultat for totalantall levende bakterier i sildemel fra fire fabrikker (A, B, C og D). Resultatene angir kvartalsvis det geometriske gjennomsnitt (GM), høyeste påviste resultat (HR) og laveste påviste resultat (LR).

| Kvartal | Fabrikk | Antall prøver | GM | HR | LR |
|---------|---------|---------------|------------------|------------------|------------------|
| 1 | A | 25 | $1,3 \cdot 10^5$ | $3 \cdot 10^8$ | $1,5 \cdot 10^3$ |
| | B | 8 | $1,4 \cdot 10^4$ | $9,1 \cdot 10^4$ | $3,8 \cdot 10^3$ |
| | C | 17 | $7,2 \cdot 10^3$ | $4 \cdot 10^5$ | $1 \cdot 10^3$ |
| | D | 44 | $3,7 \cdot 10^3$ | $9,5 \cdot 10^5$ | $4 \cdot 10^2$ |
| 2 | A | 13 | $6,6 \cdot 10^4$ | $5 \cdot 10^5$ | $1,1 \cdot 10^4$ |
| | B | 18 | $8,4 \cdot 10^3$ | $2 \cdot 10^5$ | $1,0 \cdot 10^3$ |
| | C | 10 | $6,8 \cdot 10^3$ | $2 \cdot 10^5$ | $1 \cdot 10^3$ |
| | D | 23 | $2,2 \cdot 10^4$ | $3 \cdot 10^5$ | $2 \cdot 10^3$ |
| 3 | A | 11 | $3 \cdot 10^3$ | $1,2 \cdot 10^5$ | $1 \cdot 10^3$ |
| | B | 4 | $9 \cdot 10^3$ | $8,5 \cdot 10^4$ | $1 \cdot 10^3$ |
| | C | 12 | $1,1 \cdot 10^4$ | $8,7 \cdot 10^4$ | $1 \cdot 10^3$ |
| | D | 6 | $5,3 \cdot 10^3$ | $2 \cdot 10^4$ | $1 \cdot 10^3$ |
| 4 | A | 6 | $1,6 \cdot 10^4$ | $8,3 \cdot 10^4$ | $2 \cdot 10^3$ |
| | B | 5 | $6,6 \cdot 10^4$ | $1,5 \cdot 10^5$ | $3 \cdot 10^4$ |
| | C | 4 | $4,4 \cdot 10^4$ | $1,8 \cdot 10^5$ | $1,6 \cdot 10^4$ |
| | D | 4 | $2 \cdot 10^4$ | $8,2 \cdot 10^4$ | $3,5 \cdot 10^3$ |

Tabell 2 viser funn av fecale streptokokker. Resultatene er fordelt i grupper for hvert kvartal, og videre er det angitt høyeste registrerte resultat.

Tabell 2

Funn av fecale streptokokker i sildemel fra fabrikkene A, B, C og D. Resultatene er gruppert i 4 grupper med angivelse av høyeste registrerte resultat.

| 1. kvartal | | | | |
|--------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Fabrikk | A | B | C | D |
| Antall prøver undersøkt: | 27 | 8 | 17 | 48 |
| <u>Gruppeinnd.:</u> | | | | |
| 0-100 | 4 | 0 | 0 | 32 |
| 100-1.000 | 3 | 0 | 12 | 14 |
| 1.000-10.000 | 10 | 4 | 4 | 2 |
| >10.000 | 10 | 4 | 1 | |
| Høyeste verdi | $7 \cdot 10^7$ | $2 \cdot 10^4$ | $1,1 \cdot 10^4$ | $2,6 \cdot 10^3$ |
| 2. kvartal | | | | |
| Fabrikk | A | B | C | D |
| Antall prøver undersøkt: | 13 | 17 | 6 | 23 |
| <u>Gruppeinnd.:</u> | | | | |
| 0-100 | 1 | 0 | 0 | 10 |
| 100-1.000 | 0 | 7 | 1 | 6 |
| 1.000-10.000 | 8 | 10 | 5 | 7 |
| >10.000 | 4 | | | |
| Høyeste verdi | $1,6 \cdot 10^5$ | $9,5 \cdot 10^3$ | $1,5 \cdot 10^3$ | $3,6 \cdot 10^3$ |
| 3. kvartal | | | | |
| Fabrikk | A | B | C | D |
| Antall prøver undersøkt: | 12 | 4 | 7 | 4 |
| <u>Gruppeinnd.:</u> | | | | |
| 0-100 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 100-1.000 | 5 | 0 | 4 | 2 |
| 1.000-10.000 | 3 | 2 | 2 | 1 |
| >10.000 | 4 | 2 | | |
| Høyeste verdi | $8,3 \cdot 10^4$ | $5 \cdot 10^4$ | $3 \cdot 10^3$ | $1 \cdot 10^3$ |
| 4. kvartal | | | | |
| Fabrikk | A | B | C | D |
| Antall prøver undersøkt: | 6 | 5 | 4 | 4 |
| <u>Gruppeinnd.:</u> | | | | |
| 0-100 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 100-1.000 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 1.000-10.000 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| >10.000 | 4 | 4 | 1 | 3 |
| Høyeste verdi | $1,7 \cdot 10^4$ | $2,1 \cdot 10^4$ | $1,1 \cdot 10^4$ | $8,2 \cdot 10^4$ |

Tabell 3 viser funn av sulfitreduserende clostridier i sildemel. Resultatene er angitt som for fecale streptokokker.

Tabell 3

Funn av sulfitreduserende clostridier i sildemel fra fabrikkene A, B, C og D. Resultatene er gruppert med angivelse av høyeste registrete resultat.

| 1. kvartal | | | | |
|--------------------------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| Fabrikk | A | B | C | D |
| Antall prøver undersøkt: | 18 | 16 | 14 | 22 |
| <u>Gruppeinnd.:</u> | | | | |
| 0-100 | 5 | 0 | 0 | 0 |
| 100-1.000 | 2 | 1 | 5 | 6 |
| 1.000-10.000 | 11 | 12 | 7 | 10 |
| >10.000 | | 3 | 2 | 6 |
| Høyeste verdi | $8,9 \cdot 10^3$ | $1,9 \cdot 10^4$ | $1 \cdot 10^4$ | $5 \cdot 10^5$ |
| 2. kvartal | | | | |
| Fabrikk | A | B | C | D |
| Antall prøver undersøkt: | 9 | 10 | 5 | 12 |
| <u>Gruppeinnd.:</u> | | | | |
| 0-100 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 100-1.000 | 2 | 2 | 0 | 3 |
| 1.000-10.000 | 3 | 7 | 5 | 7 |
| >10.000 | 4 | 1 | | 2 |
| Høyeste verdi | $5 \cdot 10^4$ | $1,4 \cdot 10^4$ | $3 \cdot 10^3$ | $1 \cdot 10^4$ |
| 3. kvartal | | | | |
| Fabrikk | A | B | C | D |
| Antall prøver undersøkt: | 12 | 3 | 9 | 4 |
| <u>Gruppeinnd.:</u> | | | | |
| 0-100 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 100-1.000 | 2 | 0 | 2 | 2 |
| 1.000-10.000 | 9 | 3 | 6 | 2 |
| >10.000 | | | 1 | |
| Høyeste verdi | $7 \cdot 10^3$ | $4 \cdot 10^3$ | $1 \cdot 10^4$ | $1 \cdot 10^3$ |
| 4. kvartal | | | | |
| Fabrikk | A | B | C | D |
| Antall prøver undersøkt: | 6 | 5 | 4 | 0 |
| <u>Gruppeinnd.:</u> | | | | |
| 0-100 | 0 | 0 | 0 | - |
| 100-1.000 | 0 | 0 | 0 | - |
| 1.000-10.000 | 3 | 3 | 3 | - |
| >10.000 | 3 | 2 | 1 | - |
| Høyeste verdi | $1 \cdot 10^5$ | $1,1 \cdot 10^5$ | $1 \cdot 10^4$ | - |

Tabell 4 og 5 viser forekomsten av coliforme bakterier og fecale coliforme bakterier i sildemel. Resultatene er angitt samlet for hele året.

Tabell 4

Antall coliforme bakterier i sildemel gruppert i fire grupper.

| Fabrikk | A | B | C | D |
|-------------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|
| Antall prøver undersøkt | 70 | 54 | 58 | 90 |
| <u>Gruppeinndeling:</u> | | | | |
| Ingen påvisning | 53 (76 %) | 45 (83 %) | 27 (47 %) | 70 (78 %) |
| 1-100 | 4 | 9 | 17 | 20 |
| 100-1.000 | 5 | | 4 | |
| 1.000-10.000 | 8 | | | |
| Høyeste resultat | ca. $1 \cdot 10^4$ | 60 | 240 | 43 |

Tabell 5

Antall fecal coliforme bakterier i sildemel grupper i fire grupper.

| Fabrikk | A | B | C | D |
|-------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Antall prøver undersøkt | 70 | 54 | 58 | 90 |
| <u>Gruppeinndeling:</u> | | | | |
| Ingen påvisning | 53 (76 %) | 51 (94 %) | 42 (72 %) | 70 (78 %) |
| 1-10 | 8 | 2 | 6 | 20 |
| 10-100 | 9 | 1 | 9 | |
| 100-1.000 | | | 1 | |
| Høyeste resultat | 43 | 23 | 240 | 9 |

Tabell 6 viser funn av lecitinasespaltende baciller i sildemel. I de fleste prøver ble denne bakteriegruppen påvist i lavt antall, under 1000 pr. gram. Under eksisterende sildemelproduksjon er det derfor lite aktuelt rutinemessig å ta denne bakteriegruppen med i en undersøkelse.

Tabell 6

Funn av lecitinasespaltende baciller i sildemel gruppert i tre grupper

| Fabrikk | A | B | C | D |
|-------------------------|----------------|------------------|------------------|---|
| Antall prøver undersøkt | 25 | 15 | 21 | 0 |
| <u>Gruppeinndeling:</u> | | | | |
| 0-100 | 21 | 4 | 17 | |
| 100-1.000 | 3 | 11 | 4 | |
| >1.000 | 1 | | | |
| Høyeste resultat | $2 \cdot 10^3$ | $1,2 \cdot 10^3$ | $6,5 \cdot 10^2$ | |

De koagulase positive stafylokokker ble bare funnet sporadisk i sildemel, og alltid i lavt antall pr. gram.

Salmonella ble ikke påvist i noen av prøvene.

De bakterier eller bakteriegrupper som kan påvises i ferdige produkt vil være avhengig av bakterier i råvarene, videre hvilken kontaminasjon produktet blir utsatt for under produksjonsprosessen, eller det bakteriedrap som produksjonsprosessen forårsaker. Til slutt kan lagring og distribusjon ha betydning for de bakteriologiske forhold i sluttproduktet.

I sildemelproduksjonen vil den sterke varmepåvirkning på råstoffet tidlig i prosessen i vesentlig grad redusere bakteriene i råvarene. Bakterielastningen i råvarene vil derfor ha liten direkte betydning for de bakteriologiske funn i det ferdige sildemel. Undersøkelser viser at mel tidlig i produksjonsprosessen nærmest er sterilt. De bakterier som påvises i sluttproduktet vil derfor i vesentlig grad være en kontaminasjon under produksjonen og ved pakking. Med det lave vanninnhold som ferdig mel har, vil forsvarlig lagring gi minimale muligheter for bakterieutvikling under lagringen. I dagens sildemelproduksjon vil de bakteriologiske funn i sluttproduktet i første rekke være avhengig av graden av kontaminasjon under produksjonslinjene.

Under produksjonsprosessen er det flere forhold som har betydning for den kontaminasjon melet blir utsatt for. Kortfattet kan dette summeres slik: Maskineriets

konstruksjon, dvs. hvilken mulighet som finnes for oppsamling av melrester som på grunn av fuktighet blir et velegnet substrat for bakterievekst. Videre vil utformingen av maskiner og fabrikkbygninger ha betydning for effektiviteten av renholdsprosedyrene. Til slutt vil selve utførelsen av en renholdsprosedyre og hvor ofte dette gjøres, ha innvirkning på det bakteriologiske forhold i sluttproduktet.

Resultatene for totalt antall levende bakterier i sildemel viser liten årsvariasjon bygd på kvartalsvis summering. Dette gjelder alle fire fabrikkene som er med i undersøkelsen.

Resultatene for denne undersøkelsen viser at totalt antall levende bakterier for den overveiende del av prøvemateriale ligger mellom 100-100.000 pr. gram og at det er forholdsvis liten variasjon fabrikkene imellom.

Coliforme bakterier og fecal coliforme bakterier ble jevnlig funnet i prøver fra alle fire fabrikkene gjennom hele året, men i lavt antall i de fleste prøvene. Bare i enkelte tilfeller fra fabrikk A ble det påvist høye resultater for de coliforme og fecal coliforme bakterier i første kvartal.

Bakterier tilhørende gruppen coliforme/fecal coliforme bakterier har relativ liten resistens overfor varme. Temperaturer fra 60°C og oppover dreper eller inaktiverer disse organismene lett. På grunn av sitt nære slektskap med Salmonella kan disse bakteriegruppene være gode indikatorer på om Salmonella kan etablere seg dersom miljøet infiseres. Imidlertid er visse serotyper av Salmonella mer varmeresistente enn gruppene coliforme/fecal coliforme bakterier slik at Salmonella kan overleve selv om nevnte grupper elimineres i sildemel.

Dersom det hyppig påvises coliforme/fecal coliforme bakterier, vil slike funn fortelle om mangelfull produksjonshygiene i bedriften, forhold som muliggjør oppvekst av Salmonella dersom denne bakterien tilføres i produksjonsprosessen.

Undersøkelsen viser at i dagens sildemelproduksjon er det vanlig at melet kontamineres med fecale streptokokker og sulfitreducerende clostridier. Forekomsten av

disse bakteriegrupper i melet gir også informasjon om produksjonshygienen. Både fecale streptokokker og sulfitreduerende clostridier er varmeresistente bakterier med stor evne til å overleve ytre påkjenning. Disse bakteriegrupper kan derfor fortelle om produksjonshygienen i produkt hvor temperaturen under prosessen har vært så høy at ordinære indikatorbakterier som de coliforme/fecal coliforme bakterier ikke overlever, men hvor visse serotyper av Salmonella har muligheter for å greie påkjenningen.

Konklusjon

Resultatene fra undersøkelsen viser at de varme-resistente bakteriegruppene fecale streptokokker og sulfitreduerende clostridier vanlig etablerer seg i fiskemel slik produksjonen foregår i dag. Coliforme/fecal coliforme bakterier finnes også, men mer sjelden og i lavt antall pr. gram. Lecitinasespaltende baciller påvises også vanlig, men i lavt antall. Koagulase positive stafylokokker synes ikke å kontaminere dette produktet.

En bakteriologisk kartlegging av ferdigproduktet, som omfatter en eller flere av de angitte bakteriologiske undersøkelser, kan gi informasjon om de hygieniske forhold og derved peke ut bedrifters hygieniske standard. I bedrifter med lav hygienisk standard vil Salmonella, dersom bakterien introduseres i miljøet, kunne etablere seg i fabrikkene og infisere melet.

En bakteriologisk kartlegging av endeproduktet kan videre gi informasjon om betydningen av tiltak bedriftene setter i verk, f.eks. bedre renholdsprosedyre, bedre konstruksjon på maskineriet, eller andre tiltak.

En slik undersøkelse kan, sammen med en kontroll for Salmonella på steder i fabrikkene hvor rester av mel og fuktighet samles, informere fabrikkene når produksjonen er uforsvarlig med hensyn til forekomst av Salmonella og hvor tiltak bør settes i verk for å redusere muligheten for infisering av melet. Et slikt forebyggende arbeid kan på sikt være med å redusere frekvensen av Salmonella i silde-mel til et minimum.

LITTERATURHENVISNINGER

1. AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 1970).
2. Drion, E.F. and Mossel, D.A.A. (1977). The reliability of the examination of foods, processed for safety, for enteric pathogens and Enterobacteriaceae: a mathematical and ecological study. J. Hyg. Camb. 78, 307-324.
3. Garrett, E.S. 1973. U.S. Salmonella Control Program relating to Fish meal. Microbiol. Safety of Fishery Products 131-135. Academic Press New York and London.
4. Nordisk Metodikk-komite nr. 68, 1968.
nr. 71, 1975.