



voedsel en waren autoriteit

## **Conservering van monsters voor microbiologische analyses**

Symposium Eurachem, 9-11-2005.

Monster conservering: monsters met of zonder waarde

Dr. ir. Paul in 't Veld, VWA regio Zuid, Eindhoven



## Onderdelen presentatie

- Wat staat er in de normen
- Niet stabiele monsters
- Ingevroren monsters
- Stabiele monsters
- Conclusies
- Aandachtspunten



## ISO/DIS 7218 (2005)

## Food

“ The mode of transportation of the samples to the laboratory shall ensure that they are kept under conditions which **minimize** alteration in the number of microorganisms present ”

“ Deliver samples to the laboratory **promptly** ”

“ Examine the samples **as soon as possible** after receipt, preferably within 24 h, or as agreed with the parties concerned “



## ISO/DIS 7218 (2005)

## Food

Temperatuur gedurende transport en opslag:

1 stabiele producten: omgevingstemperatuur (beneden + 40 °C)

2 ingevroren producten: - 15 °C

3 overige producten die niet stabiel zijn bij omgevingstemperatuur:

1 – 8 °C gedurende transport en

1 – 5 °C gedurende opslag

Tijdsduur van transport en opslag:

– Transportduur niet aan maximale tijd gebonden, opslag maximaal 24 uur.



# NPR 6870 (2001)

# Food

**Tabel 1 – Temperatuur tijdens transport en opslag [8]**

	Temperatuur °C
microbiologisch stabiele producten	omgevingstemperatuur
bederfelijke producten en gekoelde producten	0 tot 4
zeer bederfelijke producten, zoals vis	0 tot 2
diepvriesproducten	< -18



# NPR 6870 (2001)

# Food

**Tabel 2 – Maximale bewaarduur na monsterontvangst [8]**

	Maximale bewaarduur na monsterontvangst h
microbiologisch stabiele producten, waaronder ook verduurzaamde producten	zo kort mogelijk, uiterlijk tot de datum van uiterste houdbaarheid
(zeer) bederfelijke producten en gekoelde producten	24  indien een langere periode niet te vermijden is, behoort het monster zo spoedig mogelijk na ontvangst te worden ingevroren. Vermeld dit altijd op het analysecertificaat, omdat de microbiologische samenstelling in bepaalde gevallen kan veranderen onder invloed van bevriezen.
diepvriesproducten	zo kort mogelijk, uiterlijk tot de datum van uiterste houdbaarheid
bedorven producten die vrijwel geen verdere verandering ondergaan	48



## ISO/DIS 19458 (2004)

## Water

“ Keep the time between sampling and analysis in the laboratory **as short as possible**. For potable waters, analysis should **ideally** be started within the same working day “



## ISO/DIS 19458 (2004)

## Water

Temperatuur gedurende transport en opslag:

- 2 - 8 °C gedurende transport en opslag (virussen uitgezonderd)

Tijdsduur van transport en opslag:

- Informatieve annex met aanbevolen en acceptabele waarden voor maximale tijd tussen monsternamen en aanvang onderzoek



## Annex B ISO/DIS 19458 (2004)

	Max time (h)	Temp. (°C)	Obs.
<u>General</u>			
Viable microorganisms at 22°C, or 37°C	8 (12)	5 ± 3	
<u>Faecal indicators</u>			
bacteria, vegetative	} 12 (18)	5 ± 3	
- <i>E.coli</i> (and coliforms)			
- <i>Enterococci</i>			
bacteria, spores			
- spores of sulphite-reducing bacteria ( <i>Clostridium</i> )	24 (72)	5 ± 3	
<u>Viruses</u>			
- bacteriophages	48 (72)	5 ± 3	
<u>Faecal Pathogens</u>			
- <i>Salmonella</i> and other Enterobacteriaceae	12 (18)	5 ± 3	
- Enteroviruses	48(72)	5 ± 3	
	(1 month)	(-70)	With cyoprotectant



## Samengevat

Belangrijk voor conservering is temperatuur en de tijd.

Waarom?

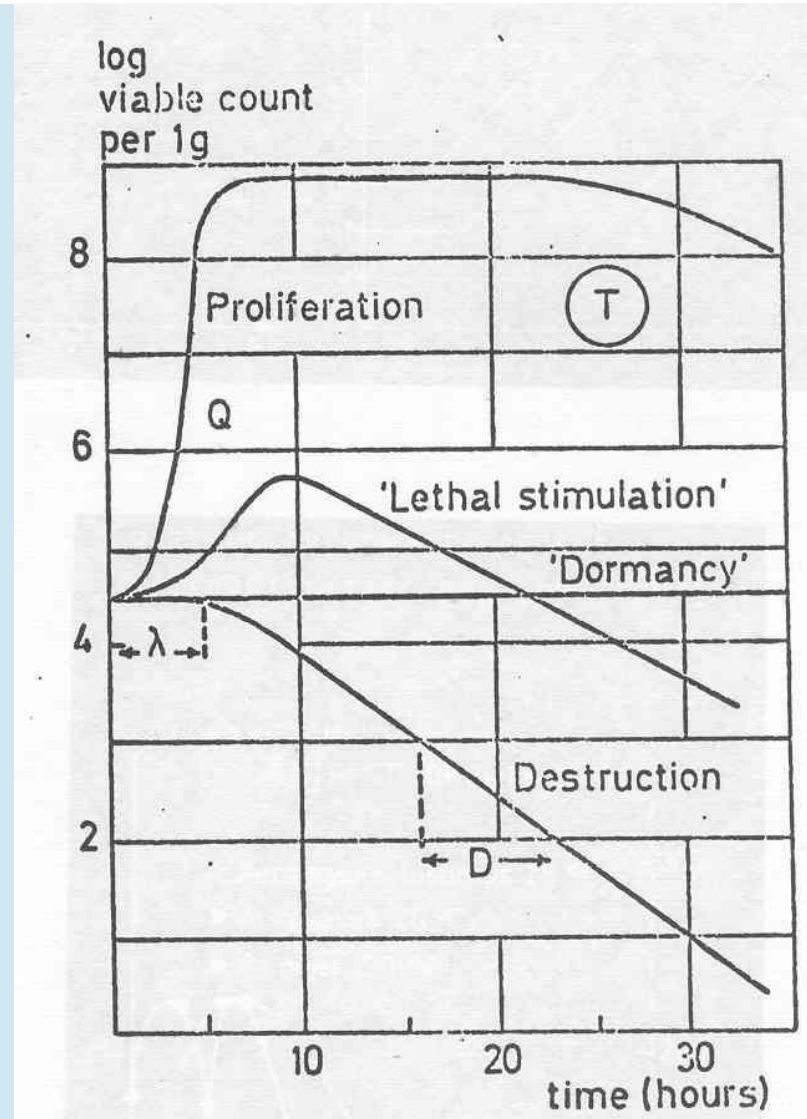
- In z'n algemeenheid hoe lager de temperatuur hoe lager de groeisnelheid

(bv Campylobacter kan niet meer bij 4 °C groeien, Listeria wel)

**Maar: voor conservering moet er geen groei zijn maar ook geen afsterving.**



# GroEICURVEN



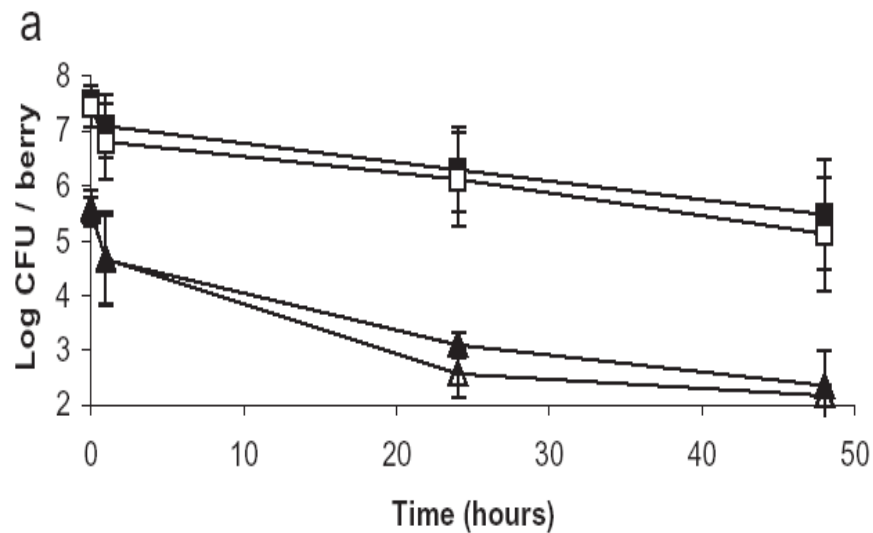


## Niet stabiele monsters

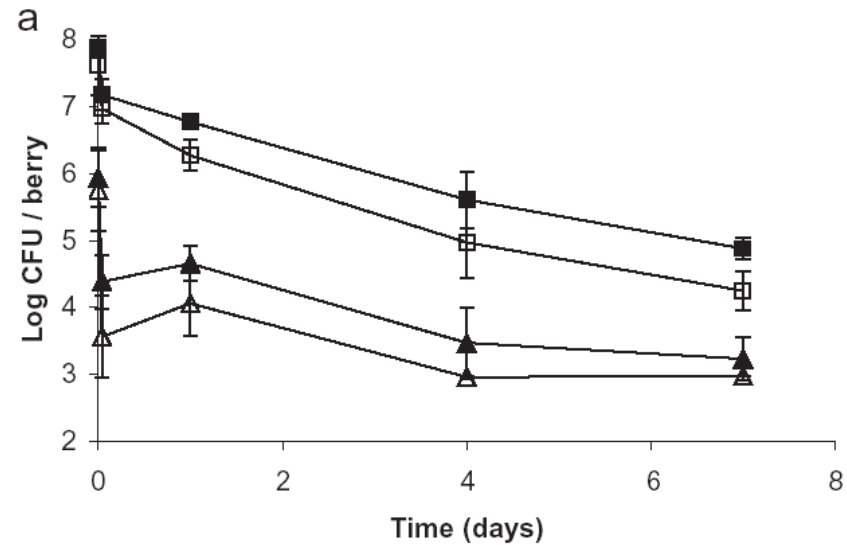
- meeste monsters soorten, vaak ook monsters die al gekoeld worden tot het moment van consumptie bv in verband met bederf.
- weinig onderzoek gericht op effecten van conservering, wel van bewaarduur op overleving maar dan met name gericht om zo snel mogelijke afdoding te krijgen



# Overleving *Listeria* op aardbeien 24 en 4 °C



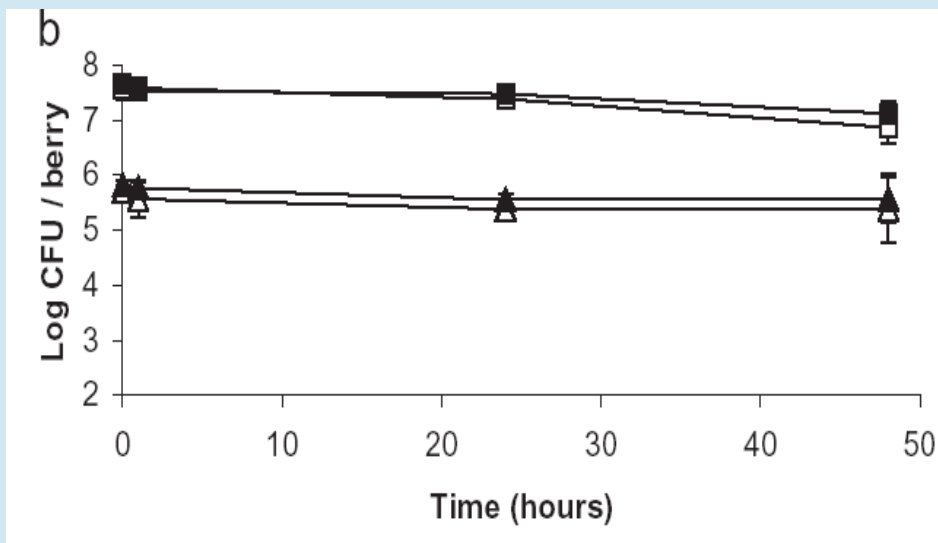
24 °C



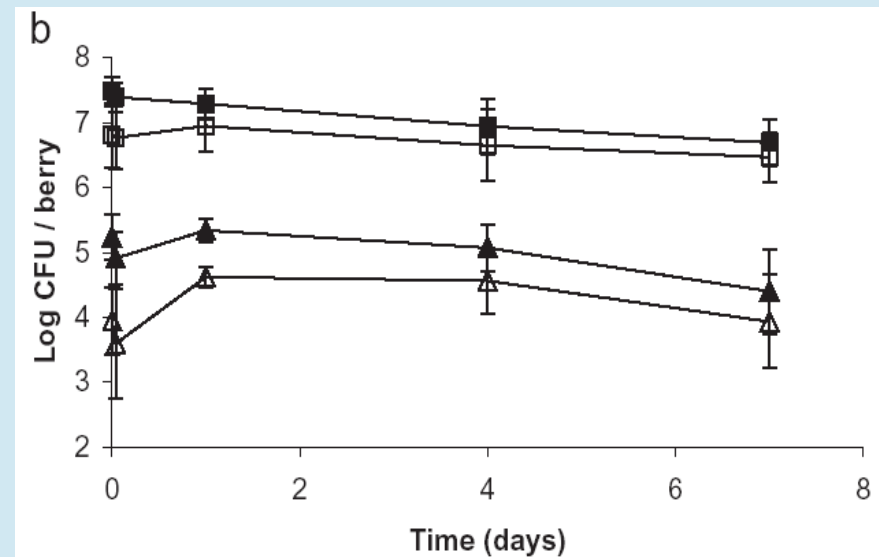
4 °C



# Overleving *Listeria* op gesneden aardbeien 24 en 4 °C



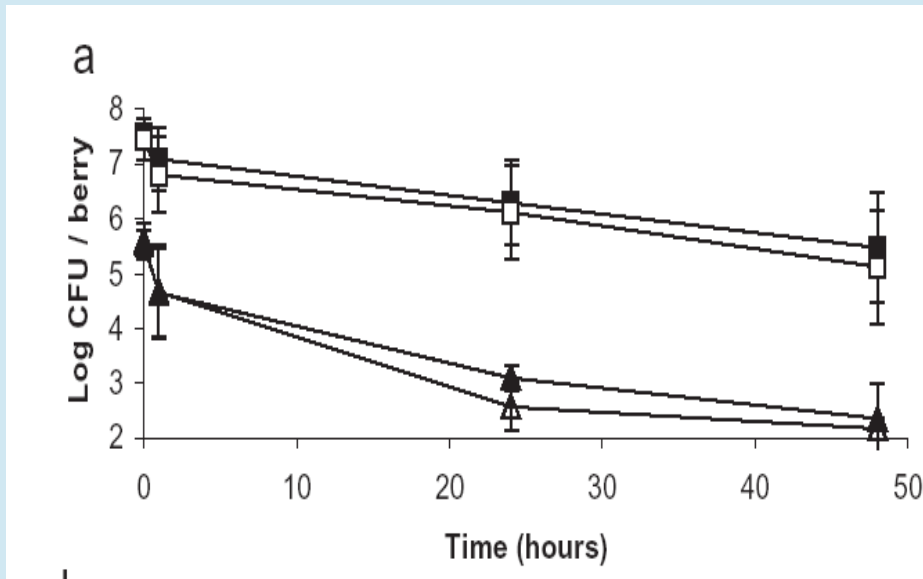
24 °C



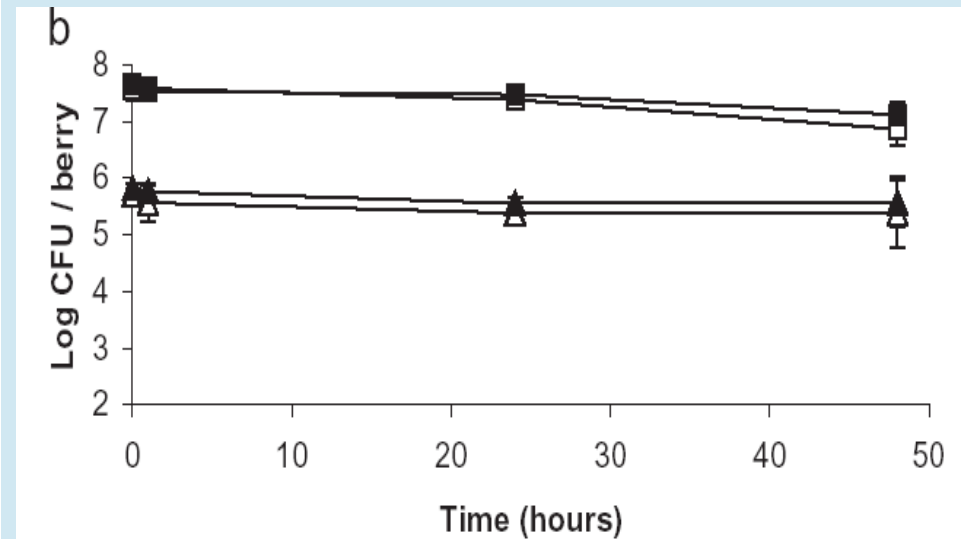
4 °C



# Overleving Listeria op aardbeien bij 24 °C



Hele aardbei



Gesneden aardbei

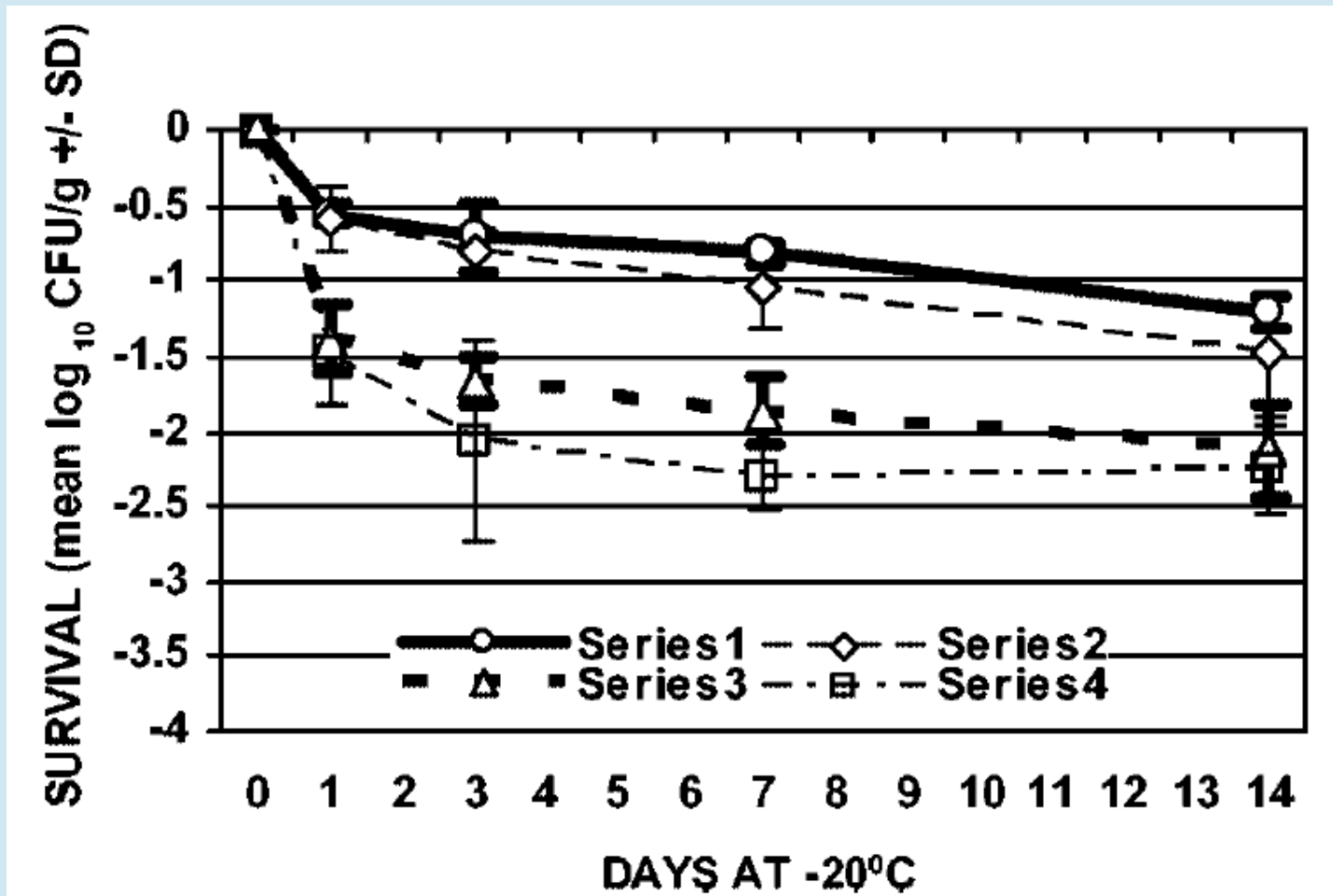


# Ingevroren monsters

Stopt groei a.g.v. lage temperatuur en verlaging wateractiviteit  
Temperatuur te hoog voor goede conservering van de  
microorganismen

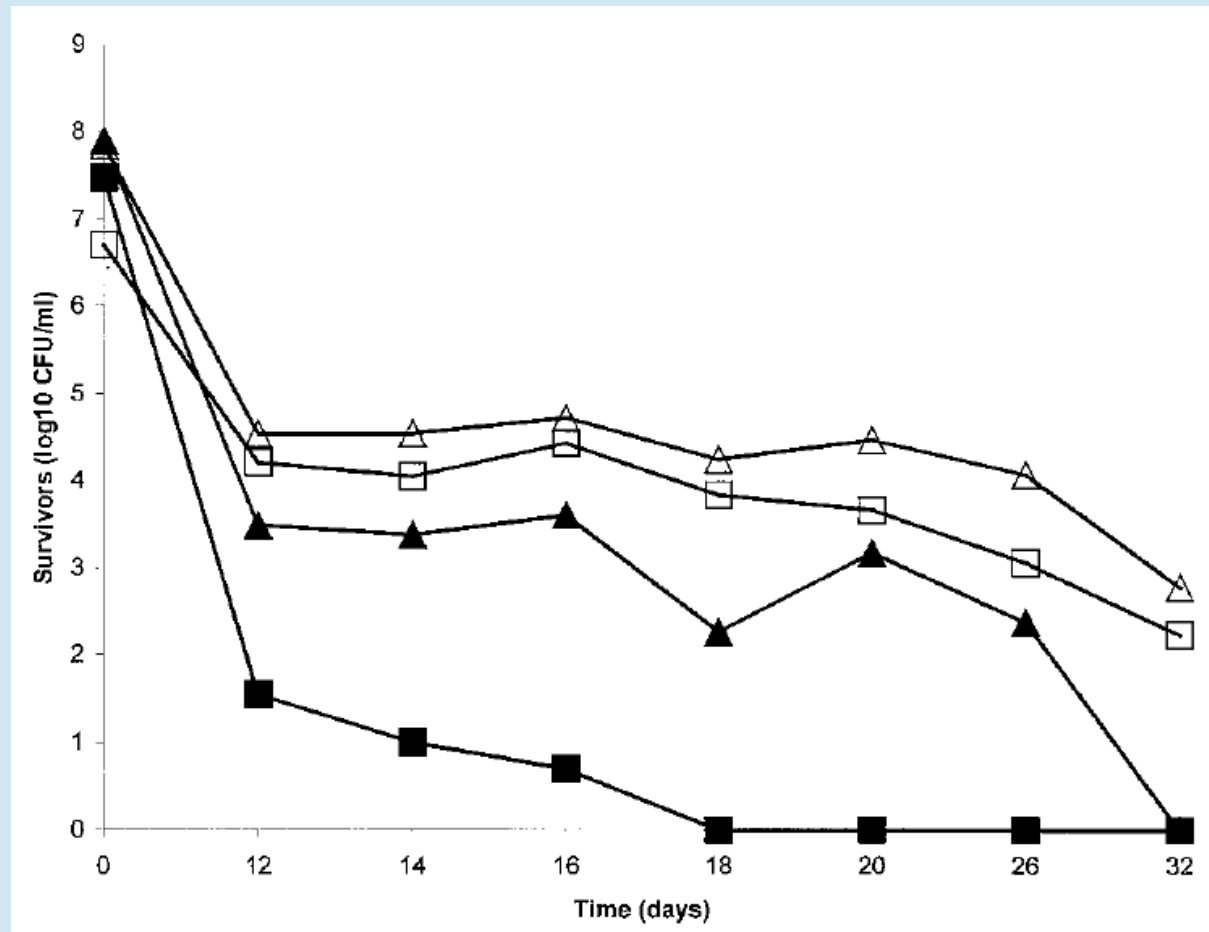


# Campylobacter op kip





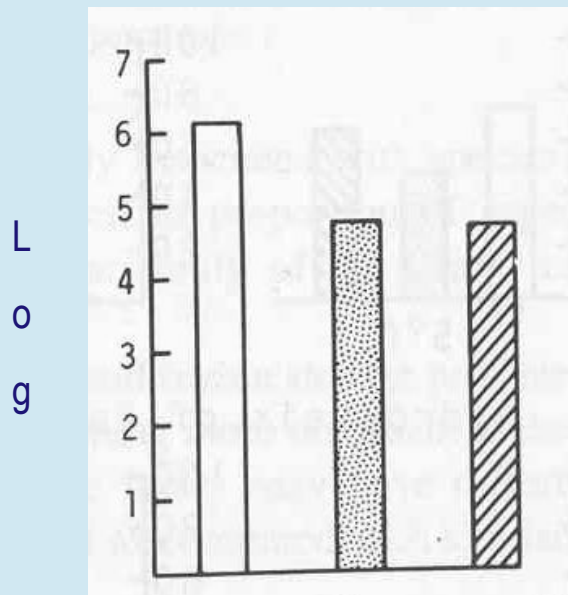
# Campylobacter stam verschillen





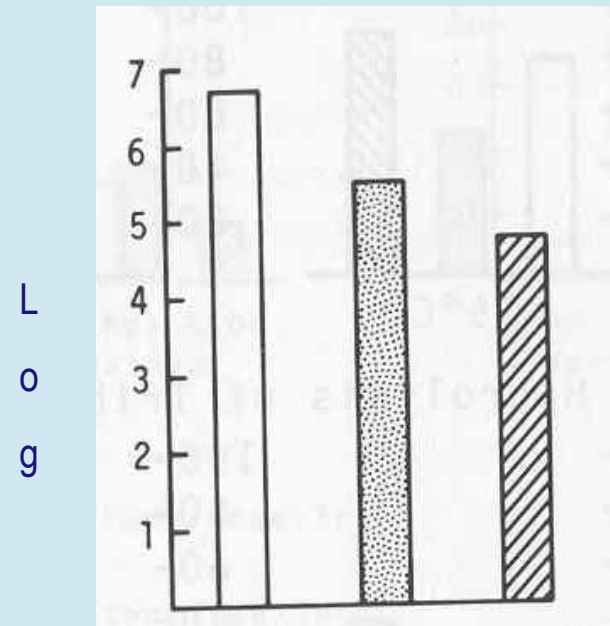
# Invriezen te gebruiken voor het stabiliseren van monsters?

Pseudomonas



Voor, direct na, na 28 dagen opslag

Totaal kiemgetal



Voor, direct na, na 28 dagen opslag



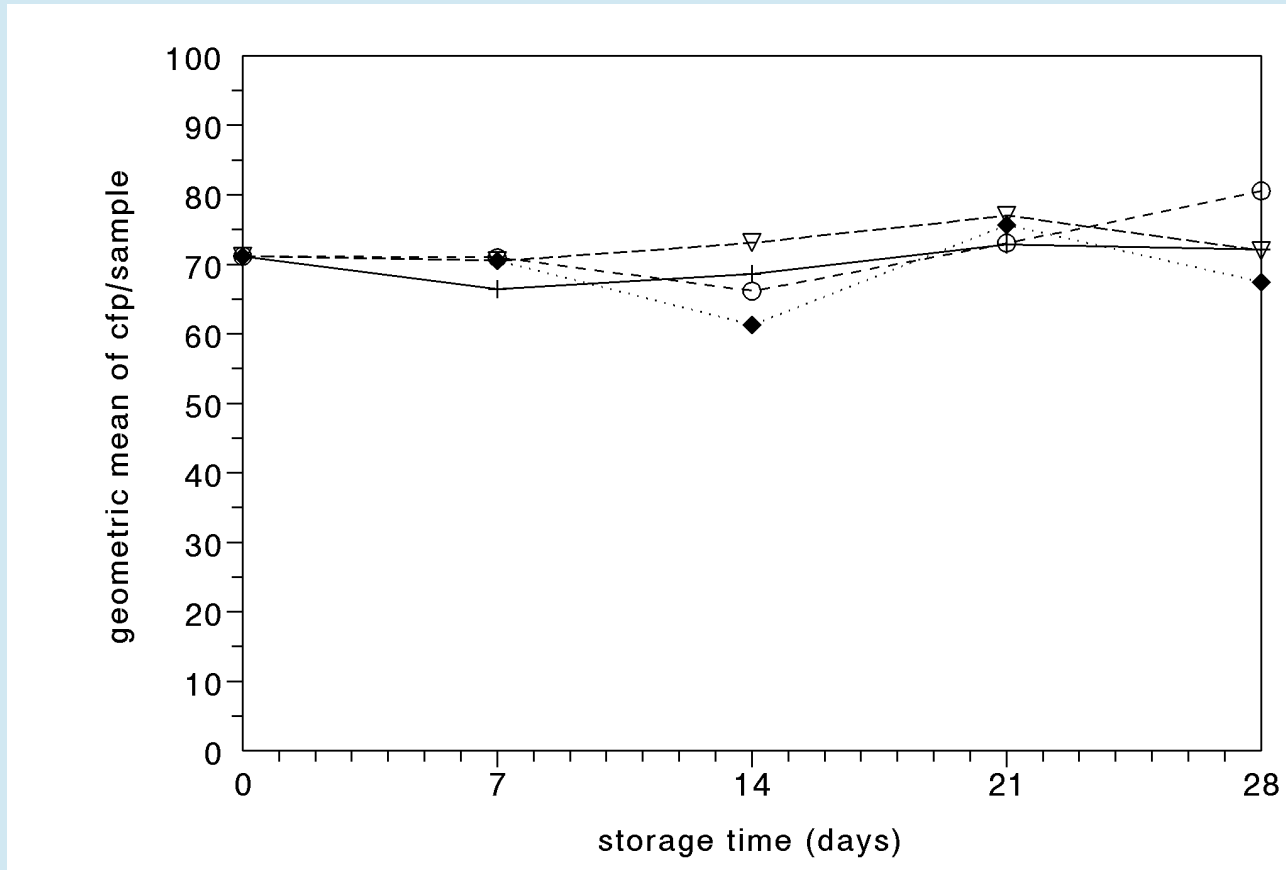
## Stabiele monsters

Te verkrijgen of te benaderen door:

- verlagen van de wateractiviteit (droge of gezouten monsters)
- hierdoor geen groei mogelijk



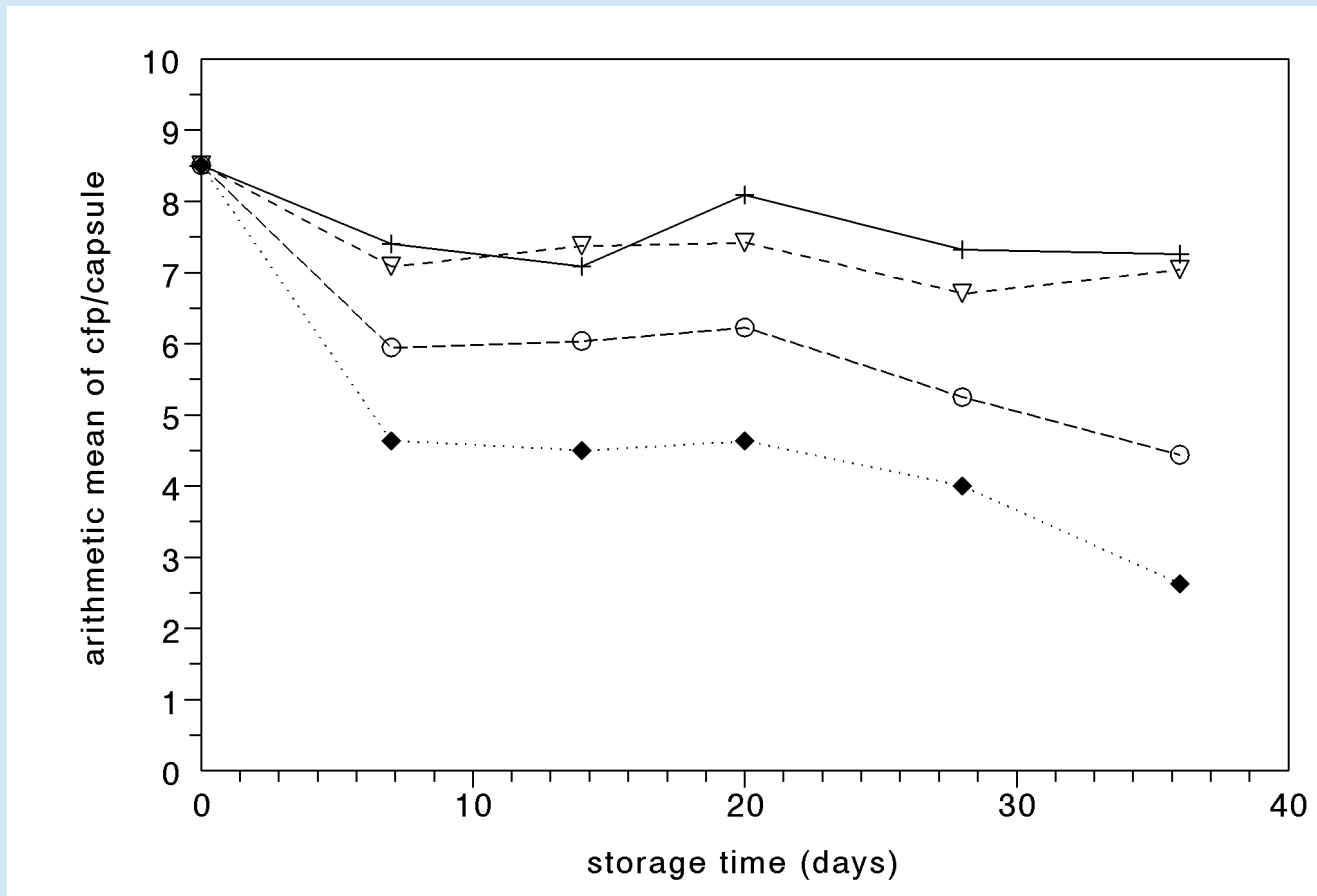
# Bacillus cereus in melkpoeder



-20°C  
5°C  
22°C  
30°C



# Listeria afsterving in melkpoeder



-20°C  
5°C  
22°C  
30°C



# Conclusies-1

## **Niet stabiele monsters en water monsters:**

- Opslag temperatuur zo laag mogelijk en tijd zo kort mogelijk houden (algemeen stelregel binnen 24 uur na monsternamen inzetten)

## **Stabiele monsters**

- Stabiel is relatief, geen kans op uitgroei zelf bij hogere temperaturen maar wel kans op afdoding

## **Ingevroren monsters**

- Tijdens invriezen meestal stabiel, geen alternatief voor instabiele monsters omdat er afdoding optreedt door invriezen



## Conclusies-2

- Effecten sterk afhankelijk van interactie tussen matrix en micro-organisme. Moeilijk te voorspellen wat er in een monster met een specifiek organisme gaat gebeuren.
- Effecten van conservering van een monster moet ook worden gezien in het geheel van de verdere voorbereiding en analyse van het monster, conservering is slechts 1 aspect!



## Aandachtspunten

Belangrijk is om na te gaan wat de onderzoeksvraag is, meting vlak na monstername cq productie of meting op moment van consumptie.  
(hierbij speelt ook een rol wat de normale opslagcondities zijn)

Vaak monstername niet onder verantwoordelijkheid lab. Dit moet duidelijk zijn bij rapportage. Tijdige aanlevering monsters blijft van belang.  
(bv monstername in het kader plan van aanpak Salmonella in pluimvee)

Hoe groot is de bijdrage van de invloed van monsterconservering in de totale spreiding van het monsteronderzoek dus inclusief het effect van monstername, inzetten van monsters (meenemen in bepaling meetonzekerheid?)