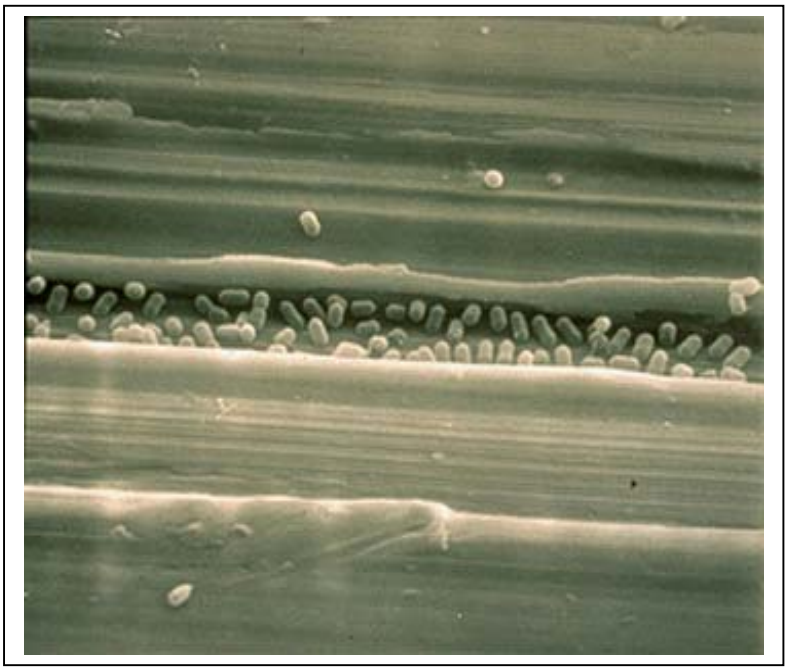
Rapport for FHF - prosjektet

NÆRINGSRETTET FORSKNING INNEN LISTERIA MONOCYTOGENES OG CLOSTRIDIUM BOTULINUM

September 2005



Kjersti Borlaug
Overingeniør / Cand. scient.
Molekylærbiologisk laboratorium
Nasjonalt institutt for ernærings og sjømatforskning
Tlf. 55 90 52 70

Sammendrag

Listeria monocytogenes er en problembakterie i næringsmiddelindustrien. Bakteriens evne til å etablere seg og overleve i næringsmiddelbedrifter er en stor og kontinuerlig utfordring.

Forekomst av *Clostridium botulinum* i sjømat, er lite undersøkt i Norge. På grunn av dens evne til å produsere kraftige giftstoffer under vekst i matvarer er det også viktig å foreta undersøkelser med henblikk på denne bakterien.

Målet med dette prosjektet var å undersøke eventuell forekomst av *L. monocytogenes* i tilvirkningsanlegg som produserer sjømat, samt å lokalisere problemområder, og se på hvorvidt bakteriestammene var såkalte ”husstammer” eller tilført utenfra. I tillegg ønsket man å foreta undersøkelser med henblikk på *C. botulinum* i produktene underveis i foredlingsprosessen. Fra de tre deltakende bedriftene ble det ytret et ønske om også å undersøke hvorvidt luften i lokalene inneholdt muggsopp og/eller aerosoler med *L. monocytogenes*.

Av totalt 656 prøver ble det påvist *L. monocytogenes* i 122. Dette utgjør 18,6 %. Hovedvekt av positive prøver ble isolert med svaber og var fra utstyr. Fra bedrift A ble det isolert *L. monocytogenes* i 16,1 % av i alt 217 prøver. Fra bedrift B ble 237 prøver analysert og bakterien ble påvist i 26,2 % av dem. 202 prøver fra bedrift C ble analysert og i 12,4 % av disse prøvene ble det påvist *L. monocytogenes*.

Det viser seg at problemet med *L. monocytogenes* ofte gjør seg gjeldene i forbindelse med utstyr som vanskelig lar seg demontere for vasking og desinfisering. I tillegg spres bakterien lett med utstyr og personell dersom inndeling av rene og urene soner ikke er god nok. For bedrifter som kjøper inn råvarer fra andre aktører, har det også vist seg viktig å kreve dokumentasjon på varens mikrobiologiske kvalitet før innkjøp.

Det ble ikke funnet *L. monocytogenes* i noen av luftprøvene, mens muggsopp ble funnet i alle bedriftene.

C. botulinum, ble ikke påvist i noen av de 85 prøvene som ble analysert.

INNHOLDSFORTEGNELSE

INNHOLDSFORTEGNELSE 2

1. INNLEDNING 3

2. MATERIALE OG METODER 4

2.1. PRØVEINNSAMLING 4

2.2. ANALYSER 4

2.3. RIBOPRINTING 5

3. RESULTATER 6

4. OPPSUMMERING / DISKUSJON 9

5. PLAN FOR VIDERE AKTIVITET 10

1. INNLEDNING

Bakteriene *Listeria monocytogenes* og *Clostridium botulinum* er ofte i fokus når temaet mikroorganismer i sjømat blir omtalt. I dette prosjektet er undersøkelser for begge organismer gjennomført.

L. monocytogenes kommer i en særstilling som problembakterie i sjømat. En rekke egenskaper gjør at bakterien representerer en spesiell utfordring i næringsmiddelindustrien. Bakterien vokser med og uten tilgang på oksygen, eksempelvis under vakuumering, og den har et vidt temperaturspekter. Bakterien er rapportert å vokse i området fra – 0,4 til + 50 °C, og den tåler frysing godt. Når det gjelder pH toleranse, er det beskrevet at bakterien kan vokse i området fra 5,0 til 9,6, men kan overleve i matvarer med pH verdier utover dette området. *L. monocytogenes* har også vist seg i stand til å vokse med opp til 13 - 14 % NaCl i mediet.

L. monocytogenes har vid utbredelse, og er blant annet påvist i ferskvann, sjøvann, jord, plantemateriale, kloakkslam, samt avføring fra symptomfrie dyr og mennesker. Sykdom forårsaket av *L . monocytogenes* kalles listeriose, og siden 1983 er en rekke matvarebårne tilfeller av denne sykdommen rapportert. Den mest utsatte gruppen er unge, eldre, gravide og deres foster. I nordisk sammenheng har dødeligheten variert fra 15 - 30 % ved sykdomsutbrudd. På verdensbasis ser forekomsten av listeriose ut til å være økende, noe som kan skyldes bedre diagnostikk og at antall personer i risikogruppen øker.

Når det gjelder *Clostridium botulinum*, har man tidligere funnet denne bakterien i både marine råvarer og prosessert sjømat. Bakteriens forekomst og utbredelse i sjømat her i landet er derimot lite undersøkt. Bakterien er vanlig i jord, sedimenter og vann. De fleste stammer av *C. botulinum* har evne til produsere kraftige giftstoffer under vekst i matvarer. Disse giftstoffene vil i verste fall kunne gi botulisme hos mennesker eller dyr, og har fått stor oppmerksomhet i risikovurderinger for mange matvarer.

Et av målene med dette prosjektet var å undersøke eventuell forekomst av *L. monocytogenes* i sjømatindustrien ved å lokalisere problemområder, og se hvorvidt bakteriestammene var såkalte ”husstammer” eller tilført utenfra. Som en følge av funn gjort i prosjektet, skulle man i samarbeid med industriaktørene diskutere hva som kunne gjøres for å minimere problemet.

Når det gjelder bakterien *Clostridium botulinum*, var målet å se om man fant denne bakterien på produktene i løpet av foredlingsprosessen i bedriftene. Resultatene kunne da senere bli brukt som et ledd i dokumentasjonen på matvaretrygghet for vakuumerte produkter.

Det var også et ønske fra bedriftene at det ble tatt prøver av luften i lokalene. Målet var da å finne ut hvorvidt produktene og personalet var eksponert for aerosoler med *L. monocytogenes*, og for mugg eller gjær.

2. MATERIALE OG METODER

2.1. PRØVEINNSAMLING

Tre bedrifter, heretter kalt A, B og C deltok i prosjektet. Bedriftene var ulike i både størrelse, oppbygning og sluttprodukt. Bedrift A og B hadde egne merder, hvor de mottok levende fisk og slaktet selv, mens bedrift C kjøpte ferdige fileter fra andre næringsaktører. Bedrift A og C røykte sine egne produkter, mens B ikke solgte røykeprodukter.

Alle bedriftene ble besøkt tre ganger. På første besøk ble det gitt en omvisning og en gjennomgang av plantegninger med representanter på bedriften. Basert på denne informasjonen ble prøvetakingspunkter bestemt.

Besøk nummer to ble gjennomført i oktober/november 2004. Dette var et prøveuttak hvor det ble hentet ut prøver til *Listeria monocytogenes* analyse.

Besøk nummer tre ble gjort i februar/mars 2005, og det ble da tatt prøver til både *L. monocytogenes* og *Clostridium botulinum* analyser.

I løpet av besøksperioden ble det også tatt prøver av luften, for å se om produktene og/eller personalet var eksponert for aerosoler med *L. monocytogenes* eller for mugg og gjærsopp.

I alle tre uttakene ble det tatt produkt-, miljø- og vannprøver på ulike steder i bedriftene. Produktprøver skulle analyseres etter både semikvantitativ- og kvalitativ *L. monocytogenes* metode. Produktprøver til semikvantitativ analyse besto av 25 gram prøve, mens 20 fisker ble svabret med to svabere til kvalitativ analyse. Produkt- og vannprøver til *C. botulinum* analysen besto hver av 25 gram. Miljøprøver skulle kun analyseres etter kvalitativ *L. monocytogenes* metode. Prøver ble derfor enten tatt ved å svabre hvert prøvepunkt med to svabere eller ved å benytte to tamponger i hvert prøvepunkt. Dette gjaldt spesielt for slukene. For vannanalyse ble sterile prøveflasker fylt med 500 ml vann eller tint is. Disse vannprøvene ble analysert etter kvalitativ metode.

2.2. ANALYSER

Listeria monocytogenes
I dette prosjektet ble til sammen 656 prøver analysert med hensyn på *Listeria monocytogenes* . De kvalitative analysene ble utført etter VIDAS *Listeria monocytogenes* 2 (VIDAS LMO2), AFNOR Bio-12/11-03/04. Denne analysen ble akkreditert ved NIFES i januar 2005.

Den semi-kvantitative analysen av produktene ble, med noen modifikasjoner, utført etter Nordisk metodikkommitté för livsmedel (NMKL), metode nr. 136, 3. utgave 2004, ”*Listeria monocytogenes*. Påvisande i levnedsmidler”. Forskjellene fra standardmetoden er bruk av halv Fraser og Fraser som anrikningsbuljonger, samt inkubering av buljongene ved 37 °C. Nevnte metode er ikke akkreditert ved NIFES, men alle analyser ble utført i overensstemmelse med vårt kvalitetssikringssystem.

Den kvalitative *L. monocytogenes* analysen går over flere trinn. Hver prøve ble først anriket i halv Fraser buljong ved 37 °C i 24 til 26 timer. 0,1 ml halv Fraser ble så overført til rør med 10 ml Fraser buljong og inkubert ved 37 °C i 24 til 26 timer. Deretter ble 0,5 ml prøve i Fraser buljongen overført til LMO2 strips som videre ble satt i Vidas instrumentet. Vidas instrument utførte så en automatisk enzymbundet fluoresens immunoassay. Basert på resultatet fra denne analysen, ble det fra de positive rørene med Fraser tatt ut prøve til utstryk på kromogent *Listeria* medium (OCLA), og til Oxford agar. Skålene ble inkubert aerobt ved 37 °C i 24 til 48 timer. Mistenkelige kolonier ble rendyrket på blodagarskåler og konfirmert ved hjelp av tester som hemolyse, gram-reaksjon, bevegelighetstest og oppsett på API-*Listeria*.

Til to tamponger ble det tilsatt 225 ml halv Fraser og til to svabere ble det tilsatt 100 ml halv Fraser. Volum på 500 ml vannprøve ble filtrert gjennom et 0,45µm membranfilter, filteret ble så overført til et sterilt beger og tilsatt 20 ml halv Fraser. Noen få vannprøver inneholdt for mye organisk materiale til at vi kunne sterilfiltrere prøvene og i disse prøveflaskene ble det i stedet plassert to tamponger.

Også den semikvantitative metoden er basert på en totrinnsanrikning. Prøver på 25 gram ble veid inn og tilsatt 90 ml halv Fraser. Deretter ble 10 ml (tilsvarende 1 gram prøve) overført til et nytt rør og en 10 folds fortynningsrekke ble laget i halv Fraser. Rørene ble så inkubert ved 37 °C i 24 -26 timer. 0,1 ml av hvert av rørene ble videre overført til rør med 10 ml Fraser og inkubert ved 37 °C i 24 til 26 timer. Fra hvert av rørene med Fraser ble det strøket ut prøve både på skåler med kromogent *Listeria* - og Oxford medium, med etterfølgende rendykning og videre biokjemiske analyse som under den kvalitative analysen.

Clostridium botulinum
Totalt ble 85 prøver analysert med hensyn på *Clostridium botulinum* etter en intern metode basert på Bacteriological Analytical Manual fra FDA i USA (www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-mm.html).

Prøver på 25 gram ble tilsatt 15 ml peptonvann og 35 ml sterilfiltrert absolutt etanol og inkubert ved romtemperatur i 1 time. Deretter ble 0,2 ml av prøven podet ut på to blodagarskåler og inkubert anaerobt ved 30 °C i 48 timer. For vannprøvene ble prøven filtrert og filteret lagt rett på en blodskål. Dersom det ble funnet kolonier ble de videre podet på nye blodskåler som ble inkubert både anaerobt og aerobt.

Luftesponering
En skål med Dichloran - Rose Bengal – Chloramphenicol agar (DRBC), som er spesifikt for mugg og gjær, og en agarskål med Oxford spesifikt for *Listeria* ble satt ut på bestemte prøvepunkter i lokalene. Mediene ble eksponert i 30 minutter. Oxford skålene ble inkubert ved 37 °C i 48 timer og DRBC skålene ved romtemperatur i 5 døgn.

2.3. RIBOPRINTING

Som et ledd i undersøkelsene ble isolerte stammer av *L. monocytogenes* nærmere identifisert ved Høgskolen i Telemark. Stammene ble analysert ved hjelp av instrumentet

RiboPrinter® Microbial Characterization System (Qualicon, Inc., Wilmingtton, Del.). Denne metoden involverer oppkutting av kromosomalt DNA ved hjelp av ensymet *Eco*RI, etterfulgt av Southern hybridisering med en *Escherichia coli* rnB rRNA operon probe. Resultatene man får ved en slik analyse kan senere sammenlignes med funn gjort i andre fiskeforedlingsbedrifter.

3. RESULTATER

Av totalt 656 prøver ble det påvist *L. monocytogenes* i 122. Dette utgjør 18,6 %. Hovedvekt av positive prøver ble isolert med svaber og var fra utstyr.

Fra bedrift A ble det analysert 217 prøver. I 35 (16,1 %) av disse prøvene ble det påvist *L. monocytogenes*. Bakterien ble ikke påvist i noen av de 30 produktprøvene analysert med semikvantitativ metode (a 25 g), mens den ble påvist i 1 av 17 (5,9 %) produktprøver analysert kvalitativt (svaber). I 33 (19,2 %) av 172 miljøprøver ble *L. monocytogenes* påvist.

Det ble analysert 237 prøver fra bedrift B. I 62 (26,2 %) av prøvene ble det påvist *L. monocytogenes* . Det ble ikke påvist i *L. monocytogenes* noen av produktprøvene analysert med semikvantitativ metode, men i 2 (10,5 %) av 19 produktprøver analysert ved hjelp av kvalitativmetode (svaber). *L. monocytogenes* ble derimot funnet i 60 (30,9 %) totalt 194 miljøprøver.

Fra bedrift C ble det tatt ut og analysert totalt 202 prøver. I 25 (12,4 %) av disse prøvene ble det påvist *L. monocytogenes.* I 3 (3,5 %) av 85 produktprøver analysert med semikvantitativ metode ble det påvist *L. monocytogenes,* 13 (61,9 %) av 21 produktprøver analysert kvalitativt fikk påvist *L. monocytogenes* (svaber). I 9 (9,4 %) av 96 miljøprøver ble det påvist *L. monocytogenes*. Resultatene fra den semikvantitative analysen viser at to av de 85 produktprøvene hadde et innhold på mer enn 1 koloni/gram, men mindre enn 10 kolonier/ gram prøve, mens den tredje prøven inneholdt mer enn 100 kolonier/gram, men mindre enn 1000 kolonier/gram prøve.

Etter å ha isolert alle *L. monocytogenes* stammene ble de karakterisert ved å se på forskjeller i artens ribosomale DNA. Til dette ble det benyttet en RriboPrinter®. Det ble totalt funnet 6 ulike ribogrupper. Fordeling av antall ribogrupper kan sees i tabell 1.

Tabell 1. Ribogrupper funnet i alle bedriftene

Ribogrupper	Tot. antall	Bedrift A	Bedrift B	Bedrift C
181-106-S-2	46	slakte- og filetavdelingen (delvis etablert)	slakteavdelingen (etablert)	Filetavdelingen (sporadisk)
181-106-S-3	35	filetavdelingen (etablert), pakkeavdelingen (sporadisk)	slakt-, filet- og fin avdelingen (sporadisk)	ikke funnet
181-107-S-2	16	filet - og finavdelingen (sporadisk)	hele bedriften, (sporadisk) finavdelingen (delvis etablert)	ikke funnet
181-107-S-3	3	filet - og finavdelingen (sporadisk)	ikke funnet	ikke funnet
181-108-S-1	25	ikke funnet	ikke funnet	hele bedriften (etablert)
181-109-S-6	1	pakkeavdelingen (sporadisk)	ikke funnet	ikke funnet

For alle bedriftene ble de samme ribogruppene funnet i begge uttakene. En ribogruppe går igjen hos alle bedriftene. Dette er ribogruppe 106-S-2 som man finner tidlig i produksjonsprosessen.

Bedrift A
Ribogruppe 106-S-3 ser ut til å ha etablert seg i bedriften på filetavdelingen. Denne stammen fant man igjen på pakkeavdelingen, hvor den da kan ha blitt transportert med utstyr eller personell. Ribogruppe 106-S-2 hadde også i til en viss grad etablert seg på slakt- og filetavdelingen, men var ikke transportert videre rundt i bedriften.

De andre ribogruppene som ble funnet var stammer som ikke hadde rukket å etablere seg, men som kan ha blitt transportert rundt med utstyr eller personell.

Bedrift B
Ribogruppe 106-S-2 så ut til å ha etablert seg på slakteavdelingen, men har ikke spredd seg videre i bedriften. Denne ribogruppen fant man i nær tilknytning til vakuumsugene på sløyemaskinene. Ribogruppe 107-S-2 derimot har spredd seg utover alle avdelingene i hele bedriften og ser ut til å ha etablert seg på finavdelingen. Dette er muligens en stamme som har fulgt med ved transport av utstyr og personell.

Bedrift C
Her fant man hovedsaklig en ribogruppe, 108-S-1. Den hadde spredd seg til alle avdelingene. Det er stor sannsynlighet for at denne stammen har kommet inn i bedriften med råvaren, spredt seg til alle avdelingene og dermed etablert seg i bedriften. Også i denne bedriften finner vi ribogruppe 106-S-2 på filetavdelingen, men da kun i en slukprøve.

Det ble analysert totalt 85 prøver for *Clostridium botulinum*. Ti av disse var vannprøver og de resterende var produktprøver. Det ble ikke funnet *C .botulinum* i noen av prøvene. Fordeling av produktprøvene fremgår av tabell 2.

Tabell.2. Oversikt over prøver tatt ut til *Clostridium botulinum* analyse i de tre bedriftene

Prøvetype	**Antall prøver**
Produktprøve av fersk råvare	15
Produktprøve av sløyet fisk	5
Produktprøve av fisk til sortering	5
Produktprøve til salting	5
Produktprøve av fisk som skal til røyk	10
Produktprøve av ferdig røykt produkt	5
Produktprøve som er gravet	5
Produktprøve etter sliceing	10
Produktprøve av vakuumert produkt	15
Isprøve	5
Utvanningsvann og vann fra tappepunkt	5
Totalt antall	85

Luftesponering
Det ble ikke funnet noe luftforurensning med *Listeria monocytogenes* i noen av bedriftene. Det ble derimot funnet mugg. Resultatene for bedrift B og C viser et høyere antall muggsopp på avdelinger hvor det brukes mye vann (sløye – og filet avdelingen). Dette er ulikt bedrift A, der man finner mer mugg på tørre områder slik som røyk – og fin avdeling. Generelt ble det funnet lite gjærsopp i bedriftene.

4. OPPSUMMERING / DISKUSJON

Etter ønske fra alle deltakerne i prosjektet ble det bestemt å kjøpe inn et instrument som skulle effektivisere den kvalitative *Listeria monocytogenes* analysen. Instrumentet er kalt mini Vidas® og utfører en automatisk enzymbundet fluoresens immunoassay. Teknologien sikrer nøyaktig resultat med høy sensitivitet og spesifisitet. Bruk av dette instrumentet gjorde at man tidlig i analysen kunne luke ut de negative prøvene og gå videre med isolering fra de positive prøvene. Dette var svært tidsbesparende. I tillegg har det visst seg at svabring av hele fisken gir større sjanse for kvalitativ påvisning av *L. monocytogenes* enn ved tradisjonell analyse hvor man veier inn 25 gram prøve.

Et av målene med dette prosjektet var å undersøke eventuell forekomst av *L. monocytogenes* i sjømatindustrien ved å lokalisere problemområder, og se på om hvorvidt bakteriestammene var såkalte ”husstammer” eller tilført utenfra. Derfor ble de isolerte *L. monocytogenes* stammene nærmere identifisert ved hjelp av ribotyping ved Høgskolen i Telemark. Hver stamme har et unikt mønster som framkommer ved ribotyping og på bakgrunn av dette mønsteret kan en fingruppere stammene, si noe om hvor de har etablert seg og hvordan de transporteres rundt i en bedrift.

Totalt ble 6 ulike ribogrupper funnet. På bakgrunn av fordeling av disse ribogruppene i de ulike bedriftene, kunne man kartlegge problemområdene og diskutere de utfordringene den enkelte bedrift hadde.

I bedrift A fant man kun en etablert stamme, men flere stammer som var transportert med utstyr eller personell. Den største utfordringen til denne bedriften vil derfor være å forbedre deres inndeling av rene og urene soner. I tillegg kan oppsamling av overskuddsvann med fiskerester bidra til å begrense eventuell spredning av bakterien med utstyr og personell.

Bedrift B har en *L. monocytogenes* stamme etablert i sløyemaskinene, nærmere bestemt i vakuumsugene. Sannsynligvis finnes det rester av organisk materiale/ biofilmer langt inne i rørene. Bedriftens største ufordring videre er å få kontroll på denne etablerte stammen og dette kan kun gjøres ved at vaskerutinene forbedres. Dessverre er ikke alltid slike sløyemaskiner og transportbånd tilrettelagt for en total nedvasking og desinfeksjon. For å hindre spredning av stammer med utstyr og eventuelt personell (krysskontaminering) må man også her gjennomgå inndelingen av rene og urene soner, og i større grad etterleve vedtatt inndeling.

I bedrift C fant man hovedsakelig en ribogruppe, som hadde spredd seg til alle avdelinger. Sannsynligheten for at det var den innkjøpte råvaren som var kilden til spredningen av *L. monocytogenes* i bedriften er stor. Bedriften sin råvareleverandør mottar selv fisk fra ulike steder i landet, men har nok fått den samme stammen kalt ribogruppe 108-S-1 etablert i sin egen bedrift. Nedvasking av bedriften med etterfølgende prøvetaking er å anbefale. Denne bedriften bør vurdere å kreve en dokumentasjon på den mikrobiologiske kvaliteten av råvarene før innkjøp.

Basert på resultatene fra alle bedriftene har man funnet at spyling av fisken under produksjon er effektiv i å hindre at bakterien sprer seg til utstyr, transportbånd og personale. En ulempe ved denne løsningen er ansamling av store mengder vann med organisk materiale på golvet og i sluker. Dette kan gi god grobunn for bakterier, og *L. monocytogenes* vil da lett kunne spre seg ved høytrykkspyling under rengjøring av lokalene.

To av bedriftene hadde vakuumsug på sine sløyemaskiner, noe som effektiviserer selve sløye-prossessen. På den andre siden vanskeliggjøres renholdet av maskinene, da utstyret vanskelig lar seg demontere for total rengjøring. Dette er en utfordring for både bedriftene og leverandørene for slikt utstyr.

Når det gjaldt *Clostridium botulinum,* var målet å se om man fant bakterien på/i produktene på ulike stadier i foredlingsprosessen i bedriftene. *C. botulinum* vil alltid tilføres utenfra, og den vil ikke kunne etablere seg i bedriftene på grunn av bakteriens krav til vekstvilkår, siden den bare vokser ved fravær av oksygen (anaerobe forhold). Totalt ble 85 prøver analysert, men bakterien ble ikke påvist i noen av dem. Disse resultatene kan senere bli brukt som et ledd i dokumentasjonen på matvaretrygghet for vakuumerte produkter.

Etter ønske fra bedriftene ble det tatt prøver av luften i lokalene. Målet var da å finne ut hvorvidt produktene og personalet var eksponert for aerosoler med *L. monocytogenes* og sporer av mugg/gjær. Det ble ikke funnet aerosoler med *L. monocytogenes* i noen av bedriftene, men det ble funnet muggsopp i alle bedriftene. I bedrift B og C ble den største andelen muggsopp funnet i fuktige områder. Hos bedrift A ble størst andel funnet på røykeavdeling og finavdeling, noe som er tørre områder i bedriften. Høy fuktighet skaper ofte god grobunn for mugg og gjærsopp. Nærmere analyser må taes for å se om dette var tilfeldige resultater.

Bruk av åpne skåler med spesifikt medium gir kun en indikasjon på mugg og gjærvekst. For å foreta en god test av luften bør en bruke en spesialdesignet luftprøvetaker. Faren for dannelse av soppgifter er stort sett et problem for tørre produkter, og mugg i fiskeindustrien er mer et estetisk problem.

5. PLAN FOR VIDERE AKTIVITET

I første omgang er videre aktivitet begrenset til sammenligning av de stammene man har isolert med funn gjort i andre fiskeforedlingsbedrifter ute i verden. Høgskolen i Telemark skal ved hjelp av et Ribotype-bibliotek i USA utføre dette søket. Videre skal NIFES i samarbeid med HiT bruke resultatene oppnådd i dette prosjektet i en eller flere publikasjoner.

Det er videre ønskelig å gjennomføre en ny gjennomgang av de tre deltagende bedriftene om ett år for å se om problemene med *Listeria* er redusert i identifiserte problemområder etter at anbefalte tiltak er iverksatt. Alle deltagende bedrifter er interessert i å delta i en slik oppfølgingsrunde.

Det hadde også vært nyttig å følge opp en enkelt bedrift hyppig gjennom ett år for å fange opp eventuelle årstidsvariasjoner med tanke på forekomst av *L. monocytogenes.* I tillegg vil det være av stor interesse å inkludere nye bedrifter med større geografisk spredning, for å se om noen *Listeria*-typer går igjen i ulike deler av landet. Man kunne også inkludert tilvirknings-anlegg for andre produkter enn de som er basert på laksefisk, f.eks. røkt hvitfisk.

En mer grunnforskningsrettet problemstilling vil være å undersøke om ribotyper som går igjen i mange bedrifter har spesielle egenskaper som gjør dem spesielt i stand til å kolonisere produksjonsmiljøene.

For alle aktivitetene forutsettes det at arbeidet med aktiv rådgivning basert på generert kunnskap i prosjektet videreføres.

Vi takker deltagende bedrifter og laboratoriepersonell ved NIFES og HiT for et meget godt samarbeid i prosjektperioden. Gjennom prosjektaktiviteten har både næringsaktører og deltagende institutter økt sin kompetanse innen det feltet som var dekket.