



Háskólinn
á Akureyri
University
of Akureyri

Sýkingavaldandi líffilmur við vinnslu á uppsjávarfiski

Ester Auðbjörnsdóttir

Viðskipta- og raunvísindasvið

Lokaverkefni til BS gráðu í líftækni

Auðlindadeild

Apríl 2019

Háskólinn á Akureyri

Viðskipta- og raunvísindasvið

Námskeið	LOK1126 og LOK1226
Heiti verkefnis	Sýkingavaldandi líffilmur við vinnslu á uppsjávarfiski
Verktími	Janúar – apríl 2019
Fyrirtæki	Matís ohf
Tengiliður	Þorsteinn Ingvarsson
Nemandi	Ester Auðbjörnsdóttir
Leiðbeinandi	Arnheiður Eypórsdóttir
Upplag	Rafrænt auk tveggja prentaðra eintaka
Blaðsíðufjöldi	35
Fjöldi viðauka	Enginn
Fylgigögn	Engin
Útgáfu- og notkunarréttur	Opið verkefni Verkefnið má ekki fjölfalda, hvorki í heild né að hluta til nema með leyfi höfundar

Yfirlýsingar

„Ég lýsi því hér með yfir að ég er höfundur þessa verkefnis og að það er afrakstur eigin rannsókna“

Ester Auðbjörnsdóttir kt. 3105943509

„Það staðfestist að verkefni þetta fullnægir að mínum dómi kröfum til prófs í námskeiðunum LOK1126 og LOK1226“

Arnheiður Eyþórsdóttir, leiðbeinandi og starfandi aðjúnkt við Háskólann á Akureyri

Abstract

The contamination of food exports has become a global challenge as it can have enormous negative effect on both public health and the economy. Food contamination is generally defined as foods that are spoiled and unfit for consumption, e.g. because they contain bacteria. As a result of bacteria being common in our environment, it can be difficult to keep them from foodstuff.

Some bacteria can form a biofilm which allows them to firmly attach themselves to surfaces. Because of this, it can be very difficult to eliminate the bacteria, e.g. by cleaning, which can cause a problem in the production of foodstuff.

The main aim of this project was to look at whether pathogenic biofilm-forming bacteria, such as Salmonella and Listeria, were to be found on the surface of machinery used in pelagic fish production. Two methods were used to take samples, one by wiping the surface with a cotton swab and the other by scraping the surface with a spatula. No pathogens were found although a non-pathogenic Listeria strain was identified on one sample spot. When the two Listeria samples were cultured there was only growth from the one that was scraped. Therefore, the possibility of a biofilm was discussed, and what can be done better to prevent one forming.

Keywords: Biofilm, pathogens, contamination, food industry, fish processing.

Þakkarorð

Í fyrsta lagi vil ég þakka leiðbeinandanum mínum, Arnheiði Eypórsdóttur, fyrir góða leiðsögn og ráðleggingar. Ég vil þakka Guðný Júlíönnu Jóhannsdóttur, kennara við HA, fyrir að gefa mér hugmynd að verkefninu ásamt því að vera alltaf til staðar þegar upp komu álitamál. Einnig vil ég þakka Stefáni Þór Eysteinsyni, starfsmanni Matís, fyrir ráðleggingar sínar og að hafa komið samstarfi mínu við Matís í kring því annars hefði aldrei neitt orðið úr verkefninu. Ég vil þakka Þorsteini Ingvarssyni og öðrum starfsmönnum Matís á Neskaupsstað fyrir mikla hjálp í verklega hlutanum og fyrir að svara spurningum sem upp komu. Ég vil þakka Karli Róbertssyni, gæðastjóra, fyrir hjálp sína, skjót svör, og leyfi til að taka sýni. Ég vil líka þakka Sean Michael Scully, aðjúnkt við HA, fyrir yfirlestur.

Síðast en ekki síst vil ég þakka fjölskyldu minni fyrir að hafa staðið við bakið á mér í náminu og þá sérstaklega Kristínu systur minni fyrir yfirlestur á verkefninu.

Eskifjörður, 7. apríl
Ester Auðbjörnsdóttir

Útdráttur

Mengun matvæla er alþjóðlegt vandamál. Í dag er útflutningur þeirra orðinn daglegt brauð og því getur sýktur matur valdið miklu tjóni út um allan heim, bæði heilsufars- og fjárhagslega. Þegar talað er um menguð matvæli er átt við að þau séu ekki hæf til neyslu vegna hættu á því að þau valdi sýkingum, t.d. sökum baktería.

Bakteríur finnast víða í umhverfinu. Þær eru í raun alls staðar í kringum okkur og því getur verið erfitt að halda þeim frá matvælum. Sumar bakteríur hafa þann eiginleika að geta myndað líffilmu sem gerir þeim kleift að festa sig mjög vel á yfirborði hluta. Því getur verið vandasamt að losna við bakteríuna, t.d. með þrifum, og getur það skapað stórt vandamál í matvælaíðnaði, sérstaklega ef bakterían er sýkingavaldur.

Í þessu verkefni var skoðað hvort sýkingavaldandi bakteríur sem geta myndað líffilmur, nánar tiltekið *Salmonella* og *Listeria*, leynist á yfirborði vinnslutækja sem notuð eru við vinnslu á uppsjávarfiski. Tekin voru sýni með tvennskona hætti; strokið var af yfirborði með bómullarpinna og skafið af yfirborði með spatúlu. Engar sýkingavaldandi bakteríur fundust, en meinlaus *Listeria* tegund greindist á einum sýnatökustað. Þegar sýni voru ræktuð myndaðist enginn vöxtur frá strokusýninu, heldur aðeins frá sýninu þar sem skafið var af yfirborði. Í verkefninu var því rætt um hvort möguleiki væri á því að þarna hafi verið um líffilmu að ræða og hvað mætti þá betur fara, m.t.t. þrifa og sýnatöku, til þess að tryggja gæði og ferskleika matvæla fyrir neytendur.

Lykilorð: Líffilma, sýkingarvaldar, mengun, matvælaframleiðsla, fiskvinnsla.

Efnisyfirlit

1. Inngangur	8
1.1 Mengun matvæla	8
1.2 Líffilmur	8
1.3 Sýkingavaldar í fiski.....	10
1.3.1 Vinnsluumhverfi uppsjávarfisks	10
1.3.2 Sjúkdómsvaldandi örverur í fiskiafurðum.....	11
1.3.3 <i>Listeria</i>	11
1.3.4 <i>Salmonella</i>	13
1.4 Tilgangur	14
2. Framkvæmd.....	15
2.1 Sýnataka	15
2.2 Örveruræktun	15
2.2.1 <i>Listeria</i>	15
2.2.2 <i>Salmonella</i>	16
3. Niðurstöður.....	17
3.1 <i>Listeria</i>	18
3.2 <i>Salmonella</i>	20
4. Umræður.....	22
4.1 <i>Listeria</i>	22
4.1.1 Lífefnafræðileg próf	22
4.1.2 Ef grunur leikur á <i>L. monocytogenes</i>	22
4.1.3 Sýnatökustaður 6	23
4.2 <i>Salmonella</i>	23
4.2.1 Lífefnafræðileg próf	23
4.3 Eftirlit og gæði	25
4.3.1 Sýnataka	26
4.4 Þrif og aðferðarfræði	26
4.4.1 Sápur og sóttreinsiefni.....	27
4.4.2 Yfirborð.....	28
4.4.3 Bakteríufagar	29
5. Lokaorð	30
6. Heimildir	31

Myndaskrá

Mynd 1: Sýnatökustaður 6	19
Mynd 2: Sýni 6.1 og 6.2 á MOX og OCLA	19
Mynd 3: API Listeria niðurstöður	20
Mynd 4: Dæmi um vöxt á XLD, sýni 1.1	22

Töfluskrá

Tafla 1: Sýnataka úr vinnslusal frystihúss.....	17
Tafla 2: Jákvæðar og neiðkvæðar (+/-) niðurstöður á Listeria.....	18
Tafla 3: Niðurstöður á Salmonella	20
Tafla 4: Vöxtur á XLD (+/-).....	21

1. Inngangur

1.1 Mengun matvæla

Þegar talað er um menguð matvæli er átt við að þau séu ekki hæf til neyslu vegna hættu á því að þau geti valdið sýkingum vegna örvera, eins og baktería og sníkjudýra, eða eiturefna (Hussain, M. A., 2016). Menguðum matvælum má skipta annars vegar í þau sem valda matarsýkingum og hins vegar þau sem valda matareitrunum, þar sem hið fyrrnefnda er algengara (Matís, 2012). Mismunandi örverur og eiturefni valda mismunandi sjúkdómum, sumir eru vægir en aðrir alvarlegir og geta leitt til dauða (Hussain, M. A., 2016). Þeir sem eru í aukinni áhættu fyrir því að verða alvarlega veikir eru þungaðar konur, ungabörn, eldra fólk og fólk með skert ónæmiskerfi (Food and Drug Administration, 2019).

Mengun matvæla er alþjóðlegt vandamál eins og Alþjóðaheilbrigðismálastofnun Sameinuðu þjóðanna, WHO, hefur bent á. Í dag er útflutningur á matvælum orðinn daglegt brauð og því getur sýktur matur valdið miklu tjóni út um allan heim, bæði heilsufars- og fjárhagslega. Í raun má segja að meirihluti af mannkyni heimsins hafi upplifað einhver heilsufarsþægindi á lífsleið sinni vegna sýktra matvæla eða drykkjarvatns. Aðstæður í heiminum eru mjög mismunandi og ýmis fátæk ríki eru ekki í stakk búin til að bregðast við faröldrum sem stafa af sýktum matvælum (Hussain, M. A., 2016).

1.2 Líffilmur

Bakteríur finnast víða í umhverfinu og eru í raun allsstaðar í kringum okkur. Þær fjölga sér mjög hratt og eru fljótar að aðlagast umhverfisbreytingum, t.d. með því að stökkbreytast. Því getur verið erfitt að halda þeim frá matvælum (a. Baron, 1996). Sumar bakteríur hafa þann eiginleika, að þegar upp koma erfið vaxtarskilyrði fyrir þær, þá mynda þær svokallaða líffilmu, eða biofilm. Filman gerir bakteríum kleift að festa sig mjög vel á yfirborð hluta og því getur verið mjög vandasamt að losna við þær. Gæti það bent til þess að ef

vaxtarskilyrði skerðast, t.d. með þrifum, að baktería myndi líffilmu svo ekki sé hægt að þrifa hana í burtu (Srey, S., Jahid, I. K. og Ha, S., 2013). Í þessari líffilmu leggst bakterían hálfpartinn í dvala og þegar rétt vaxtarskilyrði skapast fyrir hana aftur þá brýst hún fram (Matvælastofnun, 2017). Því þarf að hreinsa vinnslubúnað og umhverfi reglulega til þess að hindra myndun líffilmunnar, annars getur verið erfitt að losa sig við hana eftir að hún hefur náð að myndast (Birna Guðbjörnsdóttir o.fl., 2004).

Myndun og vöxtur líffilmunnar er flókið ferli sem fer eftir ýmsum þáttum. Þar á meðal um hvaða bakteríu er að ræða, næringarefni og hitastig umhverfis, yfirborð hlutarins sem hún vex á, svosem grófleika þess, pH gildi og vatnssækni/fælni þess. Það er því mikilvægt að vanda valið á framleiðslutækjum með tilliti til þessara þátta (Srey, S., Jahid, I. K. og Ha, S., 2013). Aðsog baktería á yfirborð er meðal annars háð hleðslu þeirra, Van der Walls kröftum og rafkröftum. Vatnsfælnar bakteríur eru taldar loða betur við yfirborð en vatnssæknar bakteríur (Birna Guðbjörnsdóttir o.fl., 2004).

Líffilmur eru aðallega úr fjölsykruríkum utanfrumuvökva ásamt frumum örverunnar. Vökvinn er um það bil 50-90% af filmunni sjálfri, en hlutfallið fer eftir aðstæðum og umhverfisþáttum, t.d. þeim sem nefndir voru hér að ofan. Í raun er því hver og ein líffilma einstök (Donlan, R. M., 2002).

Eitt lykilhlutverk líffilmunnar sem svar við erfiðum lífsgæðum er að styrkja samtengingu á milli fruma sem verður mikið sterkari en í hinu „venjulega“ umhverfi örverunnar. Þetta er því tilvalið umhverfi fyrir frumur til þess að skiptast á aukalitningum/erfðaefni. Þetta gæti stuðlað að auknum stökkbreytingum og þolmyndun gegn ýmsum umhverfisþáttum, þar á meðal sótthreinsiefnum og til eru dæmi um það (Donlan, R. M., 2002).

Líffilmur hafa einnig skapað mikil vandamál í stríðinu gegn þoli baktería við sýklalyfjum. Margt bendir til þess að líffilmur séu ein meginástæðan fyrir krónískum sýkingum, þar sem filman gerir bakteríunni kleift að leggjast í dvala og brjótast aftur fram þegar rétt skilyrði skapast, eins og nefnt var hér áður. Því er erfitt að meðhöndla þesskonar sýkingar með sýklalyfjagjöf (Høiby, N., Bjarnsholt, T., Givskov, M., Molin, S. og Ciofu, O., 2010).

Annað lykilhlutverk líffilmunnar sem svar við erfiðum lífsgæðum,

svosem næringarskortu, er að kveikja á genum sem svara áreiti og streitu (Fux, C. A., Costerton, J. W., Stewart, P. S. og Stoodley, P., 2005). Genin stjórna seytingu ensíma sem hjálpa til við að breyta samsetningu líffilmuvökvans í samræmi við umhverfisbreytingar. Þær bakteríur sem mynda líffilmur eru því mjög lífseigar. Bakteríur sem hafa svipur og bifhár eru taldar vera lífseigari en aðrar í líffilimum, þar á meðal *Listeria* og *Salmonella* (Kostakioti, M., Hadjifrangiskou, M. og Hultgren, S. J., 2013). Líffilmurnar geta m.a. notfært sér bifhár/svipur til að klifra eða mjaka sér ofan á aðrar líffilmur. Því geta líffilmurnar innihaldið mörg lög og orðið mjög þykkar, eða allt að 50 µm, sem getur orsakað það að erfiðara er að eyða þeim (Høiby, N. o.fl., 2010).

Hins vegar sýndu rannsóknir á líffilmumyndun sýkingavaldsins, *Listeria monocytogenes*, að hún festist best við ryðfrítt stál þegar umhverfishiti var 18-21°C (Birna Guðbjörnsdóttir o.fl., 2004). Það er athyglisvert þar sem svipuvöxtur *L. monocytogenes* er í hámarki við 20-25°C (Farber, J., M. og Peterkin, P., I., 1991).

1.3 Sýkingavaldar í fiski

1.3.1 Vinnsluumhverfi uppsjávarfisks

Uppsjávarfiskur sem unninn er á Íslandi er loðna, síld, makrill og kolmunni (Matís, 2019). Mengun örvera í sjávarafurðum, þar á meðal í uppsjávarfiski, er háð ýmsum þáttum eins og uppruna hráefnis, meðhöndlun þess, framleiðsluháttum, þökkunaraðferðum, flutningi, geymslu og síðast en ekki síst hreinlæti. Hvernig vinnsluumhverfi er háttað skiptir einnig mjög miklu máli, eins og hönnun á húsnæði og búnaði. Hagstæðast væri að hafa búnað sem auðvelt er að taka í sundur og þrifa, þar sem fiskurinn skilur eftir sig lífrænar leifar og tekur upp eða skilur örverur eftir í framleiðsluferlinu. Vinnsla á uppsjávarfiski er starfsemi þar sem mikið er um bleytu og raka og ef ekki er hugað nógu vel að þrifum er slíkt umhverfi kjörið fyrir örverur að fjölga sér og dafna (Birna Guðbjörnsdóttir, Lauzon, H. L., Sigrún Guðmundsdóttir og Guðjón Þorkelsson, 2004).

1.3.2 Sjúkdómsvaldandi örverur í fiskiafurðum

Sjúkdómsvaldandi örverum sem geta mengað fiskiafurðir má skipta í þrjá hópa eftir uppruna þeirra. „Þær sem eru í náttúrulegu umhverfi fiskiafurða: *Vibrio spp.*, *Clostridium botulinum* og *Aeromonas hydrophila*, þær sem eru af sauruppruna: *Salmonella spp.*, *pathogenic E. coli*, *Campylobacter spp.* og *Yersinia enterocolitica* og þær sem koma frá menguðu vinnsluumhverfi: *L. monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* og *Bacillus cereus*.“ Þetta eru þær sjúkdómsvaldandi örverur sem algengast er að leita að í íslenskum fiskiafurðum (Eva Yngvadóttir og Birna Guðbjörnsdóttir, 2007).

Í þessu verkefni verður einblínt á *Listeria* og *Salmonella*. Aðalástæðan er sú að þær geta valdið mjög skæðum sjúkdómum og geta báðar myndað líffilmur (Stepanović, S., Cirković, I., Ranin, L. og Svabić-Vlahović M., 2004).

1.3.3 *Listeria*

Listeria er gram jákvæð baktería þar sem sex mismunandi tegundir eru þekktar (Farber, J. M. og Peterkin, P. I., 1991). Þó eru aðeins tvær taldar valda sjúkdómum; *Listeria monocytogenes* og *Listeria ivanovii*. Mjög sjaldgæft er að einstaklingur veikist eftir að hafa innbyrt *L. ivanovii* en því er öfugt farið ef hann innbyrðir *L. monocytogenes*, en hún veldur einnig skæðari sjúkdómseinkennum (Guillet, C. o.fl., 2010).

Listeria finnst víða í náttúrunni, meðal annars í jarðvegi, plöntum, yfirborðsvatni, skólpi og í þörmum manna og dýra. Vegna þess hve útbreidd hún er, þá getur verið erfitt að koma í veg fyrir mengun af hennar völdum í matvælaíðnaði og hefur hún því átt sinn skerf sem sýkingarvaldur í matvælum (Farber, J. M. og Peterkin, P. I., 1991). Rannsóknir á tíðni *Listeria* og *Listeria monocytogenes* í matvælavinnslu, hráefnum og matvælum hérlendis hafa sýnt að bakterían er algeng í sjávarfangi og í vinnsluumhverfi sjávarafurða (Matís, 2012).

L. monocytogenes myndar ekki gró og er valfrjáls, en hún getur bæði vaxið við loftfirrðar og loftháðar aðstæður. Getur það verið mikill ókostur því þá er ekki hægt að nota loftþéttar umbúðir til að hamla vexti hennar.

Kjörhitastig hennar er um 30-37°C, en til eru dæmi um vöxt hennar alveg frá

-0,4-50°C (Farber, J. M. og Peterkin, P. I., 1991). *Listeria* er mjög þolin baktería og getur fjölgað sér á breiðu sýrustigsbili eða frá 4,1 upp í 9,6. Einnig getur hún fjölgað sér við allt að 10% saltstyrk og lifað af allt að 30% saltstyrk. Hitastig, sýrustig og saltstyrkur eru allt þættir sem notaðir eru í matvælum til að hamla vexti baktería og þar sem *L. monocytogenes* er mjög þolin gagnvart öllum þessum þáttum, þá er erfitt að halda vexti hennar í skefjum (a. Matvælastofnun, e.d.).

L. monocytogenes getur orsakað sjúkdóma bæði hjá mönnum og dýrum (Matvælastofnun, e.d.). Hún veldur sjaldan sjúkdómum hjá fullfrískum einstaklingum en þeir sem eru í aukinni hættu á að smitast eru eldra fólk, fólk sem neytir mikils áfengis, fólk með ónæmisskerðingu, ungabörn og fóstur. Meðgöngutími sýkingar, tími frá smiti til sjúkdómseinkenna, er yfirleitt um þrjár vikur en getur verið allt frá 3-70 daga. Við ífarandi sýkingar getur bakterían borist út í blóðið og valdið blóðsýkingu, en einnig sækir hún í miðtaugakerfið og leiðir það í þeim tilfellum til heilahimnubólgu. Einkenni eru oft lík flensueinkennum, þ.e. hiti, höfuðverkur, ógleði, uppköst og alvarleg blóðþrýstingsföll. Hjá fósturum sem sýkjast í móðurkviði getur sýkingin breiðst út til margra líffæra og fylgja því afar slæmar horfur. Barnshafandi konur eru gjarnan einkennalausar eða með vægan hita en samt sem áður getur sýkingin leitt til fyrirburafæðingar eða fósturláts (Embætti landlæknis, 2018).

Dánartíðni þeirra sem veikjast er mjög há, eða um 20-30%. Um 2-10 manns á hverja eina milljón íbúa sýkjast á ári hverju í Evrópu og Norður-Ameríku. Minnihlutahópurinn sem nefndur var áðan, þ.e. þeir sem eru í aukinni áhættu á því að verða alvarlega veikir, eru með mikið hærri dánartíðni, eða um 75% (Eva Yngvadóttir og Birna Guðbjörnsdóttir, 2007). Á undanförunum 20 árum á Íslandi hefur að meðaltali greinst eitt tilfelli á ári, en dreifingin er mjög ójöfn á milli ára. Óvenju margir, eða sjö einstaklingar, greindust með sýkingu af völdum *Listeria* árið 2017. Fjórir af þessum sjúklingum létust, þrír þeirra voru aldraðir einstaklingar með undirliggjandi sjúkdóma og einn þeirra ungabarn (a. Embætti landlæknis, 2017).

1.3.4 *Salmonella*

Til eru tvær tegundir af *Salmonella*; *Salmonella bongori* og *Salmonella enterica*. Sú seinni hefur sex undirtegundir en sú fyrri engar. *Salmonella* er síðan skipt niður í 2600 mismunandi sermigerðir sem annaðhvort geta valdið taugaveiki eða ekki (MacKenzie, K. D., Palmer, M. B., Köster, W. L. og White, A. P., 2017). Einkenni taugaveiki eru meðal annars heilahimnu- og heilabólgur, geðhvörf, flogaveiki, minnisleysi og heilapoka (Sejvar, J. o.fl., 2012).

Salmonella á uppruna sinn í meltingarvegi dýra, t.d. í búfénaði, villtum dýrum, nagdýrum, fuglum, skriðdýrum og skordýrum. Hún kemst síðan í jarðveg og vatn með saur og finnst því víða í náttúrunni. *Salmonella* er valfrjáls og getur því vaxið bæði við loftfirrðar og loftháðar aðstæður (b. Matvælastofnun, e.d). Hún er gram neikvæð og hefur svipur á yfirborði sínu (b. Baron, S., 1996). Kjörhitastig hennar er um 37°C en hún getur vaxið við 5-47°C. Hún er hitanæm og deyr við 70°C. Kjörsýrustig hennar er pH 7,0 og hún getur vaxið í matvælum með allt að 8% saltinnihaldi, auk þess sem hún getur lifað af þurrkun. Það ætti því að vera aðeins auðveldara að halda vexti *Salmonella* í skefjum en vexti *Listeria* og þannig er hægt að nýta sér þessa þætti til að hamla vexti hennar í matvælaframleiðslu (b. Matvælastofnun, e.d.).

Salmonella-sýkt dýr sýna sjaldan einkenni og eru því í flestum tilvikum frískir smitberar. Sýklarnir berast með saur eða þvagi með ýmsum leiðum og komast þannig inn í fæðukeðju mannsins (b. Matvælastofnun, e.d.). Helstu sjúkdómseinkenni *Salmonella*-sýkingar eru niðurgangur, ógleði, uppköst, kviðverkir og hiti. Meðgöngutími sýkingarinnar er yfirleitt um 1-3 dagar en getur verið allt frá 6 klst upp í 10 daga. Í alvarlegum tilfellum, ef bakterían kemst út í blóðið, getur hún valdið sýkingum í líffærum utan meltingarfæra, t.d. í hjarta og æðakerfi, milta, lifur og gallgöngum (Embætti landlæknis, 2017). Eftirköstin geta verið liðagigt, bólgur í hjartavöðva og sjúkdómar í taugakerfi (b. Matvælastofnun, e.d.).

Eftir veikindi er algengast að einstaklingar séu smitberar, allt frá nokkrum vikum upp í mánuði. Hinsvegar hafa fundist dæmi þar sem sýktir einstaklingar gerast krónískir berar og þá má oft finna *Salmonella* í saur þeirra alla lífsævi þeirra (Boyle, E. C., Bishop, J. L., Grassl, G. A. og Finlay, B. B.,

2007). Einnig er algengt að *Salmonella* taki sér bólfestu í gallblöðru og þar myndar hún oft líffilmu utan um gallsteinna (MacKenzie, K. D. o.fl., 2017).

Sýkingarhættan er háð aldri neytandans, afbrigði *Salmonella* og tegund þeirra matvæla sem eru sýkt (b. Matvælastofnun, e.d.). Sýkingin getur valdið dauða og þá yfirleitt hjá einstaklingum með lélegt heilsufarsástand og skert ónæmiskerfi. *Salmonella enterica* sermigerð *typhi* getur t.d. valdið taugaveiki sem er lífshættuleg og er algeng í hitabeltislöndum (Lyfja, e.d.). Á heimsvísu er talið að *Salmonella* valdi um 145.000 dauðsföllum árlega. Samkvæmt embætti landlæknis eru staðfestar greiningar á sýklafræðideild Landspítalans á árunum 1997-2015 1908 tilfelli eða um 106 tilfelli á ári (b. Embætti landlæknis, 2017). Árið 2016 greindust fjórir einstaklingar með taugaveikisbróður sem svipar til taugaveiki en er yfirleitt vægari (a. Embætti landlæknis, 2017).

1.4 Tilgangur

Í þessu verkefni verður skoðað hvort sýkingarvaldandi bakteríur sem geta myndað líffilmur, nánar tiltekið *Salmonella* og *Listeria*, leynist á yfirborði vinnsluvéla sem notuð eru við vinnslu á uppsjávarfiski með lífefnafræðilegum prófum. Ef svo er, hvort betur megi fara m.t.t. til þrifa og sýnatöku innra eftirlits.

2. Framkvæmd

2.1 Sýnataka

Sýnatökuglös, 26 talsins, voru merkt svo hægt væri að greina þau í sundur. Í hvert glas var pípettað 20mL af peptone saline þynningarvatni. Sýnatökustaðir voru valdir m.t.t. framleiðsluferlis fisksins og reynt var að velja staði sem fiskurinn kemst í snertingu við. Einnig var tekið tillit til mismunandi útlits og gerð yfirborðs. Tekin voru 2 mismunandi sýni frá 13 stöðum í vinnslusal frystihúss þar sem uppsjávarfiskur er unninn, alls 26 sýni. Á hverjum sýnatökustað var tekið eitt strokusýni með bómullarpinna og annað þar sem skafið var af yfirborði með spatúlu. Brotið var af bómullarpinnanum ofan í sýnatökuglösinn, en spatúlunni var dýft ofan í þynningarvatnið í glösunum. Hún var dauðhreinsuð fyrir og eftir sýnatöku. Sýnatökuglösinn voru síðan látin standa í u.þ.b. sólarhring, eða 22,5 klst, við stofuhita.

Á öllum sýnatökustöðum var gerð yfirborðs og útlit skráð, ásamt því hvort það var blautt, þurrt eða rakt. Hitastig sýnatökustaða var mælt með lasergeisla og mynd tekin af þeim.

2.2 Örveruræktun

Við gerð allra æta var farið eftir gæðahandbók Matís um ætauppskriftir og var úrvinnsla sýna unnin á rannsóknarstofu þeirra á Neskaupsstað. Öll æti voru frá Sigma-Aldrich.

2.2.1 *Listeria*

Í 26 mismunandi tilraunaglös var pípettað 10mL af Fraser Broth, eða F1, fljótandi forræktunaræti fyrir *Listeria* ásamt 1mL af viðeigandi sýni. Glösin voru merkt og sett í ræktun við 35°C í 24 klst. Lesið var af glösum með því að skoða litabreytingar og niðurstöður skráðar.

Í önnur 26 sýnaglös var pípettað 10mL af Fraser Broth, eða F2, fljótandi forræktunaræti fyrir *Listeria* ásamt 0,1mL úr viðeigandi F1 sýnaglas. Glösin voru merkt og sett í ræktun við 37°C í 48 klst. Úr hverju F1 tilraunaglas var einnig sáð á tvennskonar agar, Modified Oxford Agar Base,

eða MOX, og Chromogenic *Listeria* Agar, eða OCLA, með lykkju. Allar 52 agarskálar voru settar í ræktun við 37°C í 48 klst. Eftir tveggja sólarhringa ræktun var lesið af MOX, OCLA og F2. Tekin var mynd af agarskálunum sem bentu til þess að vera jákvæðar fyrir *Listeria* og niðurstöður skráðar.

Þær kólóníur sem bentu til þess að vera *Listeria* voru prófaðar með sérhæfðu API prófi fyrir *Listeria*. Prófið inniheldur 10 mismunandi lífefnafræðileg próf sem hægt er að lesa út úr m.t.t. viðbragða þeirra.

2.2.2 *Salmonella*

Í 26 mismunandi tilraunaglös var pípettað 10mL af Buffered Peptone Water, eða BPW, fljótandi forræktunaræti fyrir *Salmonella* ásamt 1mL af viðeigandi sýni. Glösin voru merkt og sett í ræktun við 37°C í 24 klst.

Í 26 mismunandi sýnaglös var pípettað 1mL af Tetrathionate Broth, eða TT, ásamt 0,1mL af kalíumjodlausn, [1,7M] I₃K. Í hvert glas var síðan pípettað 1mL úr viðeigandi BPW glasi. Í önnur 26 sýnaglös var pípettað 1mL Rappaport-Vassiliadis Enrichment Broth, eða RV, ásamt 0,1mL úr viðeigandi BPW sýnaglasi. RV og TT glösin, alls 52, voru ræktuð við 37°C í 24 klst.

Úr öllum sýnaglösunum var sáð með lykkju á Bismuth Sulfít Agar, BS, og Xylose Lysine Deoxycholate Agar, XLD. Allar 104 agar skálarnar voru settar í ræktun við 37°C í 48 klst. Lesið var af skálunum og niðurstöður skráðar. Svartar kólóníur þurfa að myndast á BS og XLD til að sýnt sé fram á að um *Salmonella* sé að ræða.

3. Niðurstöður

Tafla 1: Sýnataka úr vinnslusal frystihúss. Sýni sem tekin voru með bómullarpinna eru merkt .1 og þau sem tekin voru með spatúlu merkt .2

Sýni nr.	Sýnatökustaður	Yfirborð	Hitastig (°C)
1.1 og 1.2	Færiband inni í flökunarvél nr. 2	Málmur, slétt, rakt	16,4
2.1 og 2.2	Færiband inni í flökunarvél nr. 2	Plastefni, slétt með holum, þurrt	15,0
3.1 og 3.2	Þar sem fiski er raðað eða hann skammtaður inná flökunarvél nr. 4	Gúmmíefni, gróft, þurrt	16,6
4.1 og 4.2	Inni í flökunarvél nr. 4	Málmur, slétt, þurrt	15,4
5.1 og 5.2	Vír tengdur færibandi í flökunarvél nr. 6	Gúmmíefni, slétt, þurrt	17,2
6.1 og 6.2	Innan í varnarhlíf flökunarvélar nr. 6	Málmur, slétt, þurrt	16,0
7.1 og 7.2	Vigt við flokkara	Málmur, slétt, þurrt	18,2
8.1 og 8.2	Aðalfæriband sem tekur við fiski frá öllum flökunarvélum	Plastefni, slétt með holum, þurrt	17,0
9.1 og 9.2	Færiband inni í flökunarvél nr. 9	Málmur, slétt, rakt	17,2
10.1 og 10.2	Færiband sem tekur við aðalfæribandi og flytur fisk að pokavél	Plastefni, slétt með holum, þurrt	17,2
11.1 og 11.2	Pokavél	Málmur, slétt, þurrt	17,2
12.1 og 12.2	Færiband inni í flökunarvél nr. 7	Plastefni, slétt með holum, þurrt	15,8
13.1 og 13.2	Stjórn/takkaborð á flökunarvél nr. 9	Málmur, slétt, þurrt	18,1

3.1 *Listeria*

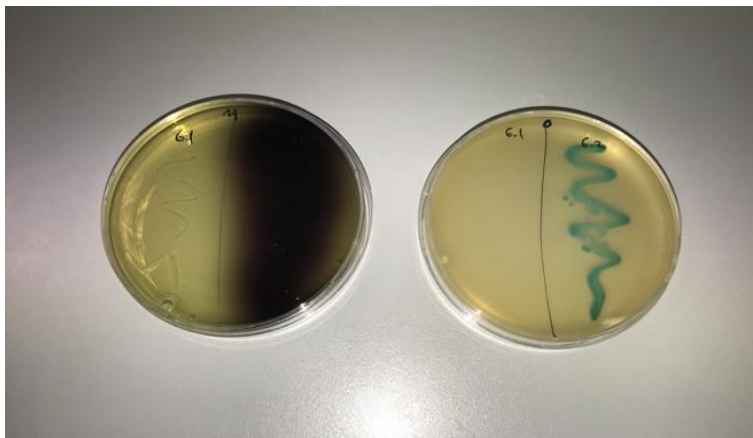
Tafla 2: Jákvæðar og neiðkvæðar (+/-) niðurstöður á *Listeria*

Sýni nr.	F1	F2	MOX	OCLA
1.1	-	-	-	-
1.2	-	-	-	-
2.1	-	-	-	-
2.2	-	-	-	-
3.1	-	-	-	-
3.2	-	-	-	-
4.1	-	-	-	-
4.2	-	-	-	-
5.1	-	-	-	-
5.2	-	-	-	-
6.1	-	-	-	-
6.2	+	+	+	+
7.1	-	-	-	-
7.2	-	-	-	-
8.1	-	-	-	-
8.2	-	-	-	-
9.1	-	-	-	-
9.2	-	-	-	-
10.1	-	-	-	-
10.2	-	-	-	-
11.1	-	-	-	-
11.2	-	-	-	-
12.1	-	-	-	-
12.2	-	-	-	-
13.1	-	-	-	-
13.2	-	-	-	-

Aðeins eitt sýni benti til þess að um væri að ræða *Listeria*. Eins og sjá má á töflu 2 og mynd 1 var það sýni 6.2 sem tekið var af sýnatökustað 6.



Mynd 1: Sýnatökustaður 6



Mynd 2: Sýni 6.1 og 6.2 á MOX (←) og OCLA (→)

Lesið var út úr API *Listeria* prófinu samkvæmt leiðbeiningum sem því fylgdu. Notuð voru tvö próf, í eitt prófið fór kólónía af MOX agarnum og í annað kólónía frá OCLA agarnum. Um sama sýnið var að ræða, sýni 6.2. Samkvæmt því var um *Listeria innocua* að ræða.



Mynd 3: API *Listeria* niðurstöður

3.2 *Salmonella*

Við aflestur á XLD og BS skálunum reyndist engin þeirra vera jákvæð fyrir *Salmonella*. Til að þau séu jákvæð þurfa kólóníurnar sem myndast að vera svartar.

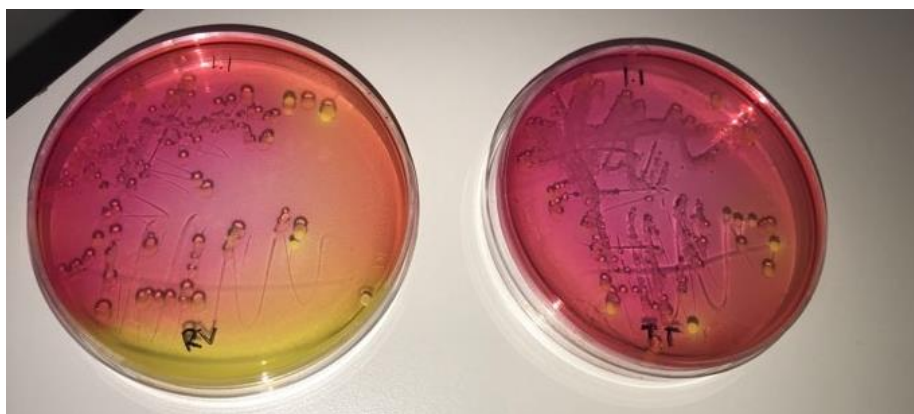
Tafla 3: Niðurstöður á *Salmonella*

Sýni nr.	BS	XLD
1.1	-	-
1.2	-	-
2.1	-	-
2.2	-	-
3.1	-	-
3.2	-	-
4.1	-	-
4.2	-	-
5.1	-	-
5.2	-	-
6.1	-	-
6.2	-	-
7.1	-	-
7.2	-	-
8.1	-	-
8.2	-	-
9.1	-	-
9.2	-	-
10.1	-	-
10.2	-	-
11.1	-	-
11.2	-	-
12.1	-	-
12.2	-	-
13.1	-	-
13.2	-	-

Hinsvegar var mikill örveruvöxtur á XLD agarnum frá átta mismunandi sýnum, en enginn á BS. Flestar kólóníurnar voru gular og glær-hvítar á litinn í bland. Allar gulu kólóníurnar voru blautar.

Tafla 4: Vöxtur á XLD (+/-)

Sýnir nr.	XLD	
	TT	RV
1.1	+	+
1.2	-	-
2.1	-	-
2.2	-	-
3.1	-	-
3.2	+	-
4.1	-	-
4.2	-	-
5.1	-	-
5.2	+	+
6.1	+	+
6.2	+	+
7.1	-	-
7.2	-	-
8.1	-	-
8.2	+	+
9.1	-	-
9.2	-	-
10.1	-	-
10.2	-	-
11.1	+	+
11.2	-	-
12.1	-	-
12.2	-	-
13.1	-	-
13.2	-	-



Mynd 4: Dæmi um vöxt á XLD, sýni 1.1

4. Umræður

4.1 *Listeria*

4.1.1 Lífefnafræðileg próf

Út í forræktunarætin F1 og F2 var bætt við járnlausninni Ferric ammonium citrate. Í Fraser ætunum er efnið esculin sem allar *Listeria* tegundir mynda vatnsrof við. Járnjónirnar í járnlausninni skynja vatnsrofið og þá kemur fram svartur litur. Því er hægt að sjá frekar fljótt hvort um *Listeria* sé að ræða (Neogen, e.d.). Aðeins eitt sýni myndaði svartan lit í forræktunarætinum báðum, en það var sýni 6.2. Það ætti því að vera nokkuð öruggt að fullyrða að í sýninu sé *Listeria*, en alltaf þarf frekari staðfestingu og því var sáð á MOX og OCLA.

Á MOX er um svipaða verkun að ræða og í Fraser ætinu. Ef um *Listeria* sé að ræða ættu að myndast svartar kólóníur en grænar á OCLA. Eitt sýni reyndist jákvætt fyrir *Listeria*, sýni 6.2, eins og Fraser seyðið benti til. Sjá má mynd 2 í niðurstöðum. Grænu kólóníurnar á OCLA ætinu mynduðu ekki glæra eyðu í kringum kólóníur sínar, en einu *Listeria* tegundirnar sem hafa þann eiginleika eru sjúkdómavaldarnir *L. monocytogenes* og *L. ivanovii* (a. Oxoid Limited, e.d.).

Til að tegundagreina *Listeria* var notað sértækt API *Listeria* próf. Það innihélt 10 mismunandi lífefnafræðileg próf þar sem horft var á litabreytingar. Hins vegar, eins og gert var í þessari rannsókn, er API *Listeria* próf ekki öruggasta leiðin til tegundagreiningar. Best er að senda sýni í raðgreiningu. Ef grunur leikur á að um sýkingavaldandi *Listeria* sé að ræða eru sýni send beint á Landspítalann í tegundagreiningu/raðgreiningu frá rannsóknarstofunum (Þorsteinn Ingvarsson, munnleg heimild, 25. febrúar 2019). Þá er erfðaeefni sýna borið saman við gagnabanka og tegundagreint út frá niðurstöðum þess.

4.1.2 Ef grunur leikur á *L. monocytogenes*

Ef *L. monocytogenes* greinist yfir viðmiðunarmörkum, eða yfir 100 kólóníur á eitt gramm (Reglugerð um örverufræðileg viðmið nr. 135/2010), eiga fyrirtækin að bregðast við, m.a. með því að innkalla matvælin og upplýsa eftirlitsaðila (Matvælastofnun). Einnig þarf að fara vel yfir alla framleiðsluferla til að greina orsök og uppruna mengunarinnar ásamt því að

þrífa og sótthreinsa framleiðslu- og tækjabúnað fyrirtækisins sem og húsnæðið. Sannprófa þarf þrifin með sýnatökum úr framleiðsluumhverfi. Auka á sýnatökutíðnina tímabundið, eða þar til búið er að finna orsök og umfang mengunarinnar (Matvælastofnun, 2017).

4.1.3 Sýnatökustaður 6

Sýni voru tekið af varnarhlíf einnar flökunarvélar í uppsjávarfiskvinnslusal, sem sjá má á mynd 1 í niðurstöðum. Búið var að taka hana af og lá hún ofan á færiband sem tilheyrði vélinni. Af sjónskoðun að dæma leit hún út fyrir að vera illa þrifin. Tekin voru, eins og nefnt hefur verið áður, tvö sýni frá þessum stað. Eitt með bómullarpinna sem merkt var 6.1 og annað með spatúlu sem merkt var 6.2. Enginn *Listeria* vöxtur kom frá sýni 6.1, sem gæti mögulega bent til þess að um líffilmu hafi verið að ræða.

Hægt var að sjá greinilegar lífrænar leifar á yfirborði varnarhlífarinnar. Það er líklegasta skýringin á því að á henni óx *Listeria*, þ.e aðild að næringarefnum. Mögulegt er að *Listeria* sé einmitt upprunnið frá þessum lífrænu leifum sem ég myndi giska á að væru af fiski. Hitastig yfirborðsins var mælt 16°C, sem er fjarri því að vera kjörhitastig *Listeria* og fjarri því hitastigi þar sem svipuvöxtur hennar er í hámarki. Einnig var yfirborðið slétt en ekki gróft/rákótt, en algengara er að bakteríur myndi líffilmur á grófu yfirborði en sléttu, eins og nefnt var í inngangi. Enginn sjáanlegur raki var á yfirborðinu.

4.2 *Salmonella*

4.2.1 Lífefnafræðileg próf

BPW og RVS eru sértæk forræktunaræti fyrir *Salmonella* og í þeim ætti hún að geta vaxið hratt og auðveldlega (Þorsteinn Ingvarsson, munnleg heimild, 25. febrúar 2019).

Í XLD agarnum er Xylosi, en *Salmonella* getur gerjað hann. Til að greina hana frá öðrum bakteríum sem einnig gerja xylosa, eins og t.d. shigella, er lysine bætt í ætið. Með því að notfæra sér xylosann getur *Salmonella* fjarlægð karboxýl hópinn af lysíninu og við það hækkar sýrustigið í ætinu. Við herra sýrustig ættu svartar kólóníur að myndast (c. Oxoid Limited, e.d.). Af þessu að dæma voru örverurnar sem uxu á ætinu því ekki *Salmonella*. Örverur

sem gerja xylosann, eru lysine decarboxylase neikvæðar, ásamt því að gerja ekki laktósa né súkrósa, mynda gular kólóníur. Dæmi um örverur sem mynda gular kólóníur á XLD eru *Citrobacter spp.*, *Proteus spp.* og *Escherichia coli* (b. Hardy diagnostics, e.d.). Í ætinu er samt Natríum desoxycholate sem ætti að takmarka kólígerlavöxt (c. Oxoid Limited, e.d.).

Í BS er brilliant green litur sem virkar eins og hamlandi efni gegn vexti á gram jákvæðum bakteríum og gram neikvæðum bacilli öðrum en *Salmonella*. Einnig er í því Sulfatdiazinlausn, en *Salmonella* myndar H₂S við niðurbrot á sulfati, sem minnkar pH gildi agarsins og svartar kólóníur ættu að myndast. Aðrar örverur, sem gerja laktósa og súkrósa, mynda gular eða grænar kólóníur. Sulfatdiazinlausnin er einnig notuð til að hamla vexti annarra baktería en *Salmonella* og hafa svipaða virkni og sulfalyf (a. Hardy diagnostics, e.d.).

Hefði það bent til þess að *Salmonella* væri að finna í sýnum, væri næsta skref því til staðfestingar m.a. að setja sýni í Triple Sugar Iron Agar (TSIA) og Lysine Iron Agar (LIA). Þá er hægt að gera greinaskil á milli örvera sem gerja laktósa, súkrósa og glúkósa og framleiða vetnis sulfíð, sem er svipuð verkun og BS agarinn (b. oxoid limited, e.d.). Til að staðfesta að um *Salmonella* mengun sé að ræða er hægt er að gera svokallað kekkjunarpróf (Wellcolex), þar sem aðeins *Salmonella* ætti að mynda kekki. Hinsvegar er þessu skrefi oftast sleppt og sýnið sent á Landspítalann í tegunda/raðgreiningu sé þess óskað af hálfu matvælafyrirtækis (Þorsteinn Ingvarsson, munnleg heimild, 25. febrúar 2019).

4.2.2 Ef grunur leikur á *Salmonella*

Aðallega er fylgst með *Salmonella* í fiskimjöli en ekki endilega í vinnslu á uppsjávarfiski. Það er þó alvarlegra mál ef *Salmonella* finnst í matvælum frekar en í mjöli, en það er ekki til manneldis. Hins vegar eru framleiðslustarfsmenn í hættu á smiti og þeir sem meðhöndla vöruna í framleiðsluferlinu (b. Matvælastofnun, e.d.).

Ef grunur er um *Salmonella* á viðkomandi rannsóknarstofa að tilkynna það strax símleiðis til sendanda sýnis og viðkomandi sérgreinadýralæknis. Í beinu framhaldi þarf að grípa til viðeigandi aðgerða til að koma í veg fyrir frekari smit. Ekki er víst að alltaf sé óskað eftir týpugreiningu á *Salmonella* að

hálfu sendanda sýnis, en allar sermigerðir valda sjúkdómum (b. Matvælastofnun, e.d.).

4.3 Eftirlit og gæði

Mengunarvaldar geta komist í matvæli á ýmsan hátt í framleiðsluferli þeirra og því þarf að huga að mörgu ef koma á í veg fyrir það. Þegar að kemur að mengun af völdum örvera, gegnir hreinlæti vinnsluumhverfis og starfsmanna lykilhlutverki. Mikilvægt er því að tileinka sér góða starfshætti við framleiðslu og meðhöndlun matvæla. Þá skiptir miklu máli að framleiðslustarfsmenn séu meðvitaðir um hættur sem geta skapast þegar hreinlæti er ábótavant og ættu þeir með aukinni þekkingu að geta tryggt öryggi matvælna sem þeir meðhöndla. Einnig skiptir máli að hafa innra og opinbert eftirlit hjá matvælafyrirtækjum til að halda sjúkdómstilfellum í lágmarki (Matís, 2012).

Gert er ráð fyrir að matvælaframleiðendur taki örverusýni eftir því sem við á, til að sýna fram á að góðum starfsháttum sé framfylgt, svokallað innra eftirlit. Til að sjá hvort því sé örugglega framfylgt er eftirlit með innra eftirliti af hálfu opinberra eftirlitsaðila. Á Íslandi er það Matvælastofnun sem skoðar og leggur mat á hvort innra eftirlit matvælafyrirtækja komi ekki örugglega í veg fyrir sjúkdómsvaldandi örverur. Sýnin sem matvælafyrirtækin taka eru rannsökuð af rannsóknarstofum sem eru með faggildingu og sem starfa í samræmi við alþjóðlega gæðastaðla, t.d. Matís (Matís, 2012).

Þessu öllu þarf auðvitað að framfylgja og til eru lög sem eiga að tryggja það. Þau mæla fyrir um að tryggja eigi gæði, öryggi og hollustu matvæla og að merkingar og aðrar upplýsingar sé réttar og fullnægjandi. Það er gert með innra- og opinbera- eftirlitinu, áhættugreiningu, rekjanleika, varúðaraðgerðum, fræðslu, upplýsingamiðlun, rannsóknum og neytandavernd. Tryggja þarf að framleiðsla og dreifing matvæla valdi ekki heilsutjóni og að ekki sé beitt blekkingum í viðskiptum (Lög um matvæli, nr. 93/1995). Löggin segja einnig til um það að taka eigi mið af reglum HACCP kerfisins sem stjórnunaraðferð til að fyrirbyggja galla og mistök. Í því felst m.a. umgengnis- og þrifareglur (Hollustuvernd ríkisins, 2002).

4.3.1 Sýnataka

Reglugerð um örverufræðileg viðmið er sett fram af Matvælastofnun. Í fiskvinnslunni, þar sem sýnin voru tekin, er reynt eftir fremsta megni að fara eftir henni. Reglugerðin var gefin út árið 2012 og heitir reglugerð 135/2010 en hún innleiðir reglugerð EB/2073/2005 (Matvælastofnun, 2017). Þessi reglugerð gildir fyrir matvæli sem tilbúin eru til neyslu og eru matvælin í fiskvinnslunni ekki skilgreind sem slík (Karl Róbertsson, munnleg heimild, 8.mars 2019). Reglugerðin leggur til að í framleiðslufyrirtækjum þar sem hætta er á að *L. monocytogenes* berist inn með hráefni án þess að verða eytt í framleiðsluferlinu, eins og við vinnslu á uppsjávarfiski, ætti að taka a.m.k. mánaðarleg sýni úr framleiðsluumhverfinu (Matvælastofnun, 2017). Í þessari fiskvinnslu eru tekin sýni af afurðum einu sinni í viku. Hins vegar eru sumir kaupendur farnir að gera kröfu um að sýnataka sé gerð af afurðum á klukkutíma fresti og sett í safnsýni þar sem leitað er af *Listeria*. Tekin eru sýni af vinnslubúnaði u.þ.b. tvisvar í mánuði og þá á meðan á vinnslu stendur. Einnig hafa verið tekið sýni af búnaði áður en vertíð hefst (Karl Róbertsson, munnleg heimild, 8. mars 2019). Aðeins var eitt tilfelli af *L. monocytogenes* árið 2018 frá sýni úr niðurfalli, en ekkert *Salmonella* tilfelli (Karl Róbertsson, munnleg heimild, 1. apríl 2019).

Ef bera á þetta saman við þá tíðni sýnatöku sem Matvælastofnun mælir með fyrir matvæli tilbúin til neyslu, þá er þetta mjög fullnægjandi. Hinsvegar fer sýnataka yfirleitt fram með bómullarpinna þar sem strokið er yfir yfirborðið. Eins og þessi rannsókn gefur til kynna getur verið að örverur mælist ekki með þessum sýnatökuhætti, þrátt fyrir að vera til staðar. Bendir það til þess að sýnataka með þessum hætti sé mögulega ekki fullnægjandi og nái ekki að greina sýkingarvaldandi örverur í matvælaafurðum. Það gæti þýtt að *L. monocytogenes* sé útbreiddari en talið er í matvælaíðnaði og umhverfi þess.

4.4 Þrif og aðferðarfræði

Í fiskvinnslunni, þar sem sýni voru tekin, hafði vinnsla legið niðri í um þrjá mánuði. Því var búið að taka ýmis tæki og tól í sundur til að þrifa betur. Það hefði annars ekki verið gert undir venjulegum kringumstæðum, þ.e. vanalega

hefði vinnsla á loðnu staðið yfir á þessum tíma. Engin loðna hefur fundist árið 2019 (Karl Róbertsson, munnleg heimild, 8.mars 2019).

4.4.1 Sápur og sótthreinsiefni

Þrif og sótthreinsun á vinnslubúnaði getur haft mikil áhrif á gæði og heilnæmi þeirra matvæla sem verið er að framleiða, sérstaklega ef illa er að þeim staðið. Örverur sem sitja eftir á vinnslubúnaði berast auðveldlega í afurðir við vinnslu. Mikilvægt er því að nota rétt þvotta- og sótthreinsiefni og standa rétt að þrifum, svo óæskilegar örverur séu fjarlægðar. Framleiðsluferlið við vinnslu á sjávarafurðum og umhverfi þess er mjög blautt og því er sótthreinsun í lok þrifa mikilvægur þáttur, er rakt yfirborð er kjörið fyrir örveruvöxt. Markmið sótthreinsunnar er að losna við allar örverur sem eftir sitja þegar búið er að þvo og koma þannig í veg fyrir vöxt þeirra þar til vinnsla hefst aftur. Ýmsir umhverfisþættir, eins og t.d. lífrænar leifar, óhreinindi, sýrustig og hitastig geta haft áhrif á virkni sótthreinsiefna (Herald og Zottola, 1988). Flest sótthreinsiefni komast ekki í gegnum net fjölsykra og sykurprótína líffilma og í raun þyrfti þá að vera búið að leysa líffilmuna upp áður en sótthreinsað er. Sótthreinsiefni sem mikið eru notuð í matvælaíðnaði eru m.a. klór og peredíkssýra. Mikilvægt er að nota mismunandi sótthreinsiefni við þrif og skipta þeim oft út, þar sem bakteríur eiga það gjarnan til að mynda þol gegn þeim (Birna Guðbjörnsdóttir o.fl., 2004). Regluleg þrif og sótthreinsun eru nauðsynleg til að örverur nái ekki að festa sig við yfirborð (Srey, S., Jahid, I. K., Ha, S., 2013).

Sótthreinsandi efni hafa frumusundrandi áhrif og því ættu þrifin að vera framkvæmd þannig að þau geti leyst upp fjölsykruríka utanfrumuvökvann, sem líffilman er að mestu úr, svo að sótthreinsandi efnin hafi greiðan aðgang að frumum filmunnar. Samkvæmt Srey o.fl. (2013) er vetnisperoxíð, eða H_2O_2 , og ósón, eða O_3 , bestu efnin til að leysa upp líffilmur. Vetnisperoxíð er mjög hvarfgjarnt efni og gæti því líklega hjálpað til við rof líffilmunnar. Einnig er efnið umhverfisvænt, frekar öruggt í notkun og því er hægt að nota mikið magn af því við háan styrk, án þess að það hafi neikvæð áhrif á matvælin (Srey, S., Jahid, I. K., Ha, S., 2013). Ósón er enn hvarfgjarnara en vetnisperoxíð (Arnheiður Eypórsdóttir, munnleg heimild, 27. mars 2019). Það eyðist því mjög fljótt úr matvælum og skilur ekki eftir sig

leifar né aukabragð, líkt og klór gerir (Guðný Júlíana Jóhannsdóttir, 2010). Einnig er talað að það sé lítil hættu á að örverur þrói með sér þol gegn því. Óson tekur þátt í að leysa upp frumuhimnur, eins og sótthreinsiefni gera (Pascual, A., Llorca, I. og Canut, A., 2007).

Í fiskvinnslunni þar sem sýnin voru tekin er notast við Chloroclean sápur við þrif. Fyrst eru vinnslutæki skoluð með volgu vatni og síðan sápuð. Sápan er látin liggja á tækjum í u.þ.b. 20 mínútur áður en hún er skoluð af. Stundum er farið með grófa svampa á erfiða staði og skrúbbað (Karl Róbertsson, munnleg heimild, 8. mars 2019). Chloroclean sápan inniheldur klór, hefur basískt pH og er því góð í notkun þegar kemur að því að fjarlægja lífrænar leifar og önnur aukaefni sem myndast við framleiðslu á matvælum (Nycos Products Company, e.d.). Þegar búið er að skola sápana í burtu er sótthreinsað með D-SAN sem er ætandi klórsamband og því sprautað yfir með þokukerfi (Karl Róbertsson, munnleg heimild, 8. mars 2019). Sú spurning vaknar hvort þessi aðferð sé nógu áreiðanleg til að koma í veg fyrir myndun líffilma og leysa þær upp.

Við vinnslu á uppsjávarfiski er yfirleitt reynt að hámarka vinnslu eftir fremsta megni og þá er ekki endilega þrifið á reglulegum tímum. Þrifin eru því frekar óregluleg og eiga sér frekar stað á milli þess að skipin landa. Unnið er allan sólarhringinn og oft geta liðið margir dagar á milli þrifa (Karl Róbertsson, munnleg heimild, 21. mars 2019).

4.4.2 Yfirborð

Eins og nefnt var í inngangi, skiptir gerð yfirborðs framleiðslutækja miklu máli við myndun líffilma. Því ætti það að hafa jákvæð áhrif ef reynt er að hafa yfirborðið þannig að það myndi léleg skilyrði fyrir myndun líffilma, t.d. þurr og slétt en ekki blautt og rákótt/gróft (Srey, S., Jahid, I. K., Ha, S., 2013). Rannsókn Ferreira o.fl. (2013) sýndi mjög jákvæðar niðurstöður við að halda líffilmu-myndun í skefjum með því að setja benzyldimethyldodecylammonium chloride húðaðar kalsíum carbonate agnir, CaCO_3 , á framleiðslutæki (Ferreira, C., Pereira, A. M., Pereira, M. C., Simões, M. og Melo, L. F., 2013).

Virk kolefnasambönd, eins og olíur, geta virkað hamlandi á lektín (Bridier, A. o.fl., 2015). Lektín er prótínsamband sem oft má finna á himnu

frumna sem hjálpar þeim við samskipti og viðloðun á milli sín. Gæti það því haft mikil áhrif á eiginleika þeirra til að festa sig við yfirborð (Varki, A. o.fl., 2017). Olíur hafa verið notaðar til að húða framleiðslutæki og koma þannig í veg fyrir að örverur festi sig á þeim. Þar á meðal hafa Oregano og Timjan olíur sýnt óvæntar og góðar niðurstöður við það að reyna að koma í veg fyrir líffilimumyndun (Bridier, A. o.fl., 2015). Mismunandi plöntuextrökt hafa einnig sýnt fram á hamlandi áhrif þegar þeim er komið fyrir á framleiðslutæki (Satpathy, S., Sen, S. K., Pattanaik, S. og Raut, S., 2016). Þessi lífrænu efni gætu hins vegar haft áhrif á gæði afurðar, eins og bragð.

4.4.3 Bakteríufagar

Bakteríufagar, einnig þekktir sem fagar, eru veirur sem aðeins geta sýkt bakteríur og fjölgað sér á þann hátt. Nánar tiltekið innlimar faginn erfðaeefni sitt í frumur baktería sem síðan skipta sér. Með dótturfumum kemst erfðaeefni fagans því áfram til næstu kynslóða (Brown, T. A., 2002).

Notkun á bakteríufögum hafa sýnt fram á að minnka getu örvera í því að mynda líffilmur. Gæti það verið góð viðbót eða jafnvel staðgengill fyrir sóttþreinsiefni. Til að koma í veg fyrir samlífi og koma af stað rofi á líffilmunni þurfa fagarnir að geta tjáð ensím sem sundra henni (Srey, S., Jahid, I. K., Ha, S., 2013). Rannsókn Bridier o.fl. (2015) sýndi að ákveðinn bakteríufagi sem tjáði líffilmusundrandi ensím náði að eyða um 99,997% af frumum líffilmu *Escherichia coli*. Einnig hafa rannsóknir sýnt fram á jákvæð áhrif faga á *L. monocytogenes* á ryðfríu stáli sem annaðhvort var hreint eða þakið fiskprótínum (Bridier, A. o.fl., 2015)

Það væri því mögulega góð hugmynd að húða framleiðslutæki reglulega með vökva sem inniheldur faga, en það ætti ekki að hafa áhrif á gæði afurðar (Srey, S., Jahid, I. K., Ha, S., 2013).

5. Lokaorð

Í þessari rannsókn var *L. innocua* ekki greind með hefðbundinni sýnatöku með bómullarpinna. Eins og nefnt hefur verið áður, gæti það mögulega bent til þess að sýkingavaldar í umhverfi matvælavinnslu séu ekki greindir eins oft og þeir eru til staðar.

Fyrir neytendur, sem og efnahagsgildi matvælafyrirtækja, eru gæði afurðanna mikilvægur þáttur, eins og fiskur í þessari tilteknu rannsókn. Það skiptir máli að fyrirtækin geti tryggt gæði matvæla sinna með því að halda ferskleika þeirra í hámarki og þar gegna þrif lykilhlutverki. Fyrsta markmið þrifa í fiskvinnsluhúsum er ekki endilega að sporna við myndun líffilma. Þarna þarf því að verða breyting. Mögulega væri það hægt með því að fræða starfsmenn betur um örverur og líffilmumyndun þeirra, ásamt því að framkvæma tíðari þrif þar sem efnum er skipt út reglulega. Með því, væri hægt að draga úr tilfellum sýkinga eða jafnvel koma í veg fyrir þau fyrir fullt og allt. Ekki má gleyma því að ef þvottur er tíðari, þarf að fylgjast mjög vel með því hvaða efni eru notuð og hver vistvænleiki þeirra er.

6. Heimildir

- a. Baron, S. (ritstjóri). (1996). *Medical Microbiology, 4th edition*. Galveston: University of Texas Medical Branch at Galveston. Sótt af <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8120/>
- b. Baron, S. (ritstjóri). (1996). *Medical Microbiology, 4th edition*. Galveston: University of Texas Medical Branch at Galveston. Sótt af <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8435/>
- Birna Guðbjörnsdóttir, Lauzon, H. L., Sigrún Guðmundsdóttir og Guðjón Þorkelsson. (2004). *Örverur og viðloðun þeirra við vinnsluumhverfi sjávarafurða*. Sótt af http://rh.rf.is/media/utgafa/Skyrsla_09-04.pdf
- Boyle, E. C., Bishop, J. L., Grassl, G. A. og Finlay, B. B. (2007). *Salmonella: from Pathogenesis to Therapeutics*. *Journal of Bacteriology*, 189(5), 1489-1495. doi: 10.1128/JB.01730-06
- Bridier, A., Sanchez-Vizueté, P., Guilbaud, M., Piard, J., C., Naïtali, M. og Briandet, R. (2015). *Food Microbiology*, 45(B), 167-178. doi: 10.1016/j.fm.2014.04.015
- Brown, T. A. (2002). *Genomes, 2nd edition*. Oxford: Wiley Liss. Sótt af <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21117/>
- Donlan, R. M. (2002). Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *Emerging Infectious Diseases*, 8(9), 881-890. doi: 10.3201/eid0809.020063
- a. Embætti landlæknis. (2017). *Farsóttaskýrsla 2017*. Sótt af https://www.landlaeknir.is/servlet/file/store93/item34975/Fars%C3%B3ttask%C3%BDrsla%202018_17052018.pdf
- Embætti landlæknis. (2018, 7. nóvember). Listería. Sótt 18. mars af <https://bit.ly/2uU3bPu>
- b. Embætti landlæknis. (2017, 11. janúar). Salmonella. Sótt 18. mars af <https://bit.ly/2D1oxiy>
- Eva Yngvadóttir og Birna Guðbjörnsdóttir. (2007). *Verðmæti og öryggi íslenskra sjávarafurða – Áhættusamsetning og áhætturöðun*. Sótt af http://www.av.s.is/media/avs/Skyrsla_08-07.pdf
- Farber, J. M. og Peterkin, P. I. (1991). *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiology Reviews*, 55(3), 476-511. Sótt af <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC372831/?page=2>
- Ferreira, C., Pereira, A. M., Pereira, M. C., Simões, M. og Melo, L., F. (2013). Biofilm Control with New Microparticles With Immobilized Biocide. *Heat Transfer Engineering*, 34(8-9), 712-718. doi: 10.1080/01457632.2012.739040

- Food and Drug Administration. (2019, 28. febrúar). Food Safety: Importance for At-Risk Groups. Sótt 16. mars 2019 af <https://bit.ly/2D54YpI>
- Fux, C. A., Costerton, J. W., Stewart, P. S. og Stoodley, P. (2005). Survival strategies of infectious biofilms. *Trends in Microbiology*, 13(1), 34-40. doi: 10.1016/j.tim.2004.11.010
- Guillet, C., Join-Lamber, O., Le Monnier, A., Leclercq, A., Mechai, F., Mamzer-Bruneel, M. . . . Lecuit, M. (2010). Human Listeriosis Caused by *Listeria ivanovii*. *Emerging Infectious Diseases*, 16(1), 136-138. doi: 10.3201/eid1601.091155
- Guðný Júlíana Jóhannsdóttir. (2010). Effect of ozonized water and ozonized Ice on quality and shelf life of fresh cod (*Gadus morhua*) (óútgefin meistaraþrófsritgerð). Sótt af <https://skemman.is/handle/1946/5686>
- a. Hardy diagnostics. (e.d.). Brilliant Green Agar with Sulfadiazine. Sótt 6. mars 2019 af <https://bit.ly/2FVvwdF>
- b. Hardy diagnostics. (e.d.). XLD Agar. Sótt 6. mars 2019 af <https://bit.ly/2G5O0sZ>
- Hollustuvernd ríkisins. (2002). *Innra eftirlit matvælaþyrirtækja*. Sótt af https://reykjavik.is/sites/default/files/innra_eftirlit_haccp.pdf
- Høiby, N., Bjarnsholt, T., Givskov, M., Molin, S. og Ciofu, O. (2010). Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 35(4), 322-332. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2009.12.011
- Hussain, M. A. (2016). Food Contamination: Major Challenges of the Future. *Foods*, 5(2), 21. doi: 10.3390/foods5020021
- Kostakioti, M., Hadjifrangiskou, M. og Hultgren, S. J. (2013). Bacterial Biofilms: Development, Dispersal, and Therapeutic Strategies in the Dawn of the Postantibiotic Era. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 3(4), a010306. doi: 10.1101/cshperspect.a010306
- Lyfja. (e.d.). Typhim Vi. Sótt 18. mars 2019 af <https://www.lyfja.is/lyfjabokin/lyf/TyphimVi>
- Lög um matvæli nr. 93/1995
- MacKenzie, K. D., Palmer, M. B., Köster, W. L. og White, A. P. (2017). Examining the Link between Biofilm Formation and the Ability of Pathogenic *Salmonella* Strains to Colonize Multiple Host Species. *Frontiers in Veterinary Science*, 4(2017), 138. doi: 10.3389/fvets.2017.00138
- Matís. (2012). *Vágestir*. Reykjavík: Matís. Sótt af http://www.matis.is/media/baeklingar/Vagestir_2012_LoRes.pdf
- Matvælastofnun. (2017). *Listeria monocytogenes; sýnataka*. Selfoss: Matvælastofnun. Sótt af <https://bit.ly/2U4LiYC>

- a. Matvælastofnun. (e.d.). *Listeria monocytogenes*. Sótt 7. febrúar 2019 af <http://www.mast.is/matvaeli/matarsykingar/listeriamonocytogenes/>
- b. Matvælastofnun. (e.d.). *Salmonella*. Sótt 12. Mars 2019 af <http://www.mast.is/matvaeli/matarsykingar/salmonella/>
- Neogen. (e.d.). Demi-Fraser Broth Base. Sótt 7. mars 2019 af http://foodsafety.neogen.com/pdf/acumedia_pi/7656_pi.pdf
- Nyco Products Company. (e.d.). Choro-Clean 305. Sótt 13. mars 2019 af <https://www.nycoproducts.com/products/chloro-clean-305/>
- a. Oxoid Limited. (e.d.). Chromogenic Listeria Agar.
Sótt 7. mars af <https://bit.ly/2uPqIBg>
- b. Oxoid Limited. (e.d.). Lysine Iron Agar.
Sótt 7. mars af <https://bit.ly/2IaEQhp>
- c. Oxoid Limited. (e.d.). X.L.D. Agar.
Sótt 6. mars af <https://bit.ly/2UkB1fQ>
- Óli Þór Hilmarsson, Þóra Valsdóttir, Ólafur Reykdal og Gunnþórunn Einarsdóttir. (ritstjórar). (2019). *Fiskbókin*. Reykjavík: Matís.
Sótt af <https://fiskbokin.is/uppsjavarfiskar/>
- Pascual, A., Llorca, I. og Canut, A. (2007). Use of ozone in food industries for reducing the environmental impact of cleaning and disinfection activities. *Food Science & Technology*, 18(2007), 29-35.
doi: 10.1016/j.tifs.2006.10.006
- Reglugerð um örverufræðileg viðmið nr. 135/2010
- Satpathy, S., Sen, S. K., Pattanaik, S. og Raut, S. (2016). Review on bacterial biofilm: An universal cause of contamination. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 7(2016), 56-66.
doi: 10.1016/j.bcab.2016.05.002
- Sejvar, J., Lutterloh, E., Naiene, J., Likaka, A., Manda, R., Nygren, B., . . . Mintz, E. (2012). Neurologic Manifestations Associated with an Outbreak of Typhoid Fever, Malawi - Mozambique, 2009: An Epidemiologic Investigation. *Plos One*, 7(12), e46099.
doi: 10.1371/journal.pone.0046099
- Srey, S., Jahid, I. K., Ha, S. (2013). Biofilm formation in food industries: A food safety concern. *Food Control*, 32(2), 572-585.
doi: 10.1016/j.foodcont.2012.12.001
- Stepanović, S., Cirković, I., Ranin, L. og Svabić-Vlahović M. (2004). Biofilm formation by *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* on plastic surface. *Letters in Applied Microbiology*, 38(5), 428-432.
doi: 10.1111/j.1472-765X.2004.01513.x
- Varki, A. o.fl. (ritstjóri). (2017). *Essentials of Glycobiology*. New York: Cold Spring Harbor. Sótt af <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK453032/>

