

**KARTLEGGING AV FOREKOMST AV LISTERIA
MONOCYTOGENES I SJØ**

FHF Prosjekt nr: 901492

Av Randi Nordstoga Haldorsen
Global R&D and Technical Department
MOWI ASA
24.05.2019

INNHALD:

1	Samandrag	3
2	Abstrakt (eng)	3
3	Innleiing	3
4	Prosjektorganisering	3
5	Problemstilling og formål	4
6	Prosjektgjennomføring	4
7	Analysemetodar	5
8	Prøvetaking	5
9	Oppnådde resultat, diskusjon og konklusjon	5
10	Hovedfunn	7
11	Leveransar	7

Samandrag:

Målet med dette prosjektet var å kartlegge førekomsten av *Listeria monocytogenes* i sjøanlegg, og finne dei viktigaste smittekjeldene. Deretter var målet å finne ut kor stor betydning forekomst av *Listeria monocytogenes* i sjø har for påvising av denne bakterien på laks i fabrikk på ferdig pakka produkt i kasse (sløyd laks). Alle positive isolat vert genotyåpa på Mowi sitt laboratorium der genotyping skulle gi svar på kor stor relevans *Listeria monocytogenes* funn i sjø har for funn på produkt i fabrikk.

I denne kartlegginga fann vi at 5% av overflateprøver av laks i sjø var positive for *Listeria monocytogenes*.

På dødfisk og død fisk-utstyr i merd fant vi ein høgare forekomst, med 45%. Ein fann også ein del *Listeria monocytogenes* i fôr (15% i silo) og fôringsanlegg (18%).

I prøver tatt frå brønnbåt, var andelen positive prøver 18%. Dette var prøver tatt etter at fisken var komen ombord, altså urein båt. I reine båtar, før inntak av fisk, var forekomsten mykje lågare.

Abstract

The aim for this project was to do a systematic screening of *Listeria monocytogenes* in sea sites to identify possible sources of contamination of salmon. Genotyping was used to be able to evaluate what importance positive detections have for presence at the final product at the packing station.

The results show that 5 % of the surface samples of salmon in sea cages were positive, and dead fish and mort equipment are most likely the most important source for this contamination. Feed can also be a source for contamination but is considered less important because salmon for harvest have is starved for at least 3 days pre-harvest, and the fact that *Listeria monocytogenes* was not detected in the salmon gut.

The screening also shows that well boats and harvest boats that transport fish to the harvest station can play an important role when it comes to contamination of fish to harvest.

Innleiing

Ved slakteria har ein etter kvart fått erfaring for at fisken ofte er positiv for *Listeria monocytogenes* før den kjem til slakteriet.

I Marine Harvest Canada (no Mowi Canada) har ein i fleire år rutinemessig prøvetatt fisk i merd før pumping i slaktebåt, og det viser seg at rundt 25 % av desse prøvene er positive for *Listeria monocytogenes*.

Graden av påvisningar viser seg også å variere gjennom året, der ein har aukande forekomst om hausten.

I Norge er det gjort liknande observasjonar, men prøvetakinga har vore mindre systematisk, slik at ein har ikkje så gode data.

Prosjektorganisering:

Prosjektgruppa har bestått av Mowi personell frå ulike regionar; Torunn Munthe, John Olav Johansen, Erik Dragesund, Odd Medhus, og prosjektleiar Randi Haldorsen.

Referansegruppa har bestått av medlemmer som også har representert andre oppdrettsselskap:

Hanne Tobiassen - Salmar

Odd Medhus – Mowi ASA (tidl Marine Harvest)

Marit Skjærvik - Sinkaberg Hansen AS

Kristian Prytz - FHF

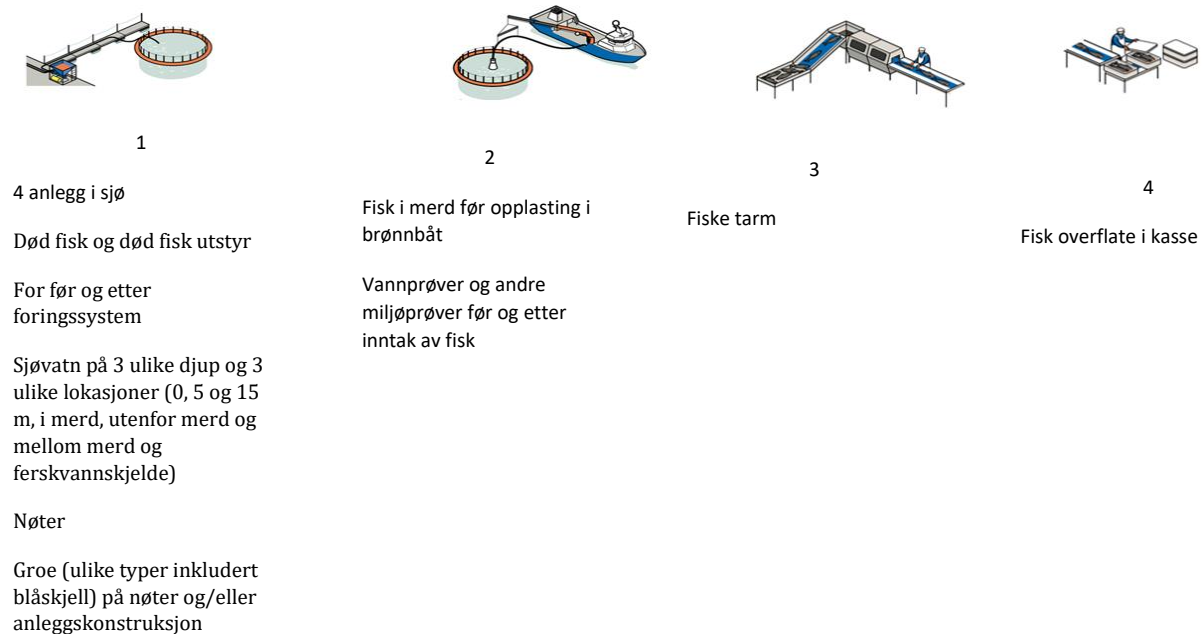
Problemstilling og formål

Kunnskapen ein kan få med denne kartlegginga kan bidra til å setje i gang meir målretta risikoreduserande tiltak, som:

- tiltak i sjø eller ved prosesseringsmottaket for å redusere smittepresset inn i fabrikk
- ekstra spyling av fisk ved slakting av fisk frå "risikoanlegg"
- ekstraordinær vasking av fabrikk under slakting av fisk frå "risikoanlegg" for å hindre etablering av *Listeria monocytogenes* på utstyr i fabrikk
- ekstraordinære tiltak på brønnbåt i form av ekstra kontroller og ekstra vasking.

Prosjektgjennomføring

Ulike prøvetakingspunkt på i alt 4 sjøanlegg vart prøvetatt gjennom eitt år i dette prosjektet, og i tillegg blei det sett på brønnbåtprøver, overflat prøver av fisk i sjø før innlasting i brønnbåt, og overflateprøver av fisk i kasse (ferdig produkt), som illustrert under i figur 1.



Figur nr 1 viser oversikt over dei 4 ulike trinn i produksjonsprosessen som vart prøvetatt:

1. Sjøanlegg
2. Opptak av fisk til brønnbåt
3. På slakteriet- fisketarm

4. Overflate på fisk i kasse

Analysemetoder:

Listeria monocytogenes var det einaste analysen som vart gjort i dette prosjektet.

Analysering av prøvene vart enten gjennomført på internt laboratorium hos Mowi eller på eksternt laboratorium (Eurofins i Moss)

Prøvetaking:

Alle prøvene vart tatt ut aseptisk, med bytting av hanskar mellom kvar prøve med bruk av Sodibox hygieneklut, eller ved oppsamling av materiale i aseptiske posar.

Overflateprøve av heil fisk frå sjøanlegg før slakting: Her vart prøven tatt ut av personell som jobba på anlegget.

Tarm: Prøven vart tatt ut på slakteriet av kvalitetspersonell.

Andre prøver som vart tatt på anlegget ein gong i månaden, vart tatt ut av fiskehelsepersonell eller kvalitetspersonell. Til prøvetaking vart det også her brukt Sodibox hygieneklut, eller ved at materialet vart samla opp i aseptiske posar (fiskefor, groe frå anlegg, blåskjell) for analyse i 25 gram.

Mikrobiologisk analyse av *Listeria monocytogenes* på interne laboratorier: Intern metode for påvisning av *Listeria monocytogenes*: Rapid L' mono, ref ISO metode 11290, som gjev svar i løpet av 48 timar. Første trinnet er eit oppformeringsmedium med 1/2 fraser i 24 +/- 2 timer ved 30 grader. Deretter blir 1 mikroliter av prøven sådd over på agarskål som blir inkubert i 24 +/- 2 timer ved 37 grader før resultatet blir lese av. Interne laboratorier er ikkje akkreditert.

På eksternt laboratorium (Eurofins), vart metoden BAC gene brukt (sjå vedlegg). Alle prøvene som vart tatt ut ein gong i månaden på sjøanlegga vart analysert hos Eurofins.

Resultata i denne rapporten er presentert som gjennomsnitt % positive prøvar på kvart prøvepunkt (frå ulike anlegg, brønnbåtar etc).

Eksempelvis var det tatt prøver frå 15 ulike brønnbåtar/slakdebåtar, og det er gjennomsnitt-resultat frå desse som er presentert i figur 2 og 3.

Oppnådde resultat, diskusjon og konklusjon:

Resultata av denne undersøkinga viser at fisk kan bli smitta med *Listeria monocytogenes* i sjø, og at det tyder på at dødfisk i merd kan bidra til å smitte fisk i merd. I tillegg så viser resultata at brønnbåt kan vera ein viktig berar av *Listeria monocytogenes* smitte på fisken inn til slakteriet. Ein kan ikkje slå fast med sikkerheit kva som er årsak til at forekomsten er såpass høg på dødfisk, men det kan hende at fôrrester kan spela ei rolle her, sidan vi fann at 18% av fôrprøvene frå fôringsanlegget var positive.

Fleire av dei same genotypene av *Listeria monocytogenes* frå fisk i kasse fann vi også på sjøanlegga, men det var færre felles genotyper her enn mellom brønnbåt og fisk i kasse.

Det kan sjå ut som at brønnbåtane kontaminert ved lasting av fisk og at dette bidrar til å auke smittepresset på fisk ved lossing inn til slakteri. 45% av klutprøver/ overflate prøver som vart tatt på dødfisk og dødfisk utstyr var positive. Dette er det prøvetakingspunktet med høgast andel positive prøver. Ein kan nok ikkje konkludere med at dødfisk i seg sjølv er hovedkilda til at vi finn *Listeria monocytogenes* i sjøanlegg basert på desse funna, men det kan så ut som at dødfisk kan representere ein potensielt viktig smittekjeldepå sjøanlegget og kanskje eit viktig «oppformeringsmedium», og ved å sørge for hyppig fjerning av dødfisk kan ein redusere risiko for at ei slik oppformering skjer.

15 til 18 % av fiskefôrprøvene (målt i 25 gram prøve) var positive, avhengig av kor prøvene vart tatt (18% på prøver tatt frå foringsanlegget, mot 15% av prøver tatt frå silo).

Når fisken kjem til kai med brønnbåt viste analysane at 18% av prøvene var positive. Dette er prøver tatt på overflater med klut, eller vassprøver tatt frå ulike brønnar i brønnbåten. Dette betyr at fisken som kjem med brønnbåt har ein auka risiko for å ta med seg *Listeria monocytogenes* smitte inn i slakteriet og kontaminere brønnbåten. God hygienisk design og grundig reingjering av både slakteri og brønnbåtar vil være viktig for å unngå etablering av *Listeria monocytogenes* ('husstammer')

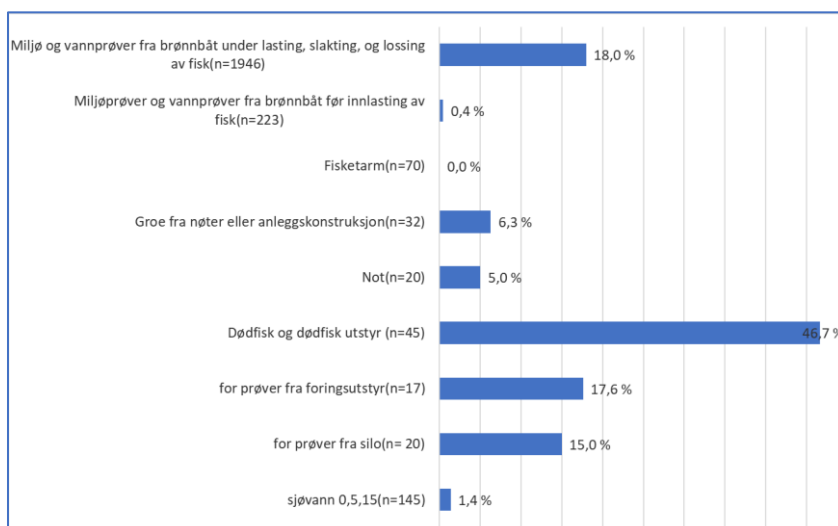
Prøver tatt frå rein brønnbåt (før innlasting av fisk) er låg - heilt nede i 0,4%.

Sjøvatn er ikkje ei viktig smittekjelde for *Listeria monocytogenes* (1,4 %), og det same gjeld for anleggskonstruksjoner, nøter og groe (5-6%).

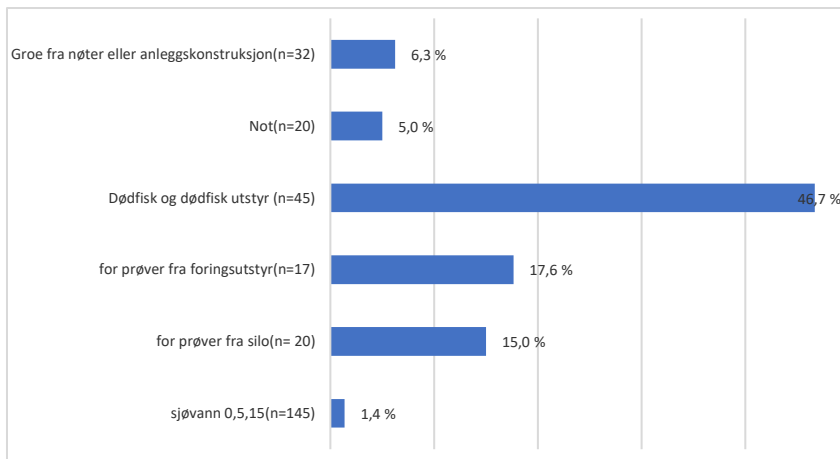
Genotyping viser at stammene som er funne på fisk i sjø, også følger med over i brønnbåten og inn til slakteriet.

Genotyping viser også at andel stammer som følger med inn til slakteriet er større frå brønnbåt enn frå sjøanlegg.

Vi klarte ikkje å finne at forekomst av *Listeria monocytogenes* i sjøvatn er ei viktig smittekjelde.



Figur 2: Viser oversikt over antall prøver og (% positive) kvart prøvepunkt og % av desse som var positive i den aktuelle perioden.



Figur 3: Viser samme oversikt som figur 2, men kun prøver analysert hos Eurofins:

Konklusjon/ risikoreduserande tiltak og forslag til vidare undersøkingar:

Sidan dødfisk og dødfisk-utstyr har såpass høg forekomst (45%), så kan ein tenkje seg at eit risikoreduserande tiltak kan vera å sørge for at slaktermerder er tomme for dødfisk og at dødfisk-utstyr (som håv) ikkje blir brukt i samband med lasting/pumping av fisk inn i brønnbåt/slaktebåt.

Unngå fôring av fisk i nabomerder under innlasting/pumping til slakt, og sjå nærare på kvifor ein finn *Listeria monocytogenes* i fiskefôr, og kor i kjeden dette blir kontaminert.

Sjå nærare på resultatata frå brønnbåt/ slaktebåter, og undersøke vidare kva som er evt årsak til forekomsten av *Listeria monocytogenes* i brønnbåt.

Hovedfunn

- Mindre andel av overflate prøvene på fisk i merd er kontaminert med *Listeria monocytogenes* (5%).
- I denne undersøkinga fann vi høgast forekomst av *Listeria monocytogenes* på dødfisk og dødfisk-utstyr (45%).
- Dei fleste stammene som ein finn på sjøanlegga finn ein også i brønnbåt og på slakteri. Det kan sjå ut som at brønnbåtane kontaminert ved lasting av fisk og at dette bidreg til å auke smittepresset på fisk ved lossing inn til slakteriet.

Leveransar

- Sluttrapport
- Sluttmøte i styringsgruppa i tillegg til interne møter i prosjektgruppa
- Resultatoversikt på prøvetype og *Listeria monocytogenes* resultat
- PowerPoint presentasjon på norsk

Vedlegg:



Innkjøringsrapport
BACgene *Listeria mc*