

## **Tiltak for økt kontroll med listeria i laksenæringen**

### **Sluttrapport**

Even Heir og Solveig Langsrud





Nofima er et næringsrettet forskningsinstitutt som driver forskning og utvikling for akvakulturnæringen, fiskerinæringen og matindustrien.

Nofima har om lag 350 ansatte.

Hovedkontoret er i Tromsø, og forskningsvirksomheten foregår på seks ulike steder: Ås, Stavanger, Bergen, Sunndalsøra og Tromsø

**Hovedkontor Tromsø:**

Muninbakken 9–13  
Postboks 6122 Langnes  
NO-9291 Tromsø

**Ås:**

Osloveien 1  
Postboks 210  
NO-1431 ÅS

**Stavanger:**

Måltidets hus, Richard Johnsen gate 4  
Postboks 8034  
NO-4068 Stavanger

**Bergen:**

Kjerreidviken 16  
Postboks 1425 Oasen  
NO-5828 Bergen

**Sunndalsøra:**

Sjølseng  
NO-6600 Sunndalsøra

**Felles kontaktinformasjon:**

Tlf: 02140

E-post: [post@nofima.no](mailto:post@nofima.no)

Internett: [www.nofima.no](http://www.nofima.no)

**Foretaksnr.:**

**NO 989 278 835**

# Rapport

|   |  |
|---|--|
|   | ISBN: 978-82-8296-245-2 (trykt)<br>ISBN: 978-82-8296-246-9 (pdf)<br>ISSN 1890-579X |
| <i>Tittel:</i><br><b>Tiltak for økt kontroll med listeria i laksenæringen</b><br><b>Sluttrapport</b>  | <i>Rapportnr.:</i><br>47/2014<br><i>Tilgjengelighet:</i><br><b>Åpen</b>            |
| <i>Forfatter(e)/Prosjektleder:</i><br>Even Heir (prosjektleder) og Solveig Langsrud   | <i>Dato:</i><br>31.12.2014   |
| <i>Avdeling:</i><br>Trygg og holdbar mat  | <i>Ant. sider og vedlegg:</i><br>43 s. + ett vedlegg (Veileder)                    |
| <i>Oppdragsgiver:</i><br>Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond   | <i>Oppdragsgivers ref.:</i><br>FHF#900521  |
| <i>Stikkord:</i><br>Listeria monocytogenes, laks, tiltak, hygiene, forekomst, smitte, veileder  | <i>Prosjektnr.:</i><br>4144  |
| <i>Sammendrag/anbefalinger:</i><br>Listeria er en av de største mikrobiologiske utfordringene for laksenæringen. Målet med dette prosjektet var økt kunnskap og bedre grunnlag for å oppnå økt kontroll med listeria i laksenæringen. Prosjektet bygger på forprosjektet «Kartlegging av bedriftspraksis som hemmer og fremmer forekomst av listeria i norske lakseprodukter» (FHF nr. 900315) og har vært forankret i FHF sin strategiske satsing på kvalitet som prioritert FoU-aktivitet. Laksenæringen har vært aktive partnere i prosjektet og bidratt med verdifulle resultater og innspill. Prosjektet har fokusert på områder hvor tidligere kartlegginger påviste kunnskapsbehov for å oppnå økt kontroll med listeria i næringen. Dette har inkludert metoder for listeripåvisning, kunnskap om smitekilder og smitteveier for listeria og tiltak for å oppnå økt listeriakontroll i produksjonsmiljø. Resultatene viste at renholdet som praktiseres ikke eliminerer listeria i anleggene. Dette fører til at laksen smittes ved prosessering i anleggene og ofte tidlig i slakteprosessen. Analyser fra sløyd laks viste at mange slakterier regelmessig har listeria på sine produkter. Generelle problempunkter så vel som spesifikke problempunkter i enkeltanlegg ble påvist. Resultatene viste at bedre renhold kan gi økt kontroll med listeria. Andre strategier, og ofte en kombinasjon av flere tiltak, er imidlertid nødvendig for å eliminere listeria i produksjonsmiljø og produkter. På bakgrunn av resultater fra prosjektet ble det utarbeidet en veileder for næringen. Denne kan brukes som et verktøy for risikobasert overvåking og bekjempelse av listeria i laksenæringen og kan lastes ned fra FHF sine hjemmesider. |  |
| <i>English summary/recommendation:</i><br>Listeria is among the most serious microbial challenges for the salmon industry. The aim of the current project was to provide the salmon processing industry with increased knowledge and an improved basis to obtain enhanced control of listeria in the salmon industry. The project was anchored in the R&D strategy of the Norwegian Research Seafood Fund on seafood quality. The project has included methods for listeria sampling, identification of listeria sources and source tracking, and measures for increased control of listeria in the salmon processing industry. A guideline was prepared as a tool for the salmon industry to obtain increased control of listeria in processing plants. The salmon processing industry has been active partners in the project and provided valuable results and inputs to the project. The project has pointed out specific and general challenges for processing plants and the industry and provided a basis for targeted and risk-based strategies to obtain enhanced control of listeria in the salmon processing industry.   |  |

# Innhold

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| <b>1</b> | <b>Sammendrag</b>  | <b>1</b>  |
| 1.1      | Norsk  | 1         |
| 1.2      | Engelsk  | 2         |
| <b>2</b> | <b>Innledning</b>  | <b>4</b>  |
| <b>3</b> | <b>Problemstilling og formål</b>   | <b>6</b>  |
| <b>4</b> | <b>Prosjektgjennomføring</b>   | <b>7</b>  |
| 4.1      | AP 1: Evaluering og etablering av standardiserte metoder for prøvetaking av råvarer og produksjonsmiljø                                  | 7         |
| 4.2      | AP2: Identifisere smittekilder og smittekilder for listeria i produksjonsanlegg. Karakterisering av listeria fra laks og lakseproduksjon | 7         |
| 4.3      | AP3: Identifisere tiltak for økt kontroll med listeria i laksenæringen   | 8         |
| 4.4      | AP4: Utarbeide veileder med anbefalinger om håndtering og forebygging av listeria-problemer  | 9         |
| 4.5      | Kunnskapsspredning og formidling   | 9         |
| <b>5</b> | <b>Resultater</b>  | <b>10</b> |
| 5.1      | AP1: Evaluering og etablering av standardiserte metoder for prøvetaking av råvarer og produksjonsmiljø                                   | 10        |
| 5.1.1    | Oversikt over tilgjengelige metoder  | 10        |
| 5.1.2    | Uttesting av utvalgte metoder  | 12        |
| 5.2      | AP 2: Smitteveier og smittekilder for listeria i produksjonskjeden. Karakterisering av listeria fra laks og lakseproduksjon              | 15        |
| 5.2.1    | Besøk og prøvetaking i anlegg  | 15        |
| 5.2.2    | Bakgrunn for valg av prøvetakingspunkter   | 16        |
| 5.2.3    | Prøvetaking og funn av <i>L. monocytogenes</i>   | 17        |
| 5.2.4    | Smittekilder og smitteveier i Anlegg 1-4   | 19        |
| 5.2.5    | Karakterisering av listeria fra laks og lakseproduksjon  | 24        |
| 5.3      | AP3: Tiltak  | 26        |
| 5.3.1    | Sløyd laks som smittekilde for listeria  | 27        |
| 5.3.2    | Tiltak for bedre renhold   | 29        |
| 5.4      | Arbeidspakke 4: Veileder   | 37        |
| 5.5      | Vurdering av prosjektets nytteverdi for laksenæringen  | 38        |
| <b>6</b> | <b>Leveranser</b>  | <b>40</b> |
| 6.1      | Faglige rapporter  | 40        |
| 6.2      | Populærvitenskapelige artikler   | 40        |
| 6.3      | Foredrag, muntlige innlegg   | 40        |
| 6.4      | Mastergradsoppgaver  | 41        |
| 6.5      | Postere  | 41        |
| 6.6      | Vitenskapelige artikler (publiserte og under bearbeiding)  | 42        |
| <b>7</b> | <b>Kvalitetssikring av prosjektgjennomføring og resultater</b>   | <b>43</b> |

# 1 Sammendrag

## 1.1 Norsk

Målet med dette prosjektet var økt kunnskap og bedre grunnlag for å oppnå økt kontroll med listeria i laksenæringen. Prosjektet bygger på forprosjektet «Kartlegging av bedriftspraksis som hemmer og fremmer forekomst av listeria i norske lakseprodukter» (FHF nr. 900315) og er forankret i FHF sin strategiske satsing på kvalitet som prioritert FoU-aktivitet. I dette prosjektet har vi sett nærmere på områder hvor det, basert på forprosjektet, ble påvist økt behov for kunnskap for at laksenæringen skal oppnå økt kontroll med listeria. Fire prosesseringsanlegg for laks/ørret (heretter kalt laks), to slakterier, ett anlegg som hadde hele prosessen fra slakting til røyking og ett anlegg som produserte røkt laks fra innkjøpt sløyd laks, deltok aktivt i prosjektet. Det har vært et godt samarbeid mellom alle involverte i prosjektet som har inkludert aktører fra laksenæringen, leverandører av hygienekompetanse og forskningsinstitusjoner (Nofima og Nasjonalt Folkehelseinstitutt). Prosjektet har omhandlet metoder for prøvetaking, kartlegging av smittekilder og smitteveier for listeria, typing av listeria (utført av Nasjonalt Folkehelseinstitutt) samt tiltak mot listeria. I siste del av prosjektet ble det utarbeidet en veileder som har til hensikt å være et viktig hjelpemiddel for næringen i det daglige arbeidet med å oppnå kontroll med listeria i eget anlegg.

Prøvetaking og analyser for listeria er tid- og kostnadskrevende. En vurdering av kommersielt tilgjengelige alternative påvisningsmetoder for listeria ble derfor gjennomført. En uttesting av utvalgte dyrkingsbaserte hurtigmetoder viste at metodene kan gi en høy andel falske positive samtidig som de er mindre sensitive enn standard metodikk for prøvetaking og påvisning. Metodene har derfor begrenset egnethet for bruk i laksenæringen.

Kontroll med listeria ved prosessering av laks er vesentlig for å unngå listeria i ferdige produkter. Hovedfokus har derfor vært på kartlegging av listeria-situasjonen i produksjonsprosessen fra rund fisk til sløyd, filetert og røkt produkt. Besøk i fire anlegg ga grunnlag for systematisk prøvetaking i anleggene som ble gjennomført over 1,5-2 år med prøvetaking fra miljø, utstyr og fisk. Resultatene viste at renholdet som praktiseres ikke eliminerer listeria i anleggene. Dette fører til listeria på ferdige produkter ved at fisken smittes ved prosessering i anleggene og ofte tidlig i slakteprosessen. Analyser fra sløyd laks viste at mange slakterier regelmessig har listeria på sine produkter som leveres til videreforedling. Generelle problempunkter så vel som spesifikke problempunkter i enkeltanlegg ble påvist. Potensielle stammer med permanent tilhold i utstyr og maskiner (husstammer) ble påvist i alle anleggene hvor prøvetaking ble foretatt.

Typing (DNA fingeravtryksanalyser) av alle *L. monocytogenes* isolater ved bruk av MLVA (Multiple-locus variable-number tandem-repeats analysis) ble utført ved Nasjonalt folkehelseinstitutt. Typingen gjorde det mulig å påvise smitteveier og identifisere husstammer. Sammenligning av isolater fra laksenæringen med isolater knyttet til humane listeriose-tilfeller viste at mange isolater fra laks hadde samme MLVA-type som også er isolert fra listeriose-pasienter. Ytterligere karakterisering er nødvendig for å påvise om *L. monocytogenes* fra laksenæringen er andre typer enn de som gir listeriose hos mennesker og om husstammene har spesielle egenskaper.

Utvidet prøvetaking ga økt kunnskap om smittekilder og effekt av tiltak. Resultatene viste at bedre renhold kan gi økt kontroll med listeria i anlegg, men at andre strategier, og ofte en kombinasjon av flere tiltak, er nødvendig for å eliminere listeria i produksjonsmiljø og produkter. Basert på kunnskap opparbeidet i prosjektet samt tidligere kunnskap på området, ble det utarbeidet en veileder for næringen som kan brukes som et verktøy for risikobasert håndtering og økt kontroll med listeria i laksenæringen.

Prosjektet har gitt økt oppmerksomhet og bidratt til mer åpenhet i næringen rundt en av norsk laksenærings største utfordringer; kontroll med *L. monocytogenes*. Prosjektet har påpekt utfordringer for enkeltanlegg og for næringen og gitt næringen ny kunnskap og grunnlag for målrettet bekjempelse av listeria. Dette inkluderer både forebyggende tiltak, risikobasert overvåking og problemløsning for å kvitte seg med listeria.

## 1.2 Engelsk

The aim of the current project was to provide the salmon processing industry with new knowledge and an improved basis to obtain enhanced control of listeria in the salmon industry. The project is a continuation of the preproject «Kartlegging av bedriftspraksis som hemmer og fremmer forekomst av listeria i norske lakseprodukter» (FHF nr. 900315) and is anchored in the R&D strategy of the Norwegian Research Seafood Fund on seafood quality. In the current project, priority was given to previously identified research needs to obtain enhanced control of listeria in the salmon industry. Four salmon processors (slaughter houses and salmon smoke houses) were active participants. There has been good cooperation between all involved partners in the project including salmon industry (including project steering group), suppliers of cleaning agents and hygiene expertise and research institutes. The project has included methods for listeria sampling, identification of listeria sources and source tracking, listeria strain characterization and measures for increased control of listeria in the salmon processing industry. Based on knowledge and experiences obtained in the project and on information from other sources, a guideline was prepared. The guideline can be used as a tool for the salmon industry to obtain enhanced control of listeria in salmon processing plants using a risk based approach.

Evaluation and testing of selected rapid methods for listeria detection were performed. Test results showed two commercial rapid methods to have limitations in practical use, compared to standard analyses, due to false positives and reduced sensitivity.

A main focus in the project were to map the listeria situation in the salmon production process from live salmon to finished product (gutted salmon, filet, smoked salmon). Systematic sampling was performed in four processing facilities during a 1,5-2 years period. The findings showed that the cleaning process did not eliminate listeria, and that listeria present in processing machines, equipment and environment contaminate the salmon during processing. Analyses showed that gutted salmon from different slaughter houses and further processed to smoked salmon, regularly contain listeria. Both general and plant specific listeria problem sites were identified.

DNA-based typing of all *Listeria monocytogenes* isolates were done by MLVA (Multiple-locus variable-number tandem-repeats analysis) at Norwegian Institute of Public Health. Potential house strains of listeria were identified in all plants sampled. Typing provided information on listeria sources and transfer and on potential house strains. Comparison of strains from the salmon industry

to isolates from human cases of listeriosis showed identity between salmon and human *L. monocytogenes* isolates based on MLVA-typing. Further characterization is needed to conclude if the salmon listeria strains are different from those responsible for listeriosis in humans and to identify specific characteristics of house strains.

A number of measures were evaluated and tested, and additional sampling was done to obtain further knowledge on listeria sources and effect of measures. The results showed that improved cleaning could provide improved control of listeria, but that additional strategies, often applied in combinations, are needed for elimination of listeria in the processing environment and in products.

The project has given increased attention to one of the biggest challenges for the Norwegian salmon industry; control of *L. monocytogenes*. The project has pointed out specific and general challenges for processing plants and the industry and provided a basis for targeted and risk-based strategies to obtain enhanced control of listeria in the salmon processing industry.

## 2 Innledning

Kontroll med listeria er en stor utfordring for laksenæringen. Listeria er en sykdomsfremkallende matassosiert bakterie, og det er derfor strenge krav til listeria-nivåer i produkter og råvarer. Flere land som importerer norsk laks har nulltoleranse for listeria i produktene. Listeria risikoprodukter er særlig langtidsholdbare, kjølelagrede produkter som ikke varmebehandles før konsum. Typiske produkter er kaldrøkt og gravet laks. For denne typen produkter vil verken produksjonsprosessen eller behandling hos kunden vanligvis eliminere listeria. I prosesser som ikke innehar trinn som eliminerer listeria (f.eks. varmebehandling) er listeria-kvaliteten i råvarene svært viktig.

Noen bedrifter sliter periodevis med listeria i produksjonsmiljøet og i ferdige produkter, mens andre har god kontroll. Kostnadseffektiv kontroll med listeria i laksenæringen kan best oppnås gjennom hensiktsmessig og systematisk arbeid i hele produksjonskjeden. Det er kjent at smitte av listeria fra produksjonsutstyr og produksjonsmiljø er en viktig årsak til listeria i ferdige produkter. Bekjempelse av listeria i produksjonsanlegg er derfor vesentlig for økt kontroll med denne bakterien i næringen. Nofima, i samarbeid med FHL og NSL, gjennomførte i forkant av dette prosjektet et forprosjekt «Kartlegging av bedriftspraksis som hemmer og fremmer forekomst av listeria i norske lakseprodukter». Dette prosjektet påviste forbedringsområder og kunnskapsbehov for å oppnå økt kontroll med listeria i norsk lakseproduksjon. På grunnlag av kartlagt kunnskapsbehov ble dette prosjektet igangsatt hvor hovedmålet var å gi næringen bedre grunnlag for å oppnå økt kontroll med listeria i produksjonskjeden for sløyd og røkt laks.

Nofima, Divisjon Mat har vært ansvarlig FoU institusjon med forsker Even Heir som prosjektleder. Prosjektet har blitt gjennomført i samarbeid med norsk laksenæring. Nasjonalt Folkehelseinstitutt har gjennomført DNA-basert typing av alle *L. monocytogenes* påvist i prosjektperioden.

Hovedfokus i prosjektet har vært på prosesseringsanlegg for laks i Norge (slakterier og røykerier) for å avdekke listeria-situasjonen i maskiner, produksjonsutstyr og miljø. Fire anlegg med geografisk utbredelse fra Hordaland til Finnmark har deltatt i prosjektet:

Anlegg 1: Produserer produkter av røkt laks/ørret i tillegg til filet. Råvare er levende laks/ørret.

Anlegg 2: Produserer røkt laks i tillegg til filet. Råvare er sløyd laks som mottas fra flere leverandører.

Anlegg 3: Lakseslakteri som produserer sløyd laks.

Anlegg 4: Lakseslakteri som produserer sløyd laks.

Anleggene har bidratt med informasjon om produksjonsrutiner, prøvetaking, renhold og listeria-funn. De var også godt vertskap når deler av prosjektgruppen ved Nofima besøkte anlegget. Anleggene har gjennomført prøvetakinger for listeria-påvisning i prosjektet, deltatt i uttesting av tiltak og kommet med innspill til prosjektet. Styringsgruppen for prosjektet har bestått av Asbjørn Stensvold, Norway Royal Salmon; Randi Haldorsen, Marine Harvest (deltok kun første del av prosjektet), Ståle Høyem, Suempol Norge AS, Svein Reppe, Norske sjømatbedrifters landsforening og med Kristian Prytz, FHF, som koordinator av styringsgruppen. Mattilsynet Midt-Norge v/ Ivar Hellesnes har deltatt som observatør i prosjektet. En referansegruppe, med deltagere fra Veterinærinstituttet og renholdsleverandører (Aquatic AS, Lilleborg Profesjonell) har vært tilknyttet prosjektet og gitt faglige innspill ved behov. Det har vært godt samarbeid med leverandører av hygienekompetanse og



renhold, særlig Lilleborg Profesjonell, men også lokale hygieneleverandører. Disse har levert utstyr og deltatt i planlegging og gjennomføring av tiltak i produksjonsanlegg. Prosjektet har også fått tilgang til isolater påvist gjennom anleggenes rutineprøvetaking. Vi ønsker å takke lokale analyselaboratorier for formidling av informasjon og isolater til prosjektet. Nofima har koordinert, planlagt og vært ansvarlig for gjennomføringen av aktivitetene i prosjektet. Alle analyser av tilsendte prøver har blitt foretatt av Nofima. Vi ønsker å takke alle involverte for et godt samarbeid i gjennomføringen av prosjektet.

### 3 Problemstilling og formål

Hovedmålet med prosjektet har vært å oppnå økt kontroll med listeria i produksjonsprosessen for sløyd, filetert og røkt laks. Hovedmålet er forsøkt innfridd gjennom følgende delmål (arbeidspakkene knyttet til hvert delmål i parentes):

- Anbefale standardiserte metoder for prøvetaking for påvisning av listeria i lakseindustrien (AP 1)
- Identifisere smitteveier og smittekilder for listeria i hele produksjonskjeden (AP 2)
- Sammenlikne listeria påvist i lakseprodukter med listeria fra utbrudd og andre kilder (AP2)
- Identifisere tiltak for økt kontroll med listeria i laksenæringen (AP3)
- Utarbeide veileder for håndtering og forebygging av listeria-problemer i laksnæringen (AP4)

Leveransene i prosjektet har vært knyttet opp til hovedmål og delmål:

- Vurdering av metoder for prøvetaking og analyser inkludert uttesting og anbefalinger om egnede metoder (AP1)
- Rapport om viktige smittekilder og smitteveier for listeria i produksjonskjeden for sløyd og røkt laks lages (AP2)
- Veileder for håndtering og forebygging av listeria i laksenæringen inkludert anbefalinger om tiltak mot listeria i prosessanlegg
- Kunnskapsspredning om listeria-situasjonen i norsk laksenæring. Formidlingen inkluderer populærvitenskapelig og vitenskapelig publisering og presentasjoner på møter og samlinger rettet mot næringen

Norsk laksenæring har fått et kunnskapsbasert grunnlag for å oppnå økt kontroll med listeria i næringen. Prosjektet vil derfor kunne bidra til risikobasert og mer kostnadseffektiv bekjempelse av listeria i norsk laks, tryggere produkter med bedre kvalitet, forbedret omdømme og bedre økonomi i laksenæringen.

## 4 Prosjektgjennomføring

Det tidligere forprosjektet «Kartlegging av bedriftspraksis som hemmer og fremmer forekomst av listeria i norske lakseprodukter» (FHF prosjektnr. 900315) påviste kunnskaps- og forskningsbehov som ga grunnlag for å fokusere arbeidet i dette prosjektet rundt noen prioriterte områder:

- kartlegge smitteveier for listeria gjennom hele kjeden
- mer optimale metoder for prøvetaking og analyser av listeria
- tiltak for å redusere smitte av listeria til produkter i produksjonsprosessen
- anbefalinger for forebygging og håndtering av listeria-problemer i næringen
- kunnskapsspredning om listeria i næringen

Det ble tidlig i prosjektperioden etablert samarbeid med fire prosesseringsanlegg for laks (to slakterier og to røykerier (hvorav ett også slaktet laks/ørret). Disse, med kvalitetsledere i spissen, deltok som aktive samarbeidspartnere i prosjektet og var vesentlig for gjennomføringen. Erfaringer med tiltak samt innspill til uttesting av tiltak ble diskutert og gjennomført i samarbeid med anleggene. For mulig uttesting av CIP (Cleaning-In-Place)-vask, ble også andre anlegg kontaktet og ett anlegg besøkt. Ønsket uttesting lot seg imidlertid ikke gjennomføre i dette prosjektet. Dette skyldtes bl.a. gjennomføring av andre tiltak parallelt med innføring av CIP som vanskeliggjorde både gjennomføring av uttesting og vurderinger av effekten av tiltaket.

Resultater og framdrift har blitt diskutert i møter i styringsgruppa. Prosjekt møter med representanter fra næringen, Mattilsynet og andre kompetansemiljøer har også gitt verdifulle innspill til prosjektet. Tre masterstudenter har gjennomført masteroppgaver med problemstillinger delvis relatert til prosjektet. Formidling fra prosjektet har vært en prioritert oppgave og blitt gjort gjennom populærvitenskapelig publisering i bransjeblader, deltagelse og innlegg på bransjemøter og ved vitenskapelig publisering. Resultater fra prosjektet ble også formidlet i møte med den Franske røykeriforeningen (Se kap. 6 Leveranser).

Arbeidet har blitt gjennomført i fire arbeidspakker (AP1-AP4):

### 4.1 AP 1: Evaluering og etablering av standardiserte metoder for prøvetaking av råvarer og produksjonsmiljø

Kriterier for vurdering av alternative metoder for prøvetaking og påvisning av listeria ble bestemt i samråd med næringen. Kommersielt tilgjengelige metoder ble vurdert på grunnlag av valgte kriterier. To hurtigmetoder ble testet under praktisk bruk i næringen og sammenligning med konvensjonell metode for prøvetaking og analyser. Uttestingen ble gjennomført i tett samarbeid med næringen. Hurtigmetodene som ble testet ble også valgt siden disse var ustrakt brukt i næringen.

### 4.2 AP2: Identifisere smittekilder og smittekilder for listeria i produksjonsanlegg. Karakterisering av listeria fra laks og lakseproduksjon

Ved besøk, gjennomgang og prøvetaking i de fire anleggene ble produksjonsforhold og rutiner gjennomgått og utfordringer med listeria i anleggene diskutert med kvalitetsansvarlige i anlegget. Det var utarbeidet en plan for hvilken informasjon man skulle hente inn og hvilke prøver som skulle tas, og samme fremgangsmåte ble benyttet ved alle besøk. Smittekilder og smitteveier for listeria ble

kartlagt gjennom innsyn i historiske prøvetakingsplaner og resultater og ved gjennomføring av systematisk prøvetaking i prosjektperioden. Enkelte listeriastammer påvist etter rutineprøvetaking i anleggene ble også mottatt fra eksterne analyselaboratorier. Resultater og vurderinger fra prøvetakingene ble videresendt til de respektive anleggene.

Karakterisering av listeria fra laks og lakseprosjekter har fokusert på typing av *L. monocytogenes* ved bruk av genetisk fingeravtrykksanalyse. Typingen gjennomført ved Nasjonalt Folkehelseinstitutt hadde to formål: 1) Identifisere smitteveier i anleggene 2) Sammenligne typene påvist i laksenæringen med typer påvist fra listeriose-tilfeller i pasienter.

I delvis tilknytning til andre prosjekter har det også blitt gjennomført noe ekstra karakterisering av prøvematerialet. Enkelte isolater i prosjektet er blitt ytterligere karakterisert mht om disse har egenskaper assosiert med evne til overlevelse i produksjonsmiljø. Dette inkluderer evne til biofilmdannelse og evne til å overleve i miljøer hvor vaske- og desinfeksjonsmidler benyttes. Karakteriseringen er delvis gjort som del av mastergradsoppgaver og dette arbeidet vil også bli publisert vitenskapelig. (Se kap. 6 Leveranser).

### **4.3 AP3: Identifisere tiltak for økt kontroll med listeria i laksenæringen**

Systematisk gjennomgang av anleggene og prøvetaking over 1,5-2 år i AP2 ga kunnskap om viktige smittekilder. Dette ga grunnlag for valg av tiltak, identifisering av nye kunnskapsbehov og grunnlag for utarbeiding av veileder for praktisk bekjempelse av listeria i laksenæringen (AP3 og AP4). Viktige områder for tiltak ble vurdert basert på resultater fra prøvetakinger i prosjektet, tilbakemeldinger fra anlegg og erfaringer etter besøk i anlegg. Tiltak inkluderer fysiske/kjemiske tiltak rettet mot problemområder i anlegget, men også tiltak som medfører endringer i rutiner eller produksjonsforhold som gir økt kontroll med listeria i produksjonen av laks.

Det ble fokusert på tiltak knyttet til økt kontroll med listeria i produksjonsanlegg. Dette inkluderte hovedsakelig hygienetiltak hvor resultatene fra AP2 viste behov på dette området. Det ble også gjennomført ytterligere prøvetaking for å dokumentere listeria-status i sløyd laks fra ulike slakterier og som benyttes som råvare til listeria risikoprodukter.

Tiltak ble fortrinnsvis testet ut i anlegg, men med unntak for uttesting av tiltak på konseptstadiet som ble utført ved Nofima (se kap. 5.3). Uttesting i anlegg krevde muligheter for gjennomføring av uttesting og prøvetaking i anlegg. Tiltak knyttet til effekt av CIP-vask krevde anlegg hvor dette skulle installeres og hvor prøvetaking kunne gjennomføres for å teste effekt av tiltaket. Nofima var på besøk i anlegg hvor anlegg for CIP-vask skulle installeres, men parallell utskifting av mye annet utstyr i anlegget i samme periode samt andre forhold gjorde at uttesting ikke var mulig.

For enkelte tiltak var det begrenset interesse for uttesting. Dette skyldtes tidligere erfaringer, manglende dokumentasjon knyttet til kost-nytte effekt og/eller begrensninger i anvendelse av tiltaket knyttet til gjeldende regelverk. En problemstilling var også at det var vanskelig å måle effekten av spesifikke tiltak i anlegg da disse mer eller mindre kontinuerlig gjennomfører endringer og optimaliseringer i produksjonen som påvirker mikrobiologisk status inkludert listeria-status. Å måle effekten av spesifikke tiltak kan derfor være vanskelig.

#### **4.4 AP4: Utarbeide veileder med anbefalinger om håndtering og forebygging av listeria-problemer**

En veileder med anbefalinger om håndtering og forebygging av listeria-problemer i laksenæringen har blitt utarbeidet på bakgrunn av resultater fra prosjektet og informasjon gitt i tidligere veiledere og rapporter på området (vitenskapelige artikler, veiledere og regelverk). Hensikten med veilederen har vært å få samlet de viktigste elementene for målrettet bekjempelse av listeria i prosesseringsanlegg for laks. Denne vil være et viktig hjelpemiddel for næringen og for enkeltanlegg i arbeidet med å oppnå økt kontroll med listeria. Det finnes mange detaljerte veiledere tilgjengelig, men det kan være vanskelig for enkeltbedrifter å sortere ut hvor det er viktigst å sette inn ressurser. Det var et bevisst valg kun å gi detaljbeskrivelser på de viktigste tiltakene for å forebygge og bekjempe listeria selv om dette ikke gir et fullstendig svar for alle bedrifter og situasjoner. Innholdet har blitt diskutert i ulike fora og bearbeidet etter innspill fra medlemmer i styringsgruppa og fra næringen. Målet med dette har vært å utarbeide en veileder som oppleves som nyttig for næringen.

Det er viktig å påpeke at en slik veileder ikke vil dekke alle ønsker og behov siden produksjonsforhold, rutiner, erfaring og kunnskapsnivå varierer. Hvert anlegg har også ofte sine bestemte listeria-problemer. Råd og tiltak anbefalt i veilederen må derfor tilpasses hvert enkelt anlegg. Veilederen har til hensikt å være et viktig hjelpemiddel i dette arbeidet.

#### **4.5 Kunnskapsspredning og formidling**

Kunnskapsspredning og formidling har vært en viktig del av prosjektet. Se kap. 6 Leveranser for detaljer.

## 5 Resultater

Prosjektet var delt inn i fire arbeidspakker (AP1-4). Resultater og konklusjoner fra arbeidet knyttet til arbeidspakkene er gitt under.

### 5.1 AP1: Evaluering og etablering av standardiserte metoder for prøvetaking av råvarer og produksjonsmiljø

Egnede metoder for prøvetaking for påvisning av listeria er vesentlig for at laksenæringen skal kunne utføre kostnadseffektiv egenkontroll for overvåking av listeria i produksjonskjeden for norsk laks. Ved bruk av standard prøvetakingsmetoder og analyser (basert på ISO 11290 eller NMKL 136) tar det minimum 4-5 dager fra prøvetaking til prøvesvar foreligger. På grunn av håndtering av risikomateriale krever analysene oftest bruk av eksterne analyselaboratorier. Dette krever forsendelse av prøver og bidrar til lang analysetid og høye kostnader. Det eksisterer en rekke kommersielt tilgjengelige metoder som kan være egnet som et supplement/alternativ til standard metoder for prøvetaking og analyser. Dette kan være fordi de er billigere, gir hurtigere prøvesvar, gir muligheter for samtidig analyser av et stort antall prøver og/eller er enklere å anvende og analysere. I laksenæringen er det behov for å vurdere hvilke metoder som kan være egnet og komme med anbefalinger knyttet til prøvetakingsmetoder og analyser.

Arbeidspakken inkluderte:

- Oversikt over tilgjengelige metoder for prøvetaking av råvarer og produksjonsmiljø med prinsipper for påvisning, hurtighet og pris
- Uttesting av utvalgte metoder med prøvetaking i bedrift, analyser og evaluering av egnethet av metodene
- Kunnskapsspredning og anbefalinger knyttet til bruk av metoder for prøvetaking i anlegg

#### 5.1.1 Oversikt over tilgjengelige metoder

Det finnes et stort antall metoder for påvisning av listeria i mat og matproduksjonsmiljøer og det kommer jevnlig nye såkalte hurtigmetoder på markedet. Det er derfor krevende å gi en full oversikt over tilgjengelige hurtigmetoder. Tabell 1 gir en oversikt over ulike metoder inndelt etter analyseprinsipp (dyrkingsbaserte metoder, immunologiske metoder, molekylære metoder). Basert på viktige kriterier for analysemetoder, ble disse sammenlignet med standard metodikk for listeria-analyser (ISO 11290, NMKL 136).

Tabell 1 Eksempler på metoder for påvisning av *L. monocytogenes* og andre *Listeria*-arter

|                                | Analyseprinsipp   | Påviser <i>Listeria</i> spp. | Påviser <i>Listeria monocytogenes</i> | Ca. tid i timer (t) for resultat*   | Kommentarer<br>Fordeler og ulemper   |
|--------------------------------|---|------------------------------|---------------------------------------|---|--|
| Referansemetoder               | Dyrking for anriking av <i>Listeria</i> etterfulgt av utplating på selektive agarmedier                                     | X                            | X                                     | FA: 24 t<br>A: 48 t<br>V: 24 t<br>Totaltid: ± 4 dager                                     | Anerkjente og robuste standardmetoder. Metodene tar lang tid. De krever mye håndtering, laboratoriefasiliteter og kunnskap. Smittefarlig materiale må håndteres. Verifisering av presumptive <i>Listeria</i> -positive nødvendig. Kun egnet for laboratorier med spesialkompetanse. Rimelige materialkostnader, men analysene blir likevel dyre for bedriftene.<br><i>Eksempler:</i> NMKL 136; ISO 11290   |
| Dyrkingsbaserte hurtigmatoder  | Prøvetaking, anriking og dyrking i ett system. Enzymatisk reaksjon gir fargeforandring for <i>Listeria</i> -positive prøver | X                            |                                       | A: 48 t<br>V: 24-48 t<br>Totaltid: ± 3 dager  | Ofte enkle å utføre, krever lite håndtering og laboratorieutstyr. Tolkning av positive (basert på fargereaksjon) i rør kan være vanskelig. Kan være egnet til kartlegging. Verifisering av presumptive positive nødvendig. Leverandører anbefaler ofte ikke metodene for produkt og råvarekontroll. Smittefarlig materiale må håndteres, men anses mulig pga lukket system. Analysene er rimelige.<br><i>Eksempler:</i> InSite; Path-Chek  |
| Immunologiske hurtigmatoder    | Basert på binding mellom antigener og antistoffer   | X                            | X                                     | 10 min-1 t<br>Behov for anriking først:<br>A: 48 t<br>V: 24-48 t<br>Totaltid: ± 3 dager   | Påvisningstestene er enkle å utføre og avlese og tar kort tid, men de krever foregående trinn for anriking av <i>Listeria</i> . Dette krever tid, håndtering, egnede laboratorielokaler og utstyr mht smittefare. Analysene varierer i pris.<br><i>Eksempler:</i> DuPont™ Lateral Flow System; RapidChek® <i>Listeria</i> ; Singlepath® L'mono; Reveal® for <i>Listeria</i> One-Step   |
| Molekylærbaserte hurtigmatoder | Basert på påvisning av <i>Listeria</i> -spesifikt DNA eller RNA   | X                            | X                                     | 1 – 5 t<br>Behov for anriking først:<br>A = 24-48 t<br>V = 24-48 t<br>Totaltid: ± 3 dager | Metodene er relativt sensitive (svært lite antall <i>Listeria</i> kan påvises) og raske, men krever ofte foregående trinn for anriking av <i>Listeria</i> . Positivt prøveresultat bør verifiseres ved dyrking/annen metodikk. Investeringer i spesialutstyr samt opplæring/kompetanse i slike teknikker kreves. Metodikken anses best egnet ved store rutinemessige analyseserier og er mindre egnet for bruk i enkeltbedrifter. Analysene krever investeringer i utstyr. Analysepris per prøve varierer avhengig av metodikk.<br><i>Eksempler:</i> BAX® system; iQ-Check™; TaqMan® Detection kit; GeneQuence |

\*Tidsforbruk for hhv foranriking (FA; pre-enrichment), anriking (A) og verifisering (V) angitt.

### 5.1.2 Uttesting av utvalgte metoder

Kriterier for valg av metodikk for uttesting ble bestemt i samråd med aktører i næringen. Viktige kriterier var at metodene skulle:

- være tilgjengelig for bruk i hele næringen
- være rimeligere enn å sende prøver til eksternt analyselaboratorium for prøvesvar (300–700 kr/prøve; basert på opplysninger fra de fire prosessanleggene som var aktive samarbeidspartnere i prosjektet )
- kreve små investeringer i spesialutstyr for prøvetaking og analyser
- være enkle i praktisk bruk
- gi raske prøvesvar ( $\leq 2$  døgn)
- ha høy sensitivitet (kunne påvise lave nivåer listeria)
- være spesifikke (kun påvise *L. monocytogenes* eller andre listeria-arter, ikke andre typer bakterier)
- være trygge å bruke i bedrift (f.eks. ikke kreve håndtering av risikomateriale)

Det ble gjennomført uttesting av to alternative metoder som tilhører kategorien dyrkingsbaserte hurtigmetoder. Metodene ble valgt på bakgrunn av ovenstående kriterier. I tillegg informerte to av de fire anleggene som var aktive prosjektdeltagere at de benyttet disse metodene til egenkontroll. Metodene ble sammenlignet med standard metodikk for analyse (ISO11290; NMKL136) og egnethet for bruk i laksenæring ble vurdert.



*Figur 1 Dyrkingsbaserte hurtigmetoder. Metodene inkluderer svaber for prøvetaking og rør med vekstmedium som svaberen overføres til etter prøvetaking. Tilstedeværelse av listeria i prøven skal gi enzymatisk fargereaksjon som avleses visuelt etter 24-48 timers inkubering ved 30 eller 37 °C. Potensielt listeria-positive prøver (nr. 2, 4 og 5 fra venstre) får fargeomslag fra strågul til mørk brun/svart, mens listeria-negative prøver ikke skal endre farge.*

Det ble totalt tatt 163 prøver ved bruk av metodene InSite og Path-Chek fra tre prosesseringsanlegg for laks. Prøvetakingssteder inkluderte prosessutstyr, miljøprøver (hovedsakelig gulv og sluk) samt fisk (rund laks, filet og røkt laks). Resultatene fra prøvetakingen med hurtigmetodene er oppsummert i Tabell 2



Resultatene viste:

- Fargeomslag i 67 av 163 prøver (41 % av prøvene presumptivt listeria-positive)
- Verifisering av de 67 presumptivt listeria-positive prøvene viste at kun 16 av disse inneholdt listeria
- Høyest andel ekte positive (10 av 14 prøver) var fra miljøprøver
- Lavere andel falske positive (25 %) i prøver tatt etter renhold enn fra prøver tatt under produksjon (50 %)
- Ingen store forskjeller i antall ekte og falske positive mellom de to hurtigmetodene testet

Tabell 2 Resultater fra prøvetaking og analyser utført med to dyrkingsbaserte hurtigmetoder (InSite og Path-Chek) i tre prosesseringsanlegg.

| Prøvetaksingssted         | Antall steder prøvetatt/<br>totalantall prøver | Presumptivt listeria- positive<br>prøver/ totalantall prøver |              | Bekreftet listeria-positive<br>prøver |           |
|---------------------------|--|--|--------------|---------------------------------------|-----------|
|                           |  | InSite   | Path-Chek    | InSite                                | Path-Chek |
| <u>Maskiner og utstyr</u> |  |  |              |                                       |           |
| - etter renhold           | 26/51  | 7/26   | 7/25         | 0                                     | 1         |
| - under produksjon        | 19/38  | 10/19  | 11/19        | 2                                     | 2         |
| <u>Miljø</u>              |  |  |              |                                       |           |
| - sluk                    | 11/22  | 5/11   | 7/11         | 4                                     | 4         |
| - gulv                    | 4/8  | 1/4  | 1/4          | 1                                     | 1         |
| <u>Fisk</u>               |  |  |              |                                       |           |
| - rå uprosessert laks     | 13/26  | 5/13   | 0/13         | 0                                     | 0         |
| - rå prosessert laks      | 7/14   | 4/7  | 6/7          | 0                                     | 0         |
| - røkt laks               | 2/4  | 1/2  | 2/2          | 0                                     | 1         |
| <b>Totalt</b>             | <b>82/163</b>                                  | <b>33/82</b>   | <b>34/81</b> | <b>7</b>                              | <b>9</b>  |

### Årsaker til falske positive prøver

Presumptivt positive InSite og Path-Chek prøver (mørkebrune/svarte rør etter 48 timers inkubering) hvor det ikke ble påvist listeria etter oppfølgende forsøk ble betegnet som falske positive. Inntil åtte bakterieisolater fra rør med falske positive ble isolert og tilsatt nye InSite og Path-Chek rør. Etter inkubering ble bakterier fra rørene med positiv fargereaksjon identifisert for å avdekke hvilke bakterier som ga opphav til falske positive. Tabell 3 angir fordelingen av ulike typer bakterier som ga opphav til falske positive i de 37 rørene som ble undersøkt.

Tabell 3 Forekomst av bakterier som ga opphav til falske positive InSite og Path-Chek rør ved prøvetaking fra tre prosesseringsanlegg for laks.

| Bakterie                      | Årsak til falskt utslag (% av prøver) <sup>a</sup> |
|-------------------------------|--|
| Carnobacterium maltaromaticum | 43,6   |
| Carnobacterium divergens      | 10,3   |
| Cellulosimicrobium sp.        | 5,1  |
| Enterococcus sp.              | 12,8   |
| Pseudomonas sp.               | 12,8   |
| Staphylococcus sp.            | 2,6  |
| Stenotrophomonas maltophilia  | 2,6  |

<sup>a</sup> I seks av 37 prøver ble ingen bakterier påvist som ga opphav til falske positive reaksjoner.

Tabell 4 Påvisning av listeria etter svabring ved bruk av hurtigmetoder eller klut.

| Prøvetakssted      | Bekreftet listeria-positive prøver/totalantall prøver ved ulike metoder |           |        |
|--------------------|---|-----------|--------|
|                    | InSite  | Path-Chek | Kluter |
| Maskiner og utstyr |   |           |        |
| - etter renhold    | 0/26  | 1/25      | 4/24   |
| - under produksjon | 2/19  | 2/19      | 4/15   |
| Miljø              |   |           |        |
| - sluk             | 4/11  | 4/11      | 6/11   |
| - gulv             | 1/4   | 1/4       | 0/4    |
| Positive (%)       | 12  | 14        | 26     |

### Sammenligning av prøvetaking med hurtigmetodikk og standard svabring med klut

Sammenligning av metoder for svabring og analyser ble gjennomført. Fra de samme prøvetaksstedene ble det først tatt prøver med bruk av hurtigmetoder (InSite og Path-Chek) og deretter prøvetatt med bruk av klut (Sodibox, 3M Food Diagnostics). Totalt 54 av 60 prøvesteder ble prøvetatt ved bruk av alle tre metodene. Resultatene viste at 26 % av prøvene prøvetatt med klut var listeria-positive, mens tilsvarende tall for prøvetaking med InSite og Path-Chek var hhv. 12 % og 14 % (Tabell 4). Prøvetaking med klut ga bedre mulighet for påvisning av listeria i prøvepunktene. Ved bruk av klut, kan et større areal prøvetas og mer kraft kan brukes ved prøvetaking. Dette kan ha påvirket prøveresultatene.

### Konklusjoner metoder for prøvetaking

- De testede hurtigmetodene har begrenset nytteverdi for bruk i laksenæringen. Årsaker til dette er
  - Metodene gir opphav til falske positive
  - Presumptivt positive prøver krever verifisering (ekstra kostnader og analysetid)
- Bruk av hurtigmetodene gir mindre sjanse for å finne listeria enn svabring utført med klut

### Litteratur

Resultatene er publisert både i bransjeblader og som vitenskapelig artikkel:

- Heir E, Hagtvedt T, Langsrud S (2011). På jakt etter Listeria – med egnede metoder. Norsk Sjømat 6
- Heir E, Langsrud S (2012). Påvisning av Listeria i laksenæringen: Er alternative metoder egner for bedriftens egenkontroll? Norsk sjømat 1
- Schirmer BCT, Langsrud S, Møretrø T, Hagtvedt T, Heir E (2012). Performance of two commercial rapid methods for sampling and detection of Listeria in small-scale cheese producing and salmon processing environments. Journal of Microbiology Methods 91, 295-300.

## 5.2 AP 2: Smitteveier og smittekilder for listeria i produksjonskjeden. Karakterisering av listeria fra laks og lakseproduksjon

Kunnskap om viktige smittekilder og smitteveier i produksjonskjeden for laks og lakseprodukter er vesentlig for å målrette tiltak og oppnå kontroll med listeria. Det ble gjennomført systematisk gjennomgang av produksjonsanlegg og produksjonsrutiner samt prøvetaking av fire prosessanlegg for laks (Anlegg 1-4). Anleggene ble prøvetatt 4-5 ganger over en periode på 1,5-2 år.

Resultatene på smitteveier og smittekilder er presentert under (kap. 5.2.1 – 5.2.4). Ytterligere detaljer er gitt i Heir & Langsrud, Nofima rapportserie (20/2013): Smitteveier og smittekilder for listeria i produksjonskjeden for sløyd og røkt laks

(<http://www.fhf.no/prosjektdetaljer/?projectNumber=900521>).

Alle *L. monocytogenes* påvist i prøvene ble typet ved bruk av MLVA-metodikk for å avdekke smittekilder og smitteveier. *L. monocytogenes* påvist fra laksenæringen ble sammenlignet med isolater fra humane listeriosetilfeller. Typing og sammenligning med humane isolater ble utført ved Nasjonalt Folkehelseinstitutt. Resultater fra karakteriseringen er gitt i kap. 5.2.5.

### 5.2.1 Besøk og prøvetaking i anlegg

Hvert av anleggene ble besøkt og prøvetaking planlagt og gjennomført etter følgende prosess:

- Før besøk:
  - Tilsendt fra bedrift: prosessbeskrivelse, prøvetakingsregime, renholdsplaner, oversikter over listeria-funn i anlegg
- Under besøk:
  - Samtaler med kvalitetsleder, renholdsleder, vedlikeholdsansvarlige, produksjonsansvarlige, gjennomgang av dokumentasjon
  - Gjennomgang av prosess og lokaler
  - Bestemme prøvetakingspunkter og –metoder
  - Prøvetaking ble hovedsakelig gjennomført ved bruk av kluter (Sodibox). Svabere ble benyttet i tillegg ved enkelte prøvetakinger
  - Prøvetaking etter renhold og under produksjon
  - Logging av temperatur og fuktighet
  - Visuell vurdering av renhold
- Etter besøk:
  - Mikrobiologiske analyser for påvisning av listeria. Metodikk i hht ISO 11290 for påvisning av listeria ble benyttet. *L. monocytogenes* ble verifisert ved hjelp av PCR-basert metode.
  - Anonymiserte isolater av påviste *L. monocytogenes* ble typet av Nasjonalt folkehelseinstitutt. Typingen ble gjennomført ved bruk av DNA-basert metodikk betegnet MLVA. Metoden gir et genetisk fingeravtrykk til hver enkelt *L. monocytogenes*-stamme og gjør det mulig å skille mellom ulike varianter av *L. monocytogenes*. Metoden kan derfor benyttes for å undersøke smittekilder og smitteveier av *L. monocytogenes*.
  - Sammenstilling og rapportering av funn til anleggene.

- Senere prøvetakinger fra de samme anleggene:
  - Utvalgte prøvetakingspunkter ble valgt for oppfølgende prøvetaking i hvert anlegg over tid (4-5 prøvetakinger per anlegg over 1,5-2 år). Kriterier ved valg av prøvepunkter er gitt under.
  - Første gangs prøvetaking ble gjennomført av prosjektmedarbeidere fra Nofima. Øvrige prøvetakinger i anleggene ble utført av kvalitetsmedarbeidere på anleggene etter instruks fra Nofima.
- Det ble tilstrebet å gjennomføre prøvetakingene på samme måte ved de ulike anleggene og ved de ulike prøvetakingstidspunktene.
  - Prøvetaking ble gjennomført ved bruk av sterile kluter (Sodibox)
  - Definerte arealer ble svabret når mulig; ca 900 cm<sup>2</sup> (30 x 30 cm) på plane flater hvis mulig
  - For enkelte prøvepunkter ble det benyttet svabere i tillegg til klut. Dataene fra disse er inkludert i analysene. Prøver fra ett prøvepunkt er definert som én prøve selv om prøvepunktet er prøvetatt med både klut og svaber.
  - For rund fisk ble gjeller, sider og hale svabret. For sløyd fisk ble gjeller, buk og hale svabret. For fileter ble filetoverflater svabret.
  - Prøver ble oppbevart kjølig og sendt til Nofima for analyser og typing.
  - Sammenstilling og rapportering om funn til anleggene ble gjort etter hver prøvetaksrunde
- Andre listeria-isolater inkludert i typingsstudium:
  - *L. monocytogenes* funnet ved rutinemessig prøvetaking i enkelte anlegg. *L. monocytogenes* isolert i 2001 fra Anlegg 2 fra et tidligere prosjekt (Nofimas stammesamling).

### 5.2.2 Bakgrunn for valg av prøvetakingspunkter

I hvert anlegg ble prøvetaking gjennomført i prosessen fra råvare til ferdig vare. Prøvetaking inkluderte prøver fra produksjonsmiljø, produksjonsutstyr og fisk (råvare, ferdig prosessert).

Miljøprøver: Prøver fra produksjonsmiljøet utover prosesseringsutstyr (sluk, gulv, fotmatter, hjul på traller, fottøy, hansker, renholdsutstyr, kondens, samt prøver fra brønnbåt).

Utstysprøver: Prøver fra produksjonsutstyr (transportbånd, bløggebord, sløyemaskiner, fileteringsmaskiner, vakuumutstyr, rister på røykvogner, slicemaskiner etc.).

Fisk: Prøver fra rund laks før prosessering, laks i prosess og ferdig prosessert laks. Råvarer kan være levende fisk (Anlegg 1, 3 og 4) og sløyd fisk (Anlegg 2). Prøver av fisk var i stor grad samleprøver. Antall fisk som er prøvetatt er derfor høyere enn antall prøver.

Prøvesteder ble valgt basert på:

- Kunnskap om viktige nisjer for listeria i hht vitenskapelig litteratur
- Gjennomgang av anleggene for å dekke prøvetaking fra antatt viktige nisjer for listeria i produksjonsprosessen for hvert anlegg, inkludert evt. problempunkter erfart av bedriften
- Potensielle risikopunkter for listeria i produksjonen observert ved gjennomgang/besøk
- I tillegg til problempunkter der det ofte ble påvist listeria, ble det tatt prøver fra liknende prøvesteder men hvor listeria ikke tidligere hadde blitt funnet
- Prøvetaking fra fisk inkluderte fisk i hele prosessen fra råvare til ferdig vare, men med hovedvekt på prøvetaking fra råvare

- En del prøvetakingspunkter felles for ulike anlegg ble valgt (f.eks. bånd, sluk, vakuumsystemer i sløyemaskiner)

Det var hovedvekt på prøvetaking fra utstyr og produksjonsmiljø etter vask og desinfeksjon, (dvs før produksjonsstart), men det ble også tatt prøver fra noen av de samme punktene under produksjon (>3 timer etter produksjonsstart).

### 5.2.3 Prøvetaking og funn av *L. monocytogenes*

I resultatene gitt i tabellene under er det først gitt en overordnet oversikt over forekomst av listeria i ulike miljø-, utstyr- og fiskeprøver i Anlegg 1-4. Det er også gitt en oversikt over funn av *L. monocytogenes* fra hvert av de fire anleggene og vurderinger knyttet til smittekilder og smitteveier for listeria i de ulike anleggene. Resultatene ga grunnlag for ytterligere prøvetakinger på utvalgte områder for å få mer dokumentasjon og kunnskap om listeria-situasjonen i norsk laksenæring. Prøvetakinger ble også gjennomført for å dokumentere effekt av utvalgte tiltak. Resultatene fra disse prøvetakingene er gitt i kap. 5.3.

I løpet av 4-5 prøvetakinger i fire anlegg over en tidsperiode på 1,5-2 år ble det totalt tatt 824 prøver. Prøvene ble kategorisert i prøvetypene Miljø, Utstyr og Fisk. Totalantall prøver og prosent *L. monocytogenes* positive prøver er gitt i Tabell 5. Tallene fra de ulike anleggene er ikke direkte sammenlignbare (bl.a. forskjeller i ulike typer prøver tatt fra ulike anlegg). Resultatene fra denne undersøkelsen sammen med erfaringstall fra bedriftenes overvåkingssystemer indikerte at det er variasjon i forekomst av *L. monocytogenes* mellom anleggene.

Tabell 5 Forekomst av *L. monocytogenes* i prøver fra Miljø, Utstyr og Fisk i Anlegg 1-4

| Prøvetype | Anlegg 1<br>% pos. (antall) | Anlegg 2<br>% pos. (antall) | Anlegg 3<br>% pos. (antall) | Anlegg 4<br>% pos. (antall) |
|-----------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Miljø     | 50,0 (76)                   | 63,8 (80)                   | 8,5 (71)                    | 20,9 (43)                   |
| Utstyr    | 14,7 (75)                   | 23,9 (46)                   | 4,7 (106)                   | 23,9 (46)                   |
| Fisk      | 11,9 (671)                  | 18,2 (442)                  | 4,8 (1243)                  | 35,6 (454)                  |
| Totalt    | 26,1 (218)                  | 41,2 (170)                  | 6,0 (301)                   | 29,1 (134)                  |

<sup>1</sup> Totalt 320 fisk prøvetatt (samleprøver)

<sup>2</sup> Totalt 184 fisk prøvetatt (samleprøver)

<sup>3</sup> Totalt 530 fisk prøvetatt (samleprøver)

<sup>4</sup> Totalt 225 fisk prøvetatt (samleprøver)

### Miljøprøver

Det ble totalt tatt 270 miljøprøver hvorav 189 ble tatt etter renhold (før produksjonsstart). Resultatene fra prøver tatt etter renhold er oppsummert i Tabell 6. Resultatene viser en høy forekomst av *L. monocytogenes* i flere prøvesteder etter renhold. Prøver tatt under produksjon (n=81) viste noe høyere forekomst fra gulvrealterte prøver (sluk, gulv og hjul på traller). Prøveantallet i de andre prøvestedene var lave. Se Nofima rapportserie 20/2013 for ytterligere detaljer.

Tabell 6 Miljøprøver tatt etter renhold, antall prøver fra ulike prøvesteder og % *L. monocytogenes* positive prøver er vist

| Prøvested     | Antall prøver/antall positive | % <i>L. monocytogenes</i> positive prøver |
|---------------|-------------------------------|---|
| Sluk          | 70/34                         | 49  |
| Gulv          | 38/11                         | 29  |
| Fottøy        | 4/4                           | 100                                       |
| Støvelvasker  | 3/1                           | 33  |
| Fotmatter     | 13/5                          | 38  |
| Hjul, traller | 24/11                         | 46  |
| Kondens       | 8/1                           | 13  |
| Brønnbåt      | 20/0                          | 0   |
| Annet         | 9/3                           | 33  |
| Totalt        | 189/70                        | 37  |

### Utstyrsp prøver

Det ble totalt tatt 273 prøver fra utstyr hvorav 181 prøver ble tatt etter renhold (før produksjonsstart). Resultatene er oppsummert i Tabell 7. I alle anlegg ble det påvist *L. monocytogenes* fra ett eller flere transportbånd. To av anleggene hadde bånd der det ble påvist *L. monocytogenes* etter renhold to eller flere ganger i løpet av prøvetakingsperioden. For ett anlegg var dette transportbånd i prosess etter slicing av røkt laks. Det var en høyere forekomst av *L. monocytogenes* på bånd av plastmaterialer (19 % positive etter renhold) enn på bånd av metall (kun én av 11 prøver positive). Se Nofima rapportserie 20/2013 for ytterligere detaljer.

Tabell 7 Utstyrsp prøver tatt etter renhold

| Prøvested                | Antall prøver/antall positive | % <i>L. monocytogenes</i> positive |
|--------------------------|-------------------------------|------------------------------------|
| Transportbånd            | 81/14                         | 17                                 |
| Filetmaskin              | 3/0                           | 0                                  |
| Sløyemaskin              | 21/1                          | 5                                  |
| Vakuumsystemer, sløyving | 28/3                          | 11                                 |
| Røykvogner               | 6/2                           | 33                                 |
| Slicemaskiner            | 9/1                           | 11                                 |
| Annet                    | 33/5                          | 15                                 |
| Totalt                   | 181/26                        | 14                                 |

### Effekt av renhold

*L. monocytogenes* påvist i prøver fra miljø og utstyr tatt etter renhold og under produksjon er vist i Tabell 8. Tallene indikerer at det er en relativt høy andel *L. monocytogenes* positive prøvesteder etter renhold. Det ble påvist *L. monocytogenes* i en støvelvasker fra Anlegg 2. Dette er en innretning som i utgangspunktet skal bidra til bedre hygiene, men som kan bidra til økt smittespredning dersom listeria er i stand til å overleve i utstyret. Noe høyere listeria-funn i miljø under produksjon sammenliknet med før produksjon kan skyldes at listeria blir spredt fra smitekilder gjennom vann- og produktflyt.

Tabell 8 Andel positive prøver fra miljø og utstyr etter renhold og under produksjon

| Prøvetype | Etter renhold<br>(% <i>L. monocytogenes</i> ) | Under produksjon<br>(% <i>L. monocytogenes</i> ) |
|-----------|---|--|
| Miljø     | 36  | 47   |
| Utstyr    | 14  | 15   |

### Fisk

Det ble totalt analysert 280 prøver av fisk (laks, ørret). Hver prøve er hovedsakelig samleprøve á 3-5 enheter. Totalt ble det tatt prøver fra 1259 laks/ørret. Prøvetaking inkluderer prøver fra levende fisk før prosessering (brønnbåt, ventemerdd) og under prosessering; fra start prosessering i anlegget, under produksjon og ferdig produkt.

Antall prøver, fisk og prøver med *L. monocytogenes* er gitt i Tabell 9.

Tabell 9 Prøver fra fisk: Antall prøver tatt/antall fisk prøvetatt i ulike deler av produksjonsprosessen

|                             | Brønnbåt | Ventemerdd | Etter elbedøving | Sløyd i prosess1 | Sløyd i kasser2 | Filet  | Sliceravfall |
|-----------------------------|----------|------------|------------------|------------------|-----------------|--------|--------------|
| Antall prøver/fisk3         | 48/200   | 8/40       | 127/627          | 5/25             | 70/290          | 20/774 | 25/-         |
| <i>L. monocytogenes</i> (n) | 0        | 0          | 10               | 4                | 17              | 7      | 1            |

<sup>1</sup> Sløyd laks, halvveis i produksjonen (før sortering, kun fra Anlegg 3)

<sup>2</sup> Inkluderer både sløyd fisk som råvare (Anlegg 2) og sløyd fisk som produkt (Anlegg 3 og 4)

<sup>3</sup> Prøver fra fisk er hovedsakelig samleprøver av 3-5 fisk

<sup>4</sup> Totalt 76 fileter ble analysert. I tillegg én samleprøve av filetrester ved Grader (Anlegg 2)

<sup>5</sup> To prøver av sliceravfall kaldrøkt laks

### Konklusjoner listeria-funn i prosesseringsanlegg for laks:

- Forekomst av listeria varierer i ulike anlegg
- Renholdet eliminerer ikke listeria i anleggene
- Laksen smittes ofte ved prosessering. Sløyd laks kan derfor være en viktig smittekilde for anlegg som benytter dette som råvare

Ytterligere detaljer er gitt i Nofima Rapport 20/2013 Smitteveier og smittekilder for listeria i produksjonskjeden for sløyd og røkt laks

#### 5.2.4 Smittekilder og smitteveier i Anlegg 1-4

For å få kunnskap om smitteveier og smittekilder ble funnene fra hvert anlegg systematisert mht smittested, prøvetidspunkt og type *L. monocytogenes*. For hvert anlegg ble det laget en oversikt over produksjonsprosessen fra råvare til ferdig produkt. Typing av *L. monocytogenes* ved hjelp av molekylærbiologisk metodikk betegnet MLVA ble benyttet for å kartlegge smittekilder og smitteveier i hvert anlegg. I tillegg til prøver tatt i prosjektperioden ble enkelte isolater fra tidligere prøvetakinger i anleggene inkludert. Disse ble typet for å få kunnskap om smittekilder og smitteveier. I løpet av prøvetakingen i de fire anleggene som pågikk over 1,5-2 år ble totalt 218 *L. monocytogenes* isolater typet. I tillegg ble det typet 10 isolater fra Anlegg 2 isolert ved tidligere prøvetaking i 2001. Figur 2 angir prøvesteder som ble prøvetatt ved hver av de 5 prøvetakingene utført i Anlegg 1. Type *L. monocytogenes* påvist i hvert prøvested/-tid er angitt (bokstavkode for MLVA-type *L.*

*monocytogenes*). Tilsvarende figurer for alle anleggene 1-4 er gitt i Nofima-rapport 20/2013. Under følger en oversikt over hvert anlegg mht. funn og mulige smitteveier.

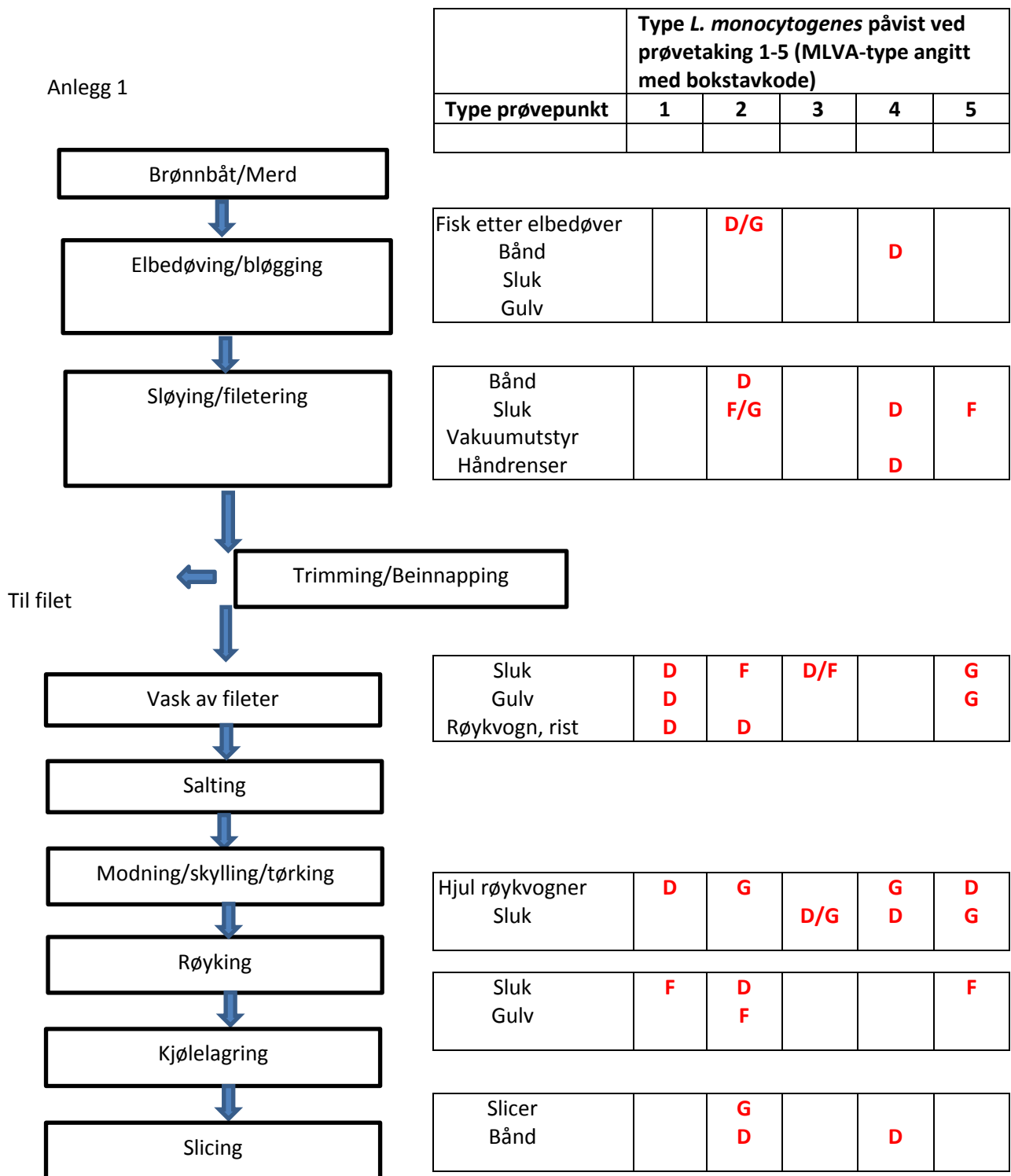
### **Anlegg 1**

I Anlegg 1 ble det funnet tre ulike typer *L. monocytogenes* (figur 2):

- Type D og G ble funnet på fisk tidlig i prosessen (etter el-bedøving) ved ett prøveuttak samt i sluk. Disse typene ble også påvist i sliceravfall fra røkt laks og transportbånd etter slicer (type D) og på slicemaskin (type G)
- Type F ble kun påvist i sluk/gulv

Alle de tre typene av *L. monocytogenes* påvist i anlegget er til stede i sluk. Samme prøve fra sluk inneholdt flere *L. monocytogenes*-typer, og flere sluk var positive ved prøvetakinger gjentatt over tid. Ved fire av de fem prøvetakingene ble *L. monocytogenes* funnet på hjul til røykvogner. De samme røykvognene hadde metallrister (laks legges på disse etter salting) hvor *L. monocytogenes* ble påvist ved de to første prøvetakingene. Disse ristene er i flere nivåer hvor laveste nivå ligger nær gulvnivå. Røykvognene var plassert rett ved et sluk hvor listeria ble påvist ved fire av fem prøvetakinger. Dette sluket var et kjent problemområde for bedriften. Det ble også påvist *L. monocytogenes* sent i produksjonsprosessen med type D og type G; slicer for røkt laks og transportbånd etter slicer.





Figur 2 Resultater fra fem prøvetakinger (1-5) i Anlegg 1. MLVA-type i påviste *L. monocytogenes* i prøvepunktene er vist med bokstavkode.

Dette indikerer at *L. monocytogenes* ble overført i anlegget fra slaktesiden og helt fram til ferdig, slicet produkt. *L. monocytogenes* på produktkontaktflater sent i prosessen utgjør en betydelig risiko for smitte til produkter. Stammer av *L. monocytogenes* med type D, F og G ble påvist fra de samme prøvepunktene over tid. Resultatene viser at sluk er tilholdssted for disse stammene som trolig er husstammer i anlegget.

## Anlegg 2

Anlegget hadde mange ulike typer *L. monocytogenes* til stede i anlegget etter renhold (type A, B, C, F, H, I, J, uspesifisert (+)). Dominerende typer var type H og delvis type I. Anlegget har mange råvareleverandører av sløyd laks, og det ble påvist *L. monocytogenes* i råvare av sløyd laks. Dette var en annen type (G) enn øvrige *L. monocytogenes* typer påvist i anlegget. Flere sluk var positive ved alle fire prøvetakinger. Det ble også påvist *L. monocytogenes* fra hjul på traller/røykvogner og fra fotmatter. Fottøy og jekketralle (hjul) var positiv ved alle prøvetakinger. Ett bånd (filetmaskin) var positiv for *L. monocytogenes* ved flere prøvetakinger. Anlegget hadde registrert problemer på dette prøvestedet knyttet til valse for bånd. Flere traller ble benyttet for transport fra uren sone gjennom ren sone. *L. monocytogenes* ble ved rutinemessig prøvetaking i anlegget påvist i røkt og gravet laks og i saltlake. Disse tilhørte samme MLVA-typer som påvist i anlegget (MLVA-type F og I (røkt laks), F (gravet laks) og B (saltlake)).

Fra Anlegg 2 hadde Nofima isolert *L. monocytogenes* 12 år tidligere. Disse var dominert av type H, samme type som dominerte i 2012. Dette kan tyde på at *L. monocytogenes* type H er etablert som en persistent type («husstamme») i anlegget og har vært til stede i anlegget i over 10 år. MLVA-typingen indikerte at også type F og I var potensielle husstammer i anlegget.

## Anlegg 3

I Anlegg 3 ble det kun påvist én type *L. monocytogenes*, type B, (pluss en sporadisk påvist variant av denne, B\*) fra prøvepunkter som ble systematisk prøvetatt over tid. I tillegg ble det påvist ett isolat fra miljøprøve i brønnbåt. Dette isolatet var en annen type (H) enn isolater påvist i produksjonsprosessen.

Ved andre prøvetaking var alle prøver av fisk (fem stk) før pakking positive for *L. monocytogenes*. Andre positive prøver fra fisk ble kun påvist ved første prøvetaking hvor to prøver fra råvare laks etter elbedøving inneholdt *L. monocytogenes*. Ved tredje prøvetaking hadde anlegget hatt produksjonsstans i seks uker. Det ble likevel påvist *L. monocytogenes* fra prøvesteder i anlegget (sluk, hjul) og dette viser at *L. monocytogenes* har god evne til å overleve på overflater i produksjonslokaler for laks. Ved de to siste prøvetakingene (4 og 5) ble det kun påvist *L. monocytogenes* i prøver fra gulv/matte i pakkeavdeling.

I etterkant av prøvetakingsperioden har anlegget gjennomført egen prøvetaking av laks gjennom prosess. Resultatene viste at laksen ofte ble smittet svært tidlig i slakteprosessen (ved innpumping/bløgging). Typing av *L. monocytogenes* fra disse prøvene var alle type B med unntak av en prøve fra pakket, sløyd laks (type Z). Type B kan karakteriseres som en husstamme i anlegget. Anlegget har satt i gang en rekke tiltak for å oppnå økt kontroll med listeria (se Tabell 14). Anlegget har også vist at forekomsten av listeria på gulv i slakteavdeling er høy, mens listeria ikke ble påvist på gulv i tørrere deler av anlegget (pakkeavdeling, lager).

## Anlegg 4

Flere ulike *L. monocytogenes* typer ble påvist i Anlegg 4. Det er verdt å merke seg at ved første prøvetaking var det kun utført grovspyling av anlegget før prøvetaking ble gjennomført. Ordinært renhold som inkluderte vask og desinfeksjon ble derfor ikke gjennomført mellom to produksjonsdager. Senere prøvetaking med ordinært renhold viste lavere hyppighet i *Listeria*-forekomst. Dette viser at renhold har stor betydning for kontroll med listeria i produksjonsanlegg (Tabell 10).

Ved første prøvetaking var alle prøver av ferdig slaktet fisk i kasse positive for *L. monocytogenes*. Ved alle fire prøvetakinger ble det påvist *L. monocytogenes* på ferdig slaktet fisk. *Listeria*-typene funnet på produkt var ikke alltid identisk med typer isolert fra produksjonsutstyr, og smitekilden og -veien ble derfor ikke funnet. Vakuumsug i sløyemaskin var positiv ved to av fire prøvetakinger. Anlegget oppgir at vakuumsystemer er et problemområde. Disse ble i en periode rengjort ved å kjøre is gjennom. Nå benyttes vaske- og desinfeksjonsmidler.

Tabell 10 Resultater fra prøvetaking utført på de samme stedene ved to forskjellige prøvetakinger (1 og 2) i Anlegg 4. Prøvesteder hvor påvist *L. monocytogenes* er merket rødt. Ved prøvetaking 1 ble det ikke gjennomført ordinært renhold (kun spyling). Ved prøvetaking 2 ble det gjennomført vask og desinfeksjon før prøver ble tatt. Alle prøver ble tatt før produksjonsstart.

| Prøvested | Prøvetype | Prøvetaking 1           |                | Prøvetaking 2           |                |
|-----------|-----------|-------------------------|----------------|-------------------------|----------------|
|           |           | <i>L. monocytogenes</i> | <i>L. spp.</i> | <i>L. monocytogenes</i> | <i>L. spp.</i> |
| 2         | Utstyr    |                         |                |                         |                |
| 6         | Miljø     |                         |                |                         |                |
| 9         | Miljø     |                         |                |                         |                |
| 12        | Utstyr    |                         |                |                         |                |
| 15        | Utstyr    |                         |                |                         |                |
| 19        | Utstyr    |                         |                |                         |                |
| 20        | Miljø     |                         |                |                         |                |
| 24        | Utstyr    |                         |                |                         |                |
| 25        | Miljø     |                         |                |                         |                |
| 26        | Utstyr    |                         |                |                         |                |
| 27        | Utstyr    |                         |                |                         |                |
| 28        | Miljø     |                         |                |                         |                |
| 31        | Utstyr    |                         |                |                         |                |
| 32        | Miljø     |                         |                |                         |                |

#### Konklusjoner smitekilder og smitteveier

- Hvert anlegg har sine spesifikke problempunkter
- Renholdet eliminerer ikke listeria i anleggene
- Husstammer er til stede i anleggene og knyttet til bestemte problemområder i hvert anlegg (eksempler: sluk, sløyemaskiner/vakuumsystemer, transportbånd, inntaksrør)
- Høy forekomst i gulvrelaterte prøver, særlig i sløyeavdelinger (gulv, fotmatter, sluk, hjul på traller)
- Produksjonsrutiner bidrar til smittespredning av listeria fra problempunkter til produkter av laks, inkludert risikoprodukter som røkt og gravet laks
- Viktige områder for tiltak ble identifisert

Ytterligere detaljer er gitt i Nofima Rapport 20/2013 Smitteveier og smitekilder for listeria i produksjonskjeden for sløyd og røkt laks

### 5.2.5 Karakterisering av listeria fra laks og lakseproduksjon

Folkehelseinstituttet har bygget opp en database som inkluderer typedata på *L. monocytogenes* isolert fra pasienter med listeriose. Databasen er et viktig verktøy ved blant annet utbruddsoppløring av matbåren smitte knyttet til *L. monocytogenes*.

I dette prosjektet ble typene påvist på isolater fra laksenæringen sammenlignet med typer på *L. monocytogenes* isolert fra pasienter med listeriose. Hensikten med dette var å få kunnskap om det er forskjeller i typer av *L. monocytogenes* påvist i laksenæringen og typer knyttet til sykdomstilfeller hos mennesker. Merk at metoden kan vise om isolatene er ulike, men ikke om de er 100% like/samme stamme.

Typing ble også gjennomført på alle *L. monocytogenes* påvist i forbindelse med uttesting av tiltak og ved kartlegging av forekomst av *L. monocytogenes* på sløyd laks fra ulike leverandører. Totale resultater fra typingen av isolater fra de fire anleggene og MLVA-typer assosiert med registrerte listeriose-tilfeller hos pasienter i Norge er gitt i Tabell 11.

Tabell 11 Typen av *L. monocytogenes* påvist basert på genetisk fingeravtryksanalyser (MLVA) og sammenligning med typer påvist hos listeriosetilfeller hos pasienter. Uthevet kryss (X) indikerer at *L. monocytogenes* med denne MLVA-typen er mulig husstamme i anlegget.

| MLVA-type           | Påvist i anlegg |   |   |   | Isolert fra <sup>1</sup>         | Profil påvist hos human listeriosetilfeller (siden 2006) <sup>2</sup> |
|---------------------|-----------------|---|---|---|----------------------------------|---|
|                     | 1               | 2 | 3 | 4 |                                  |   |
| A (05-08-13-12-06)  |                 | x |   |   | M                                | 3x  |
| B (05-08-15-10-06)  |                 | x | X | X | M, LF, LS, U                     | 9x  |
| B* (05-08-14-10-06) |                 | x | x | x | M, LF, LS, U                     | 9x  |
| C (06-00-14-10-06)  |                 | x |   |   | LF                               | 5x  |
| D (06-10-05-16-06)  | X               | x |   |   | M, LF, LS, Annet <sup>3</sup>    | 8x  |
| E (06-07-13-10-06)  |                 | x |   |   | M                                | 1x  |
| F (06-07-14-10-06)  | X               | X |   | x | M, LF, LR, U, Annet <sup>3</sup> | 11x   |
| G (06-08-14-18-06)  | X               | x |   | x | M, LF, LR, U                     | 1x  |
| G* (07-08-17-18-06) |                 | x |   |   | LS                               | Ikke sett tidligere   |
| H (06-09-18-16-06)  |                 | X | x |   | M, LF, LS, U                     | 14x   |
| I (07-07-10-10-06)  |                 | X |   | X | M, LF, LS, U, Annet <sup>3</sup> | 37x   |
| J (08-08-17-19-06)  |                 | x |   |   | M                                | 4x  |
| K (06-10-02-22-06)  |                 | x |   |   | LS                               | Ikke sett tidligere   |
| L (06-09-04-10-06)  |                 |   |   |   |                                  | Ikke sett tidligere   |
| M (07-08-01-12-16)  |                 |   |   |   |                                  | Ikke sett tidligere   |
| O (05-08-16-10-06)  |                 | x |   | x | M, LF, LS, U                     | Ikke sett tidligere   |
| P (06-09-26-16-06)  |                 |   |   | x | LF, U                            | Ikke sett tidligere   |
| Q (07-07-11-10-06)  |                 | x |   | x | M                                | 3x  |
| R (08-08-17-18-06)  |                 | x |   |   | M, U                             | Ikke sett tidligere   |
| S (06-07-15-10-06)  |                 | x |   |   | LF, LS                           | 1x  |
| T (06-08-14-10-06)  |                 | x |   |   | LS                               | Ikke sett tidligere   |
| U (06-09-26-18-06)  |                 | x |   |   | LS                               | Ikke sett tidligere   |
| V (06-07-14-06-09)  |                 | x |   |   | LS                               | 2x  |
| V* (06-07-15-06-09) |                 | x |   |   | LS                               | 1x  |
| W (08-08-17-16-06)  |                 | x |   |   | LF, LS                           | Ikke sett tidligere   |
| X (06-11-05-18-06)  |                 |   |   | x | LS                               | Ikke sett tidligere   |
| Z (06-10-01-21-06)  |                 |   | x |   | LS                               | Ikke sett tidligere   |
| Z* (06-10-17-21-06) |                 | x |   |   | LS                               | 6x  |
| + (08-08-03-09-00)  |                 | x |   |   | M                                | 3x  |

<sup>1</sup> M: Miljø, LR: Laks sløyd (inkluderer både sløyd laks som produkt fra slakterier og sløyd laks som råvare i røykerier (Anlegg 2), LF: Laks filet eller laks under prosessering, U: Utstyr

<sup>2</sup> Angir antall listeriose-tilfeller hvor de ulike MLVA-typene er blitt påvist. Data basert på registrerte tilfeller hos Nasjonalt Folkehelseinstitutt

<sup>3</sup> Annet: MLVA-type D: sliceravfall av røkt laks ved slicing (Anlegg 1). MLVA-type F: gravlaks og kaldrøkt laks. MLVA-type I: Røkt laks

Resultatene fra typingen viser at *L. monocytogenes* med de samme MLVA-typene som har vært påvist hos pasienter med listeriose også er utbredt blant isolater fra laksenæringen. Dette gjør at man ikke kan utelukke at *L. monocytogenes* fra laksenæringen er identiske med isolater som har gitt

listeriose hos mennesker. Det er viktig å påpeke at resultatene ikke kan tolkes som at *L. monocytogenes* fra laks dermed er årsak til disse listeriosetilfellene. Resultatene gir heller ikke grunnlag for å frikjenne listeria-smittet laks som en mulig kilde for listeriose. Ulike *L. monocytogenes*-stammer har ulik evne til å gi sykdom. Av de totalt 30 MLVA-typene påvist, er 12 typer aldri blitt påvist fra pasienter med listeriose. Dette kan indikere at disse ikke har stort potensiale for å gi sykdom. *L. monocytogenes* med MLVA-type I er isolert fra om lag halvparten av registrerte listeriosetilfeller i Norge (inkludert utbruddet i 2007 knyttet til økologisk produsert mykost), og *L. monocytogenes* med denne MLVA-typen påvises også i laksenæringen. Typingen er kun gjennomført med én typemetode. Dette er et område hvor det kunne vært aktuelt med ytterligere studier for å avklare i hvilken grad *L. monocytogenes* fra laks og laksenæring er forskjellig fra *L. monocytogenes* fra andre kilder og om disse har potensiale til å gi sykdom.

Det ville være ønskelig å finne ut mer om egenskapene til listeria som etablerer seg i produksjonsmiljøet og er en konstant kilde til smitte av råvarene. Det er blitt gjennomført noe karakterisering i tre masteroppgaver som har vært relatert til problemstillinger i prosjektet. Det er planer om ytterligere karakterisering av en del isolater for å kartlegge om disse har egenskaper som gjør at de etablerer seg som husstammer. Karakteriseringen vil inkludere fullgenom-sekvensering samt undersøkelse av biofilmdannelse og toleranse overfor renholdsmidler. Dette arbeidet vil delvis gjennomføres i andre prosjekter og leveransene vil bli slutført i etterkant av prosjektet (se kap.6 Leveranser).

#### Litteratur:

Lindstedt *et al.* (2008). *Journal of Microbiological Methods* 72 (2), 141-148.

Heir & Langsrud (2013). *Nofima Rapportserie 20/2013*. Smitteveier og smittekilder for *Listeria* i produksjonskjeden for sløyd og røkt laks.

- Mange ulike typer *L. monocytogenes* er til stede i laksenæringen
- Mange av typene påvist fra laksenæringen er også blitt påvist i *L. monocytogenes* som har gitt listeriose
- Flere studier må gjøres for å avklare om *L. monocytogenes* fra laks kan forårsake listeriose

### 5.3 AP3: Tiltak

På bakgrunn av resultatene fra AP2 (kap. 5.2-5.4), ble det påvist behov for ytterligere dokumentasjon og tiltak for å oppnå økt kontroll med listeria i laksenæringen.

Innspill knyttet til type tiltak og muligheter for uttesting og gjennomføring av ulike tiltak ble undersøkt i styringsgruppen og blant de fire lakseprodusentene som deltok i prosjektet. Det ble bestemt å fokusere på tiltak i produksjonsmiljøet. I tillegg viste spørreundersøkelsen i tidligere nevnt forprosjekt og resultater fra prøvetaking i dette prosjektet at prosessert laks kunne være en viktig smittekilde for listeria i anlegg som benyttet dette som råvare. Følgende tiltak og undersøkelser ble derfor prioritert:

- Avklare om sløyd laks er viktig potensiell smittekilde for listeria i laksenæringen ved å dokumentere forekomst av listeria i sløyd laks fra slakterier som leverer råstoff til Anlegg 2
- Teste hygieneeffekt av automatisk vask av transportbånd

- Teste om økt brukerkonsentrasjon av vaskemiddel kan gi økt vaskeeffekt og dermed økt effekt av påfølgende desinfeksjon
- Vurdere effekt av sitronsyre brukt i sluk og på gulv for redusert nivå av listeria
- Teste og vurdere nytt renholdskonsept med bruk av antimikrobielle midler i skyllevann
- Dokumentere effekt av CIP-vask for reduksjon av listeria i problempunkter (ikke gjennomført)
- Samle informasjon om bedriftenes egne erfaringer med effekt av tiltak

### 5.3.1 Sløyd laks som smittekilde for listeria

Resultater fra AP2 viste at listeria ofte påføres laksen tidlig i slakteprosessen. For produsenter av risikoprodukter kan listeria-forekomsten på sløyd laks eller fileten som kjøpes fra ulike leverandører og benyttes som råvare i eget anlegg ha stor betydning. Høy listeria-forekomst på råvarer gir økt tilførsel av listeria til anlegget, økt risiko for etablering av listeria i anlegget og for smitte av listeria til ferdige produkter. Kjennskap til listeria-forekomsten på råvarer av laks som benyttes i anlegget er derfor svært vesentlig.

Forekomsten av listeria på sløyd og filetert laks fra ulike leverandører til Anlegg 2 ble undersøkt. Anlegget mottar sløyd laks fra en rekke ulike slakterier som prosesseres til fileten, røkt og gravet laks. Prøvetaking ble utført direkte på laks i kassene fra leverandør. Prøvetaking ble gjort ved svabring med klut hvor hver prøve med var samleprøve av fem laks. Gjeller, skinnside og buk på hver sløyd laks ble svabret. På fileten ble filetsiden svabret. Ved hvert prøveuttak ble det hovedsakelig tatt fem samleprøver (25 laks) fra hvert slakteri. Hvilke leverandører som ble undersøkt var tilfeldig og ble bestemt av hvilke leverandører som leverte laks til anlegget i prøvetakingsperiodene. Ved de siste uttakene ble det fokusert på prøvetaking fra enkelte anlegg med lav og høy listeria-forekomst basert på resultater fra de første uttakene. De ulike prøveuttakene for hvert anlegg er gjort på forskjellige dager og representerer derfor forskjellige produksjonsbatcher. Alle prøver ble sendt til Nofima for analyse. Ett isolat fra hver listeria-positiv prøve ble MLVA-typet.

Resultatene viste at det er stor variasjon i listeria-forekomst på sløyd laks fra ulike slakterier (Tabell 12). Fra enkelte anlegg påvises *L. monocytogenes* ved hvert prøveuttak, mens det fra enkelte andre anlegg ikke ble påvist *L. monocytogenes*. Resultatene viste også at MLVA-typene påvist over tid i hvert enkelt anlegg ofte var identiske. Fra leverandør 22 ble f.eks. samme MLVA type (F) påvist i 37 av 38 isolater i prøvetakingsperioden som foregikk over ett år i dette anlegget. Dette indikerer at anlegget har en husstamme av *L. monocytogenes* som smitter laksen i slakteprosessen.

Tabell 12 Forekomst av *L. monocytogenes* på sløyd laks fra 12 forskjellige slakterier. Kun slakterier hvor 10 eller flere prøver ble analysert er inkludert. Hver prøve er samleprøve av fem laks fra samme produksjonsbatch. Fargekodene er brukt for å visualisere listeria-forekomst i prøvene: Listeria ikke påvist (grønt); listeria påvist i <50% av prøvene (lyst rødt); listeria påvist i >50% av prøvene (rødt). MLVA typer er indikert for listeria-positive prøver. Se detaljer i tekst for gjennomføring av prøveuttak.

|            | Slakteri ( <i>L. monocytogenes</i> positive/antall prøver) (MLVA-typer) |         |           |         |           |         |          |         |         |     |     |         |           |  |
|------------|---|---------|-----------|---------|-----------|---------|----------|---------|---------|-----|-----|---------|-----------|--|
| Prøveuttak | 17  | 18      | 22        | 25      | 30        | 46      | 50       | 51      | 66      | 76  | 81  | 85      | 95        |  |
| 1          | 0/5   | 1/5 (H) | 3/5 (F)   | 0/5     | 0/5       | 0/5     | 2/5 (G*) | 0/5     | 0/5     | 0/5 | 0/5 | 5/5 (F) | 5/5 (H,S) |  |
| 2          | 0/1   | 0/0     | 3/5 (F,T) | 0/5     | 2/5 (I)   | 1/5 (W) | 5/5 (G*) | 2/5 (L) | 2/5 (G) | 0/5 | 0/5 | 5/5 (F) | 4/5 (H)   |  |
| 3          | 0/5 <sup>1</sup>  |         | 1/5 (F)   | 0/5     | 3/5 (B,I) | 0/5     | 3/5 (G*) |         | 0/5     | 0/5 |     |         |           |  |
| 4          | 0/5 <sup>1</sup>  |         | 3/5 (F)   | 1/5 (K) | 4/5 (I,G) | 0/5     |          |         |         | 0/5 |     |         |           |  |
| 5          | 3/5 (D,V*)  |         | 4/5 (F)   |         |           |         |          |         |         |     |     |         |           |  |
| 6          | 2/5 (D,V)   |         | 1/5 (F)   |         |           |         |          |         |         |     |     |         |           |  |
| 7          | 0/5   |         | 6/10 (F)  |         |           |         |          |         |         |     |     |         |           |  |
| 8          |   |         | 5/5 (F)   |         |           |         |          |         |         |     |     |         |           |  |
| 9          |   |         | 3/5 (F)   |         |           |         |          |         |         |     |     |         |           |  |
| 10         |   |         | 4/5 (F)   |         |           |         |          |         |         |     |     |         |           |  |
| 11         |   |         | 5/5 (F)   |         |           |         |          |         |         |     |     |         |           |  |
| % positive | 16  |         | 63        | 5       | 45        | 5       | 67       | 20      | 13      | 0   | 0   | 100     | 90        |  |

<sup>1</sup> Uttak fra filet



Totalt ble det tatt prøver av sløyd laks fra 24 slakterier som leverte råstoff til Anlegg 2. Fra kun sju av disse ble det ikke påvist *L. monocytogenes* i sløyd laks fra slakteriet.

#### Sløyd laks som smittekilde

- Sløyd laks kan være en viktig kilde til *L. monocytogenes*
- Forekomst av *L. monocytogenes* i sløyd laks fra ulike slakterier varierer
- Flere lakseslakterier har husstammer av *L. monocytogenes* som smitter laksen i slakteprosessen
- Anlegg som videreforedler sløyd laks må stille krav til råvarekvaliteten fra sine leverandører

### 5.3.2 Tiltak for bedre renhold

#### Automatvask av transportbånd

Effektivt renhold av produksjonsutstyr er et viktig tiltak for å oppnå god produksjonshygiene. I samarbeid med Anlegg 1 ble effekten av automatisk vasking av transportbånd undersøkt og sammenlignet med manuell vask. Dyser for automatvask av transportbånd ble montert opp i anlegget. Automatvask ble gjennomført både på ulike typer bånd (intralox og vevde bånd). Prøvetaking av bånd ble utført i perioden før automatvask ble igangsatt (null-prøver) og i perioden etter at automatvask var innført. I tillegg ble det tatt prøver fra tilsvarende kontrollbånd som ble vasket manuelt gjennom hele perioden. All prøvetaking ble gjennomført før produksjonsstart (etter renhold). Resultatene er gitt i Tabell 13.

Tabell 13 Totalkim på Intralox-bånd (A) og vevde bånd (B) etter manuell vask og automatvask. Vevde bånd ble prøvetatt både på oversiden og undersiden (U). Kimtall er kategorisert etter følgende nivåer (bakterier/cm<sup>2</sup>): Kategori 0: <0.3; Kategori 1: 0.3-50; Kategori 2: 51-500; Kategori 3: >500. Alle prøver tatt etter manuell vask er skravert i blått. Rødt skrift viser at listeria ble påvist i prøvepunktet ved prøvetakingen.

#### A: Intralox-bånd

| Uke     | Manuell vask |   |   |   | Automatvask |   |
|---------|--------------|---|---|---|-------------|---|
|         | 1            | 2 | 3 | 4 | 5           | 6 |
| Bånd nr |              |   |   |   |             |   |
| B1      | 0            | 3 | 1 | 0 | 0           | 1 |
| B2      | 1            | 3 | 0 | 0 | 1           | 1 |
| B3      | 0            | 3 | 1 | 1 | 1           | 1 |
| K1      | 1            | 3 | 1 | 0 | 1           | 1 |
| K2      | 0            | 3 | 1 | 0 | 1           | 1 |

#### B: Vevde bånd

| Uke     | Manuell vask |   |   |   | Automatvask |   |
|---------|--------------|---|---|---|-------------|---|
|         | 1            | 2 | 3 | 4 | 5           | 6 |
| Bånd nr |              |   |   |   |             |   |
| B4      | 2            | 3 | 2 | 0 | 1           | 3 |
| B4U     |              | 3 | 2 | 0 | 1           | 2 |
| B5      |              | 3 | 1 | 0 | 2           | 1 |
| B5U     |              | 2 | 2 | 1 | 1           | 3 |
| K3      |              |   | 0 | 0 | 1           | 1 |
| K3U     |              |   | 2 | 3 | 1           | 2 |

Resultatene viste at manuell vask kan være svært effektiv og gi lave bakterietall, men at det kan være stor variasjon i kvaliteten på manuell vask. På noen av båndene var det over 10 000 bakterier/cm<sup>2</sup>.

Uke 2 i prøvetakingen pekte seg ut med høye bakterietall og mange listeria-positive prøver. Det ble opplyst fra anlegget at nye renholdere med mangelfull opplæring var involvert i det manuelle renholdet den uken. Generelt var det høyere bakterietall på vevde bånd enn på Intralox-bånd. Automatvask ga generelt noe jevnere vaskeresultater, men eliminerte ikke listeria fra båndene. Automatvasken som ble gjennomført ga ikke betydelig bedre renhold av båndene i anlegget. Det er mange faktorer som påvirker vaskeeffekten og i hvilken grad automatvasken i anlegget var optimalisert er ikke kjent. Anlegget mistenkte at sprut som følge av automatvask ga økt listeria-smitte til fisk. Automatvask i seg selv er derfor ikke en løsning på listeriaproblemer, selv om en optimalisert automatvask i prinsippet kan gi bedre og mer jevne resultater enn manuell vask.

- Automatisk vasking av transportbånd ga ikke betydelig bedre hygiene
- Kvaliteten på manuell vask kan være svært bra, men store variasjoner ble påvist
- Viktig å unngå smitte via sprut både ved manuell og automatisk vask/spyling

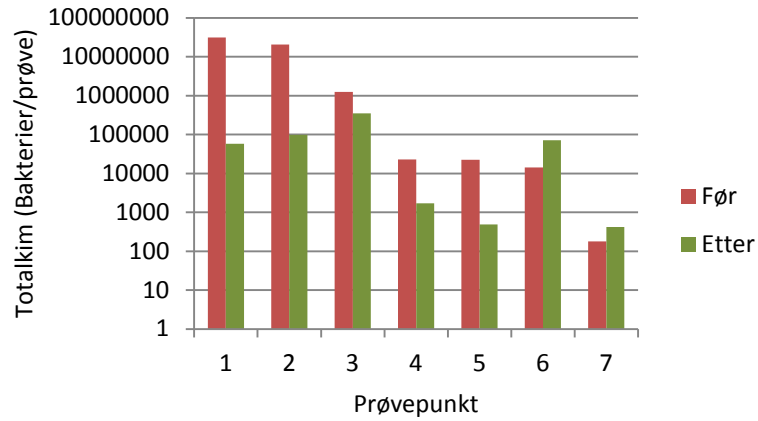
### **Bruk av vaskemiddel med økte konsentrasjoner av virkestoffer**

Resultater fra AP2 viste at listeria påvises relativt hyppig fra utstyr og produksjonsmiljø, og at listeria også ofte påvises etter vanlig renhold. I samarbeid med Anlegg 2, Lilleborg og lokal hygieneleverandør til anlegget ble det derfor gjennomført forsøk for å undersøke om økte brukerkonsentrasjoner av virkestoffer i vaskemidler kan gi økt vaskeeffekt (løsning av biofilm, fjerning av smuss) og dermed også økt effekt av påfølgende desinfeksjon.

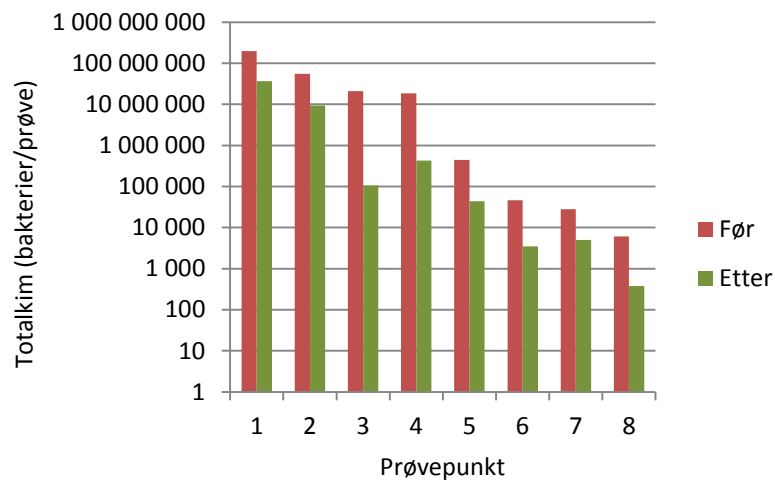
Lilleborg gjennomførte før forsøket endringer i vaskesatelitter ved bytting av dyser og titreringer for å bestemme konsentrasjoner av vaskemiddel påført. Om lag dobbel konsentrasjon av skumvaskemiddel Addi SU 932 (alkalisk, hypoklorittbasert) ble påført i testperioden over fire uker. Renholdet skulle ellers gjennomføres på samme måte før, under og etter tiltaksperioden.

Prøvetaking av utvalgte punkter på utstyr og miljø ble gjennomført før (ukentlige prøvetakinger over 4 uker) og etter at tiltaket ble startet. All prøvetaking ble gjennomført etter renhold og svaberprøvene ble analysert for totalkim og listeria. Resultatene viste gjennomgående lavere kimtall på både transportbånd og på gulvrelaterte prøver (gulv, sluk, fotmatter, hjul) i perioden etter at vask med dobbel dose vaskemiddel ble startet (Figur 3 og 4). Analyser for listeria viste at prøvepunkter hvor *L. monocytogenes* var til stede ble om lag halvert i perioden etter at økt dose vaskemiddel ble benyttet. Resultatene viste også at det i perioden etter tiltaket var lavere antall av *L. monocytogenes* i de positive prøvepunktene (resultater ikke vist).

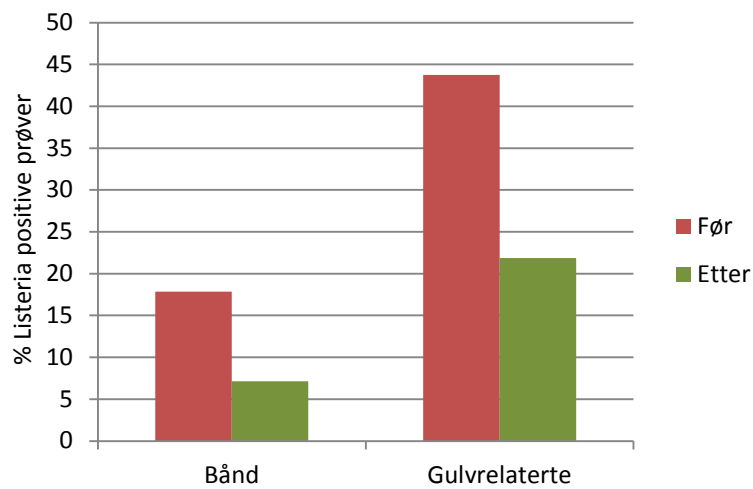
A



B



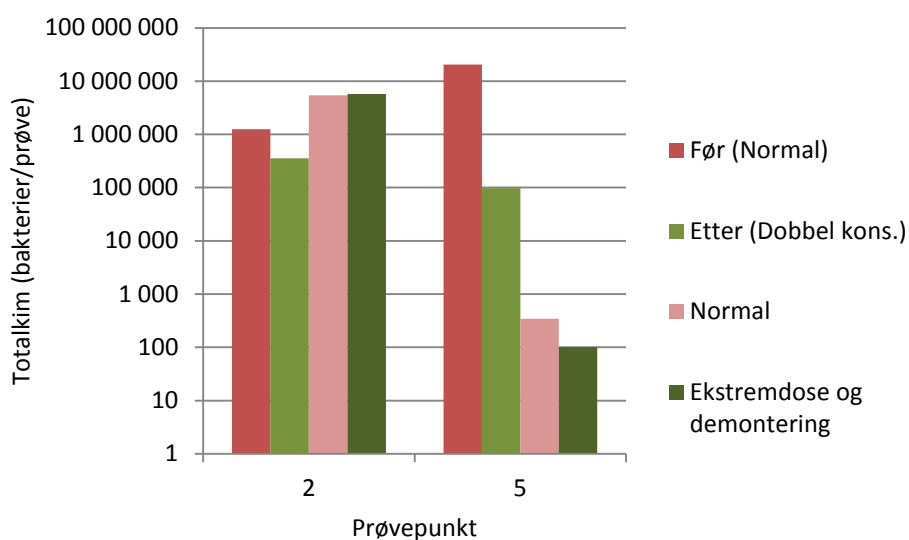
Figur 3 A: Totalkim i prøver fra sju ulike transportbånd før tiltak (rødt) og etter tiltak (grønt) med økt dose vaskemiddel. B: Totalkim i åtte gulvrelaterte prøver før tiltak (rødt) og etter tiltak (grønt) med økt dose vaskemiddel.



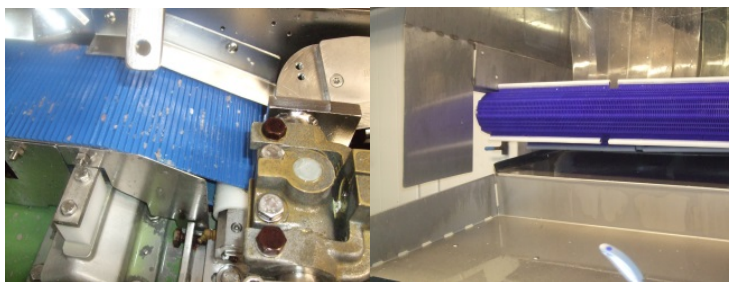
Figur 4 Listeria-positive prøver fra bånd og gulvrelaterte prøvepunkter i perioden før tiltak (rødt) og etter tiltak (grønt) med økt dose vaskemiddel.

## Nullstilling

Resultatene fra prøvetakingen utført i forbindelse med tiltaket hvor dobbel dose vaskemiddel ble benyttet viste høye totalkim i flere prøvepunkter (Figur 3). Det ble derfor besluttet å sjekke anlegget i forhold til belegg på utstyret da dette kan bidra til festing av bakterier og dannelse av biofilm. Befaring i Anlegg 2 indikerte jevnt over et godt renhold, men en del «blåskjær» på rustfritt stål ble påvist. Belegget lot seg fjerne med en sterk hypoklorittløsning og indikerte proteinbelegg på utstyret, trolig også på transportbånd. Det ble derfor besluttet å gjennomføre en «nullstilling» av anlegget med bruk av en sterk løsning av alkalisk, hypoklorittholdig vaskemiddel. Ved nullstillingen ble transportbånd demontert og lagt i kar med ca 20 % vaskemiddel. Båndene ble spylt rene etter noen timer i karene. Sterk hypoklorittløsning ble også sprayet på utstyret og skylt av etter 3-5 minutters virketid. Bånd og utstyr ble prøvetatt for mikrobiologiske analyser i perioden før og etter nullstilling. All prøvetaking ble gjort etter renhold. Resultatene viste at tre av de sju båndene hadde totalkim <100/prøve etter nullstilling. Resultatene viste imidlertid også at nullstilling ikke var effektiv på alle bånd (Fig. 5 og 6). For annet utstyr og gulvrelaterte prøver inkludert sluk, var det ingen tydelig reduksjon av bakterier i prøvepunktene etter nullstillingen (data ikke vist).



Figur 5 Totalkim i prøver fra to bånd (2 og 5). Data fra prøvetaking gjennomført før og etter tiltak med bruk av dobbel dose vaskemiddel, i perioden etter tiltaket og etter at nullstilling ved bruk av høy dose og demontering av bånd ble gjennomført.

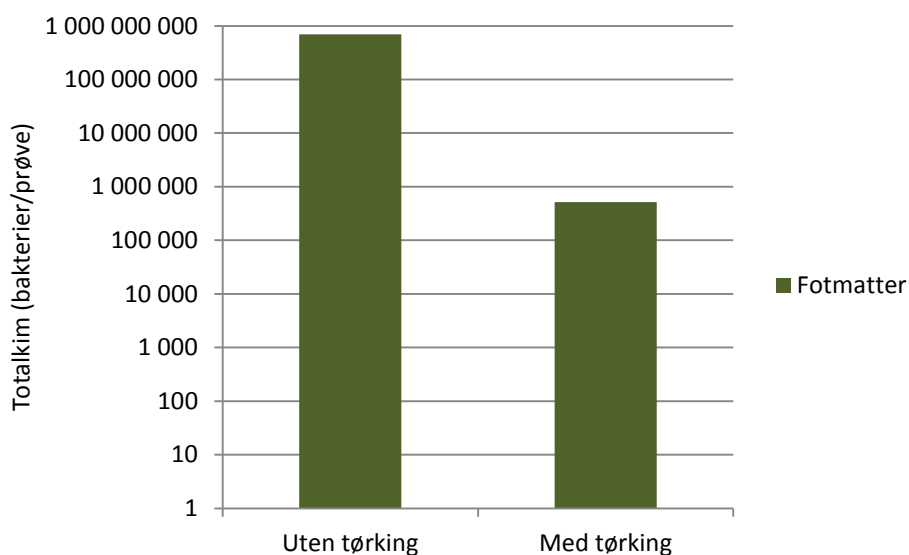


Figur 6 Bilde av transportbåndene 2 og 5.

- Renhold hvor det benyttes vaskemiddel med økt konsentrasjon av virkestoffer kan gi redusert bakterienivå og forekomst av listeria på overflater
- Nullstilling av anlegg ved bruk av ekstremkonsentrasjon av hypoklorittbasert, alkalisk vaskemiddel kan ha god effekt, men er ikke alltid effektiv på alle typer utstyr og områder

### Andre renholdstiltak

Fotmatter var et prøvepunkt med gjennomgående høye bakterietall gjennom hele perioden for prøvetaking i Anlegg 2. Disse var også svært ofte listeria-positive. Fotmatter er ofte laget av et porøst materiale og vanskelig å rengjøre og tørke. I et forsøk på å oppnå bedre hygienisk standard på fotmattene ble disse hengt opp og tørket etter vask. Dette ga betydelig lavere bakterietall (Figur 7). Konklusjonen er at høye bakterienivåer er vanskelig å unngå, men kombinasjon av renhold og tørking av matter vil ha positiv effekt.



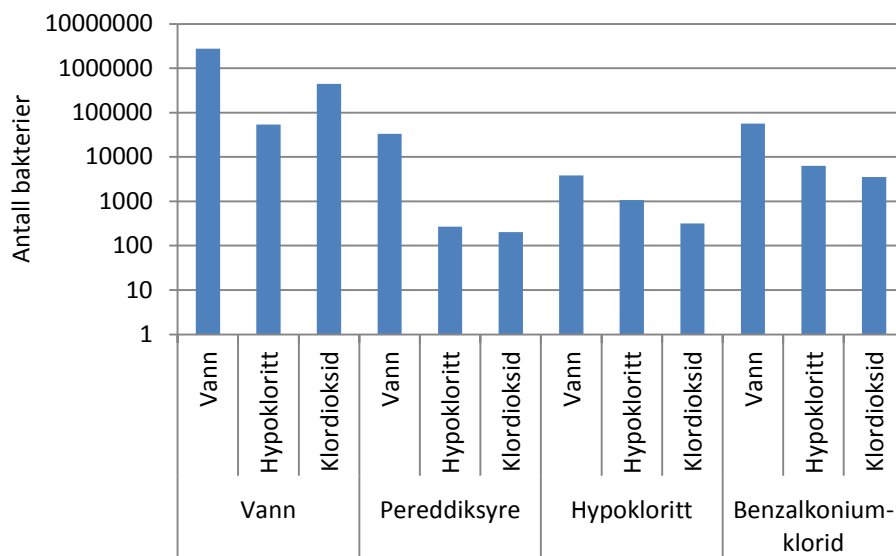
Figur 7 Totaltall på fotmatter etter renhold, men med og uten tørking av mattene før prøvetaking.

### Bedre renhold ved bruk av lave konsentrasjoner av hypokloritt eller klordioksid i skyllevannet?

Regelmessig påvisning av listeria fra prøvesteder i anleggene som nylig var rengjort viste at renholdet som praktiseres ofte ikke er tilstrekkelig til å eliminere listeria i anleggene. Det ble derfor undersøkt om bedre effekt av renholdet kunne oppnås ved å benytte antimikrobielle midler i skyllevannet. Ved ordinært renhold skylles desinfeksjonsmidler av overflater med rent vann. Vi ønsket å undersøke om bruk av lave konsentrasjoner av hypokloritt eller klordioksid innenfor gjeldende regelverk kunne bidra til økt reduksjon av listeria på overflater og dermed økt effekt av renholdet. Benyttede konsentrasjoner av hypokloritt eller klordioksid på hhv 0,7 og 0,5 ppm var innenfor tillatte nivåer brukt i drikkevann.

Forsøkene ble gjort i forsøk i laboratorium hvor biofilmer av *L. monocytogenes* (6 stammer i blanding) på stålkuponger ble eksponert for desinfeksjonsmidler (hypokloritt, pereddiksyre eller benzalkoniumklorid). Etter desinfeksjon ble kupongene skylt med vann (kontroll), klordioksid eller hypokloritt. Skylling med hypokloritt eller klordioksid bidro til 90-99 % økt reduksjon av festede listeria på kupongene sammenlignet med skylling med vann (Figur 8). Det ble påvist synergieffekt

med bruk av pereddiksyre som desinfeksjonsmiddel og bruk av klordioksid i skyllevann. Bruk av lave konsentrasjoner av disse midlene i skyllevannet brukt ved renhold kan gi økt reduksjon av listeria på overflater. Videre uttesting av dette konseptet i anlegg bør vurderes.



Figur 8 Antall bakterier til stede på stålkuponger etter eksponering for desinfeksjonsmidler eller vann (kontroll) etterfulgt av skylletrinn med vann (kontroll) eller lave konsentrasjoner av hypokloritt eller klordioksid.

### Bruk av sitronsyre i sluk og på gulv for økt listeria-kontroll

Flere veiledere anbefaler bruk av sitronsyre som et tiltak mot listeria på gulv i produksjonsanlegg. Dokumentasjon på effekt av sitronsyre mot listeria er imidlertid mangelfull. I samarbeid med Anlegg 2 ble det derfor gjennomført uttesting av sitronsyre på gulv og sluk.

Det ble gjennomført uttesting på to sluk hvor det tidligere har vært regelmessig påvisning av listeria. I tillegg ble bruk av sitronsyre også testet på et definert gulvareal i tilknytning til slukene. Som kontroll ble det tatt prøver fra to sluk og ett gulv som ikke ble behandlet med sitronsyre. Behandling og prøveuttak ble gjennomført i løpet av en periode på tre uker.

Sitronsyre ble tilsatt daglig etter renholdet i anlegget på produksjonsdager. Det ble tilsatt sitronsyre i pulverform direkte i slukavløp (ca 1 spiseskje). I tillegg ble det drysset sitronsyre oppi slukrenne samt i overgang mellom sluk og gulv (25 ml/2000 cm<sup>2</sup>). På gulv ble det benyttet 10 ml/2500 cm<sup>2</sup> gulvareal. Mengde sitronsyre som ble benyttet ble basert på uttesting i sluk ved Nofima.

Prøveuttak ved svabring ble gjennomført to ganger ukentlig og foretatt før produksjonsstart. Kluter tilsatt nøytraliseringsbuffer ble benyttet. Identisk areal ble prøvetatt i sluk/gulv tilsatt sitronsyre og i sluk/gulv uten tilsatt syre. Det ble også plassert tamponger i slukene to dager per uke. Disse ble plassert i slukene etter renhold og tatt ut før påfølgende renhold dagen etter. Alle prøver ble analysert ved Nofima for totakim og listeria. I tillegg ble det utført pH-målinger i slukene.

Resultatene viste at listeria ble påvist hyppig i slukene. Det var små forskjeller i listeria-forekomst i sluk som ble behandlet og sluk som ikke ble behandlet med sitronsyre (Tabell 14). Listeria ble påvist både i svaberprøver og prøver fra tamponger plassert i slukene. Kun to av prøvene fra gulv var positive for listeria i prøveperioden. Det ble ikke gjennomført kvantitative målinger for å avdekke om

sluk som ble behandlet hadde lavere listeria-antall enn sluk som ikke ble behandlet. Det var stor variasjon i totalkim fra sluk og gulv, men det var gjennomgående ikke lavere kimtall i behandlede sluk eller gulv sammenlignet med sluk og gulv som ikke ble behandlet.

Resultater fra pH-målingene er gitt i Tabell 15. Det er ønskelig å ha en lav pH (<4) i områder som behandles for å hindre mulig listeria-vekst. Målinger utført etter daglig produksjon, men før vask og tilsats av den daglige dosen med sitronsyre viste små pH-forskjeller (pH 6-7) i sluk som ble behandlet med sitronsyre og i kontrollsluk. Dette gjaldt for sluk (nr. 11 og 37) som var i områder med mye vannforbruk (filet/saltavdeling). I sluk som var i et tørrere område av anlegget med mindre avrenning, var pH-verdien 2 og 6 i hhv sitronsyrebehandlet (sluk A) og ikke-behandlet sluk (sluk B) når pH ble målt etter dagens produksjon (før renhold). Tilsats av syre til sluk og gulv ga en umiddelbar pH-nedgang til mellom 1 og 2 for sluk og ca pH 2 for gulv. Resultatene fra våre forsøk indikerer at sitronsyre ikke reduserte forekomsten av listeria i sluk hvor det allerede er en høy forekomst. Behandling av sluk og gulv med sitronsyre ser derfor ikke ut til å være et effektivt strakstiltak mot listeria. Med en lengre prøve-/behandlingsperiode og optimalisering av behandlingen kan vi ikke utelukke at sitronsyre har en viss positiv effekt og at det kan forebygges etablering av listeria i områder som behandles. Videre undersøkelser er nødvendig for å avklare dette.

Tabell 14 Effekt av sitronsyrebehandling på listeria-forekomst i sluk og gulv i løpet av 2 ukentlige prøveuttak (svaberprøver) over 3 uker. Røde felter angir listeria-positive prøver. Markert + angir påvisning av *L. monocytogenes*, mens i prøver markert \*, ble det påvist *L. spp*, men ikke *L. monocytogenes*.

| Sluk                 | Behandlet med sitronsyre | Prøveuttak <sup>1</sup> |   |   |   |   |   |
|----------------------|--------------------------|-------------------------|---|---|---|---|---|
|                      |                          | 1                       | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Sluk A               | Ja                       |                         | + |   | + |   |   |
| Sluk B               | Nei                      |                         | + |   |   |   | + |
| Sluk 11              | Ja                       | +                       | + |   | + | + | + |
| Sluk 37              | Nei                      | *                       | * | * |   | + | * |
| Gulv 17 <sup>2</sup> | Ja                       |                         |   | * |   |   |   |
| Gulv 17 <sup>2</sup> | Nei                      |                         |   |   |   | + |   |

<sup>1</sup> Markert (+) angir at *L. monocytogenes* ble påvist i prøven; markert (\*) angir at listeria ble påvist, men andre arter enn *L. monocytogenes*

<sup>2</sup> To definerte områder på samme gulv ble prøvetatt. Ett ble behandlet med sitronsyre, mens ett ikke ble behandlet

Tabell 15 Resultater fra pH-målinger i sluk. Målingene ble utført etter dagens produksjon, men før renhold.

| Sluk (Avdeling)       | Behandlet med sitronsyre | pH  |
|-----------------------|--------------------------|-----|
| A (RTE <sup>1</sup> ) | Ja                       | 2   |
| B (RTE <sup>1</sup> ) | Nei                      | 6   |
| 11 (Salt)             | Ja                       | 6   |
| 37 (Filet)            | Nei                      | 6-7 |

<sup>1</sup>RTE = Ready-To-Eat

- Kombinasjon av godt renhold kombinert med god opptørking har god effekt på listeria
- Nye renholdskonsepter som bruk av antimikrobielle midler i skyllevannet kan gi økt reduksjon av listeria, men testing i prosessanlegg er nødvendig for å vurdere om metoden har potensiale
- Bruk av sitronsyre for å oppnå redusert forekomst av listeria i sluk og på gulv hadde liten effekt i våre forsøk

## Effekt av andre tiltak

### Sirkulasjonsvask (CIP-vask)

Rørsystemer tilknyttet vakuu eller vann kan være tilholdssteder for listeria. Flere anlegg har rapportert om gode effekter på listeria ved å benytte sirkulasjonsvask, såkalt CIP (Cleaning-In-Place), av slike systemer. Vi ønsket i prosjektet å få vurdert effekten av denne type renhold da det er lite dokumentasjon som har kvantifisert effekten av sirkulasjonsvask på hygienestatus i anlegget. I tillegg kan installering av slike systemer oppleves som kostnadskrevenende, og dokumentasjon var derfor ønsket. Det ble gjennomført besøk til anlegg som skulle installere sirkulasjonsvask. Dessverre lot prøvetaking og analyser seg ikke gjennomføre for å vurdere effekten av sirkulasjonsvask. Dette skyldes blant annet at flere andre tiltak ble gjennomført i anlegget parallelt. Ved innføring av optimalisert sirkulasjonsvask som er tilpasset systemet som skal rengjøres, er det forventet at god effekt vil oppnås sammenlignet med konvensjonelle rutiner for vask av slikt utstyr. Sirkulasjonsvask er ytterligere omtalt i rapporten «Veiledning for forebygging, overvåking og fjerning av listeria i laksenæringen.»

### Effekt av tiltak: Erfaringer fra prosessanlegg

Ved besøk i fem anlegg, ble det i prosjektet kartlagt hvilke erfaringer ulike anlegg har med listeria-tiltak som har blitt innført i anleggene. Tabell 16 gir en oversikt over tiltak som ble nevnt å ha blitt testet og deres erfaringer med effekt av tiltaket mht å løse listeria-problemer i anlegget. Tiltak som har løst listeria-problemer basert på informasjon fra anleggene er:

- Bytte slitt utstyr/ utstyr med dårlig design (pakninger, valser, bånd)
- CIP-vask av sløyemaskin
- Fullstendig demontering og vask av transportører – virker noen ganger
- Varmedesinfeksjon (70 °C, fuktig varme, nye problemer kan oppstå)
- Bedre hygienisk design på utstyr

I tillegg til tiltakene i Tabell 16 opplyser også anlegg at tiltak inkluderer flere ansatte på renhold, koordinere ansvar for renhold (ansettelse av formenn), bedre loggføring av demontering og listeria-funn i utstyr, bedre hygieniske løsninger (f.eks. fjerning av lufttilførsel i kjøletank og fullstendig nedvask/demintering av anlegget ved produksjonsstopp).



Tabell 16 Effekt av tiltak for å løse listeria-problemer i anlegg basert på informasjon gitt fra fem anlegg. For en del tiltak er effekten usikker, blant annet fordi flere tiltak er satt inn samtidig (merket?).

| Område                            | Tiltak  | Resultat                    | Kommentar                              | Anlegg |
|-----------------------------------|---|-----------------------------|--|--------|
| Sluk                              | Klortablett<br>Ekstra skrubbing                           | Ingen effekt                | Dårlig vedlikeholdte og renholdte sluk | 1      |
| Porsjonskutter                    | Byttet maskin   | Løst                        |  | 2      |
| Antibakterielle bånd              | Bruk av bånd med antibakterielle materialer               | Virker mot sin hensikt      | Båndene ble bedre etter bruk           | 2      |
| Slitte transportbånd              | Bytter bånd   | Løst                        |  | 2      |
| Transportbånd ruller              | Tatt vekk ruller, bytter ut vulkaniserte ruller           | Løst                        | Dårlig design                          | 2      |
| Transportør                       | Gjentatt fullstendig demontering med vask og desinfeksjon | Løser problemet noen ganger |  | 4      |
| Transportør                       | Automatvask   | Ikke løst                   | Resultat fra dette prosjektet          | 4      |
| Transportør - grader              | Oppvarming, fuktig varme                                  | Løst                        | Nye problemer oppstår                  | 4      |
| Transportbånd til kjøll           | Vaskes to ganger  | Ikke løst                   |  | 3      |
| Transportbånd, rør, sløyemaskiner | Hypigere demonteringsintervall                            | ?                           |  | 3      |
| Transportbånd,                    | Bytte til bånd i rustfritt stål                           | ?                           |  | 3      |
| Joystick                          | Fjernet pakning   | Løst                        |  | 3      |
| Bryterpaneler                     | Engangs plastovertrekk                                    | ?                           |  | 3      |
| Deler av Baader                   | Vasker i oppvaskmaskin                                    | Ikke løst                   |  | 5      |
| Baader - vakuumsystem             | CIP   | Løst                        |  | 4      |
| Vakuumsystem                      | Rekkefølge vask systematisk                               | ?                           |  | 3      |
| Håndskraper                       | Demontering   | ?                           |  | 3      |
| Kjøletank                         | Rør luftsirkulasjon fjernet                               | Løst                        |  | 3      |
| Transportbånd                     | Automatisk spyling  | Ikke løst                   | Økt spredning av listeria mistenkt     |        |
| Vakuumsystemer                    | Is  | ?                           |  | 4      |
| Vakuumsystemer (ikke på Baader)   | CIP   | Løst                        |  | 5      |
| Lokaler                           | Varmes til 25 °C i helgen                                 | ?                           |  | 5      |

#### 5.4 Arbeidspakke 4: Veileder

Det ble utarbeidet en veileder som har til hensikt å være et hjelpemiddel i det praktiske arbeidet med å oppnå økt kontroll med listeria i anlegg som produserer sløyd, filetert, røkt og/eller gravet laks og ørret.

Veilederen var bygd opp rundt områdene forebygging, overvåking og problemløsning:

- 1. Hvordan unngå at listeria-problemer oppstår?** Hvordan hindre etablering og smittespredning av listeria i anlegg.
- 2. Hvordan overvåke listeria i anlegg?** Hvordan etablere risikobasert overvåking og gjennomføre praktisk prøvetaking.

### 3. Hvordan kvitte seg med listeria? Hvordan løse listeria-problemer ved tiltak.

Anbefalinger i veilederen ble basert på resultater og erfaringer fra dette prosjektet og fra tidligere forprosjekt «Kartlegging av bedriftspraksis (produkt, prosess og organisering) som hemmer og fremmer forekomst av listeria i norske lakseprodukter». I tillegg ble anbefalingene basert på andre rapporter og veiledere hvor man kan finne mer informasjon om forebygging og kontroll av listeria.

Veilederen danner et godt grunnlag for målrettet arbeid mot listeria i laksenæringen. Veilederen er imidlertid relativt generell og tiltak og rutiner i hvert enkelt anlegg kan konkretiseres med bakgrunn i veilederen samt erfaringer/tilstand i det enkelte anlegg. Det er også viktig å påpeke at innholdet i veilederen bør oppdateres jevnlig basert på ny kunnskap, erfaringer, tiltak og produksjonsteknologi som oppnås gjennom det kontinuerlige arbeidet som pågår for bekjempelse av listeria i næringen.

- Rapporten «Veiledning for forebygging, overvåking og fjerning av listeria i laksenæringen» vil bli publisert på FHF sine hjemmesider. Den er også vedlagt denne sluttrapporten

## 5.5 Vurdering av prosjektets nytteverdi for laksenæringen

Prosjektets har satt søkelyset på listeria i laksenæringen. Dette anses som det viktigste prosjektet har bidratt med i forhold til nytteverdi for norsk laksenæring. Listeria er trolig den største mikrobiologiske utfordringen laksenæringen står overfor. Bakgrunnen for dette er at bakterien kan forårsake listeriose, en infeksjon med svært alvorlige komplikasjoner og som fører til dødsfall i om lag 20 % av tilfellene. En rekke utbrudd har vært forårsaket av listeria-smittede risikoprodukter. Produkter som røkt og gravet laks tilhører kategorien av potensielle risikoprodukter. Undersøkelser har også vist at potensielle risikoprodukter av laks har høyere forekomst av *L. monocytogenes* enn en del andre typer produkter. Rapporten «Mattilsynets overvåknings- og kontrollprogram for forekomst av *L. monocytogenes* i spiseklar mat» (2014) viste at 8,3 % av spiseklare fisk og fiskeprodukter (inkludert laks) inneholdt *L. monocytogenes* og at 1,2 % (2 av 169 prøver) inneholdt *L. monocytogenes*-nivåer >100/g. Heldigvis har produkter av norsk laks eller ørret ikke blitt dokumentert som kilde til listeriose-utbrudd eller alvorlig sykdom. Et eventuelt utbrudd knyttet til laks kan imidlertid, i tillegg til å ha alvorlig helsemessige betydning, få store konsekvenser for enkeltleverandører av laks og for hele merkevaren norsk laks. Å få satt søkelyset på listeria-utfordringer i laksenæringen er derfor vesentlig og vil forhåpentligvis bidra til norske lakseprodukter med mindre listeria. Dette vil bidra til økt konkurransekraft for norsk laks i internasjonale markeder.

Laksenæringen må etterleve regelverk og kundekrav for å dokumentere kontroll med *L. monocytogenes* i egne produkter. Prosjektet har bidratt med viktig dokumentasjon og kunnskap for at bransjen og enkeltprodusenter skal få et bedre grunnlag for å oppnå økt kontroll med listeria.

Gjennom systematisk prøvetaking og analyser i flere prosesseringsanlegg, har det blitt dokumentert at maskiner og utstyr bidrar til smittespredning av listeria til produkter. Renholdet som praktiseres er ofte ikke tilstrekkelig til å eliminere listeria. Viktige smittekilder og problempunkter for listeria har blitt dokumentert. Effekten av mulige tiltak har også blitt dokumentert. Denne kunnskapen gir næringen et godt grunnlag for å sette inn tiltak på viktige områder. Resultatene fra prosjektet gir også grunnlag for praktisk uttesting av nye renholdskonsepter (som bruk av skyllevann med lave

konsentrasjoner av hypokloritt eller klordioksid). Industriens erfaringer med ulike tiltak (Tabell 16) kan også gi grunnlag for videre undersøkelser for å dokumentere og optimalisere effekten av tiltak med potensiale til å løse listeria-problemer i industrien.

Det har vært spesielt viktig å presentere resultater fra prosjektet på arenaer hvor laksenæringen er tilstede. I prosjektet har dette særlig blitt gjort på samlinger arrangert av FHF hvor listeria har vært på dagsorden. Det har også blitt arrangert en egen fagdag på listeria for næringen. Arrangementet samlet over 50 deltagere fra ulike deler av norsk laksenæring. Disse samlingene har også vært viktige arenaer for å diskutere listeria-utfordringer og erfaringer mellom aktører i næringen.

På bakgrunn av kunnskapen samlet gjennom prosjektet har det blitt laget en veileder: «Veiledning for forebygging, overvåking og fjerning av listeria i laksenæringen». Veilederen beskriver viktige tiltak og løsninger for å oppnå økt kontroll med listeria i laksenæringen innenfor områdene forebygging, overvåking og fjerning av listeria i prosesseringsanlegg for laks. Veilederen vil være et hjelpemiddel for å utøve målrettet arbeid og prioritere tiltak mot listeria i produksjonsanlegg.

#### **Nytteverdi for laksenæringen**

Prosjektet har:

- Satt søkelys på listeria i norsk laksenæring
- Bidratt med arenaer for diskusjon og utveksling av listeria-erfaringer
- Framskaffet kunnskap og dokumentasjon som grunnlag for målrettet, risikobasert og kostnadseffektiv overvåking og bekjempelse av listeria
- Utarbeidet en veileder som hjelpemiddel for listeria-arbeidet i eget anlegg

## 6 Leveranser

Resultater fra prosjektet er formidlet via skriftlige rapporter, populærvitenskapelige artikler i bransjeblader, innlegg og presentasjoner på vitenskapelige konferanser, i vitenskapelige tidsskrifter samt presentasjoner på samlinger og fagmøter med bransjen. Tre studenter har gjennomført masteroppgaver innen problemstillinger som har vært delvis relatert til prosjektet. Vi har som mål å få publisert flere vitenskapelige artikler basert på resultater i prosjektet. Flere av disse artiklene vil i tillegg til resultater fra dette prosjektet også inkludere resultater fra pågående listeria-prosjekt knyttet til norsk kjøttindustri. Sistnevnte prosjekt vil pågå ut 2015, og vitenskapelige publikasjoner vil derfor komme etter hvert som resultater og bearbeiding slutføres i disse prosjektene.

### 6.1 Faglige rapporter

Heir, Even; Langsrud, Solveig (2013). Smitteveier og smittekilder for Listeria i produksjonskjeden for sløyd og røkt laks. Nofima 2013 (ISBN 978-82-8296-083-0) 21 s. Nofima rapportserie 20/2013.

Heir, Even; Langsrud, Solveig; Hagtvedt, Therese (2015) Veiledning for forebygging, overvåking og fjerning av listeria i laksenæringen. Tilgjengelig på FHF's hjemmeside. Vedlegg til Sluttrapport: Tiltak for økt kontroll med listeria i laksenæringen

Heir, Even; Langsrud, Solveig (2015). Sluttrapport: Tiltak for økt kontroll med listeria i laksenæringen

### 6.2 Populærvitenskapelige artikler

Langsrud Solveig (2011). Elektrolysert vann – et nytt desinfeksjonskonsept for matindustrien. Matindustrien 11.

Heir, Even; Hagtvedt, Therese; Langsrud, Solveig (2011). På jakt etter Listeria med egnede metoder. Norsk sjømat 6.

Heir, Even; Langsrud, Solveig (2012). Påvisning av Listeria i laksenæringen. Er alternative metoder egnet for bedriftens egenkontroll. Norsk sjømat 1.

Langsrud, Solveig; Schirmer, Bjørn; Hagtvedt, Therese (2014). Prøvetaking av Listeria i mat. Matindustrien 10.

Heir, Even; Langsrud, Solveig (2014). Smittekilder for Listeria i lakse- og ørretnæringen. Norsk sjømat 4.

Langsrud, Solveig; Møretrø, Trond; Heir, Even (2015). Renhold for bekjempelse av Listeria. Norsk fiskeoppdrett 1.

Langsrud, Solveig; Møretrø Trond; Heir, Even (2015). Proper cleaning can provide improved control with listeria. Sendes engelskspråklig fagtidsskrift (foreløpig tittel, under bearbeiding).

### 6.3 Foredrag, muntlige innlegg

Heir, Even (2013). Bedre renhold kan gi økt kontroll med Listeria i laksenæringen. FHF-samling Verdikjede Havbruk, 21.-22. okt.

Heir, Even (2013). Smitteveier og smittekilder for Listeria i produksjonskjeden for laks. FHF-samling; 12.-13. juni.

Heir, Even; Langsrud, Solveig; Møretrø, Trond (2014). Kan vi oppnå kontroll med Listeria i laksenæringen? Konferanse Havbruk 2014, 31. mars-2. april.

- Heir, Even (2014). Økt kontroll med *Listeria* i laksenæringen. Forslag til innhold i bransjeveileder. FHF-Havbrukssamling 2014; Hell, 23. sept.
- Heir, Even (2014). Hvorfor overlever *Listeria* i laksenæringen? Resultater fra bransjeprosjektet. Fagdag *Listeria*, Gardermoen 7. okt.
- Langsrud, Solveig (2014). Hvordan bli kvitt *Listeria*? Fagdag *Listeria*, Gardermoen, 7. okt.
- Langsrud, Solveig (2014). *Listeria monocytogenes*. Nor-Fishing, Trondheim, 21. aug.
- Heir, Even (2011). *Listeria* i laksenæringen. Fagsamling Kvalitet i Lerøy Seafood Group ASA, Smøgen, 14. sept.
- Heir, Even (2011). *Listeria* i norsk sjømat. Oppfølging fra bransjen. Veterinære Fagdager, Oslo, 21. mai.
- Heir, Even (2012). Tiltak for økt kontroll med *Listeria* i laksenæringen. FHF-samling, Hell, 26. nov.
- Heir, Even (2011). *Listeria* eller hysteria i norsk laks? Sjømatdagene, Hell, 9. jan.
- Langsrud, Solveig (2011). Tiltak for økt kontroll med *Listeria*. Status og videre planer. FHF-samling, Hell, 11.-12. mai.
- Heir, Even (2012). *Listeria* in the salmon processing industry. Presentasjon for den Franske røykeriforening, Paris, 29. mars.

#### 6.4 Mastergradsoppgaver

- Løype, Marie (2013). Bakteriefloora og forekomst av *Listeria monocytogenes* i lakseindustrien: *L. monocytogenes* i multi- og duokultur biofilmer under ulike betingelser.
- Fossmo, Sabine (2013). Effekt av ulike desinfeksjonsstrategier mot *Listeria monocytogenes*. Ås: Universitetet for miljø- og biovitenskap, Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap.
- Simensen, Andreas Lorentzen (2013). *Listeria monocytogenes* - vekst og overlevelse på rustfritt stål under betingelser relevante for matindustriprosesser. Ås: Universitetet for miljø- og biovitenskap, Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap.

#### 6.5 Postere

- Heir, Even; Langsrud, Solveig; Heir, Moen, Birgitte; Møretrø, Trond (2014). *Listeria monocytogenes* biofilm formation and dynamics in multigenera biofilms under relevant conditions for food processing. Biofilms 6; Wien, 11.-13. mai.
- Langsrud, Solveig; Moen, Birgitte; Møretrø, Trond; Heir, Even (2013). Impact of microbiota in fish production facilities on growth and biofilm formation of *Listeria monocytogenes*. IAFP Annual meeting, Charlotte, North Carolina, July 28-31.
- Langsrud, Solveig; Moen, Birgitte; Møretrø, Trond; Heir, Even (2013). Impact of microbiota in fish production facilities on growth and biofilm formation of *Listeria monocytogenes*. ISOPOL Conference. Goa, Sept. 19-22.
- Schirmer, Bjørn Christian; Møretrø, Trond; Langsrud, Solveig; Heir, Even (2012). Rapid all-in-one swabs for detection of *Listeria* in cheese producing and salmon processing environments. Food Micro, Istanbul, Sept. 3-7.

## 6.6 Vitenskapelige artikler (publiserte og under bearbeiding)

- Schirmer, Bjørn Christian; Langsrud, Solveig; Møretrø, Trond; Hagtvedt, Therese; Heir, Even (2012). Performance of two commercial rapid methods for sampling and detection of *Listeria* in small-scale cheese producing and salmon processing environments. *Journal of Microbiological Methods* 2012; Volum 91(2), 295-300.
- Solveig Langsrud; Birgitte Moen; Trond Møretrø; Marie Løype; Even Heir. Microbial dynamics in biofilm of *Listeria* spp. and bacteria surviving sanitation of conveyor belts in salmon processing plants (manuskript).
- Schirmer, Bjørn Christian; Langsrud, Solveig; Møretrø, Trond; Heir, Even. Persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry premises is not correlated with presence of genes associated with disinfectant resistance and biofilm formation. (Foreløpig tittel, under bearbeiding).
- Schirmer, Bjørn Christian; Langsrud, Solveig; Møretrø, Trond; Heir, Even. Critical points of *Listeria* control in the meat and fish processing industry. (Foreløpig tittel, under bearbeiding).
- Heir, Even; Møretrø, Trond; Birgitte Moen; Simensen, Andreas L.; Langsrud, Solveig. Dynamics of *L. monocytogenes* in single-species and multiculture biofilms under food industry relevant conditions. (Foreløpig tittel, under bearbeiding).

## 7 Kvalitetssikring av prosjektgjennomføring og resultater

Prosjektgruppen ved Nofima har bestått av flere forskere og ingeniører (Solveig Langsrud, Bjørn Christian Schirmer, Trond Møretrø, Anette Wold Åsli, Even Heir). Prøvetaking, besøk og gjennomgang av anlegg ble foretatt etter samme mal i de fire anleggene. Ved prøvetaking i anleggene ble det benyttet identiske, egnede metoder for prøvetaking basert på anbefalinger jfr. ISO 18593. Analyser for listeria-påvisning ble utført ved bruk av standardiserte analyser basert på ISO 12290. Påviste listeria-isolater ble verifisert som *L. monocytogenes* eller *L. spp.* ved bruk av tilleggsmetode (PCR-basert; Wesley *et al.*, 2002). Typing av *L. monocytogenes* ble gjennomført ved Nasjonalt folkehelseinstitutt ved bruk av standardisert metodikk som er identisk med typemetode som benyttes på kliniske isolater av *L. monocytogenes*. Resultater fra prøvetakinger er blitt fortløpende samlet, systematisert og kvalitetssikret av prosjektgruppa. Noen resultater har blitt vitenskapelig publisert i journal med referee-ordning. Prosjektgruppen har mål om ytterligere publikasjoner i vitenskapelige tidsskrifter. Dette vil også være et mål på at forskningen er gjennomført basert på vitenskapelige metoder og standarder. Sluttrapporten er faglig kvalitetssikret og korrekturlest av prosjektleder. Prosjektmedarbeider Solveig Langsrud har gjennomgått det faglige innholdet i rapporten. Rapporten er kvalitetssikret i henhold til gjeldende maler av adm. koordinator og endelig godkjent av forskningssjef.



ISBN 978-82-8296-245-2 (trykt)  
ISBN 978-82-8296-246-9 (pdf)  
ISSN 1890-579X