

## **Mikrobiologi og produksjonshygiene i fiskemelindustrien**

Halvor Nygaard og Jan Vander Roost





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

Nofima har om lag 370 ansatte.

Hovedkontoret er i Tromsø, og forskningsvirksomheten foregår på fem 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 Johnsgate 4  
Postboks 8034  
NO-4068 Stavanger

**Bergen:**

Kjerreidviken 16  
Postboks 1425 Oasen  
NO-5844 Bergen

**Sunnalsøra:**

Sjølsengvegen 22  
NO-6600 Sunndalsøra

**Alta:**

Kunnskapsparken, Markedsgata 3  
NO-9510 Alta

**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 MVA**



Creative commons gjelder når ikke annet er oppgitt

# Rapport

<i>Tittel:</i> <b>Mikrobiologi og produksjonshygiene i fiskemelindustrien</b>	ISBN 978-82-8296-666-5 (pdf) ISSN 1890-579X
<i>Title:</i> Microbiology and production hygiene in the fish meal industry	<i>Rapportnr.:</i> 2/2021
<i>Forfatter(e)/Prosjektleder:</i> Halvor Nygaard og Jan Vander Roost	<i>Tilgjengelighet:</i> <b>Åpen</b>
<i>Avdeling:</i> BioLab	<i>Dato:</i> 16. april 2021
<i>Oppdragsgiver:</i> Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfinansiering (FHF)	<i>Ant. sider og vedlegg:</i> 42
<i>Stikkord:</i> Mikrobiologi, fiskemel, hygiene, dekontaminering, Salmonella	<i>Oppdragsgivers ref.:</i> FHF 901619
<i>Sammendrag/anbefalinger:</i> Rapporten gir en grunnleggende innføring i mikroorganismenes systematiske inndeling, reproduksjon og forhold til miljøfaktorer som temperatur, fuktighet og næringstilgang. De mest aktuelle patogene bakterier som kan forekomme i fiskemel er beskrevet med data om toleranser og krav.  Den naturlige flora av mikroorganismer i fiskeråstoff er varmesensitiv og blir inaktivert i koker. Floraen i fiskemel har en annen sammensetning og stammer fra smittekilder i produksjonslinjen <u>etter</u> koker. Smittekildene er belegg med produktkontakt i maskiner og transportører. Smittemåte og aktuelle forebyggende tiltak er beskrevet.  Rapporten oppsummerer mikrobiologiske krav til fiskemel, herunder regelbundne krav som er basis for godkjenning av ferdigvarepartier, retningslinjer og kundekrav. Rapporten beskriver prøvetaking og analyseprinsipper som benyttes ifm. mikrobiologiske undersøkelser.  Virksomhetenes forskriftsmessige plikter ifm. mikrobiologi og produksikkerhet er oppsummert og det er beskrevet metoder for dekontaminering av varer som ikke kan omsettes pga. hygienesvikt.	<i>Prosjektnr.:</i> 13045
<i>English summary/recommendation:</i> The report provides a basic introduction to microbiology and production hygiene in fish meal factories, with emphasis on contamination routes and preventive measures.  The intrinsic microbial flora of raw fish is heat sensitive and readily inactivated by thermal treatment in the cooker. The flora associated with finished fishmeal is markedly different and originates from contaminated product deposits or surfaces in the process machinery <u>after</u> the cooker.  The report summarizes basic legal requirements related to hygiene and product safety in food and feed processing facilities. The report also describes methods used in microbiological examinations, and microbiological standards and guidelines applicable to fishmeal. Methods for large-scale decontamination of products and process machinery are briefly described.	

## Forord

Prosjektet «Økt verdiskapning og standardisering av hvitfiskmel fremstilt basert på restråstoff ombord i norske fabrikktrålere» er finansiert av Fiskeri- og Havbruksnæringens Forskningsfinansiering (Prosjektnummer FHF: 901619).

Nofima i Bergen har bakgrunn som bransjeinstitutt for fiskemelindustrien i Norge. SSF (Sildolje- og Sildemelindustriens Forskningsinstitutt) har hatt produksjonshygiene og prosessutvikling som sentrale FoU oppgaver helt siden etableringen i 1948. Etter at SSF ble del av Fiskeriforskning i 2002 og Nofima i 2008 har instituttet også samarbeidet med annen fôrindustri og næringsmiddelindustri på de samme feltene.

Rapporten er basert på instituttets erfaring med industrirettet FoU og drift av det mikrobiologiske laboratoriet som betjener fôr- og næringsmiddelindustrien.

I rapporten refereres sentralt kvalitets- og hygieneregelverk som gjelder i Norge. Siden forskrifter, EU-direktiver, o.l. kan oppheves eller endres over tid bør en følge lenkene og sjekke endringsdato.

# Innhold

<b>1</b>	<b>Innledning</b>	<b>1</b>
1.1	Produksjonshygiene	1
1.2	Forutsetninger for hygiene	1
1.3	Strategi for hygienearbeidet	1
<b>2</b>	<b>Grunnleggende mikrobiologi</b>	<b>2</b>
2.1	Mikrobiologi	2
2.1.1	Mikroorganismenes utbredelse	2
2.1.2	Mikroorganismer og sykdom	2
2.2	Hovedgrupper av mikroorganismer	3
2.2.1	Bakterier	3
2.2.2	Gjærsopp	9
2.2.3	Muggsopp	9
2.2.4	Virus	11
2.3	Bakterier av betydning i fiskemelindustrien	12
2.3.1	Salmonella	12
2.3.2	Enterobacteriaceae	15
2.3.3	Clostridium	16
2.3.4	Bacillus	17
2.3.5	Staphylococcus	19
2.3.6	Listeria	20
<b>3</b>	<b>Produksjonshygiene</b>	<b>22</b>
3.1	Risikovurdering og forebyggende tiltak	22
3.1.1	Fiskemelprosessen	22
3.1.2	Smittemekanisme	23
3.1.3	Erfaring fra industrien	24
3.1.4	Temperatur i belegg	25
3.1.5	Fuktighet i belegg	26
3.1.6	Forebyggende tiltak	29
3.2	Mikrobiologiske undersøkelser	32
3.2.1	Prøvetaking	32
3.2.2	Prøvebehandling	33
3.2.3	Analysemetoder	33
3.2.4	Mikrobiologiske krav og retningslinjer	36
3.3	Tiltak ved påvisning av salmonella	38
3.3.1	Forskriftskrav	38
3.3.2	Tiltak etter påvisning	39
3.3.3	Behandling av kontaminert fiskemel	39
<b>4</b>	<b>Regelverk</b>	<b>42</b>

# **1 Innledning**

## **1.1 Produksjonshygiene**

Med produksjonshygiene i en fiskemelfabrikk menes de tiltak som gjennomføres for å unngå at mikroorganismer overføres fra råstoff eller gjennom prosess til ferdigvarer.

## **1.2 Forutsetninger for hygiene**

Forutsetningen for å gjennomføre god produksjonshygiene er inngående kjennskap til mikroorganismenes egenskaper, deres levesett og krav til bestemte vekstbetingelser; særlig næringstilgang, temperatur og fuktighet.

## **1.3 Strategi for hygienearbeidet**

Hygienearbeidets grunnleggende strategi må være å hindre at uønskede mikroorganismer blir tilført produksjonsmiljøet og at deres vekst- og livsbetingelser gjøres vanskeligst mulig.

## 2 Grunnleggende mikrobiologi

### 2.1 Mikrobiologi

Mikrobiologi er læren om mikroorganismer.

Mikroorganismer eller «mikrober» er organismer som er så små at de ikke kan sees med det blotte øye. Mikroorganismer inkluderer encellede organismer som bakterier og protozoer (encellede dyr), noen soppgrupper (gjær og mugg) og en rekke algearter. Virus regnes også som mikroorganismer selv om de ikke alltid blir sett på som levende organismer i faglig litteratur.

Mikroorganismer av særlig betydning i fiskemelindustrien er bakterier, sopp og virus. Disse gruppene er nærmere omtalt senere.

#### 2.1.1 Mikroorganismenes utbredelse

Mikroorganismer finnes overalt i naturen; i luft, jord, ferskvann, havvann og ørkener. Selv i ekstreme miljøer, som varme kilder med temperatur over 100 °C, eksisterer en spesialisert flora.

De fleste mikroorganismer er helt harmløse og gjør en viktig jobb som nedbrytere av dødt organisk materiale. Dette kan frigjøre næringsstoffer som tillater vekst av andre organismer. Mikroorganismer kan også føre til uønsket nedbrytning, f.eks. forråtnelse av trevirke eller bederving av matvarer.

Også mennesker og dyr har egne bestander av mikroorganismer som stort sett lever i harmoni med verten. Som eksempel kan nevnes menneskets normalflora på hud og i tarm. Hudfloraen består av et fåtall bakterietyper som tåler tørking. Øvre del av tarmkanalen, som er påvirket av magesyre, domineres av syretolerante bakterier. Lenger nede i tarmen er det andre bakterietyper som gjør seg gjeldende, bl.a. anaerobe bakterier, dvs. bakterier som kan leve uten oksygen. Rundt regnet en tredel av avføringen er ren bakteriemasse.

#### 2.1.2 Mikroorganismer og sykdom

Enkelte mikroorganismer er til skade når de trenger inn i kroppen vår og formerer seg der. En slik tilstand kalles infeksjon og skadevirkningene viser seg som sykdom. Mikroorganismer som normalt fremkaller sykdom kalles for patogener. Noen kan bare gi sykdom hos bestemte verter, mens andre har et bredere vertsregister. Sykdommer som normalt forekommer hos dyr, men kan overføres til mennesker, kalles for zoonoser.

De steder hvor smittsomme mikroorganismer befinner seg, og hvorfra de kan overføres til en vert kalles et reservoar. Eksempler på reservoarer er jord, vann, syke dyr og avføring. Mikroorganismer kan overføres fra reservoar til vert på ulike måter.

Luftbåren smitte: Innånding eller kontakt med smittebærende støv eller små dråper (aerosoler) som bl.a. kan dannes når noen nyser. Eksempler er forkjølelse og influensa.

Matbåren smitte: Inntak av kontaminert mat, fôr eller vann. Eksempler er salmonellose (mat, fôr, vann) og kolera (vann).

Dyresmitte: Overføring via levende vesener. Eksempler er malaria som overføres med mygg og byllepest med lopper. Dyr kan overføre smitte uten selv å være syke.

Kontaktsmitte: Direkte kontakt med et sykt individ, eller indirekte kontakt hvor smitte overføres via gjenstander som dørhåndtak eller redskaper. Eksempler på direkte kontaktsmitte er veneriske sykdommer som syfilis og gonoré, hvor de ansvarlige bakterier har dårlig overlevelsessevne i det fri.

## **2.2 Hovedgrupper av mikroorganismer**

### **2.2.1 Bakterier**

Bakterier er små og enkle organismer, oftest med form som staver eller kuler (kokker). De fleste har en diameter på knapt 1  $\mu\text{m}$  (1 mikrometer = 1/1000 mm). Noen er ubevegelige, mens andre kan svømme omkring ved hjelp av roterende svingtråder (flageller). Noen grupper kan produsere sporer som er svært motstandsdyktige mot varme og annen ytre påvirkning.

Det finnes et stort antall forskjellige bakterier som har ulike egenskaper. Noen tåler høy temperatur, noen kan klare seg helt uten oksygen, osv. Det finnes nesten ikke et sted på jordkloden som ikke er kolonisert med bakterier som er tilpasset de rådende forhold.

#### **2.2.1.1 Systematikk**

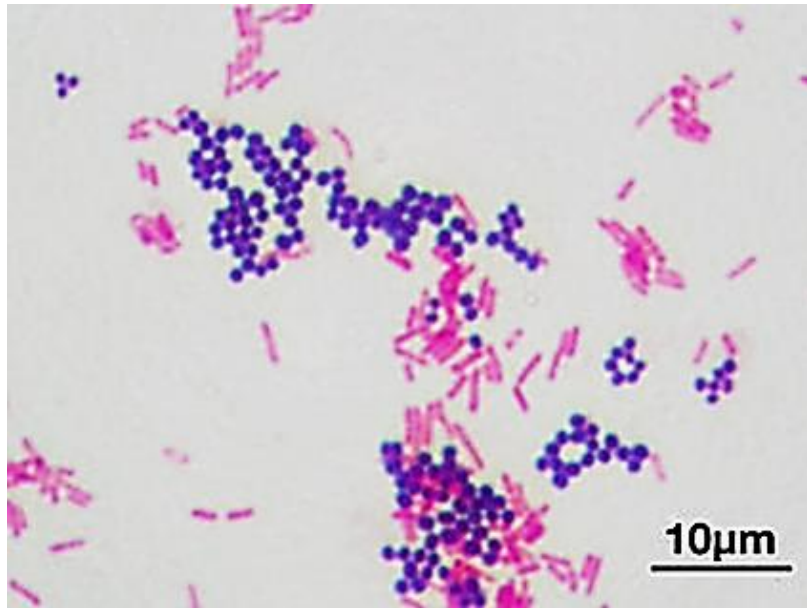
Biologisk systematikk er læren om hvordan levende organismer ordnes i grupper og settes i system. Det var svensken Carl von Linné som på 1700-tallet laget et system der arter med like egenskaper ble samlet i slekter, slekter i familier, familier i ordener, osv. Dette systemet brukes for bakterier så vel som for dyr og planter. Systemet hjelper oss å holde orden og oversikt på det store artsmangfoldet.

Alle arter gis to navn der det første identifiserer slekten. (Arten *Salmonella enterica* tilhører slekten Salmonella som igjen tilhører familie Enterobacteriaceae).

I litteraturen er det beskrevet rundt 10.000 bakteriearter med navn, men det virkelige mangfoldet av arter er mye høyere.

Bakterier ble i starten gruppert kun etter utseende, senere også etter andre egenskaper. I moderne systematikk brukes genetisk slektskap, bestemt ved analyse og sammenligning av arvemateriale, som viktigste kriterium. Det er likevel de klassiske metodene som brukes i laboratoriene for grovinnledning og identifikasjon av ukjente bakterier.





Figur 1 Gram-farget mikroskop-preparat. Gram-positive kokker (*S. aureus*) er blå og Gram-negative staver (*E. coli*) er røde. Kilde: Wikipedia.

Gram-farging ble utviklet av dansken Hans Christian Gram på 1800 tallet. Testen skiller bakteriearter i to store grupper etter type av cellevegg, Gram-positive bakterier har en tykk cellevegg mens Gram-negative bakterier har en tynn to-lags vegg (Figur 1).

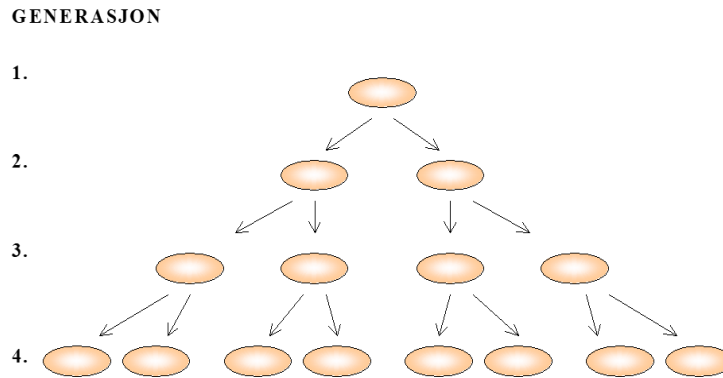
Andre enkle tester for identifikasjon av bakterier er celleform og bevegelse, som kan bestemmes ved mikroskopi (Figur 2).



Figur 2 Vanligste celleformer hos bakterier, fra venstre; staver, kokker (kuler) og spiriller.

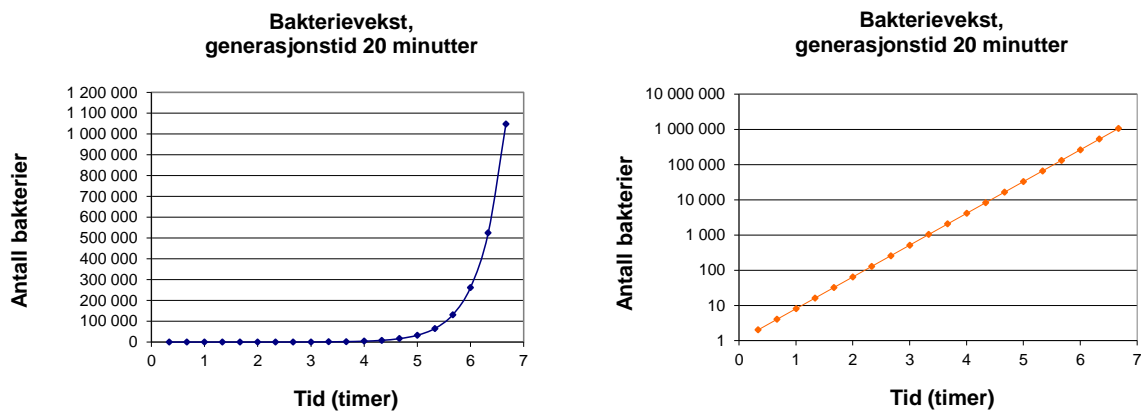
### 2.2.1.2 Vekst/Krav til vekstvilkår

Bakterier formerer seg ved to-deling (Figur 3). Bakteriecellene vokser til dobbel lengde, før de deler seg på midten til to identiske datterceller. Hver av disse deler seg igjen i to slik at hver ny generasjon gir en fordobling av antallet. I løpet av 20 generasjoner gir derfor en enkelt bakterie opphav til over en million identiske bakterier. Med en typisk generasjonstid på 20 minutter, tar dette kun 6-7 timer.



Figur 3 Celledeling hos bakterier gir en fordobling av antallet for hver ny generasjon.

Når et slikt vekstforløp fremstilles grafisk fremkommer en kurve som stiger stadig brattere (Figur 4). Dette kalles eksponentiell vekst. Dersom samme vekstforløp fremstilles mot en logaritmisk Y-akse (dvs. 10 ganger økning for hver delstrek) får vi en helt rett linje. Dette er en nyttig måte å illustrere bakterievekst på, fordi kurven kan brukes til å forutsi hvor mange bakterier en vil ha til enhver tid, når utgangsnivå og generasjonstid er kjent.



Figur 4 Vekstforløp for en bakterie som formerer seg med generasjonstid 20 minutter. Venstre: Linjær Y-akse. Høyre: Logaritmisk Y-akse.

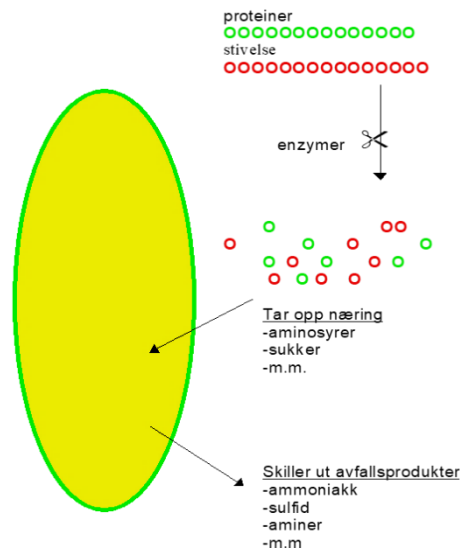
En slik vekst kan selvsagt ikke fortsette i det uendelige. Teoretisk vil en bakterie som vokser med generasjonstid 20 minutter utvikle samme vekt som hele jordkloden i løpet av knapt 2 døgn. I praksis opphører veksten når bakterietettheten når ca. 1000 millioner ( $10^9$ ) pr gram. Allerede før dette nivået nåes, ved ca. 10 millioner ( $10^7$ ) bakterier pr. gram, vil oppsamlede avfallsprodukter fra bakteriene føre til redusert vekst. På dette stadiet vil en også kunne registrere dårlig lukt og andre tegn på bederving.

For at bakterier skal kunne vokse må forholdene ligge til rette. Mange faktorer kan påvirke vekst, men de viktigste er tilgang på næring, passende temperatur og nok fuktighet.

Ulike bakterietyper stiller ulike krav til vekstbetingelser. Forhold som er gunstige for en type, kan være ugunstige eller til og med drepende for andre. I praksis vil forholdene som råder på et sted bestemme hvilke bakterier som kan etablere seg.

## Næring

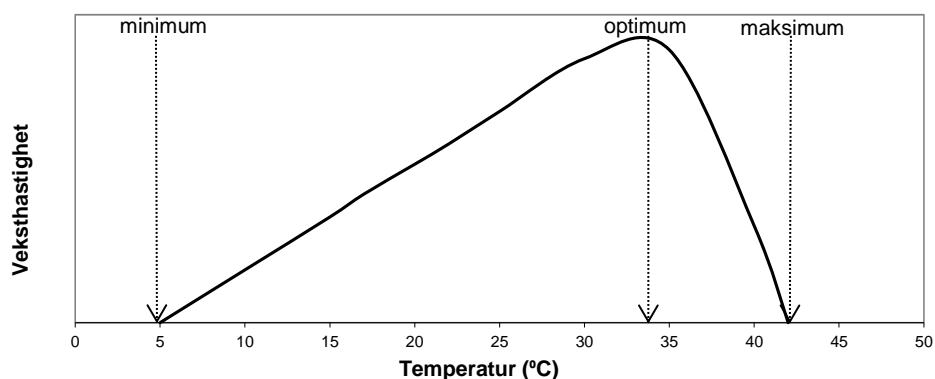
Bakterier tar opp næring og utskiller avfallsstoffer gjennom celleveggen (Figur 5). Store molekyler som protein, fett og stivelse må spaltes opp i mindre deler utenfor cellen før de kan tas inn. Bakterier kan selv produsere enzymer som sørger for denne spaltingen. Fisk, fiskemel og alle mellomprodukter i fiskemelprosessen har et næringsinnhold som ikke bare er gunstig for dyr, men også for bakterier. I praksis vil det være nesten umulig å hindre næringstilgang for bakterier i selve produksjonslinjen.



Figur 5 Næringsopptak hos bakterier.

## Temperatur

Alle bakterier har sine egne bestemte minimums-, optimums- og maksimumstemperaturer for vekst. Som eksempel kan nevnes at bakterier fra det marine miljø er tilpasset forholdene i havet og har yttergrenser for vekst fra ca.  $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$  (minimum) til ca.  $+25\text{ }^{\circ}\text{C}$  (maksimum) mens optimumstemperatur hvor veksten er raskest ligger noen få grader under maksimumstemperatur. Bakterier som har sitt naturlige tilholdssted i tarmen hos mennesker og andre varmblodige dyr kan vokse fra ca.  $+5$  til ca.  $+45\text{ }^{\circ}\text{C}$  med optimum ved ca.  $+37\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Figur 6).

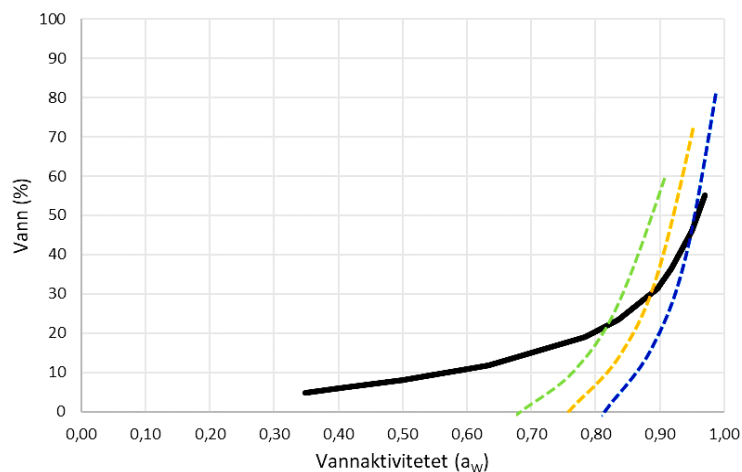


Figur 6 Temperaturenens betydning for veksthastighet for en typisk tarmbakterie.

Når temperaturen er lavere enn en bakteries minimumstemperatur for vekst vil veksten stoppe opp. Bakterien forblir imidlertid levende og kan gjenoppta vekst når temperaturen heves til et akseptabelt nivå. Dersom maksimumstemperatur overskrides vil bakteriene dø. Drepehastighet øker med økende temperatur.

## Fuktighet

De fleste bakterier krever høy fuktighet for å vokse. Vannaktivitet ( $a_w$ ) er et mål for hvor mye vann i en prøve som er fritt og tilgjengelig for bakteriene. Selv om et stoff virker fuktig kan det hende at lite vann er tilgjengelig fordi det er kjemisk bundet. Dersom tilstrekkelige mengder av f.eks. sukker eller salt tilsettes i en fuktig matvare bindes så mye vann at mikroorganismene ikke kan vokse. Salting og sukring er derfor effektive konserveringsmetoder på samme måte som tørking. De fleste bakterier krever  $a_w$  større enn 0,90 for å vokse. Det kan nevnes at  $a_w$  0,90 oppnås med 16 % salt (NaCl) eller med 58 % sukker. Det finnes imidlertid bakterier tilpasset ekstreme miljøer som kan klare seg med  $a_w$  helt ned mot 0,75, men disse er ikke av betydning i fôr- eller næringsmiddelindustrien.



Figur 7 Sammenheng mellom vannaktivitet ( $a_w$ ) og vannprosent i et typisk fiskemel (svart linje). De fargede linjene indikerer veksthastighet som funksjon av  $a_w$  for bakterier (blå), gjær (gul) og mugg (grønn).

Måling av  $a_w$  kan være både vanskelig og tidkrevende. Det er derfor nyttig å kjenne sammenhengen mellom vannaktivitet og vannprosent i mellomprodukter og ferdigvarer. Måling for vannprosent kan da brukes senere for å anslå  $a_w$  (Figur 7).

### 2.2.1.3 Overlevelsesmåter

I enkelte situasjoner er bakterier forhindret fra vekst, men kan likevel overleve lenge og gjenoppta vekst når forholdene bedres. Noen eksempler er gitt nedenfor:

I tørre produkter er bakteriene inntørket og kan derfor ikke ta til seg næring eller ha annen aktivitet. I denne tilstand kan de holde seg i live i flere år.

Ved mangel på næring kan bakterier gå inn i en dvaletilstand hvor de overlever i måneder eller år ved å bruke minst mulig energi og samtidig tære på de deler av seg selv som ikke er helt livsnødvendige.

I frossen tilstand kan bakterier holde seg i live svært lenge. Frysing er faktisk en av de beste metodene for langtidsoppbevaring av bakteriekulturer. Selve nedfrysingen kan imidlertid skade eller drepe noen fordi det dannes mikroskopiske iskrystaller som punkterer cellene.

Noen bakterier kan danne sporer (Figur 14 og Figur 15) som kan overleve svært lenge uten tilgang på næring. Det er rapportert om sporer som er vekket til live etter dvale i flere tusen år. Som tidligere

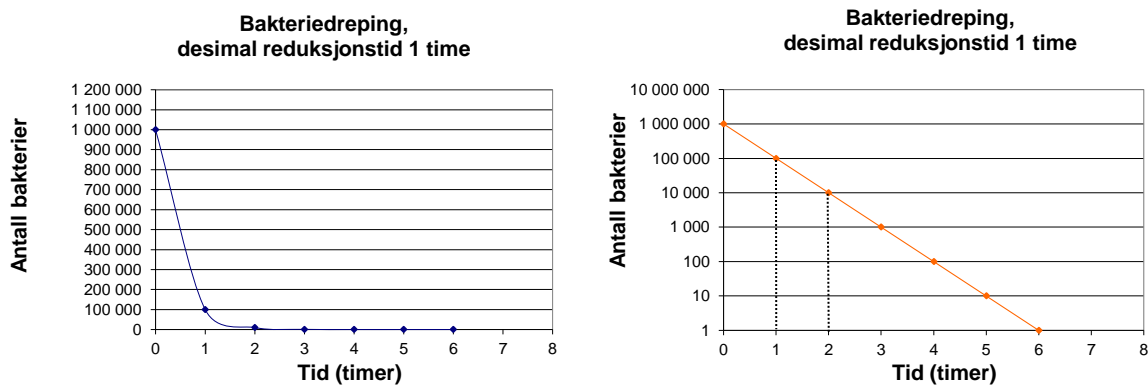
nevnt er bakteriesporer også svært resistente mot en rekke andre ytre påvirkninger som dreper vanlige bakterieceller.

Biofilm er samfunn av bakterier som er festet til overflater og til hverandre. Bakteriene kapsles inn i en egenprodusert slimaktig masse hvor de er beskyttet mot f.eks. mekanisk stress, antibiotika, desinfeksjonsmidler eller kroppens immunsystem.

#### 2.2.1.4 Dreping

Bakterier drepes når de blir utsatt for tilstrekkelig dose av varme, visse kjemikalier, UV-lys, radioaktiv stråling, e.l. Som rimelig kan være øker drepehastigheten når dosen økes. I praksis er det oftest slik at en dose som dreper 90 % av de tilstedeværende i løpet av en bestemt tid, også vil drepe 90 % av de gjenlevende i løpet av akkurat like lang tid. Denne tiden kalles desimal reduksjonstid.

Dersom eksempelvis 90 % av en bakteriepopulasjon drepes i løpet av 1 time ved 60 °C, sier vi at den desimale reduksjonstiden ved 60 °C er 1 time. ( $D_{60\text{ °C}} = 1$  time). Når et slikt drepeforløp fremstilles grafisk, får vi en utflatende kurve (Figur 8). Hvis samme drepeforløp fremstilles mot logaritmisk Y-akse (dvs. 10 ganger økning for hver delstrek), får vi en helt rett linje. Dette er en nyttig måte å illustrere dreping på, fordi kurven kan brukes til å forutsi hvor mange gjenlevende bakterier en vil ha til enhver tid når utgangsnivå og desimal reduksjonstid er kjent.



Figur 8 Eksempel på drepekurve for bakterie. I løpet av 1 time skjer en 90 % reduksjon (fra 1.000.000 ( $10^6$ ) til 100.000 ( $10^5$ )). Neste time skjer en ny 90 % reduksjon (fra 100.000 ( $10^5$ ) til 10.000 ( $10^4$ )). Venstre: Linjær Y-akse. Høyre: Logaritmisk Y-akse.

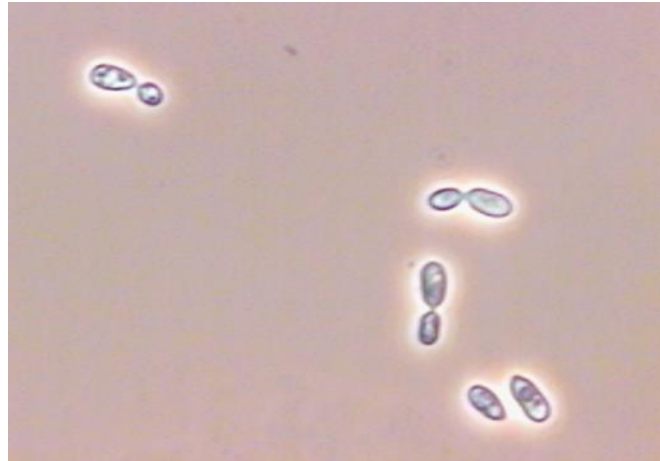
Dersom en bestemmer desimal reduksjonstid ved flere temperaturer vil en som regel se at en temperaturøkning på ca 5 °C gir 10 ganger økt drepehastighet. Man sier da at Z-verdi er 5 °C. Det er viktig å være klar over denne sammenhengen, fordi den kan brukes til å anslå nødvendig behandlingstid ved enhver temperatur dersom Z-verdi og desimal reduksjonstid ved en temperatur er kjent. (Dette er vist i avsnittet om termisk dreping av Salmonella).

Det er viktig å huske på at dersom bakterienivået inn i en dekontamineringsprosess er høyt, kan det kreves flere 90 % reduksjoner for å oppnå ønsket reduksjon. (90 % reduksjon kalles en log-reduksjon). For sterilisering kreves oftest ni log reduksjoner (99,9999999 %) av de mest varmeresistente sporene. Ved fiskemelproduksjon har råstoff, mellomprodukter og sluttprodukter normalt et lavt innhold av skadelige mikroorganismer og en anser at tre til fem log reduksjoner vil gi tilstrekkelig trygghet.

### 2.2.2 Gjærsopp

Gjær er encellede mikroorganismer som tilhører soppriket. Gjær danner ovale celler som er større enn bakterier, med en diameter på 3-4  $\mu\text{m}$  (Figur 9). Gjær har tradisjonelt blitt utnyttet til baking og brygging. De brukes også industrielt til produksjon av bl.a. bioetanol.

Gjær forekommer naturlig på sukkerrikt materiale som overflaten på frukt og bær. Noen få arter har naturlig tilhold i jord eller tarm og noen kan være patogene.



Figur 9 Typiske gjærceller i ferd med knopp-skyting. Lysmikroskopi. Forstørrelse ca  $\times 1.000$ . Foto: H. Nygaard.

#### 2.2.2.1 Vekst/Krav til vekstvilkår

Gjær formerer seg ved asymmetrisk celledeling, dvs at de ikke deler seg på midten som bakterier, men ved knopp-skyting (Figur 9).

Gjær trives i sure omgivelser (lav pH) og foretrekker enkle karbohydrater (sukker) som næringskilde. De kan vokse både med og uten oksygen. Temperaturkrav er omtrent som for bakterier, mens de kan klare seg med noe lavere vannaktivitet enn bakterier flest.

#### 2.2.2.2 Dreping

Gjær har omtrent samme varmeresistens som bakterier. Det er vanlig å anta at de fleste gjær drepes på mindre enn 10 minutter ved 60 °C fuktig varme.

### 2.2.3 Muggsopp

Mugg er flercellede mikroorganismer som tilhører soppriket (Figur 10). Mugg har en viktig funksjon i naturen som nedbrytere av dødt organisk materiale. De har også stor industriell betydning og brukes bl.a. til produksjon av antibiotika som penicillin.



Figur 10 Hyfer fra en typisk muggsopp. I øvre ende av hyfen er en samling av sporer. Lysmikroskopi. Forstørrelse ca x1.000. Foto: H.Nygaard.

Mange muggsopp kan bryte ned kompliserte organiske forbindelser, f.eks. cellulose eller stivelse, til enklere stoffer som de utnytter. Råtesopp som angriper cellulose i fuktig trevirke kan gjøre stor skade på bygninger. Muggsopp kan også angripe mat- og fôrvarer. De gjør seg normalt bare gjeldende når konkurrerende bakterievekst er hemmet av f.eks. lav fuktighet eller surt miljø (pH under 5). Mugg på brød, ost, frukt og syltetøy er velkjente eksempler på dette.

Muggvekst kan av og til observeres på fiskemel som er lagret fuktig eller som er fylt på sekk uten tilstrekkelig kjøling slik at det oppstår kondens. Mugg kan ikke vokse i tørt fiskemel.

Noen mugg-arter kan gi infeksjonssykdommer hos planter, dyr og mennesker. Eksempler er fotsopp og ulike lungeinfeksjoner. Innånding av sopp sporer kan fremkalle allergiske reaksjoner på tilsvarende måte som pollen fra visse planter.

Når muggsopp vokser i en vare kan de danne giftstoffer som kalles mugg-gifter eller mykotoksiner. Kjente mugg-gifter er aflatoksin, ochratoksin og patulin som produseres av såkalte lagringsopp (*Aspergillus*, *Penicillium*). Andre kjente mykotoksiner er trichothecener og zearalenon som dannes av felt- eller åkersopp (*Fusarium*) på korn som utsettes for mye nedbør i blomstringsperioden.

Mykotoksiner er tildels svært giftige og kan skade nyrer, lever og nervesystem. Noen regnes som kreftfremkallende. Mykotoksiner er relativt resistente overfor varme og kjemisk behandling. Slike behandlinger kan drepe selve muggsoppen uten å fjerne toksiner som allerede er produsert.

### 2.2.3.1 Vekst/Krav til vekstbetingelser

Muggsopp består av forgrenete tråder som kalles hyfer (Figur 10). Vekst skjer ved forlengelse av hyfespisser og dannelse av sidegrener. Hyfene kan danne tette nettverk som er godt synlig for det blotte øye. Muggsopp danner også sporer som har viktig funksjon i forbindelse med spredning. Slike sporer finnes overalt i luften omkring oss, men konsentrasjonen vil være størst nær områder med muggvekst. Sporene gir muggsoppene deres karakteristiske farger, oftest blå-grønn, brun eller sort.

Det finnes flere tusen forskjellige muggarter med stor variasjon i levesett og krav til vekstbetingelser. Felles for de fleste mugg er at de er aerobe, dvs trenger oksygen, og vokser derfor helst på overflater. De trives under litt sure forhold og klarer seg med lavere fuktighet enn bakterier og gjærsopp.

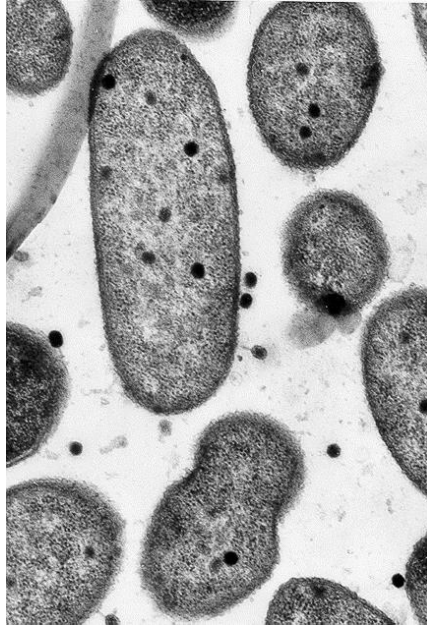


### 2.2.3.2 Dreping

Sporer av muggsopp tåler mindre enn bakteriesporer, de drepes vanligvis svært raskt ved 70 °C.

### 2.2.4 Virus

Virus kjennetegnes ved at de er svært små og mangler selvstendige livsfunksjoner som formering og næringsopptak (Figur 11). Virus kan infisere alle livsformer, som dyr, planter og bakterier. Virus finnes i alle økosystemer på jorden og regnes som de mest tallrike blant mikroorganismer. Det er delte meninger om virus i det hele tatt kan kalles en levende organismer.



Figur 11 Snitt gjennom bakterieceller (*E. coli*) viser angripende virus (T4 bakteriofag) som små svarte partikler. Elektronmikroskopi, Forstørrelse x 50.000. Foto: H.Nygaard.

Noen virus gir lette plager som influensa og forkjølelsessår, mens andre kan gi alvorlige sykdommer som polio, rabies og AIDS. Mange av de vanligste sykdommene på oppdrettsfisk skyldes virus, f.eks. Infeksiøs Pankreas Nekrose (IPN), Pancreas Disease (PD) og Infeksiøs Lakseanemi (ILA).

#### 2.2.4.1 Vekst

Virus kan kun formere seg inne i levende celler hos en vertsorganisme. Virus er vertsspesifikke, dvs. at et bestemt virus bare kan angripe en eller noen få bestemte verter. En infisert vertscelle tvinges til å produsere tusenvis av identiske viruskopier. Virusangrep fører til at vertscellen skades eller dør.

#### 2.2.4.2 Dreping

Data i litteraturen viser at fiskepatogene virus er relativt varmfølsomme. De vil ikke kunne overleve fiskemelprosessen. De kan heller ikke formere seg i fiskerester eller annet dødt organisk materiale som finnes i produksjonsutstyr, fordi de er helt avhengige av levende vertsceller. En regner derfor med at fiskepatogene virus ikke kan overføres til oppdrettsfisk via fiskemel/fiskefôr.



## 2.3 Bakterier av betydning i fiskemelindustrien

### 2.3.1 Salmonella

Salmonella er en slekt av Gram-negative, stavformede bakterier (Figur 12). De fleste er bevegelige. Salmonella har tarm hos varmblodige dyr som naturlig tilholdssted, men de spres lett med avføring og kan derfor finnes i jord, vann, plantemateriale, mm. Salmonella kan etablere seg permanent i produksjonsmiljøer hvis forholdene ligger til rette.



Figur 12 Salmonella. Lysmikroskopi. Forstørrelse ca. x1.000. Kilde: Wikipedia.

#### 2.3.1.1 Systematikk

Bakterieslekten Salmonella tilhører familien Enterobacteriaceae. Salmonella deles inn i to arter og videre i mer enn 2500 serotyper. Serotypene ble tidligere betraktet som egne arter med navn som beskriver funnsted (f.eks. *S. havana*, *S. oslo*) eller egenskaper (f.eks. *S. typhimurium* der typhi = tyfus og murium = mus).

#### 2.3.1.2 Sykdom

Salmonella kan overføres fra smittekilde til menneske på mange forskjellige måter. Siden minste infektive dose normalt er høy (ca 100.000 bakterier) og smittevei er kun oral (gjennom munn), kreves som regel et innskutt oppformeringsledd mellom smittekilde og vert før sykdom utløses. Det vil si at bakterien må oppformeres i mat eller fôr slik at et måltid inneholder minst 100.000 bakterier.

De aller fleste serotyper gir lokal tarminfeksjon kalt salmonellose. Mest fremtredende symptomer er diaré, magesmerter, feber og nedsatt allmenntilstand. Inkubasjonstid (tid fra smitte til sykdomsutbrudd) er normalt 1-3 døgn og varigheten er 2-7 døgn. Sykdommen er selvbegrensende og krever normalt ikke sykehusinnleggelse. Utsatte grupper (eldre og personer med nedsatt immunforsvar) kan oppleve et alvorligere sykdomsforløp. Etter at symptomene har gitt seg kan en person fortsatt være smittebærende i lang tid. Noen få serotyper (*S. typhi* og *S. paratyphi*) kan gi et alvorligere sykdomsforløp med dødelighet opptil 10 %. Disse serotypene forekommer imidlertid svært sjelden.

Noen serotyper er vertsspesifikke, dvs. at de kun gir sykdom hos bestemte dyrearter, dette gjelder bl.a. *S. typhi*, *S. paratyphi* A og *S. sendai* hos menneske, *S. gallinarum* og *S. pullorum* hos fjørfe og *S. abortusovis* hos sau. De vertsspesifikke typene gir normalt mest alvorlig sykdom.

Noen serotyper har preferanse for spesielle verter, men kan også gi sykdom hos andre, f.eks. *S. enteritidis* som er tilpasset fjørfe, men som de senere år har blitt en av de vanligst forekommende også hos mennesker.

De aller fleste serotyper har ingen vertspreferanse og kan isoleres fra mange ulike dyr. Det er disse som gir de vanlige salmonelloser og som tidvis kan forekomme i fôrvarer.

### **2.3.1.3 Vekst/Krav til vekstbetingelser**

Salmonella vokser med en generasjonstid ned mot 20 minutter under optimale forhold.

#### **Næring**

Salmonella kan utnytte en rekke organiske forbindelser som næring. De regnes som lite kravstore og kan finne vekstgrunnlag nesten hvor som helst i produksjonsanlegg for fôrvarer og næringsmidler.

#### **Temperatur**

De fleste typer kan formere seg ved temperaturer mellom 5 og 48 °C. Veksten er best ved ca 37 °C, men de vokser godt også ved vanlig romtemperatur.

#### **Fuktighet**

Salmonella kan vokse ved  $a_w$  over 0,93.

#### **pH**

Salmonella kan formere seg ved pH mellom 4,5 og 9,0. Veksten er best ved pH 7,5. Det må understrekes at i en fiskeensilasje med pH 4,5 og nærvær av maursyre, vil selve maursyren ha en betydelig hemmende effekt i tillegg til den rene pH effekten. Salmonella drepes derfor momentant i maursyreensilasje.

### **2.3.1.4 Overlevelsesmåter**

Salmonella har sitt naturlige tilholdssted i tarmen hos varmblodige dyr, men kan også overleve og formere seg utenfor dette miljøet.

Det er kjent at Salmonella kan etablere seg i produksjonsmiljø for næringsmidler eller fôrvarer hvor de kan holde stand i årevis. De kalles da gjerne for «husstammer».

Salmonella kan overleve mange uker i vann. Overlevelsesevnen er størst ved lav temperatur og lav saltholdighet. Faktorer som lys og beiting bidrar også til reduksjon.

Salmonella kan overleve måneder eller år i tørre produkter. Overlevelsesevnen er størst ved lav  $a_w$  og lav temperatur. Nofima (SSF) har gjennomført lagringsforsøk med naturlig Salmonellakontaminert fiskemel som viser at kontamineringsnivået er stabilt i måneder. Overlevelsesevnen synes mindre ved lagring i små enheter, noe som kan skyldes økt oksydasjon (skadelig påvirkning av luftens oksygen).

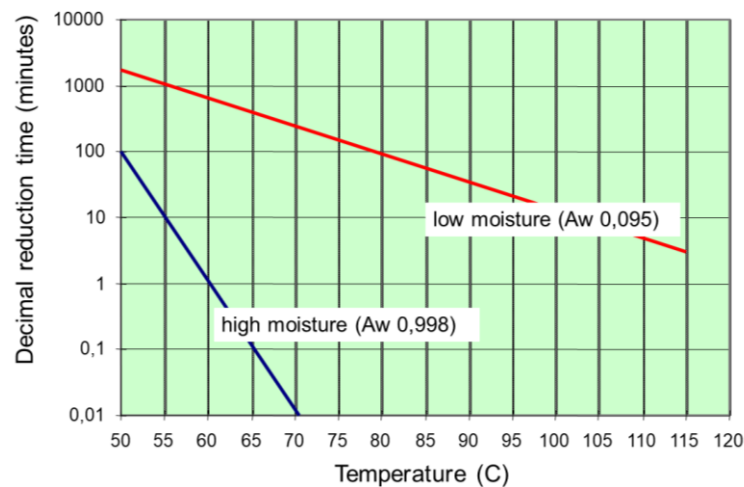
### **2.3.1.5 Termisk dreping**

Nofima (SSF) har i laboratorieforsøk undersøkt varmeresistens for 14 Salmonella-stammer. Fem av stammene var *S. senftenberg* isolert fra Nord-Europeisk fiskemel. Disse var mest varmeresistente. De tre stammene (*S. cerro*, *S. havana* og *S. anatum*) som var isolert fra Syd-Amerikansk fiskemel var minst resistente.

Den mest resistente stammen ble nærmere undersøkt ved flere temperaturer og  $a_w$ -nivåer. Noen av resultatene er oppsummert i Figur 13 hvor de rette linjene viser desimale reduksjonstider ved ulike temperaturer for høyeste og laveste  $a_w$ -nivå. Kurvene kan brukes til å anslå temperatur/tid som må til for å drepe Salmonella i fiskemelprosessen.

Eksempel: I fuktig masse (blå) ved 65 °C, drepes 90 % av Salmonella-bakteriene i løpet av 0,1 minutt (6 sekunder). Ved samme temperatur og lav fuktighet (rød) oppnås tilsvarende drepeeffekt i løpet av 300 minutter (5 timer). Dette viser betydningen av fuktighetsnivå ved termisk dreping av bakterier.

Overført til en praktisk situasjon betyr dette f.eks. at høy mel-temperatur i tørkeprosessens slutfase har liten drepeeffekt.



Figur 13 Termisk dreping av Salmonella senftenberg ved vannaktivitet ( $a_w$ ) 0,998 og 0,095.

Ved vurdering av temperatur/tid må det tas utgangspunkt i at alle Salmonella-bakterier skal drepes. I praksis kan det være nødvendig å bruke en dose som gir f.eks. 5 påfølgende 90 % reduksjoner for å sikre dette (5 Log reduksjon).

Kurven for termisk dreping av Salmonella ved høyeste fuktighet viser at en temperaturøkning på 5 °C gir 10 ganger økning i drepehastigheten (Z-verdi = 5 °C). Ved laveste fuktighet er Z-verdi ca 25 °C.

### 2.3.1.6 Kjemisk dreping

Salmonella og andre mikroorganismer kan også drepes med kjemiske midler. For et gitt middel er effekten konsentrasjonsavhengig og drepingen følger et lignende forløp som ved varme (Figur 8). Ved laboratorietesting av desinfeksjonsmidler kreves ofte at anbefalt dose og virketid skal gi minimum 99,999 % drepeeffekt. Dette tilsvarer 5 ganger 90 % dreping eller 5 Log reduksjoner.

Kjemiske midler kan også brukes til dreping av bakterier i kontaminerte produkter. Det finnes midler på markedet som er beregnet for dreping av bl.a. Salmonella. De fleste har organiske syrer som viktigste virkestoff (maursyre, eddiksyre eller propionsyre). Midler basert på formaldehyd (formalin) er ikke lenger tillatt brukt til konservering eller dekontaminering. Tilsetning av kjemiske midler i fôrvarer må avklareres med Mattilsynet.

### 2.3.2 Enterobacteriaceae

Enterobacteriaceae er en familie av Gram-negative, stavformede bakterier. De fleste er bevegelige.

Enterobacteriaceae inneholder både harmløse og patogene bakterier. Familien omtales ofte som tarmbakterier fordi mange av dem har naturlig tilhold i tarmen på varmblodige dyr.

Gruppene Enterobacteriaceae og koliforme bakterier omfatter langt på vei de samme bakteriene. I laboratoriet brukes litt forskjellig dyrkingsmedium til analyse av de to, Enterobacteriaceae dyrkes på glukose (druesukker) mens koliforme bakterier dyrkes på laktose (melkesukker). Mediene er ellers like. Bakterier som utnytter laktose kan også utnytte glukose, men ikke alltid omvendt. Koliforme bakterier inngår derfor alltid i Enterobacteriaceae, men noen Enterobacteriaceae, bl.a. *Salmonella* som er laktose-negativ faller utenfor koliforme bakterier.

Både Enterobacteriaceae og koliforme bakterier brukes som indikatororganismer i mikrobiologi. Siden mange av disse bakteriene stammer fra tarminnhold, indikerer forekomst i produkter fekal (kloakk) påvirkning. I varmebehandlede produkter indikerer det også prosessproblemer, enten utilstrekkelig varmebehandling eller rekontaminering etter varmebehandling.

Tradisjonelt har koliforme bakterier blitt brukt som hygieneindikator i næringsmidler og Enterobacteriaceae i fôr. Enterobacteriaceae brukes nå stadig mer også for næringsmidler.

#### 2.3.2.1 Systematikk

Familie Enterobacteriaceae omfatter mer enn 30 slekter og 100 arter. Kjente patogener i familie Enterobacteriaceae er *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* og *Shigella*.

#### 2.3.2.2 Sykdom

##### ***Salmonella***

*Salmonella* er omtalt i 2.3.1.2.

##### ***Klebsiella***

*Klebsiella* kan føre til ulike sykdomstilstander; lungebetennelse, urinveisinfeksjon, blodforgiftning, hjernehinnebetennelse, m.fl.

##### ***Shigella***

*Shigella* smitter via næringsmidler og gir en vanlig form for diaré og dysenteri.

##### ***E. coli***

*E. coli* er normalt harmløs, men noen serotyper (EPEC, ETEC, m.fl.) kan gi alvorlig matforgiftning.

#### 2.3.2.3 Vekst/Krav til vekstbetingelser

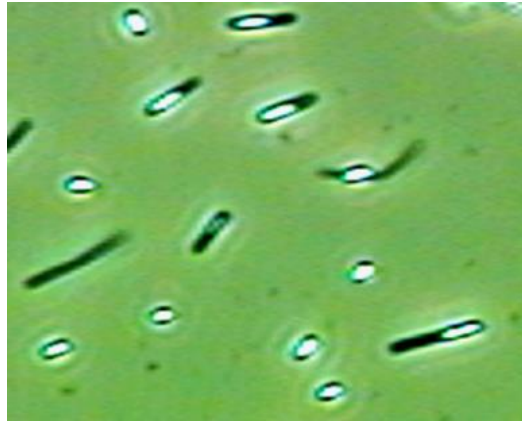
De fleste Enterobacteriaceae har lignende krav som *Salmonella* mht. vekstvilkår, jfr 2.3.1.3.

#### 2.3.2.4 Termisk dreping

De fleste Enterobacteriaceae har lignende egenskaper som *Salmonella* mht. varmetoleranse og termisk dreping, jfr. 2.3.1.5.

### 2.3.3 Clostridium

Clostridium er en slekt av Gram-positive, sporedannende, stavformede, ubevegelige bakterier (Figur 14). De er anaerobe, dvs. at de lever uten oksygen. Clostridium er vidt utbredt i naturen. De finnes i jord, vann og noen har naturlig tilhold i tarmen på dyr og mennesker. Noen er patogene.



Figur 14 *Clostridium perfringens*. Bildet viser vegetative bakterier (mørke) med sporer (lyse). Noen sporer er frigjort etter at bakteriecellen har gått i lysis (oppløsning). Forstørrelse x5000. Foto: H.Nygaard.

Undersøkelser ved Nofima (SSF) har vist at clostridier forekommer i fiskemel. De danner sporer som kan overleve høye temperaturer, og formerer seg hurtig når temperaturen synker. Sporene er også resistente mot desinfeksjonsmidler. Disse egenskapene gjør at clostridier anrikes i belegg i maskiner, tanker og transportører på våt side i fiskemelprosessen, dvs. mellom koker og tørke. Kontaminerte belegg smitter over i massestrømmen. Det er derfor i stor grad tørkens drepeeffekt som bestemmer innholdet av clostridier i fiskemel.

For noen anvendelser av fiskemel er clostridier av stor interesse. Det gjelder særlig *C. perfringens* i fôr til svin og fjørfe eller i matmel til mennesker. Andre clostridier er trolig av liten betydning i fiskemel, men de skal likevel nevnes fordi de er involvert i kjente infeksjonssykdommer eller forgiftninger.

#### 2.3.3.1 Systematikk

Bakterieslekten Clostridium omfatter rundt 250 arter der noen er sykdomsfremkallende.

#### 2.3.3.2 Sykdom

##### *Clostridium perfringens*

*C. perfringens* kan forårsake to ulike typer matforgiftning, diarétypen og nekrotisk enteritt. Begge skyldes at bakteriene produserer toksiner i tarmen.

Diarétypen er den vanligste form for matforgiftning i Norge. Straks bakteriene kommer ned i tarmen produserer de sporer og et toksin som frigjøres når cellene går i lysis (oppløsning). Sykdommen gir magesmerter, kvalme og diaré, men er som regel selvbegrensende og kortvarig (< 24 timer).

Nekrotisk enteritt (NE) er en svært alvorlig tarmbetennelse, som sjelden opptrer hos mennesker i vår del av verden. Et toksin ( $\beta$ -toksin) produseres mens bakterien formerer seg i tarmen. Toksinet brytes ned av fordøyelsesenzymet trypsin. Ved lavt protein-innhold i dietten reduseres trypsindannelsen slik at faren for NE øker. Hos dyr, særlig gris og fjørfe, er NE et alvorlig problem som medfører høy dødelighet og store økonomiske tap.

*C. perfringens* og noen andre clostridier kan gi koldbrann når bakterien vokser i sår og produserer et toksin som løser opp cellemembraner slik at vevet dør.

#### ***Clostridium tetani***

*C. tetani* kan gi stivkrampe når bakterien vokser og produserer en nervegift i infiserte sår.

#### ***Clostridium botulinum***

*C. botulinum* produserer nervegiften botulin i fôr og næringsmidler. Botulin regnes som den sterkeste av alle naturlige giftstoffer. I løpet av et døgn i 1995 døde 160.000 mink i Sør-Norge etter inntak av uforsvarlig lagret våtfôr som var kontaminert med *C. botulinum*. Giften ødelegges lett ved oppvarming og forgiftning skjer derfor oftest etter inntak av mat/fôr som lagres i fuktig tilstand og konsumeres uten forutgående varmebehandling. Hos mennesker i Norge er botulisme oftest knyttet til konsum av hjemmelaget rakfisk eller spekeskinke.

#### **2.3.3.3 Vekst/Krav til vekstbetingelser**

*C. perfringens* har den korteste rapporterte generasjonstid av alle organismer, med bare 7 minutter under optimale forhold. Teoretisk vil en bakterie gi opphav til 1 million bakterier på 140 minutter.

#### **Næring**

Clostridier kan vokse på et stort spekter av næringskilder. *C. perfringens* mangler evne til å lage flere aminosyrer som den trenger, og er derfor avhengig av proteinrik næring. Mange mellomprodukter i fiskemelprosessen, som limvann og grakse, er derfor ideelle næringskilder.

#### **Temperatur**

Mange clostridier, inkl. *C. perfringens* kan formere seg ved temperaturer opp mot 50 °C.

#### **Fuktighet**

Clostridier kan vokse ved  $a_w$  over 0,93.

#### **Oksygen**

Clostridier krever anaerobe forhold, dvs at de er følsomme for oksygen.

#### **2.3.3.4 Overlevelsesmåter**

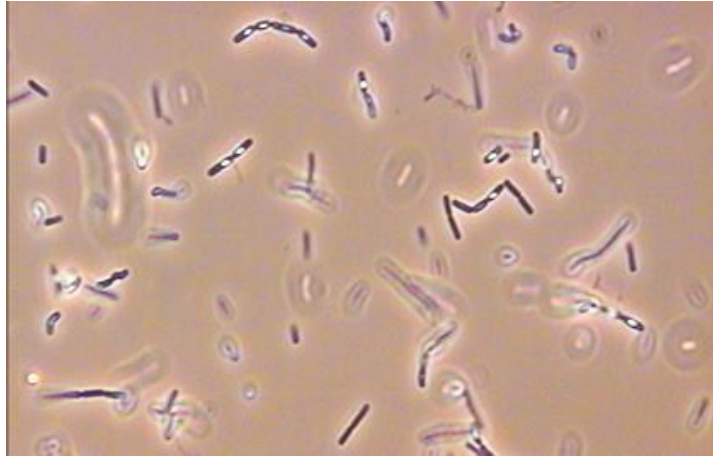
Clostridier har et vegetativt stadium som andre bakterier, hvor alle livsfunksjoner er intakt. De har også evne til å danne sporer når forholdene blir ugunstige. Sporene er sovende strukturer som kan overleve svært lenge. Det er rapportert om sporer som har overlevd flere tusen år. Sporene er også motstandsdyktige mot ytre faktorer som ultrafiolett og radioaktiv stråling, uttørking, varme og desinfeksjonsmidler.

#### **2.3.3.5 Termisk dreping**

Vegetative celler av *C. perfringens* drepes raskt ved 70 °C ( $D_{70^\circ\text{C}} = 23$  sek). Det betyr at 2 minutter eksponering til 70 °C gir mer enn 5 Log reduksjon. For sporer er desimal reduksjonstid ca. 1 minutt ved 100 °C ( $D_{100^\circ\text{C}} = 1$  min) og ca 10 min ved 90 °C ( $D_{90^\circ\text{C}} = 10$  min).

#### **2.3.4 Bacillus**

Bacillus er en slekt av Gram-positive, sporedannende, stavformede bakterier. De fleste er bevegelige (Figur 15). Bacillus er aerobe, dvs at de lever med oksygen. De er vidt utbredt i naturen og forekommer vanlig i jord, plantemateriale og i mange matvarer. Noen arter er patogene.



Figur 15 Bakterien *Bacillus cereus* danner sporer (lyse punkter) som kan overleve høy temperatur. Lysmikroskopi. Forstørrelse ca. x1.000. Foto: H. Nygaard.

Undersøkelser ved Nofima (SSF) har vist at *Bacillus* kan forekomme i fiskemel. De danner sporer som kan overleve høy temperatur, dette gir dem et konkurransefortrinn ved at de kan overleve gjennom prosesstrinn som dreper andre bakterier.

Av *Bacillus*-artene er det trolig kun *B. cereus* som er av betydning i fiskemel, og da ved anvendelse til humant konsum. Det er også noen andre *Bacillus* arter som kan gi sykdom, men de er ikke forbundet med fiskemel. De blir likevel omtalt kort nedenfor.

#### 2.3.4.1 Systematikk

Bakterieslekten *Bacillus* omfatter rundt 270 arter der noen er sykdomsfremkallende.

#### 2.3.4.2 Sykdom

##### ***Bacillus cereus***

*B. cereus* er nest etter *C. perfringens* viktigste årsak til utbrudd av matbåren sykdom hos mennesker i Norge. Sykdomsforløpet er nesten identisk med diarétypen beskrevet for *C. perfringens*. Toksinet fra *B. cereus* produseres imidlertid mens bakterien formerer seg i tarmen, ikke under sporulering.

*B. cereus* kan også gi en sjeldnere type matforgiftning forårsaket av et toksin som produseres under formering i matvaren. Denne sykdommen er derfor egentlig en forgiftning, med kort inkubasjonstid (1-6 timer). Toksinet blir ikke ødelagt ved varmebehandling. Sykdommen som gir kvalme og oppkast er kortvarig og selvbegrensende.

*B. subtilis*, *B. lichiformis* og *B. pumilus* kan i sjeldne tilfeller gi matforgiftning.

##### ***Bacillus anthracis***

*B. anthracis* regnes som uproblematisk i forhold til normal bruk av fiskemel, men må nevnes fordi den er av stor betydning for husdyrholdet i mange utviklingsland. Bakterien smitter ved inntak av kontaminert fôr, ved innånding av sporer eller ved kontakt med sår i huden. Infeksjonen er systemisk dvs. at bakteriene spres med blodet til store deler av kroppen. Dødeligheten er svært høy. Bakterien kan i sjeldne tilfeller overføres til menneske og gi miltbrann (anthrax).

#### 2.3.4.3 Vekst/Krav til vekstvilkår

*B. cereus* har optimumstemperatur for vekst rundt 30 °C. Den utmerker seg ved høy salttoleranse. Den regnes ofte som konkurransesvak men kan få dominans under visse forhold der andre bakterier hemmes. Hvis et materiale som inneholder *B. cereus* varmebehandles kan vegetative celler drepes mens sporer overlever og aktiveres. *B. cereus* kan da formere seg uten konkurranse fra andre.

#### Næring

*B. cereus* kan utnytte mange ulike næringskilder, men foretrekker stivelsesrik næring.

#### Temperatur

*B. cereus* kan vokse ved temperaturer opp mot 55 °C.

#### Fuktighet

*B. cereus* kan vokse ved  $a_w$  over 0,93.

#### Oksygen

*B. cereus* vokser i nærvær av oksygen, men kan også vokse uten oksygen.

#### 2.3.4.4 Overlevelsesmåter

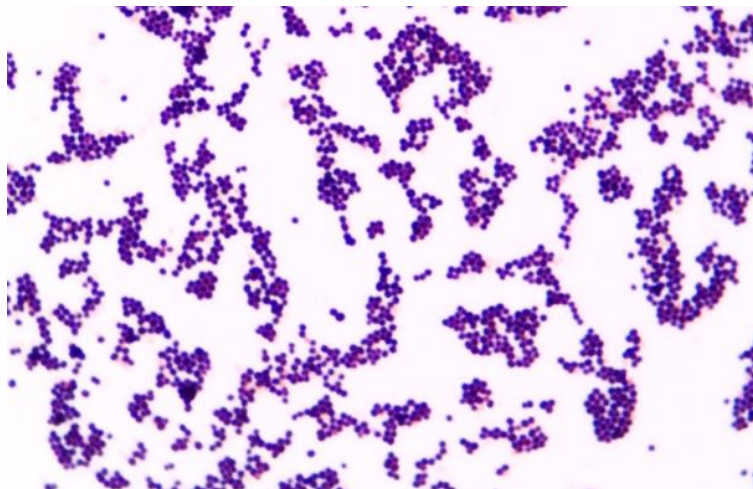
Bacillus danner sporer som er svært motstandsdyktige mot mange ytre faktorer. Sporene har de samme egenskapene som hos clostridier.

#### 2.3.4.5 Termisk dreping

Vegetative celler av *B. cereus* drepes raskt ved 60 °C ( $D_{60^\circ\text{C}} = 2$  min). Det finnes lite litteraturdata om dette. For **sporer** er desimal reduksjonstid omtrent som for *C. perfringens*, ved 100 °C ca. 1 min ( $D_{100^\circ\text{C}} = 1$  min) og ved 90 °C ca. 10 min ( $D_{90^\circ\text{C}} = 10$  min).

#### 2.3.5 Staphylococcus

Staphylococcus er en slekt av Gram-positive, ubevegelige, kokke-formede bakterier som kan danne klaser (Figur 16). Staphylococcus er vidt utbredt i naturen og finnes på hud og slimhinner hos varmblodige dyr. Blant Staphylococcus-artene er det kun *S. aureus* som er av betydning i fiskemel, og kun ved anvendelse til humant konsum.



Figur 16 *Staphylococcus aureus*. Lysmikroskopi. Forstørrelse ca. x1.000. Kilde: Wikipedia.



### 2.3.5.1 Systematikk

Slekten *Staphylococcus* omfatter ca. 40 arter, hvor den mest kjente er *Staphylococcus aureus*.

### 2.3.5.2 Sykdom

#### ***Staphylococcus aureus***

*S. aureus* tilhører normalflora på hud og i luftveiene på friske individer, men kan av og til føre til hud- og luftveisinfeksjoner (kviser, bihulebetennelse) eller til mer alvorlige infeksjoner som hjernehinne- eller lungebetennelse. *S. aureus* er en av de vanligste årsaker til infeksjoner i operasjonssår.

*S. aureus* kan gi matforgiftning. Bakteriene produserer et toksin under vekst i matvarer. Toksinet fører til oppkast, diaré og sterke magesmerter 1-6 timer etter inntak og med varighet 8-24 timer. Sykdommen er selvbegrensende. Toksinet er varmemestabil og er intakt etter varmebehandling som dreper selve organismen.

### 2.3.5.3 Vekst/krav til vekstbetingelser

*S. aureus* vokser både aerobt og anaerobt.

#### **Næring**

*S. aureus* kan utnytte mange ulike næringskilder.

#### **Temperatur**

*S. aureus* vokser ved temperaturer mellom 7 og 48 °C, optimumstemperatur er 37 °C.

#### **Fuktighet**

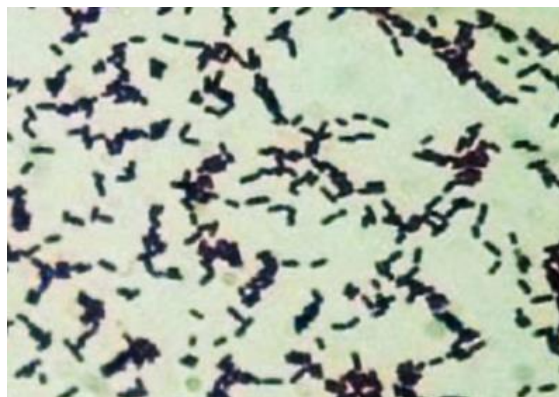
*S. aureus* vokser ved  $a_w$  over 0,83. Den utmerker seg som den mest resistente av patogene bakterier mot lav  $a_w$ , høyt saltinnhold og lav pH. Selv om den normalt er konkurransesvak gjør disse egenskapene at den kan vokse i matvarer som fermenterte spekepølser som ikke tillater vekst av andre patogener.

### 2.3.5.4 Termisk dreping

Desimal reduksjonstid ved 60 °C og høy fuktighet er ca. 4 minutt ( $D_{60^\circ\text{C}} = 4 \text{ min}$ ).

## 2.3.6 Listeria

*Listeria* er en slekt av Gram-positive, stavformede, bevegelige bakterier (Figur 17). De er vidt utbredt i naturen og finnes i jord, vann, kloakk, plantemateriale og næringsmidler. De blir ofte påvist i anlegg som prosesserer oppdrettsfisk og i produkter og biprodukter fra slike anlegg. *Listeria* er derfor av interesse i deler av fiskemelindustrien.



Figur 17 *Listeria monocytogenes*. Lysmikroskopi. Forstørrelse ca. x1.000. Kilde: Wikipedia.

#### **2.3.6.1 Systematikk**

Slekten *Listeria* inneholder 21 arter, viktigste sykdomsfremkallende art er *L. monocytogenes*.

#### **2.3.6.2 Sykdom**

Listeriose er vanligvis en tilstand uten symptomer eller med influensalignende symptomer, men hos gravide og mennesker med nedsatt immunforsvar kan den gi alvorlig sykdom.

#### **2.3.6.3 Vekst/Krav til vekstbetingelser**

*L. monocytogenes* kan vokse både aerobt og anaerobt, men trives aller best med lavt oksygenivå.

*L. monocytogenes* vokser langsomt og blir lett utkonkurrert av andre bakterier. Under visse forhold, som lang lagringstid og lav temperatur og kan de likevel bli tallrike. *L. monocytogenes* forekommer derfor særlig i produkter som rakørret, røkelaks og oster av upasteurisert melk.

#### **Næring**

*L. monocytogenes* kan utnytte mange ulike næringskilder.

#### **Temperatur**

*L. monocytogenes* vokser ved temperaturer mellom -1,5 og 45 °C, optimumstemperatur er 30-37 °C.

#### **Fuktighet**

*L. monocytogenes* vokser ved  $a_w$  over 0,90.

#### **Salt**

*L. monocytogenes* kan vokse ved saltkonsentrasjon opp til 13-14 %

#### **2.3.6.4 Termisk drepning**

Desimal reduksjonstid ved 60 °C og høy fuktighet er ca. 2 minutter ( $D_{60^\circ\text{C}} = 2 \text{ min}$ ).

### **3 Produksjonshygiene**

Hygiene er et system av prinsipper for bevaring av helse og forebyggelse av sykdom.

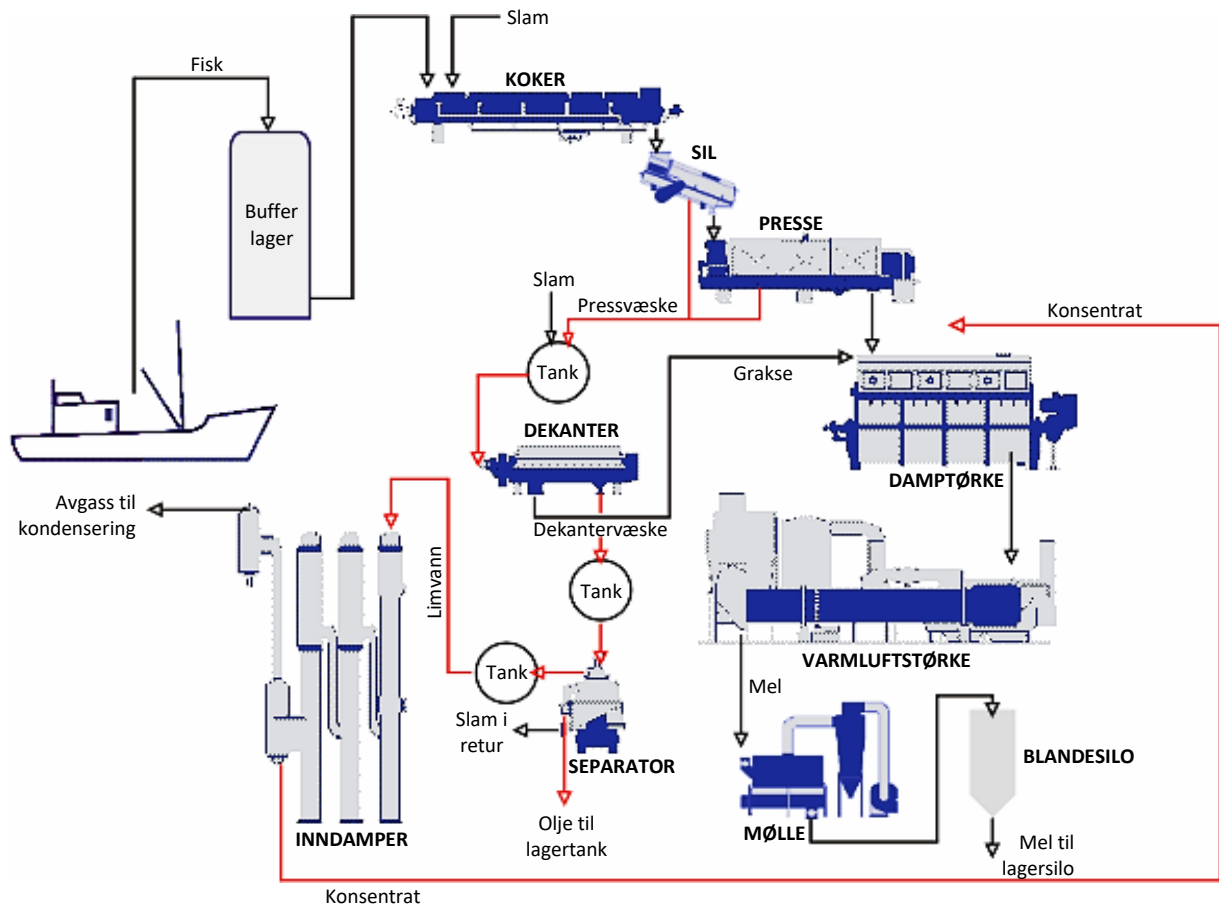
#### **3.1 Risikovurdering og forebyggende tiltak**

##### **3.1.1 Fiskemelprosessen**

Fisk består av tre hovedkomponenter; fettfritt tørrstoff, fett og vann. Hensikten med prosessen er å skille disse tre fraksjonene fra hverandre mest mulig fullstendig.

En tradisjonell fiskemelprosess består av følgende trinn (Figur 18):

- Oppvarming i koker for å koagulere protein, sprengte fettceller og redusere antall mikroorganismer.
- Mekanisk separasjon av koagulat (sil, presse, dekanter) i en fast og en flytende fase.
- Mekanisk avfetting av flytende fase (separator) før oppkonsentrering av limvann (inndamper).
- Tørking av fast fase og limvannskonsentrat til mel.



Figur 18 Tradisjonell fiskemelprosess. Maskinsammenstilling kan variere. Trefase-dekanter kan erstatte sil, presse, dekanter og separator, f.eks. i fabrikkskip med plassbegrensninger. Noen fabrikker bruker tottrinns tørking med damptørke og varmluftstørke, mens andre bruker en- eller to trinns tørking med kun en av tørketyperne. Det er nå svært vanlig å bruke melkjøler mellom tørke og mølle, unntak er noen fabrikkskip med plassbegrensning.

### 3.1.2 Smittemekanisme

Levende og nyfanget fisk inneholder alltid bakterier på bl.a. gjeller, hud og i tarm. Floraen består av kulde- og salttolerante bakterier. Under lagring av råstoffet går bakteriene inn i en vekstperiode som er avhengig av bl.a. temperatur og oppholdstid. Veksten medfører nedbrytning av næringsstoffer og dannelse av bl.a. flyktige N- og S-forbindelser som påvirker kjemisk og sensorisk kvalitet. Disse varmesensitive bakteriene drepes i koker og påvirker ikke fiskemelets hygieniske kvalitet. Råstoff ut fra koker er praktisk talt fritt for mikroorganismer.

Forekomsten av mikroorganismer i ferdig fiskemel skyldes rekontaminering i produksjonslinjen etter koker. Fiskemelet har derfor en annen bakterieflora enn fisken og kan inneholde bl.a. tarmbakterier fra varmblodige dyr og varmeresistente sporedannende bakterier. Smittekildene er belegg med direkte produktkontakt i maskiner og transportører. Belegg har normalt både lavere temperatur og høyere fuktighet enn massestrømmen og kan derfor tilby gunstige vekstvilkår selv under pågående produksjon. En helt avgjørende årsak til at belegg kan bli så sterkt kontaminert er lang oppholdstid.

Fiskemelprosessen er en kontinuerlig prosess der massestrøm føres frem gjennom ulike prosessledd i stadig kontakt med produksjonsutstyrets indre overflater/belegg. Bakterier som smitter fra belegg til massestrøm vil gjenfinnes i ferdigvare dersom de ikke drepes senere i prosessen.

Tørketrinnet kan være en effektiv barriere for dreping av mikroorganismer. Damp tørker som kjøres uten vakuum dreper alle mikroorganismer inkludert sporedannere som *C. perfringens* og *B. cereus*. Vakuamtørking og annen lavtemperatur tørketeknologi gir mindre effektiv dreping (se 3.1.5.1).

Ferdigtørket fiskemel har lav vannaktivitet ( $a_w = 0,40-0,50$ ). Mikroorganismer som overlever tørking vil være i live, men kan ikke formere seg uten tilførsel av fuktighet. Ved tørr lagring vil nivået være stabilt eller langsomt synkende. Hvis produksjonslinjen etter tørke utsettes for fuktighet (f.eks. lekkasje eller kondensering) vil det dannes kontamineringskilder også her. Dette er særlig alvorlig fordi det ikke lenger finnes noen etterfølgende drepetrinn.

Smitte fra kilder i produksjonslinjen vurderes som viktigste årsak til gjentakende eller varige hygiene-problemer. Produktene kan også smittes direkte fra insekter, fugleskit, e.l. noe som gir enkelttilfeller uten varige effekter.

Nofima (SSF) har samarbeidet med fiskemelindustrien om bl.a. smitteveipklaring. Det har blitt vist at anaerobe sporedannere (clostridier) hovedsakelig har smittekilder før tørke. Andre bakterier som aerobe sporedannere (Bacillus), Salmonella og Enterobacteriaceae har smittekilder både før og etter tørke. For ikke-sporedannere er det primært smitte som skjer etter tørke som har konsekvenser, fordi disse bakteriene drepes lett i tørke.

### 3.1.3 Erfaring fra industrien

Etter påvisninger av Salmonella i fiskemel har nærmere undersøkelser ofte vist at samme serotype er etablert i produksjonslinjen, særlig i belegg der temperatur- og fuktighetsforhold gir vekstgrunnlag. De deler av linjen som er mest utsatt er områder med kjølige belegg mellom presse og slutt-tørke og områder med kondensproblemer mellom slutt-tørke og melkjøler.

Fabrikker som har tilbakevendende Salmonella-problemer, finner oftest samme serotype hver gang. Dette kan vedvare flere ti-år og viser at interne kontamineringskilder kan bestå uavhengig av tilførsel utenfra. Det viser også at introduksjon og etablering av nye stammer utenfra forekommer sjelden. Bakteriestammer som på denne måten er etablert i en produksjonslinje kalles for «husstammer».

Fabrikker har erfart at kontamineringsgrad i ferdigvarer er størst etter perioder med driftsstans. Dette skyldes at bakterier i belegg har hatt gunstige vekstforhold og god tid til formering mens fabrikken står. En undersøkelse fra amerikansk fiskemelindustri viste at Salmonella-konsentrasjon i ferdigvare var høy i starten av hver produksjon, men avtok til under deteksjonsnivå i løpet av ca 45 minutter. Som en konsekvens av dette ble det anbefalt å reprocessere ferdigvarer fra oppstartfasen.

Fabrikkene har erfart at bakteriologiske problemer helst opptrer i perioder med hyppige opphold i produksjonen. I perioder med kontinuerlig produksjon over lenger perioder er maskineriet varmt og vekstvilkårene i beleggene ugunstige.

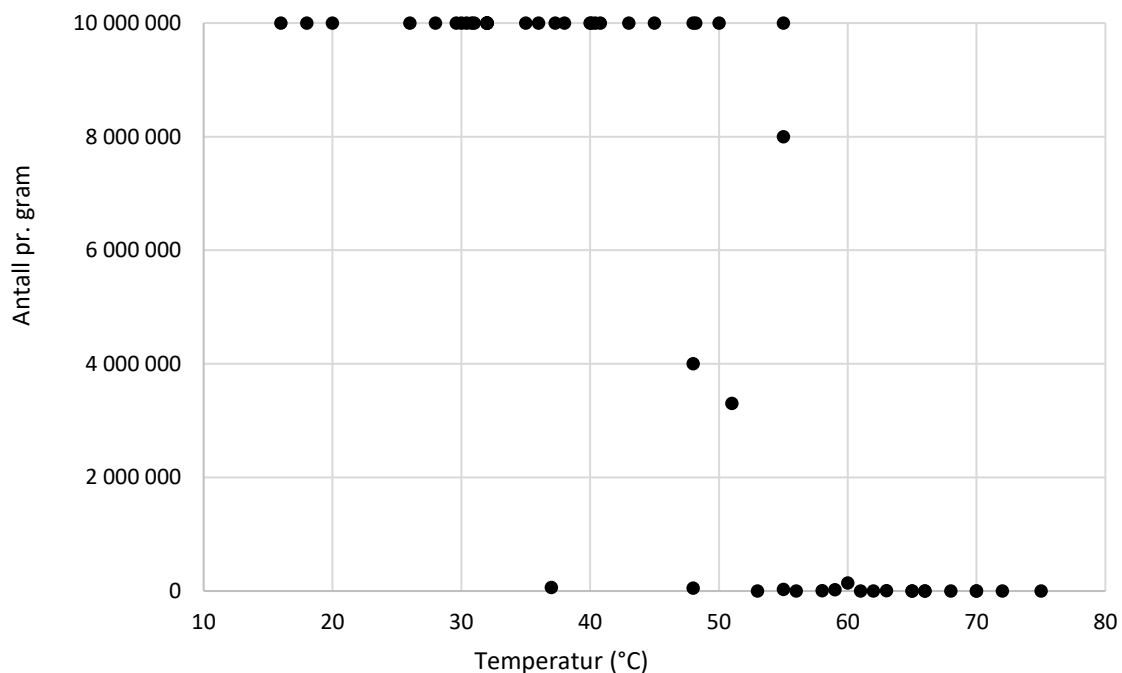
En dansk undersøkelse av vanlige føringredienser viste at Salmonella-frekvens var langt høyere etter varmebehandling enn før. Dette ble forklart med rekontaminering av føret i behandlingsanlegget etter

oppvarmingstrinnet. Det ble også vist at Salmonella-serotypene kunne knyttes til de ulike anleggene og ikke til råvarene.

Det er flere eksempler på at flytting av maskineri eller utstyr mellom fabrikker har medbragt smitte som har gitt varige problemer.

### 3.1.4 Temperatur i belegg

På våt side i prosessen, dvs mellom koker og tørke, kan høy temperatur hindre bakterievekst i belegg.



Figur 19 Temperatur og kimtall i fuktige belegg tatt ut fra produksjonslinjene ved flere fabrikker under stabile produksjonsforhold.

Figur 19 viser kimtall i belegg-prøver hentet ut fra våt side på flere fiskemelfabrikker under pågående stabil produksjon. Figuren viser at det eksisterer en kritisk temperaturgrense ved ca 55 °C. Under denne grensen skjer kontinuerlig tilvekst av bakterier og konsentrasjonen når raskt et høyt nivå, over 10 millioner pr gram. Over den kritiske temperaturgrensen skjer dreping og konsentrasjonen faller under deteksjonsgrense.

Nofima (SSF) har vist at de typer av Clostridium og Bacillus som finnes i norsk fiskemel kan formere seg ved temperaturer helt opp mot terskelverdien på 55 °C. Over denne temperatur drepes de, men drepingen skjer langsomt ved temperaturer mellom 55 og 65 °C. Produksjonsanleggene bør derfor innrettes slik at temperaturen i alle fuktige belegg under produksjon er minst 65 °C.

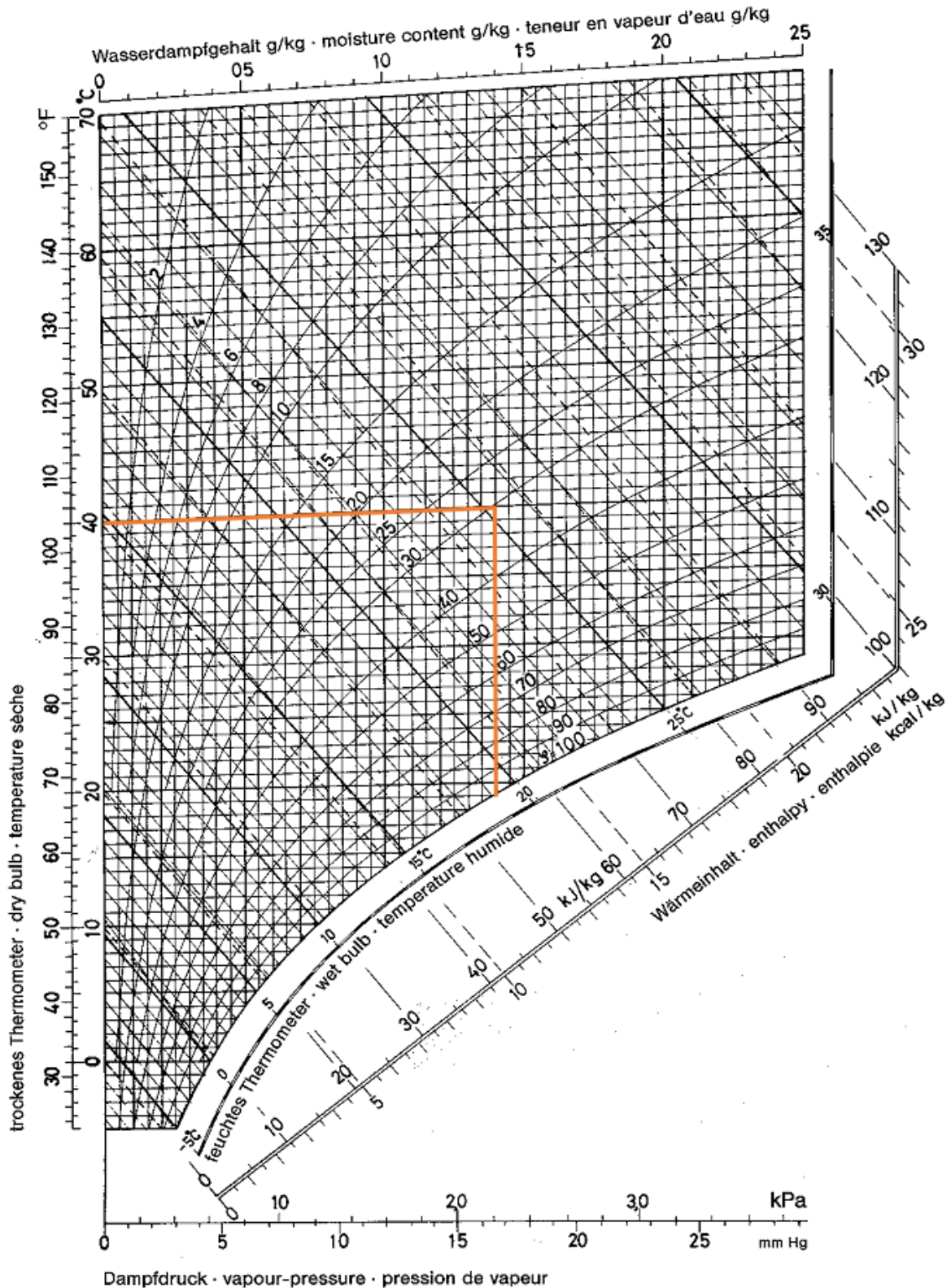
Figur 13 viser at også Salmonella drepes hurtig ved 65 °C og høy fuktighet,  $D_{65^{\circ}\text{C}} = 6$  sekunder. Med temperatur rundt 90 °C i fiskemasse ut av koker skulle det være mulig å holde beleggtemperaturer opp mot 65 °C frem til tørke. Aktuelle virkemidler er varmeisolering av maskiner og transportører, justering av avsug, sammenstilling av maskiner og utforming av transportører.

### 3.1.5 Fuktighet i belegg

I området mellom tørke og melkjøler er det vanskelig å hindre vekst vha. temperatur. Viktigste tiltak må være å begrense fuktighet i beleggene. For å kunne vurdere praktiske tiltak skal vi først forklare noe teori om egenskapene til fuktig luft.

Vanlig luft, enten det er uteluft, romluft eller prosessluft, vil alltid inneholde noe fuktighet. Denne fuktigheten er vann som er fordampet og gått over i gassform. Inntil en viss grense er vanndampen fullstendig blandbar med luften. Hvor mye fuktighet luften kan inneholde avhenger av temperaturen. Med økende temperatur blir luften i stand til å ta opp økende mengder vann. Eksempelvis kan luft ved 90 °C inneholde hele 1,56 kg vann pr. kg tørr luft, mens luft ved 60 °C bare kan inneholde ca. 0,15 kg vann pr. kg tørr luft.

Når luft med en viss fuktighet kjøles ned, vil den ved en viss temperatur bli mettet, og det begynner å kondensere ut vann. Denne grenseverdi kalles luftens duggpunkt. Tilstander og konsekvenser av endringer kan i praksis leses ut av et Mollier-diagram (Figur 20) som er et nyttig hjelpemiddel ved arbeid med fuktig luft. Er luftens fuktighet og temperatur kjent, finnes lett duggpunktet. Når fuktig luft møter flater med temperatur lik eller lavere enn duggpunkts-temperaturen, vil det dannes kondens.



Figur 20 Mollier-diagram. Fra diagrammet kan det f.eks. leses at luft som har 30 % relativ fuktighet (buet linje) ved 40 °C, vil nå 100 % relativ fuktighet og kondensere ved avkjøling til 19 °C eller lavere.

Begrepet vannaktivitet ( $a_w$ ) er omtalt tidligere. For bakterier flest må  $a_w$  være godt over 0,90 for å gi vekstmuligheter. Som eksempel er det i Figur 7 vist sammenhengen mellom vanninnhold og  $a_w$  for et fiskemel, og det fremgår at når vannprosenten overstiger 20-30 %, nærmer  $a_w$  seg verdier som gir



mulighet for bakterievekst. Så høy fuktighet oppnås fort i belegg hvis forholdene er så ugunstige at det skjer direkte kondensering.

Det må ikke skje synlig kondensering på flaten for at  $a_w$  skal bli høy nok for bakterievekst. Utsettes et melbelegg for luft med høy fuktighet, men fortsatt med temperatur over luftens duggpunkt, vil det over tid skje absorpsjon av nok fuktighet til at bakterier kan vokse. Eksempelvis vil et melbelegg som er i kontakt med en fuktig luftstrøm med 95 % relativ fuktighet (RH), etter hvert få  $a_w = 0,95$ .

Luft med høy relativ fuktighet der det er belegg, representerer derfor en betydelig risiko. På slike steder må man hurtigst mulig få fuktigheten i luften ned. I praksis vil en ønske RH ned mot 50 % for å få til en uttørking av området og dermed øke sikkerheten.

Fuktigheten i luft angis ofte som relativ fuktighet (RH). RH angir hvor stort vanninnholdet er i prosent av vanninnholdet i mettet luft ved samme temperatur. RH kan lett måles med en elektronisk fuktighetsmåler. Den kan også bestemmes ved å måle luftens våtkule-temperatur som sammen med tørr temperatur og et Mollier-diagram gir lufttilstanden. Det er en direkte sammenheng mellom  $a_w$  og RH. Vannaktiviteten  $a_w$  kan bestemmes ved å måle RH ved likevekt mellom stoffet og luften. Er RH målt i prosent, er  $a_w = RH/100$ .

Teorien om egenskapene til fuktig luft kan anvendes til å justere driftsparametre eller modifisere utstyr slik at kondensering forhindres. Nedenfor er gitt en del eksempler på praktiske tiltak;

#### **3.1.5.1 Varmluftstørke**

I varmluftstørke skal vanninnholdet i fiskemassen reduseres til under 10 %. Det meste av energien som trengs for å fordampe vann tilføres som varm luft med temperatur på over 300 °C. Energien i den varme fiskemassen utnyttes også. Samtidig som tørkeluften avgir energi, blir den fuktet opp.

For at melet skal bli tørt kan ikke vannopptaket i luften bli høyere enn til ca. 45 % RH (Figur 7). Er temperaturen i luft ut av tørka f.eks. 80 °C med denne fuktigheten, vil duggpunktet ligge på ca. 62 °C. Normalt skal det ikke skje kondensering i tørka, men det kan likevel forekomme på steder med lave overflatetemperaturer. Overvåking av temperatur og fuktighet i utgående luft er viktig og forteller noe om forholdene inne i tørken. Finnes det flater der temperaturen er lavere enn luftens duggpunkt vil kondensering skje. Spesielt skal en være oppmerksom på avtrekkskap og sykloner som erfaringsmessig har vist seg å være farlige punkter. Nødvendig sikkerhetsmargin bestemmes av lokale forhold, men tilstrekkelig tilførsel av tørr og varm luft er nødvendig for å få gode tørkebetingelser. Isolering av kalde flater ved inn- og utløp kan være nødvendige tilleggstiltak. Under nedkjøring og stans i produksjonen er det spesielt viktig at det luftes godt i tørken samtidig som nedkjøling foregår for å unngå at tørken blir stående med fuktige belegg.

#### **3.1.5.2 Transportører etter tørke**

Transportører etter tørke fører melet til kjøler. Melet er relativt varmt og kan fortsatt avgi noe fuktighet. En del fuktig tørkeluft kan også trekkes inn i transportsystemet. Luften i transportørene vil derfor etter hvert få økende vanninnhold og risikoen for kondensering er til stede dersom transportøren har flater med temperatur under duggpunktet. I denne del av prosessen er beleggtemperaturene så lave at kondensdannelse kan forekomme. Dette gir vilkår for bakterievekst. Rekontaminering etter tørke-trinnet er særlig farlig, fordi det ikke finnes noen etterfølgende varmebehandling.

En bør ordne seg slik at minst mulig utgående tørkeluft trekkes inn i transportsystemet, spesielt hvis denne luften har høy fuktighet. Fuktighetsnivået bør måles. For å fjerne den avdamp som fortsatt kommer fra melet, bør det luftes ved å trekke tørr luft gjennom transportsystemet (aspirasjon). Et annet tiltak kan være å isolere transportørene, spesielt hvis de går gjennom områder med lav temperatur. I ekstreme tilfeller kan en også vurdere oppvarming av kritiske punkter/flater. Det skulle med disse tiltak være fullt mulig å oppnå tørre nok forhold i hele transportøren og dermed utelukke muligheten for bakterievekst.

### 3.1.5.3 Melkjøler

I melkjøler må det ikke forekomme kondens. Tilført kjøleluft bør ikke være mettet med vanddamp selv om den relative fuktighet vil gå ned pga. oppvarming gjennom kjøleren. Tilføres mettet luft, er risikoen unødvendig høy for at det oppstår kondens. Dette kan f.eks. skje hvis temperaturen i rommet der kjøleren står er lav. Overvåking av relativ fuktighet i utgående kjøleluft vil også være fornuftig for å kunne vurdere risiko for kondensering på kritiske punkter.

### 3.1.6 Forebyggende tiltak

Den dominerende smitteveien for mikroorganismer i fiskemel kan ikke bestå dersom vekstvilkår i belegg er fraværende, eller dersom smittepress fra råvarer og omgivelser er eliminert. Begge deler kan være vanskelig å oppnå fullt ut i praksis. Det kan være fornuftig å satse på de tiltak av begge typer som gir størst gevinst i forhold til innsatsen.

#### 3.1.6.1 Smittepress

For at en bestemt mikroorganisme skal kunne etablere seg i et belegg må det i tillegg til vekstvilkår tilføres en smitte. Smitte kan følge massestrømmen fra tidligere prosesstrinn, eller kan introduseres utenfra. I utgangspunktet må det antas at alle typer uønskede mikroorganismer finnes i miljøet omkring oss. De øver et konstant smittepress mot produksjonslinjen, hjulpet av insekter, støv, forflytning av personell og redskaper. For å hindre at smitte når frem til selve produksjonslinjen bør smittepresset reduseres mest mulig. Noen aktuelle virkemidler er oppsummert i Tabell 1.

Tabell 1 Tiltak for reduksjon av smittepress fra råstoff og omgivelser mot produksjonslinjen. Omgivelser er i denne sammenheng både ytre miljø og fabrikk utenom selve produksjonslinjen.

Smittekilde	Risiko	Forebygging konstruksjon	Forebygging drift
Råstoff	Smitteoverføring via råstoff	Mottaksanlegg lukket og tilrettelagt for renhold Styringssystem for koker	Renhold av mottaksanlegg, transportører og tanker Kort lagring Styring av koker
Omgivelser	Smitteoverføring fra omgivelsene	Soneinndeling Utearealer/fabrikkløkalder tilrettelagt for renhold	Orden Regulert ferdsel, besøkskontroll Desinfisering av fottøy Avfallshåndtering Renholdsplan Kontroll renhold Kontroll skadedyr Kontroll vannforsyning Kontroll luftkvalitet Kontroll lekkasjer

### 3.1.6.2 Interne smittekilder

Ut fra vår kjennskap til den dominerende smittevei må det anbefales å ha hovedfokus på fjerning av vekstvilkår i belegg mellom koker og kjøler. Både konstruksjonsmessige engangstiltak og justeringer av driftsparametre bør vurderes.

De konkrete mål for tiltakene må være å heve temperaturen i alle fuktige belegg før tørke til et nivå hvor mikroorganismene drepes ( $T > 65\text{ °C}$ ), og å redusere fuktigheten i kjøligere belegg etter tørke til et nivå som hindrer vekst. Dersom Salmonella-bakterienes krav til temperatur/fuktighet legges til grunn, vil tiltakene også ha god effekt på de fleste andre uønskede mikroorganismer, unntatt sporedannende bakterier som best kontrolleres ved tilstrekkelig varmebehandling i tørke. Aktuelle virkemidler er oppsummert i Tabell 2.

Tabell 2 Tiltak for å hindre etablering av interne smittekilder i produksjonslinjen. Mål for tiltakene er at temperatur i belegg med produktkontakt på våt side skal drepe mikroorganismer og at mangel på fuktighet i belegg på tørr side skal hindre vekst.

Prosessfase	Risiko	Forebygging konstruksjon	Forebygging drift
Koker	Temperatursvikt	Styringsystem for koker	Høy koketemperatur
Utløp koker til utløp tørke	Kjølige belegg	Utstyrskvalitet/design Maskinsammenstilling Varmeisolering	Minimere varmetap Balansert aspirasjon Analyse skrapeprøver
Utløp tørke til mellager	Fuktige belegg	Utstyrskvalitet/design Maskinsammenstilling Varmeisolering Aspirasjon	Tilstrekkelig tørking Aspirasjon Lufting ved stopp Analyse skrapeprøver
Mellager	Tilførsel av fuktighet	Bygningskvalitet Utstyrskvalitet/design	Orden Kontroll lekkasjer Analyse skrapeprøver

### 3.1.6.3 Renhold

Renhold er et viktig virkemiddel for å få hygienisk trygge produkter. En ryddig og ren arbeidsplass er også viktig for ansattes trivsel, og for å gi besøkende et godt inntrykk av bedriften.

Som tidligere beskrevet stammer mikroorganismene i melet primært fra kontaminerte belegg i produksjonslinjen. Slike belegg kan langt på vei holdes fri for bakterier under løpende produksjon ved styring av temperatur og fuktighet. Ved lenger driftsopphold bør produksjonslinjen rengjøres for å nullstille anlegget før ny oppstart. Dette gjelder hovedsakelig områdene med fuktige belegg, fordi det her vil oppstå vekstvilkår i forbindelse med temperaturfall.

Også lokaler må holdes rene og ryddige for å minimalisere smittepress mot selve produksjonslinjen. Dette bør utføres ved behov, også i perioder med produksjon. Det forutsettes bruk av metoder som ikke påvirker forholdene i selve produksjonslinjen.

Bedriftens renholdsplan må ta hensyn til de spesielle forhold som kjennetegner en fiskemelfabrikk. Mange prosess- og transportledd har kun kontakt med tørre varer. Bruk av vann i renholdet her kan virke mot sin hensikt, fordi mangel på vann er den eneste faktor som hindrer bakterievekst. Tørrisblåsing (dry-ice blasting) kan være effektivt noen steder. Områder med fuktig prosess bør derimot rengjøres med bruk av vann. Dette gjelder først og fremst i området mellom koker og tørke.

Ved utarbeidelse av renholdsplan anbefales samarbeid med en seriøs leverandør for å sikre at midler, metoder og utstyr er samstemte. I tillegg til kostnader og effekt, bør det legges vekt på å beskytte personell, produksjonsutstyr og miljø.

Vask- og desinfeksjonsmidler som brukes skal oppfylle de til enhver tid gjeldende krav som i Norge administreres av Miljødirektoratet. (jfr. Vaskemiddelforordningen; EC/648/2004 og Biocidforskriften; FOR-2017-04-18-480).

Rengjøring er en sekvens av handlinger der resultatet av hvert ledd er avhengig av at de foregående ledd er utført tilfredsstillende. For eksempel er effektiv desinfeksjon avhengig av at vasketrinnet har fjernet organisk materiale som ellers vil nøytralisere de fleste desinfeksjonsmidler. Som hovedregel benyttes følgende ledd i hhv. våt (Tabell 3) og tørr (Tabell 4) rengjøring;

Tabell 3 *Trinn i våt rengjøring.*

Rengjøringstrinn	Aktiviteter
Forberedelse	Rydding, demontering og tildekking av følsomt utstyr
Forskylling	Oppbløting av inntørket materiale
Vask	Kjemisk og mekanisk løsning av smuss
Skylling	Fjerning av løst smuss og rester av vaskemidler
Desinfeksjon	Dreping av de fleste bakterier som er igjen etter vask
Skylling	Fjerning av rester av desinfeksjonsmiddel

Tabell 4 *Trinn i tørr rengjøring.*

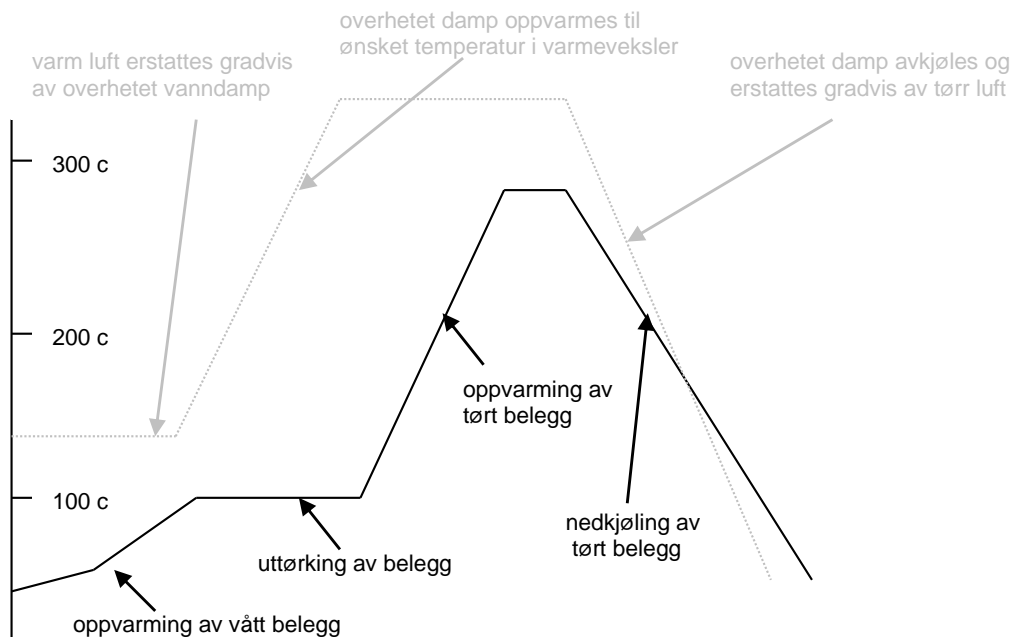
Rengjøringstrinn	Aktiviteter
Forberedelse	Rydding, demontering
Tørr Rengjøring	Mekanisk løsning/fjerning av smuss. Tørris-blåsing
Desinfeksjon	Dreping av de fleste bakterier som er igjen etter rengjøring
Tørking	Avdamping av desinfeksjonsmiddel (etanol eller isopropanol)

#### 3.1.6.4 Dekontaminering av tørke med overhetet damp

Varmluftstørke med skap, sykkloner og kanaler er vanskelig tilgjengelig for manuelt renhold. Det ble derfor utviklet en metode for rutinemessig dekontaminering av slike anlegg. Metoden ble utprøvd ved to fabrikker gjennom et helt år. Kimtall for hele årsproduksjonen av mel ble for begge fabrikker redusert med ca 80 % etter at metoden kom i rutinemessig bruk. Dette tyder på at noen av de viktigste interne smitteklidene lå nettopp i varmluftstørkekretsen.

Varme kan være et effektivt middel for å drepe bakterier i fuktig materiale (Figur 13). Tilførsel av luft på 300 - 400 °C i en varmluftstørke gir imidlertid kun en temperatur tilsvarende våtkuletemperatur i belegget som er fuktige, og det er for lavt. Når belegget tørker vil temperaturen øke, men bakteriene er samtidig mer resistente i tørr tilstand. Videre oppvarming med luft gir risiko for støveksplasjon.

Den nye metodens prinsipp er kort forklart nedenfor (Figur 21).



Figur 21 Prinsipp for dekontaminering av varmluftstørke v.h.a. overhetet damp.

Ved tilstrekkelig tilsetning av overhetet damp og et svakt overtrykk i tørkesystemet vil det meste av luften fordrives. I fravær av oksygen kan miljøet inne i tørke utsettes for høye temperaturer uten fare for støveksplasjon. Damp kondenserer på alle kjølige flater/belegg inntil temperaturen i disse når 100 °C. Det oppnås derved en fuktig varmebehandling ved 100 °C som gir meget effektiv bakteriedreping. Deretter vil vann fordampe slik at det oppnås en tørkeeffekt.

Når beleggene har blitt tørre vil temperaturen i disse stige og nærme seg temperaturen i dampen. Det oppnås derved en ytterligere tørrsterilisering av miljøet inne i tørken. Tørkingen medfører at det meste av beleggene løsner og føres ut av tørkene.

Metoden krever lite manuell innsats og er egnet som forebyggende hygienetiltak i forbindelse med lenger produksjonsavbrudd og ved bekjempelse av infeksjoner i tørkene.

## 3.2 Mikrobiologiske undersøkelser

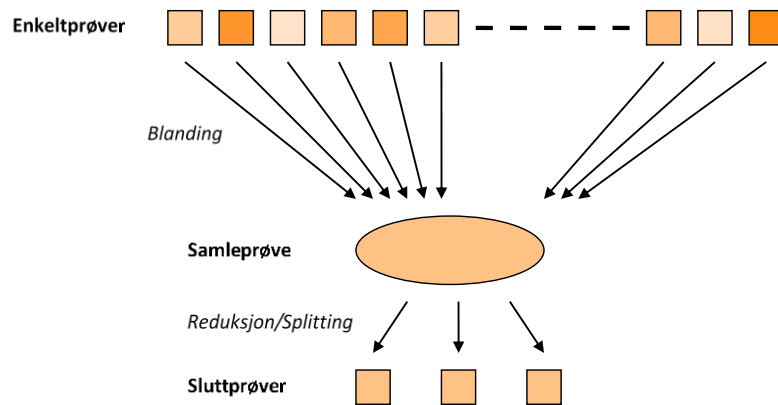
Innholdet av mikroorganismer i råvarer, produksjonsmiljø og ferdigvarer, bestemmes ved hjelp av mikrobiologiske analyser. Hensikten er å kontrollere at prøvene tilfredsstillt krav til fravær eller maksimumsinhold av spesifiserte mikroorganismer.

### 3.2.1 Prøvetaking

Prøver som analyseres på laboriet er ofte en liten del av den innsendte prøve og denne kan igjen være en liten del av et større parti. Den praktiske verdien av et korrekt analyseresultat er derfor helt avhengig av at prøven er representativ for partiet.

En gjennomsnittsprøve av et vareparti tilberedes ved at et større antall enkeltprøver fra partiet blandes til en samleprøve (Figur 22). Samleprøven splittes (reduseres) til flere sluttprøver. En sluttprøve kan sendes til et laboratorium for analyse, en annen lagres som referanse i tilfelle reklamasjon, e.l.

Som en hovedregel skal antall enkeltprøver være minimum 30 for at samleprøven kan regnes som representativ. Det finnes flere standarder for prøvetaking av fôrvarer, f.eks. Foranalyseforskriften; FOR-2020-02-28-702 som administreres av Mattilsynet.



Figur 22 Tilbereding av samleprøve og sluttprøver som skal representere et parti.

Ved prøvetaking av materialer (belegg, mellomprodukter, e.l.) fra produksjonsanlegget med sikte på kartlegging mikrobiologiske forhold, er det svært viktig å rengjøre og sterilisere redskaper mellom hver prøve (tørk først av med engangspapir og deretter med spritfuktet papir). Prøvene pakkes f.eks. i plastposer med hurtiglås og merkefelt.

### 3.2.2 Prøvebehandling

Prøvene må oppbevares ved temperatur som fører til minst mulig endring i prøvens sammensetning. Tørre prøver er mikrobiologisk stabile og kan oppbevares ved romtemperatur. Fuktige prøver kjøles ned mot frysepunktet og bringes til laboratoriet innen 24 timer. Hvis dette ikke er mulig, må prøvene fryses og sendes til laboratoriet i frossen tilstand.

### 3.2.3 Analysemetoder

Mikrobiologiske analyser gir svar på hvor mange organismer av en bestemt type som er til stede i prøven (kvantitative metoder) eller om de er til stede i viss mengde av prøven (kvalitative metoder).

Metodene som brukes mest ved offentlig kontroll/godkjenning i dag har i hovedtrekk vært uendret i nesten 100 år. I tillegg til disse tradisjonelle dyrkingsbaserte metodene finnes nyere hurtigmetoder eller arbeidsbesparende metoder som også er velegnet til bruk i intern driftskontroll.

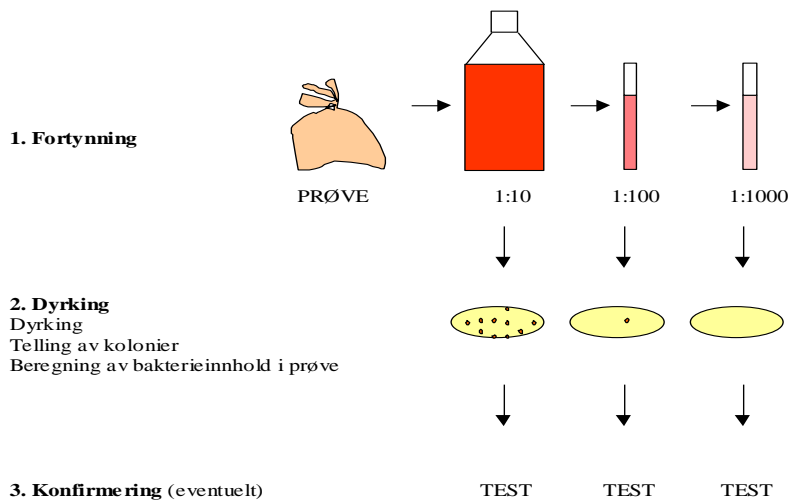
#### 3.2.3.1 Kvantitative metoder

I første trinn fortynnes prøven 10x ved å overføre f.eks. 10 gram prøve til 90 ml fortynningsvæske (Figur 23). Prøven fortynnes videre etter behov (100x, 1000x, osv).

I andre trinn overføres 1 ml fra de ulike fortynningene til agarskåler med geleaktig næringsmedium tilpasset den søkte bakterien. Skålene plasseres ved bestemt temperatur en viss tid, slik at enkeltbakterier som ligger i/på mediet formerer seg og danner synlige kolonier. Bakteriekonsentrasjonen i prøven beregnes ved å multiplisere koloniantall med fortynningsgrad.

I mange analyser kreves et tredje trinn, konfirmasjon, hvor et utvalg av kolonier blir identifisert for å bekrefte at det er den søkte organisme som er funnet.

Ved analyse av faste stoffer er deteksjonsgrensen for slike metoder 10 KDE/g (KDE = kimdannende enheter). Det betyr at 10 KDE/g er laveste bakteriekonsentrasjon som kan påvises med metodene.



Figur 23 Prinsipp for kvantitativ mikrobiologisk analyse.

### **Aerobe mikroorganismer (Kimtall)**

Aerobe mikroorganismer, ofte kalt kimtall, gir et godt bilde av produktets hygieniske standard. Analysen skal fange opp flest mulig av bakterier som kan vokse i nærvær av luft, og regnes som det nærmeste en kommer totaltall bakterier. Analysen sier imidlertid lite om hvilke typer som inngår. Høyt kimtall i produkter som er fuktige eller skal fuktes før konsum er ofte ensbetydende med kort holdbarhet.

### **Kimtall og spesifikke bedervingsbakterier i fisk og fiskevarer**

Metoden detekterer kuldeterolante og varmesensitive bakterier ved dyrking på Long & Hammer Agar ved 15 °C i 4-5 døgn. Metoden fanger opp en langt større andel av totalfloraen i marin fisk enn andre kimtallsmetoder.

### **Enterobacteriaceae og Koliforme bakterier**

Varer som er forurenset med avføring fra mennesker eller dyr representerer en betydelig smittefare for konsument siden de kan inneholde sykdomsfremkallende virus, bakterier og parasitter. Et høyt nivå av tarmbakterier fra gruppene Enterobacteriaceae eller koliforme bakterier indikerer direkte eller indirekte fekal (kloakk) påvirkning og at prosessen ikke er god nok til å sikre fravær.

### **Anaerobe sulfittreduserende bakterier**

Metoden, som tidligere het Sulfittreduserende clostridier, fanger opp alle sykdomsfremkallende clostridier, inkl *C. perfringens*, samt mange harmløse clostridier.

### **Clostridium perfringens**

Metoden er spesifikk for *C. perfringens*. Andre clostridier utelukkes av antibiotika-supplement i agar-mediet, og ved konfirmasjon av utvalgte kolonier.

### **Presumptiv *Bacillus cereus***

Metoden er «presumptiv» fordi den ikke skiller klart mellom *B. cereus* og andre nært beslektede *Bacillus*-arter. Dette er ikke noe stort problem siden også flere av disse kan være patogene.

### ***Staphylococcus aureus***

Metoden er spesifikk for *S. aureus*.

#### **3.2.3.2 Kvalitative metoder**

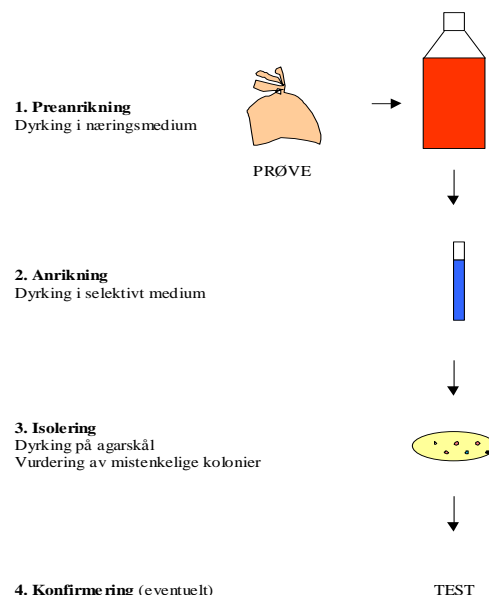
I første trinn overføres en bestemt prøvemengde, vanligvis 25 gram, til et næringsmedium (Figur 24). Kulturen plasseres ved en bestemt temperatur en viss tid for at bakteriene skal komme til hektene og starte formering (preanrikning).

I andre trinn overføres en liten mengde av preanrikningskultur til et selektivt flytende medium, dvs et medium der målorganismen kan formere seg mens andre organismer hemmes eller drepes.

I tredje trinn overføres kultur fra anrikningsmediet til et eller flere agarmedier hvor målorganismen danner gjenkjennelige kolonier.

I fjerde trinn, konfirmasjon, blir utvalgte kolonier identifisert for å bekrefte at det er målorganismen som er funnet. Bekreftede isolater kan oppbevares for videre undersøkelser, f.eks. typebestemmelse ved spesiallaboratorium.

Dersom målorganismen var til stede i innveid prøve vil den etter oppformeringen bli dominerende og kan påvises. Analyseresultatet er PÅVIST eller IKKE PÅVIST i 25 g. Metodene sier ikke hvor mange som var til stede i prøven, bare at det var minst en. Deteksjongrensen er derfor 1 pr 25 gram. Det betyr at de kvalitative metodene er 250 ganger mer sensitive enn de kvantitative metodene.



Figur 24 Prinsipp for kvalitativ mikrobiologisk analyse.

### **Salmonella**

Den dyrkingsbaserte metoden brukes i dag oftest parallelt med en hurtigere PCR metode, både for å verifisere positive PCR resultater og for å fremskaffe isolat som kan typebestemmes.



### ***Listeria monocytogenes***

Den dyrkingsbaserte metoden brukes i dag oftest parallelt med en hurtigere PCR metode, for å verifisere positive PCR resultater.

#### **3.2.3.3 Hurtigmatoder og arbeidsbesparende metoder**

##### ***PCR (Polymerase Chain Reaction)***

PCR er en metode for å lage mange kopier av en bit DNA (arvestoff) fra målorganismen og senere påvise PCR produktet. Metoden brukes helst til kvalitative analyser, f.eks. *Salmonella* og *Listeria monocytogenes*. Metodene består av følgende trinn: Preatrikning/anrikning av 25 g prøve (ca. 20 timer), ekstraksjon av DNA (ca. 1 time), og til slutt PCR (ca. 1-2 timer). Til sammen tar slik analyse ca. 24 timer, til sammenligning kan de dyrkingsbaserte metodene ta opptil en uke.

##### ***Immunologiske metoder***

Immunologiske metoder identifiserer mikroorganismer ved at antistoffer gjenkjenner og binder seg til komponenter (antigener) på den søkte organismens overflate. Immunologisk påvisning tar bare minutter eller timer, men lav følsomhet nødvendiggjør ofte en innledende oppformering som kan ta opptil et par dager.

##### ***ATP måling***

ATP (Adenosine Tri-Phosphate) er energibæreren i alle levende organismer. ATP kan måles meget hurtig ved at prøve tilsettes ekstrakter fra ildflue. Ved kontakt mellom ATP og ekstrakt dannes målbart lys. Lysmengden er et indirekte mål på antall bakterier i prøven. Metodens er egnet til å sjekke hygienestatus på rengjorte flater, og gir resultater i løpet av få minutter. Største ulempe er at den også måler ATP rester i dødt organisk materiale, noe som begrenser anvendeligheten.

Det utvikles stadig nye tids- og arbeidsbesparende metoder basert på tradisjonelle prinsipper, nyere genteknologiske/immunologiske prinsipper eller kombinasjoner av disse.

#### **3.2.4 Mikrobiologiske krav og retningslinjer**

##### **3.2.4.1 Fôr**

Biproduktforordningen (EC/1069/2009) og Gjennomføringsforordningen (EC/142/2011) er gjort gjeldende i Norge gjennom Animaliebiproduktforskriften (FOR-2016-09-14-1064). Forskriften krever at sluttprodukter skal oppfylle følgende mikrobiologiske standard;

Salmonella:	fravær i 25 g. n = 5, c = 0, m = 0, M = 0
Enterobacteriaceae:	n = 5, c = 2, m = 10, M = 300 i 1 g

hvor:

n: antall prøver som skal testes

m: resultatet er tilfredsstillende hvis antall bakterier i alle prøver er m eller lavere

M: resultatet er utilfredsstillende hvis antall bakterier i en eller flere av prøvene er M eller høyere

c: største antall prøver der antall bakterier kan ligge mellom m og M.

Dette må betraktes som minimumskrav. Det finnes andre forskrifter som er strengere enn dette, ved å kreve testing av mer enn 5 prøver. Fôrvareforskriften (FOR-2002-11-07-1290) krever 8 Salmonella-analyser i partier fra 50 til 1000 tonn og 16 analyser i større partier.

Det finnes også bransjestandarder. Norsildmel som tidligere var felles salgsorgan for de norske fiskemelfabrikkene krevde en analyse pr 50 tonn, men minimum 5 analyser. Selv om fabrikkene ikke lenger samarbeider om felles salg, har mange videreført denne høye standarden. For Salmonella er det alltid null-toleranse.

Fôrregelverket stiller ellers ikke konkrete krav til analyseparametre eller grenseverdier, kun generelle krav om at fôret skal være trygt og ikke ha skadelig innvirkning på miljø eller på dyrs velferd. I tillegg til de regelbundne kravene kan virksomhetene også fastsette egne produktspesifikasjoner basert på kundekrav, bransjestandarder, etc. (Tabell 5).

For fôrvarer stilles ofte kundekrav til maksimumsinnhold av clostridier, enten målt som anaerobe sulfittreduerende bakterier eller som *C. perfringens*. Fravær av *C. perfringens* i prøver tatt rett etter varmebehandling er også et sentralt kriterium i forbindelse med godkjenning av fabrikker etter «Metode 7» i Biproduktsforordningen. Kundekrav kan variere alt etter hva produktet skal brukes til eller hvor kunden kommer fra. Mange kunder fra Asia krever f.eks. analyse av Shigella og Vibrio.

De norske fiskemelfabrikkene analyserer også aerobe mikroorganismer i partiene av egen interesse, fordi analysen gir nyttig og tidlig signal om evt hygieneproblemer.

Nedenfor er gitt et eksempel på produktspesifikasjoner for fiskemel til fôr, utarbeidet på bakgrunn av regelbundne krav og vanlige kundekrav.

Tabell 5 Eksempel på produktspesifikasjon for fiskemel til fôr. Grensene kan være akseptable for de fleste anvendelser.

Analyseparameter	Grense	Kommentar
Salmonella	Ikke påvist	Det er null-toleranse for Salmonella
Enterobacteriaceae	10 KDE/g	Nivå opp til 300 KDE/g er tillatt
Aerobe mikroorganismer	500 000 KDE/g	Snitt norske fabrikker < 50.000 KDE/g
Anaerobe sulfittreduerende bakterier	100 KDE/g	Kun for husdyrfôr, ikke fiskefôr

### 3.2.4.2 Næringsmidler

For fiskemel til humant konsum finnes få regelbundne krav. Kommisjonsforordning EC/2073/2005 om mikrobiologiske kriterier for næringsmidler er gjort gjeldende i Norge, men har ingen kategorier som dekker fiskemel. Forordningen erstattet i sin tid Mattilsynets Mikrobiologiske Retningslinjer.

Selv om Mattilsynets tidligere retningslinjer er opphevet er de fortsatt et svært nyttig hjelpemiddel i forbindelse med utarbeidelse av egne kravspesifikasjoner. Det finnes også nasjonale retningslinjer fra land utenfor EU som kan være til hjelp, f.eks. New Zealands Microbiological Reference Criteria for Food (<https://www.mpi.govt.nz/dmsdocument/21185/direct>).

Kundekrav vil variere alt etter hva melet skal brukes til og hvordan det skal brukes.

Nedenfor er gitt et eksempel på produktspesifikasjon for fiskemel til humant konsum, utarbeidet på bakgrunn av regelbundne krav, kundekrav og ulike tilgjengelige retningslinjer (Tabell 6).

Tabell 6 Eksempel på produktspesifikasjon for fiskemel til humant konsum. De høye grensene kan være akseptable for de fleste anvendelser, mens de lave grensene passer sensitive konsumenter.

Analyseparameter	Lav grense	Høy grense
Salmonella	Ikke påvist	Ikke påvist
Aerobe mikroorganismer	10 000 KDE/g	500 000 KDE/g
Mugg og Gjær	100 KDE/g	1000 KDE/g
Koliforme bakterier/Enterobacteriaceae	10 KDE/g	100 KDE/g
<i>S. aureus</i>	10 KDE/g	100 KDE/g
<i>C. perfringens</i>	10 KDE/g	100 KDE/g
<i>B. cereus</i>	100 KDE/g	1000 KDE/g

For Salmonella er det alltid null-toleranse. For andre parametre er det oppgitt et intervall, der en kan bruke de høyeste grensene for de fleste aktuelle anvendelser og de laveste for sensitive anvendelser. En kan også ta hensyn til bruksmåte og velge lavere grenser om produktet skal konsumeres direkte enn om det skal varmebehandles før konsum.

Overskridelse av grenseverdi i en enkeltanalyse må ikke nødvendigvis få konsekvenser for partiet. En kan f.eks. vurdere å fravike et krav, gjennomføre kontrollanalyser eller omdisponere partiet. En overskridelse for sykdomsfremkallende bakterier (*S. aureus*, *C. perfringens*, *B. cereus*) skal tolkes strengere enn for indikatororganismer (Koliforme bakterier/Enterobacteriaceae) eller for de videste gruppene (aerobe mikroorganismer, mugg/gjær).

### 3.3 Tiltak ved påvisning av salmonella

#### 3.3.1 Forskriftskrav

Animaliebiproduktforskriften (FOR-2016-09-14-1064), artikkel 28, fastsetter følgende;

«Driftsansvarlige skal innføre, gjennomføre og opprettholde egenkontroll i sine virksomheter eller anlegg for å overvåke overholdelsen av denne forordning. De skal sikre at animalske biprodukter eller avledede produkter som mistenkes eller anses for ikke å være i samsvar med denne forordning, ikke forlater virksomheten eller anlegget, med mindre de skal disponeres». (Feil oversettelse, dispose er kassere, ikke disponere).

Matlovforskriften (FOR-2008-12-22-1620), artikkel 20, fastsetter følgende;

«Dersom en driftsansvarlig for et fôrforetak anser, eller har grunn til å tro, at et fôr som foretaket har importert, produsert, bearbeidet, framstilt eller distribuert, ikke oppfyller kravene til fôrtrygghet, skal vedkommende umiddelbart treffe tiltak for å trekke det berørte fôret tilbake fra markedet og underrette vedkommende myndigheter om dette. I disse tilfellene, og i tilfellet nevnt i artikkel 15 nr. 3, der et parti eller en forsendelse ikke oppfyller kravene til fôrtrygghet, skal fôret tilintetgjøres, med mindre vedkommende myndighet godtar en annen løsning. Den driftsansvarlige skal på en effektiv og nøyaktig måte opplyse brukerne av fôret om årsaken til at det trekkes tilbake, og om nødvendig trekke tilbake fra brukerne produkter som allerede er levert til dem, når andre tiltak ikke er tilstrekkelige til å oppnå et høyt helsevernivå».

Fôrvareforskriften (FOR-2002-11-07-1290)

Kapittel V, §11; «Når salmonella påvises i anlegg, produksjonsutstyr eller fôrvarer hos virksomheter som er godkjennings- eller registreringspliktige i henhold til fôrhygieneforskriften, skal virksomheten varsle Mattilsynet og iverksette nødvendige tiltak for å desimere forekomsten av salmonellabakterier».

Vedlegg 14-Salmonellakontroll; «Alle påvisninger av salmonella skal serotypes».

Vedlegg 14-Salmonellakontroll; «Alle analyseresultater skal til enhver tid være tilgjengelige for tilsynsmyndigheten og arkiveres i minst to år».

### **3.3.2 Tiltak etter påvisning**

I fiskemelindustrien gjennomføres forhåndskontroll, dvs. at bakteriologisk kontroll som er grunnlag for godkjenning av ferdigvarepartier utføres mens partiet er låst på fabrikkens lager. Kundevarsling og tilbaketrekking av produkter er derfor lite aktuelt.

Følgende tiltak må gjennomføres;

#### ***Varsling***

Ved påvisning av Salmonella i ferdigvarepartier eller produksjonsutstyr skal Mattilsynet varsles. Videre tiltak skal avtales med Mattilsynet.

#### ***Produksjonsstopp***

Vurderes i kontakt med Mattilsynet.

#### ***Isolering av kontaminert vare***

Bedriften skal isolere ferdigvarer som er kontaminert eller mistenkt for å være kontaminert. Ferdigvarer i tilknytning til påvisningsperioden analyseres for Salmonella for å fastlegge omfang.

#### ***Kartlegging av kontamineringskilder/årsaker***

Bedriften tar ut miljøprøver fra utsatte steder i anlegget for analyse.

#### ***Rengjøring***

Kontaminerte områder i produksjonsanlegget rengjøres og desinfiseres. Rengjøringseffekt dokumenteres ved analyse av beleggprøver og produksjonsprøve fra første produksjon etter ny oppstart. Hvilken dokumentasjon som skal benyttes, må avklares med Mattilsynet.

#### ***Dokumentasjon***

Skriftlig dokumentasjon av analyser, tiltak, prosedyrer, resultater etc. er vesentlig i kontakt med Mattilsynet. En kronologisk logg over tiltak, meldinger etc. mens saken pågår er nyttig hjelpemiddel.

#### ***Utvidet kontroll***

I etterkant av en påvisning vil Mattilsynet trolig pålegge bedriften utvidet Salmonellakontroll av ferdigvarer og miljø.

### **3.3.3 Behandling av kontaminert fiskemel**

Salmonella-kontaminerte fiskemelpartier kan ikke omsettes uten tillatelse fra Mattilsynet. Et kontaminert parti skal behandles på en slik måte at Salmonellabakterier ikke kan påvises ved ny

prøvetaking av partiet. De mest aktuelle behandlingsmetodene i stor skala er bruk av varme eller kjemiske midler.

### **3.3.3.1 Termisk dekontaminering (Rekondisjonering)**

Indirekte damptørker som benyttes i norsk fiskemelindustri i dag har roterende, damp-oppvarmede heteflater inne i en stillestående mantel. Tørkene har stor stoffylling, noe som medfører forholdsvis lang oppholdstid, minimum 30 minutter.

Tørkens heteflater tilføres damp kontinuerlig. Varmen overføres fra heteflatene til tørkegodset langs hele tørkens lengde. Varmetilførsel og heteflate-temperatur er tilnærmet konstant. Temperaturen i melet stiger raskt og vil ligge nær vannets kokepunkt så lenge det er fritt vann på og rundt partiklene og varmetilførselen er stor nok. Tilført varme går deretter i sin helhet med til å fordampe vann.

Indirekte damptørker benyttes til rekondisjonering av kontaminert fiskemel ved norske fabrikker. Disse tørkene har kapasitet til å drepe både Salmonella og mer varmeresistente sporer av Clostridium og Bacillus.

Metoden kan oppsummeres som følger;

- Fiskemelet føres via transportskrue til damptørke.
- Vann tilsettes i skruen til 30-40 % vann i melet. Mest mulig vann, uten at melet klumper seg.
- Damptørke kjøres ved normale betingelser, dvs et damptrykk på ca. 6 kg/cm<sup>2</sup>

I perioder med god råstofftilgang og begrenset plass på mellager, kan det være aktuelt å få dekontaminering utført ved eksternt anlegg, f.eks. Köster Marine Protein i Bremen, Tyskland.

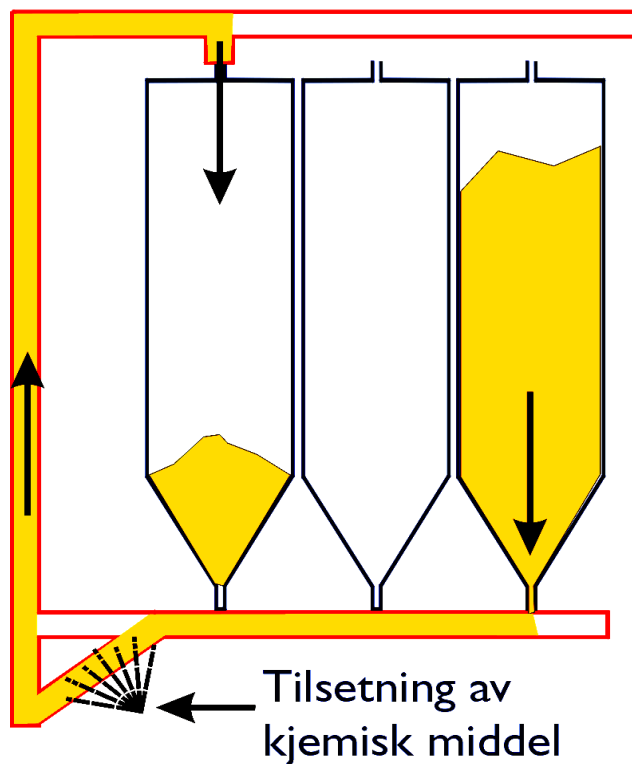
### **3.3.3.2 Kjemisk dekontaminering**

Det finnes flere kjemiske midler på markedet som er beregnet for å dekontaminere eller forebygge kontaminering av Salmonella. De fleste midlene består av organiske syrer og ulike hjelpestoffer. Formalinholdige midler er ikke lenger tillatt brukt til dette formål. Bruk av kjemiske tilsetningsstoffer skal avtales med Mattilsynet.

Nofima (SSF) har utført storskalaforsøk i samarbeid med en fiskemelfabrikk som demonstrerte at behandlingen rent praktisk lar seg gjennomføre på en silorekke uten større tekniske installasjoner.

Effekten av det testede maursyrebaserte middelet var positiv, men langsom. Det er muligheter for optimalisering av metoden mhp midlenes sammensetning, dosering, mm.

## Kjemisk behandling av infisert mel



Figur 25 Praktisk opplegg for kjemisk dekontaminering av mel. Kontaminert vare overføres fra en silo til en annen, mens kjemisk middel doseres fra spraydyser. Dysene monteres fortrinnsvis i et område med frittfallende varestrøm, for eksempel i fallrør til elevatorbunn.

## 4 Regelverk

Regelverk som er referert i rapporten:

Matlovforskriften (2008). Forskrift om allmenne prinsipper og krav i næringsmiddelregelverket (FOR-2008-12-22-1620)

Hentet fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2008-12-22-1620?q=FOR-2008-12-22-1620>

Fôranalyseforskriften (2020). Forskrift om fastsettelse av metoder for prøvetaking og analyse i forbindelse med offentlig kontroll av fôrvarer (FOR-2020-02-28-702)

Hentet fra: <https://lovdata.no/dokument/LTI/forskrift/2020-02-28-702>

Fôrvareforskriften (2002). Forskrift om fôrvarer (FOR-2002-11-07-1290)

Hentet fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2002-11-07-1290>

Animalie biproduktforskriften (2016). Forskrift om animalske biprodukter som ikke er beregnet på konsum (FOR-2016-09-14-1064)

Hentet fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2016-09-14-1064>

Biocidforskriften (2017). Forskrift om biocider (FOR-2017-04-18-480)

Hentet fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2017-04-18-480>

REGULATION (EC) No 648/2004 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 31 March 2004 on detergents

Hentet fra: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32004R0648&from=EN>

REGULATION (EC) No 1069/2009 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 21 October 2009 laying down health rules as regards animal by-products and derived products not intended for human consumption and repealing Regulation (EC) No 1774/2002 (Animal by-products Regulation)

Hentet fra: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32009R1069&from=en>

COMMISSION REGULATION (EU) No 142/2011 of 25 February 2011 implementing Regulation (EC) No 1069/2009 of the European Parliament and of the Council laying down health rules as regards animal by-products and derived products not intended for human consumption and implementing Council Directive 97/78/EC as regards certain samples and items exempt from veterinary checks at the border under that Directive

Hentet fra: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32011R0142&from=EN>

COMMISSION REGULATION (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs

Hentet fra: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32005R2073&from=EN>

