



Sluttrapport:

Overlevelse av kveis (*Anisakis*) i tørrfisk

FHF prosjekt nr. 901332

**Dokumentasjon knyttet til overlevelse av kveis (*Anisakis*) i
produksjon av tørrfisk**

Miguel Bao, Irja Sunde Roiha, Lucilla Giulietti, Paolo Cipriani, Arne Levsen

Havforskningsinstituttet

30.01.2019



Bakgrunn

Tørrfisk er usaltet fisk som er tørket på naturlig vis hengende på hjell i ca. 3 måneder. Det brukes stort sett torsk (*Gadus morhua*) i produksjonen av tørrfisk. I Lofotområdet starter produksjonen av tørrfisk hvert år i forbindelse med skreifisket som vanligvis foregår mellom januar og april. Fisken henger på hjell i ca. 3 måneder fulgt av ettermodning i 2-3 måneder innendørs i et tørt og luftig miljø. Under tørkingen mister produktet mellom 70-75% av vannet, men tørrfisken beholder ferskfiskens næringsinnhold, bare mer konsentrert.

Etter kvalitetssortering blir mesteparten av tørrfisken eksportert til Sør-Europa, hovedsakelig Italia der den blir ansett som en delikatess og brukes i mange ulike matretter. Før videre tillaging må fisken bløtes og vannes ut i 6-9 dager i isvann ved 0-2 °C og vannet må skiftes ut hver dag, før den kan brukes i matretter.

Villfisk, inkludert torskefisk som inngår i tørrfiskproduksjonen, er som oftest infisert med kveis som betegner larvene av parasittiske rundmark i fisk. De fleste kveis sitter i fiskens innvoller, noen kan imidlertid vandre inn i fiskens muskulatur, noen ganger dypt inn i filetene. I Norge er kveis først og fremst et estetisk problem siden funn av (levende) makk kan være en meget uappetittlig opplevelse. Er man imidlertid uheldig og får i seg levende kveis kan man få akutt magesykdom.

I Norge har vi per i dag ikke problemer med *Anisakis* siden konsum av rå eller kun lett behandlet villfanget fisk ikke er vanlig. Det er vel dokumentert at oppvarming til minst 60 °C i hele produktet, samt frysing i 24 t ved -20 °C dreper kveisen. Sistnevnte prosedyre er også nedfelt i det såkalte frysekravet for å beskytte konsumentene. I en EFSA-rapport fra 2010 som omhandler zoonotiske parasitter hos fisk, slås det imidlertid fast at tørking ikke er dokumentert som tilstrekkelig for å drepe kveis.

Målsetting

Hovedmålsettingen for prosjektet er:

- i) Å undersøke prevalens (relativ forekomst) og antall kveis (intensitet) i kjøttet hos torsk/skrei som brukes til tørrfiskproduksjon.
- ii) Å undersøke om kveis kan overleve den tradisjonelle produksjons- og behandlingsprosessen av tørrfisk innbefattet utendørs tørking på hjell og ettertørking innendørs fulgt av utvanning (rehydrering) som vanligvis er siste steg før tilberedning for konsum hos sluttkunden.

Gjennomføring

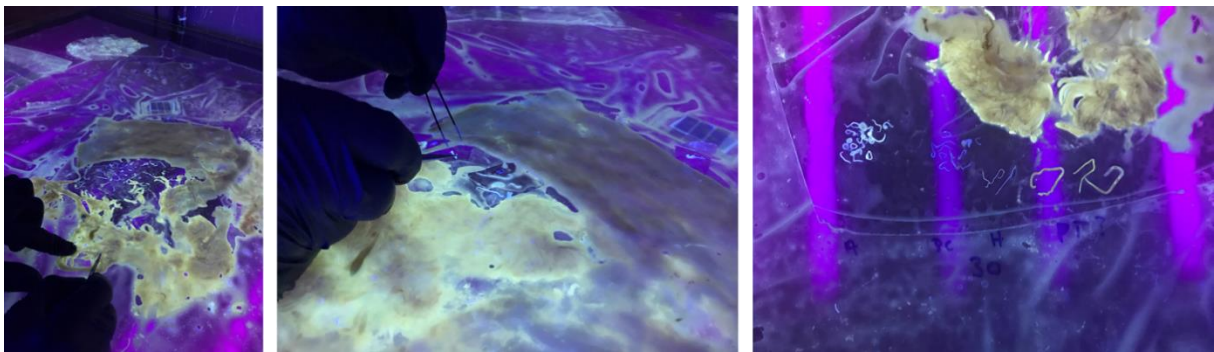
Generell infeksjonsstatus hos skrei: I mars 2017 var det uttak av fersk torsk/skrei på Røst. For generell infeksjonsstatus ble det tatt ut 62 stk. fisk (50 + 12 stk.), som ellers skulle vært hengt på hjell til tørking. Hver enkel fisk ble målt og veid (totalvekt og sløyd vekt), sløyd og hodekappet. Videre ble fisken merket, fysiske parametere notert og leveren undersøkt for kveis på stedet (Figur 1). Antall og type kveis ble notert og noen kveis ble samlet inn for senere molekylær artsbestemmelse. Innvoller som var tydelig infisert med kveis (Figur 2), og fileter fra hver enkel fisk, ble lagt i separate poser. Filetene og innvollene ble pakket og sendt med kjøletransport til Bergen. Prevalens (relativ forekomst) og antall kveis (intensitet) ble analysert vha. UV-pressmetoden på vårt laboratorium (Figur 3).



Figur 1. Visuell undersøkelse av lever ble gjennomført på fersk fisk; antall og type kveis ble notert.

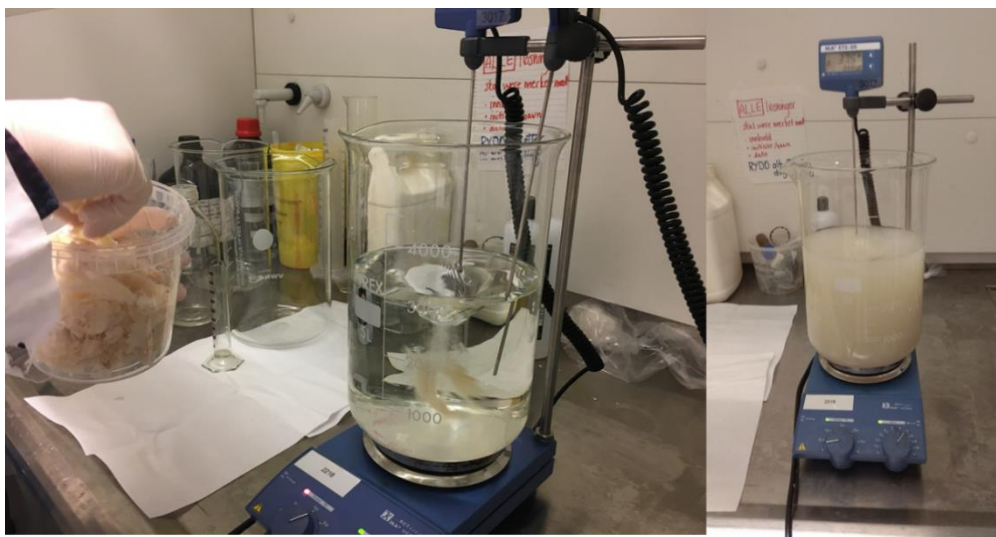


Figur 2. Visuell undersøkelse av innvollene viser tydelig store forekomster av kveis.

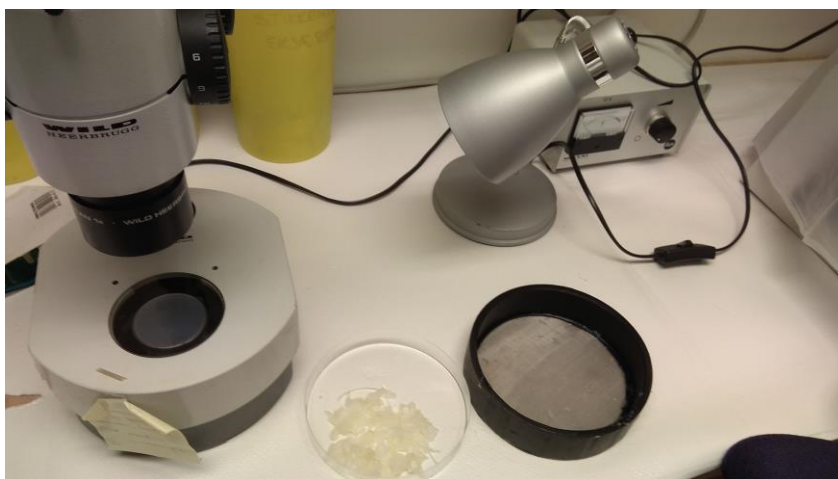


Figur 3. Undersøkelse av kveis under UV-lys, etter at innvollene har blitt presset og fryst. De ulike kveistypene fluoriserer under UV-lys etter at de har vært fryst, her eksemplifisert ved *Anisakis*, *Hysterothylacium* og *Pseudoterranova*.

Infeksjonsstatus hos utvannet tørrfisk: Førsti (40) tørrfisk, levert ferdig utvannet fra produsent, ble undersøkt for kveis på vårt laboratorium vha. kunstig fordøying ved å tilpasse metoden beskrevet av Llarena-Reino et al. (2013). I korte trekk; hver fiskeside ble trimmet ved å fjerne skinn, finner og skulderbein fulgt av oppdeling i mindre biter på ca. 300 g hver. Disse ble utsatt for kunstig fordøying ved 37°C i en løsning av saltsyre og flytende pepsin ved pH < 2 (Figur 4). Etter kunstig fordøying i ca. 3 timer ble væsken sammen med ufordøyde rester filtrert gjennom en sil med ≤ 0.5 mm maskevidde, restene i silen helt i en petriskål, fulgt av visuell sjekk for forekomst og overlevelse av kveis i en stereolupe (Figur 5).



Figur 4: Oppsett for kunstig fordøyning av tørrfisk (biter à ca. 300 g) i en vandig pepsin/saltsyre-oppløsning.



Figur 5: Ufordøyde rester av tørrfisk i en petriskål etter filtrering, klargjort for inspeksjon i lupe.

I tillegg til kunstig fordøyning ble 20 fiskesider inspisert visuelt vha. «candling» (inspeksjon på lysbord) og UV-pressmetoden (inspeksjon av flatpressete fiskefileter i en UV-lysboks med både under- og overlys).

Vurdering av overlevelse: Visuell sjekk etter kunstig fordøyning av fiskefileter regnes som den mest effektive metoden for å vurdere overlevelse hos kveis. Dette fordi de biokjemiske og fysiske forhold ved kunstig fordøyning er veldig lik forholdene i mage/tarm hos marine pattedyr, som jo begunstiger overlevelse og videre utvikling av kveistypene *Anisakis*, *Pseudoterranova* og *Contracaecum* (se også faktaboks, s. 10). Individuelle kveis anses som levende når larvene er intakt, dvs. uten fysiske skader, og viser tydelige spontane bevegelser etter mekanisk stimulering med en pinsett eller disseksjonsnål (Codex Alimentarius, 2004; EFSA-BIOHAZ, 2010).

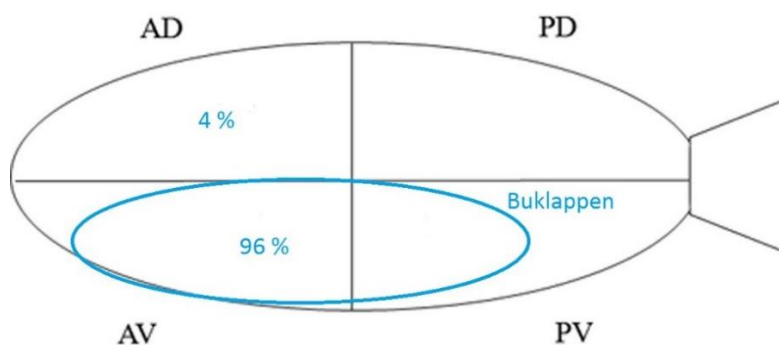
Resultater

Generell infeksjonsstatus hos skrei: Tabell 1 viser fysiske parameter for fersk torsk/skrei undersøkt, samt forekomst av kveis i kjøtt, lever og viscera. Tabellen viser gjennomsnitt (Gj.snitt) med standardavvik (SD), minimum (Min.), maksimum (Max.), samt prevalens av kveis i 50 undersøkte fisk. Prevalens av kveis i kjøttet til fersk torsk var 100%, der intensiteten varierte fra 3 til 62, og praktisk talt

alle sitter i bukklappene (Figur 6). Det var heller ingen forskjell mellom høyre og venstre side. Denne kunnskapen gir næringen muligheten til å trimme bukklappene slik at sannsynligheten for at kveis er tilstede i sluttproduktet reduseres drastisk.

Tabell 1. Fysiske parameter for fersk torsk/skrei undersøkt, samt forekomst av kveis i kjøtt, lever og innvoller. Tabellen viser gjennomsnitt (Gj.snitt) med standardavvik (SD), minimum (Min.), maksimum (Max.), samt prevalens av kveis i 50 undersøkte fisk. Forkortelser: Prev. – Prevalens; Ani – *Anisakis*; Pseudo – *Pseudoterranova*; Contra – *Contracaecum*

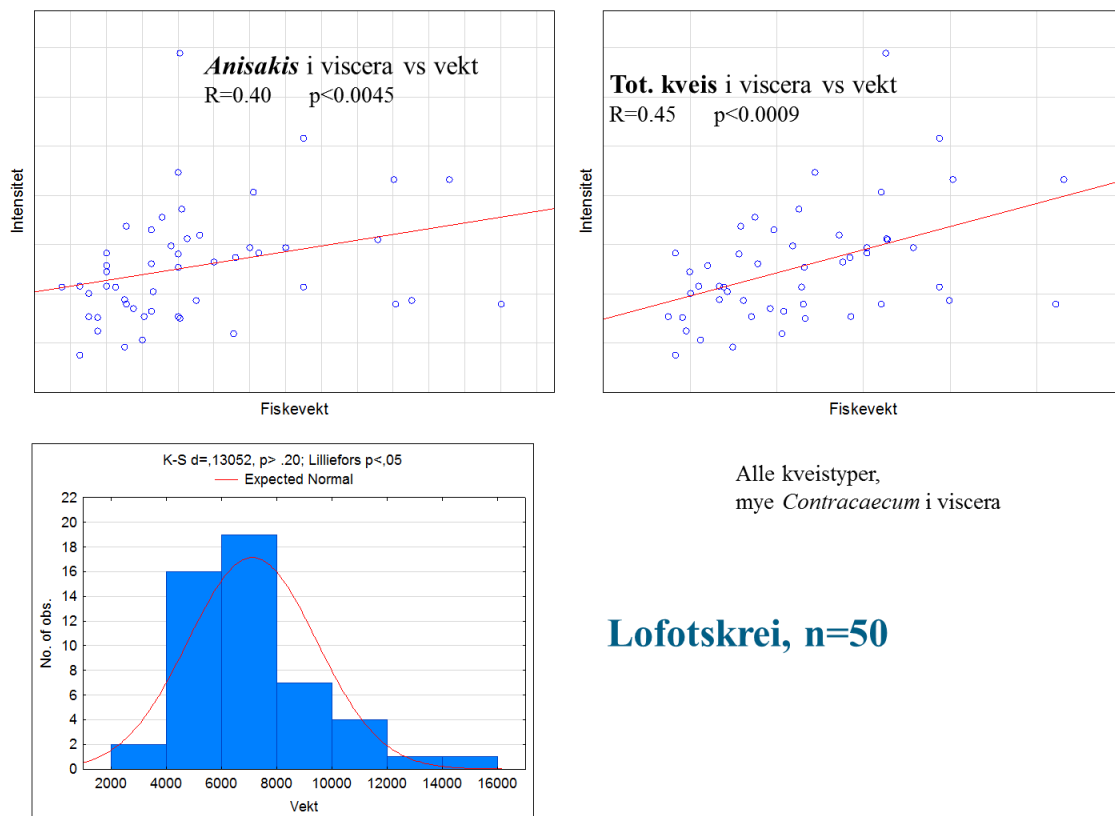
	Fysiske parametere			Filet <i>Anisakis</i>			Lever			Innvoller utenom lever				
	L (cm)	V (g)	Lever (g)	Venstre	Høyre	Totalt	Ani	Pseudo	Totalt	Ani	Hystero	Pseudo	Contra	Totalt
Gj.snitt	94	7115	429	6,6	6,5	13,2	22,0	0,3	22,3	88	19	0,1	97	205
SD	8,5	2325	254	6.7	7.0	12.6	14,6	1	14,6	57	18	0,5	52	103
Min.	75	3520	80	0	1	3	3	0	3	15	0	0	25	71
Max.	116	15790	1280	30	34	62	64	7	65	260	80	3	250	500
Prev. (%)				94	100	100	100	14	100	100	92	4	100	100



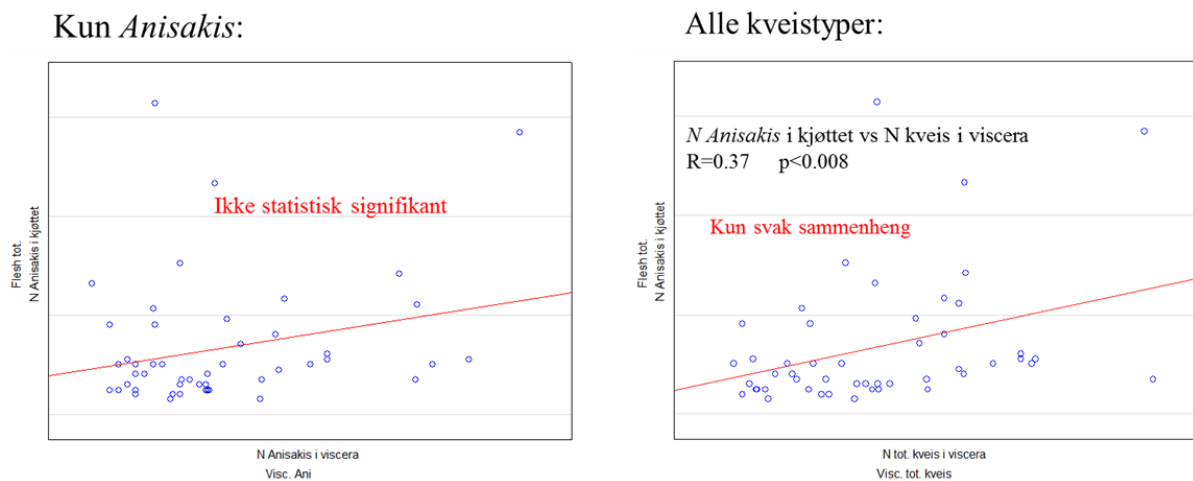
Figur 6. Skjematisk illustrasjon av torsk/skrei som viser hvor i fisken en finner kveis. Praktisk talt all kveis (96%) sitter i bukklappene og det var ingen forskjell mellom høyre og venstre side. (Anatomisk inndeling av fiskefileter; AD = anterior-dorsalt; PD = posterior-dorsalt; AV = anterior-ventralt; PV = posterior-ventralt)

Videre viste resultatene at der var en klar sammenheng mellom fiskestørrelse og infeksjonsgrad (Figur 7). Alle kveistyper, *Anisakis*, *Hysterothylacium*, *Pseudoterranova* og *Contracaecum*, ble påvist, der sistnevnte forekom i størst antall i og rundt innvollene. Sammenligning av antall kveis i innvollene med antall kveis i filtene viste at det var ingen signifikant sammenheng når *Anisakis* ble vurdert separat, og kun en svak sammenheng når alle kveistyper ble lagt sammen (Figur 8).

Resultatene ble presentert på en 1-dags workshop om kveisproblematikken hos torsk, 13. november 2017 hos HI i Bergen, sammen med FHF og næringsaktører (se også faglig sluttrapport fra FHF-prosjekt 901471 «Arbeidsmøte om kveisinhold hos torsk», samt tilhørende faktaark «Kveis i kjøttet hos torsk»).



Figur 7. Det var en klar sammenheng mellom fiskestørrelse og infeksjonsgrad. Alle kveistyper ble funnet (*Anisakis*, *Hysterothylacium*, *Pseudoterranova* og *Contracaecum*).



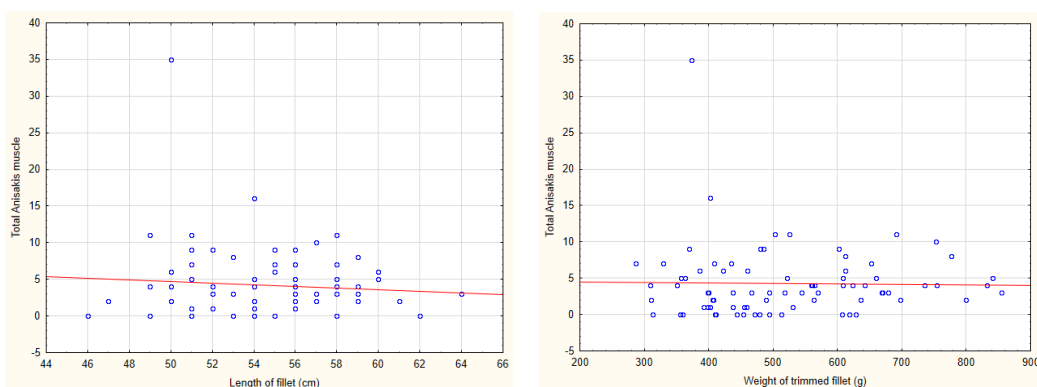
Figur 8. Det var kun svak sammenheng mellom antall kveis i innvollene og antall kveis i filetene. (Lofotskrei, n = 50)

Infeksjonsstatus hos utvannet tørrfisk: Totalt ble 338 *Anisakis*-larver and 4 *Pseudoterranova*-larver påvist etter kunstig fordøyning av 80 utvannede tørrfiskfileter. Litt over 80% av filetene var infisert med kveis, med gjennomsnittlig over 5 larver pr infisert filet (Tabell 2). Avvikene i prevalens og antall påviste kveis mellom fersk skrei og tørrfisk kan trolig forklares med at noen larver kan ha blitt ødelagt eller gått i oppløsning allerede under tørkeprosessen eller under kunstig fordøyning. I tillegg viste det seg at noen av de ferdig utvannede filetene vi mottok var lettere trimmet ved at nedre del av bukklappene manglet. Noe av kveisen kan dermed ha blitt fjernet under trimmingen siden nettopp disse delene ser

ut til å være sterkest infisert (se Figur 6). Det var for øvrig ingen signifikant sammenheng mellom filetstørrelse (lengde og vekt) og antall *Anisakis* hos utvannet tørrfisk (Figur 9). Men dette resultatet må igjen ses i lys av at noen av filetene manglet deler av bukklappene, i tillegg til at noe av kveisen trolig var ødelagt og ikke kunne påvises lenger etter kunstig fordøying.

Table 2. Funn av *Anisakis* etter kunstig fordøying av utvannete fileter av tørrfisk (n = 80).

	Filetstørrelse hos utvannet tørrfisk (n = 80)		Forekomst av <i>Anisakis</i>	
	L (cm)	Vekt (g)	Prevalens	Antall
Gj.sn.	54.5	521	81 %	5.2
SD	3.7	44		5.8
Min.	46	287		0
Max.	64	855		35



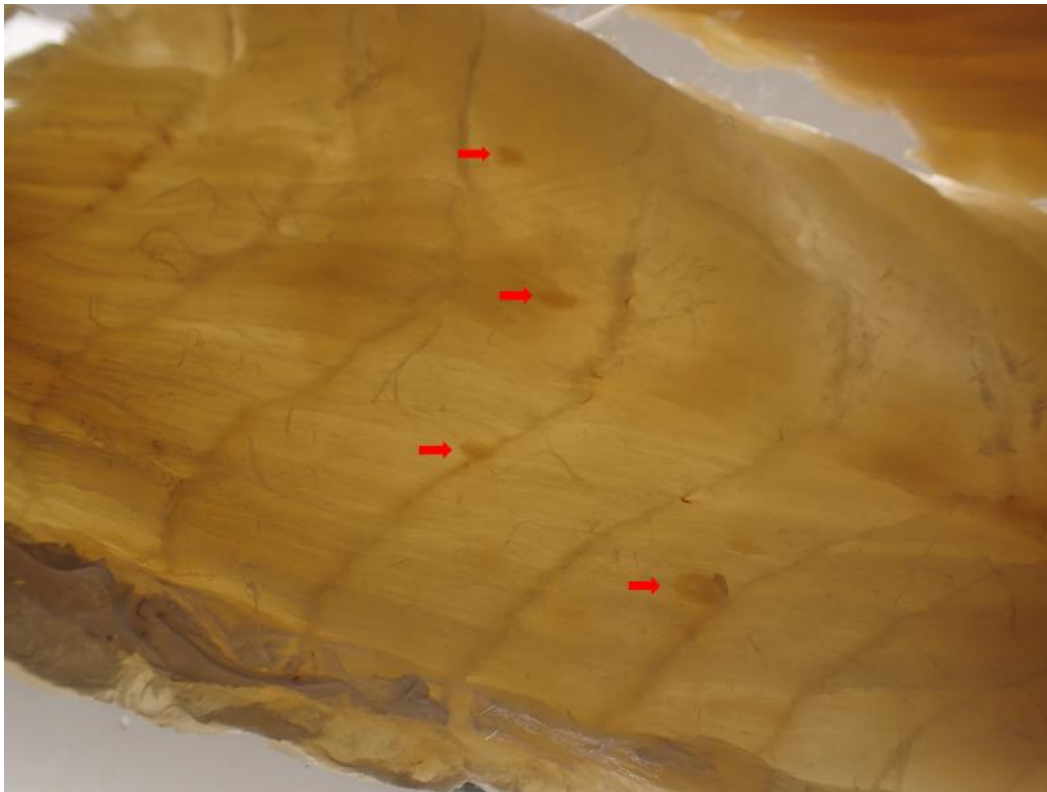
Figur 9: Det var ingen signifikant sammenheng mellom filetstørrelse (L & V) og antall *Anisakis* hos utvannet tørrfisk.

Forsøkene med visuell påvisning av kveis i 20 stk. utvannete og skinnfrie tørrfiskfileter vha candling viste at denne metoden er mindre effektiv sammenlignet med kunstig fordøying (Tabell 3). Candling er ganske effektiv for påvisning av kveis i bukklappene (Figur 10) men fungerer dårligere i de tykkere deler av filetene. Metoden er dessuten uegnet for vurdering av overlevelse hos kveis. Til dette måtte kveisen fjernes fra muskelvevet mekanisk vha. pinsett eller skalpell, med fare for å ødelegge kveisen i prosessen.

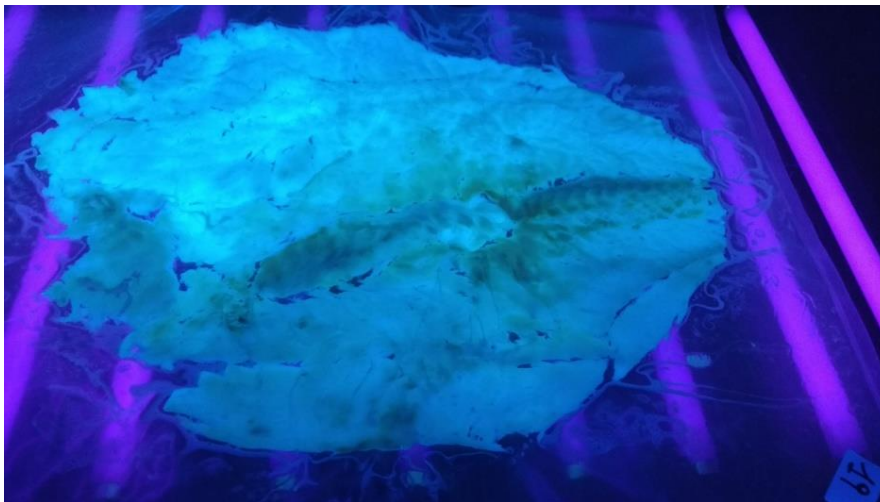
Tabell 3: Funn av *Anisakis* etter candling av 20 stk utvannete og skinnfrie fileter av tørrfisk.

	Filetstørrelse (n = 20)		Forekomst av <i>Anisakis</i>	
	L (cm)	Vekt (g)	Prevalens	Antall
Mean	54	391	70 %	4.8
SD	2.5	43.8		5.8
Min.	50	287		0
Max.	58	460		19

Den andre visuelle inspeksjonsmetoden, UV-pressmetoden, egner seg ikke for visuell påvisning av kveis i utvannete tørrfiskfileter. Ingen kveis ble påvist under inspeksjon av 20 fileter vha. denne metoden (Figur 11). Det viste seg at utvannet tørrfisk ikke lar seg presse flat nok for effektiv gjennomlysning med UV-lys. Metoden egner seg heller ikke for vurdering av overlevelse hos kveis siden levende kveis pr definisjon ikke fluoriserer og ville dermed heller ikke bli synlig ved inspeksjon i UV-lys.



Figur 10. Fire *Anisakis*-larver avdekket vha. candling (inspeksjon på lysbord) i bukklappen av en utvannet og skinnfri tørrfiskfilet.



Figur 11. Utvannet og presset tørrfiskfilet under en 366 nm UV-lyskilde. Ingen kveis er synlig.

Vurdering av overlevelse: Samtlige kveis som ble funnet blant ufordøyde vevsrester etter kunstig fordøyning var utvilsomt døde (Figur 12). De fleste var tydelig skadet og lett identifiserbare som døde. I noen få tvilstilfeller ble larvene forsiktig klemt med pinsett fulgt av minst 30 sek observasjon i lupe for å avdekke eventuelle egenbevegelser hos kveisen, uten at dette ble påvist i noen av tilfellene.



Figur 12: Døde *Anisakis*-larver som ble påvist etter kunstig fordøyning av tørrfisk.

Konklusjoner

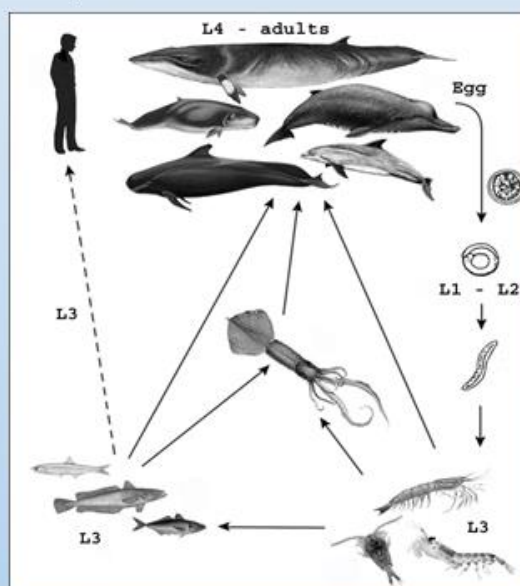
100% prevalens av kveis i kjøttet hos fersk torsk/skrei tilsier at en ved konsum vil få i seg kveis. Ved vanlige tradisjonelle tilberedningsmåter slik som koking/trekking eller steking blir kveisen imidlertid drept og er dermed ufarlig for konsumenten. Resultatene fra dette prosjektet har dessuten vist at tradisjonell produksjon av tørrfisk, dvs. utendørs tørking av torsk fulgt av ettertørking/lagring innendørs, også er tilstrekkelig for å drepe all kveis/*Anisakis* som opprinnelig er tilstede i sløyd og hodekappet torsk før tørkingen tar til. Våre forsøk viste nemlig utvetydig at all kveisen var død i utvannete fileter av tørrfisk produsert i Lofoten på tradisjonelt vis. Det kan dermed konkluderes at risikoen for smitte med kveis ved konsum av tradisjonelt produsert og tilberedt tørrfisk er lik null.

Referanser

- Codex Alimentarius. (2004). *Standard for salted atlantic herring and salted sprat - CODEX STAN 244-2004*. Retrieved from <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/list-of-standards/en/>
- EFSA-BIOHAZ. (2010). Scientific Opinion on risk assessment of parasites in fishery products. *EFSA Journal*, 8(4), 1543. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1543>
- Gay, M., Bao, M., MacKenzie, K., Pascual, S., Buchmann, K., Bourgau, O., ... Pierce, G. J. (2018). Infection levels and species diversity of ascaridoid nematodes in Atlantic cod, *Gadus morhua*, are correlated with geographic area and fish size. *Fisheries Research*, 202, 90–102. <https://doi.org/10.1016/J.FISHRES.2017.06.006>
- Karl, H., & Leinemann, M. (1993). A fast and quantitative detection method for nematodes in fish fillets and fishery products. *Archiv Für Lebensmittelhygiene*, 44, 105–128.
- Levsen, A., & Lunestad, B. T. (2010). *Anisakis simplex* third stage larvae in Norwegian spring spawning herring (*Clupea harengus* L.), with emphasis on larval distribution in the flesh. *Veterinary Parasitology*, 171(3–4), 247–253. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.03.039>
- Llarena-Reino, M., Piñeiro, C., Antonio, J., Outeriño, L., Vello, C., González, Á. F., & Pascual, S. (2013). Optimization of the pepsin digestion method for anisakids inspection in the fishing industry. *Veterinary Parasitology*, 191(3–4), 276–283. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.09.015>

Fakta om kveis

Kveis er betegnelsen på larvene av parasittiske rundmark som forekommer hos praktisk talt alle marine fiskeslag i våre farvann. De viktigste kveisartene er *Anisakis simplex*, også kalt hval- eller sildemarken, og *Pseudoterranova decipiens*, også kjent som sel- eller torskemarken. I tillegg kan en annen, noe mindre iøynefallende selmark, *Contracaecum*, forekomme i større mengder i torsk, særlig skrei. Alle tre kan gi sykdom (anisakidose) hos mennesker, men siden *Anisakis* er mindre enn de andre og lett vil kunne overses i fiskekjøttet, er den klart viktigst i forhold til mattrygghet. *Anisakis* har en komplisert livssyklus som involverer ved siden av ulike fiskeslag og blekksprut, også krill eller hoppekreps (rødåte), i tillegg til småhval der larvene blir kjønnsmodne og formerer seg. Mennesket er ikke naturlig vert for *Anisakis* slik at vårt immunsystem vanligvis reagerer umiddelbart og mer eller mindre kraftig når en tilfeldig spist *Anisakis*-larve prøver å feste seg i mageveggen. En annen kveisart er *Hysterothylacium aduncum*. Denne er imidlertid ikke skadelig for oss, men kan ha betydelig kvalitetsnedsettende effekt hvis den opptrer i store mengder på innvollene til hel, rund fisk.



Livssyklusen til kveistypen *Anisakis* (modifisert etter S. Mattiucci)

Anisakidose. Er man uheldig og får i seg levende *Anisakis*, for eksempel ved å spise fisk som ikke har vært dypfrost eller tilstrekkelig varmebehandlet før måltidet, kan man bli akutt syk med magesmerter, diaré og oppkast. Levende *Anisakis* kan dessuten utløse allergiske reaksjoner hos særlig disponerte personer. Det antas dessuten at også spor av død kveis i prosessert fiskemat, i noen tilfeller kan være nok til å fremkalle allergi.

Hvordan unngå problemer med kveis? Vanlig varmetilberedning av fersk fisk som innebærer at temperaturen når minst 60 °C i hele produktet, er tilstrekkelig for å ta livet av all kveis som måtte være tilstede. Kveisen dør også ved dypfrysing i minst ett døgn. Gjeldende regelverk (EU/EØS) slår da også fast at villfisk som skal spises rå må fryses ved minus 20 °C i minst 24 timer før konsum.