

Riksprojekt 2004

Patogen *Yersinia enterocolitica* -
i obehandlade och behandlade fläskprodukter

av Susanne Thisted Lambertz

Projektdeltagare

Kommuner

Livsmedelsinspektörer, 122 kommuner Appendix 1

Livsmedelsverket

Projektgrupp

| | |
|---|------------------------------------|
| Susanne Thisted Lambertz, projektansvarig | Mikrobiologiska enheten |
| Marianne Boysen | Mikrobiologiska enheten |
| Lars Plym Forshell | Tillsynsavdelningens stab |
| Karin Gustavsson | Avd. för information och nutrition |
| Åsa Kjellgren | Enheten för internationell handel |
| Satu Salmela | Enheten för internationell handel |
| Sven Lindgren | Generaldirektörens stab |
| Lennart Nilsson | Enheten för köttillsyn |
| Inger Wikström | Enheten för kommunstöd |

Övriga

| | |
|---|-----------------------------------|
| Besiktningveterinärer, provtagning | Enheten för köttillsyn |
| Catarina Carlsson, laborativt efterarbete | Mikrobiologiska enheten |
| Mats Lindblad, statistisk bearbetning | Mikrobiologiska enheten |
| Ulrika Evans Cederlund, översättning | Enheten för internationell handel |

Sammanställning av rapport

Susanne Thisted Lambertz

Innehållsförteckning

| | |
|--|----|
| Sammanfattning..... | 5 |
| Slutsatser ur ett riskhanteringsperspektiv..... | 6 |
| Summary..... | 7 |
| Inledning..... | 8 |
| Syfte med Riksprojektet | 8 |
| 2004..... | |
| Avgränsningar..... | 8 |
| ... | |
| Bakgrund..... | 9 |
| Material och metoder..... | 13 |
| Provtagning..... | 13 |
| Analyser..... | 14 |
| Bearbetning av analysvar..... | 17 |
| Resultat..... | 18 |
| Diskussion..... | 25 |
| Slutord..... | 30 |
| Referenser..... | 31 |
| Appendix 1. Deltagande kommuner och antal prov per kommun..... | 33 |
| Appendix 2. Projektbeskrivning | 35 |
| Appendix 3. Följesedel för provtagning | 41 |

Sammanfattning

Studien visar att DNA från den patogena bakterien *Yersinia enterocolitica* finns i 9 % (132 av 1 455) av våra vanligaste fläskprodukter. Förekomsten påvisades med PCR i samtliga 132 positiva prov. I endast ett prov kunde bakterien isoleras genom odling. Eftersom PCR påvisar DNA lämnas ingen information om huruvida de detekterade bakterierna är döda eller levande.

Det har under ett par decennier funnits indirekta bevis för att fläskprodukter är den viktigaste överföraren av yersinia till människa. Det är inte överraskande eftersom bakterien koloniserar grisarnas svalg och vid slakten lätt kan kontaminera övriga delar av grisen. Nyligen, efter att PCR-metoder tagits i bruk, har DNA från bakterien påvisats i fläskfärs. Resultaten från denna studie, Riksprojektet 2004, visar att DNA från yersinia hittades i 10 % (97 av 933 prov) av obehandlat fläskkött, och i 7 % (35 av 522) av behandlade fläskprodukter.

En majoritet av de 500-700 personer som årligen rapporteras smittade av yersinia i Sverige är barn under 5 år. Man har spekulerat i om konsumtion av olika charkuteriprodukter kan vara en av orsakerna. Av de 340 analyserade charkuteriprodukterna i Riksprojektet var 7 % positiva med PCR och inga kolonier kunde isoleras. Det betyder att bevis saknas för att det skulle vara fråga om levande bakterier. Projektet kan därmed inte ge stöd för charkuteriprodukter som smittkälla för barn.

Av svenskproducerade fläskprodukter var 9 % (106 av 1 193) positiva för yersinia. Av produkter från annat tillverkningsland var 10 % (13 av 129) positiva. Produkterna kom från ett tiotal europeiska länder. Resultatet bekräftar att inga egentliga skillnader råder mellan svenskproducerade produkter och produkter från övriga EU-länder.

De fall av human yersinios som årligen rapporteras i Sverige följer en tydlig årstidsvariation med högst frekvens fall i augusti/september och lägst i april. Orsaken till denna variation är okänd. Andelen positiva prov av fläskprodukter från prov insamlade under tolv månadersperioden i Riksprojektet följde inte motsvarande variation under året.

Resultatet från Riksprojektet visar att det med PCR är möjligt att påvisa DNA från yersinia i en rad olika fläskprodukter. Uppgifterna kan på sikt bidra till att öka förståelsen för bakteriens spridningsvägar.

Slutsatser ur ett riskhanteringsperspektiv

Slutsatserna är framtagna av Tillsynsavdelningen tillsammans med Samrådsgruppen för mikrobiologisk livsmedelssäkerhet (SMIL)

Y. enterocolitica har visats förekomma i såväl rått fläskkött (10 % positiva prover) som i värmebehandlade produkter innehållande fläskkött (7 % positiva prover). Förekomsten i värmebehandlade produkter skulle kunna vara enbart avdödade celler.

Insatser i primärproduktionen för att minska förekomsten av grisar som är bärare av yersinia kan eventuellt vara effektiva men kunskaper om sådana insatser saknas för närvarande.

Det är vanligt att yersinia förekommer i svalget och i mag/tarmkanalen på grisar. Slaktkropparna och organen kontamineras vid slakt och urtagning och därefter sker vidare kontaminering vid nerskärning och styckning. Insatser för att minska prevalensen kontaminerade slaktkroppar och styckningsdetaljer måste därför riktas mot dessa led. Insatserna måste utgöras av förbättrad hygien.

Kvantitativa data om fekal kontaminering av slaktkropparna studeras i projektet Mikro-profil gris och resultaten från detta projekt kommer att utgöra ett viktigt underlag för framtida åtgärder.

Smittvägarna till människa vid yersinios är oklara, men svinkött och produkter som innehåller svinkött anses vara viktiga faktorer. Av detta följer att en minskning av kontaminering vid slakt och förbättring av hygien vid nerskärning och styckning kan förväntas minska humanincidensen. Hur detta ska kunna ske bör bli föremål för speciella studier.

Möjliga åtgärder inkluderar:

- intensifierad slaktkroppskontroll avseende fekal förorening med specifika åtgärder mot anläggningar där så erfodras.
- framtagning av en riskprofil med fokus på smittvägar och möjliga åtgärder i slakt- och styckningsleden. Ett sådant uppdrag bör inledas med en hearing med inbjudna externa specialister och intresserade parter.

Summary

The survey shows that DNA from the pathogen bacterium *Yersinia enterocolitica* is present in 9 % (132/1 455) of our most common pork products. The bacterium was detected by PCR in all of the 132 positive samples. In one of the samples, the bacteria could also be isolated through cultivation. Since PCR detects DNA, there is no information as to whether the detected bacteria are viable or dead.

The last twenty years, there has been indirect evidence that pork products are the most important transmitter of yersinia to humans. That this should be the case is not surprising, since the bacteria colonizes the oral cavity of pigs, and at slaughter can easily contaminate the carcass. But only recently, since the introduction of PCR-methods, has it been possible to detect DNA from the bacterium in minced pork. The results of this National Survey show that DNA from *Y. enterocolitica*, bioserotype 4/O:3, was found in 10 % or 97 of the 933 samples of untreated pork, and in 7 % or 35 of 522 samples of treated pork products.

The majority of the 500-700 cases of human yersiniosis reported in Sweden annually are children under 5 years of age. Speculations have been made whether the consumption of meat products could be one of the causes. Out of 340 meat products, 7 % were positive using PCR and no colonies could be isolated. The survey does not support the theory that meat products are a source of infection for children.

Of the pork products produced in Sweden, 9 % (106/1 193) were positive for yersinia. Of the products produced outside of Sweden, 10 % (13/129) were positive. The products came from about ten European countries. The result confirms that there are no real differences between products produced in Sweden and products produced in other EU-countries.

The cases of human yersiniosis reported in Sweden annually have a clear seasonal variation with the highest frequency in August /September and the lowest frequency in April. The reason for this variation is unknown. Of the samples collected in the National Survey during a twelve-month period, the number of positive samples of pork products did not follow the corresponding seasonal variation.

The result from the National Survey shows that it is possible by PCR to detect pathogen *Y. enterocolitica* in a number of pork products. The information can contribute to an increased understanding for how the bacteria are spread.

Inledning

Trots att 500-700 nya fall av human yersinios anmäls årligen i Sverige vet man inte hur människan smittas. Det finns indirekta bevis för att fläskkött är en mycket viktigt smittkälla, och man har inte lyckats bevisa detta eftersom analysmetoderna har varit för dåliga. Numera går det med moderna metoder, till exempel PCR, att påvisa DNA från mikroorganismer i livsmedel. Tyvärr ges ingen information om de påvisade bakterierna är levande eller döda. I ett samarbete mellan landets livsmedelsinspektörer och Livsmedelsverket undersöker Riksprojektet 2004 förekomsten av yersinia i våra vanligaste fläskprodukter. Syftet är att på sikt förstå i vilka produkter levande yersinia finns.

Livsmedelsverket deltar i ett EU-projekt, FOOD-PCR, där PCR-baserade metoder utvecklas och valideras. Första delen av projektet har avslutats och arbetet fortsätter nu med tillämpningar av nya utvecklingar av tekniken. Projektet sker inom EU-forskningsområdet "Livsmedelssäkerhet och livsmedelskvalitet".

Inom organisationen European Committee for Standardization, CEN, med internationell förankring i International Organization for Standardization, ISO pågår arbete med definitioner av termer, nödvändiga kontroller och åtgärder för att garantera kvalitetssäkert arbete avseende PCR-metoder. Detta med syfte att harmonisera analysförfarandet mellan länderna och skapa konsensus för att underlätta implementeringen av metoderna i livsmedelslaboratorier.

En PCR-metod för att påvisa yersinia har utvecklats på Livs-medelsverket, "Kombinerad PCR- och odlingsmetod för påvisande av patogen *Y. enterocolitica* i livsmedel", NMKL-metod 163 A, 1998. Metoden har validerats i Norden inom Nordisk metodik kommitté för livsmedel, NMKL, och internationellt inom EU-projektet FOOD-PCR. Metoden används i Riksprojektet.

Syfte med Riksprojektet 2004

- kartlägga förekomsten av patogen *Y. enterocolitica* i obehandlade och behandlade fläskprodukter i Sverige
- ge underlag för bedömning av om speciella åtgärder mot patogen *Y. enterocolitica* i livsmedel är motiverade
- öka kunskapen om organismen, patogen *Y. enterocolitica*, som matförgiftnings-agens.

Avgränsningar

Eftersom avsikten med kartläggningen i Riksprojektet var att få en samlad överblick av förekomsten av patogen *Y. enterocolitica* i fläskprodukter på den svenska marknaden behandlas proven helt avidentifierade.

Bakgrund

Patogen *Yersinia enterocolitica*

Y. enterocolitica är en gramnegativ bakterie som tillhör familjen *Enterobacteriaceae*. Av totalt 11 arter i släktet *Yersinia* är tre patogena, d.v.s. sjukdomsframkallande, *Y. pestis*, *Y. enterocolitica* och *Y. pseudotuber-culosis*. De två senare smittar via livsmedel, men kunskapen om smittvägarna är mycket ofullständig. Efter campylobacter är yersinia och salmonella de bakterier som orsakar flest matförgiftningsfall i Sverige.

Y. enterocolitica uppmärksammades första gången som matförgiftningsbakterie på 1960-talet, och under 70- och 80-talen mångdubblades antalet fall i flertalet europeiska länder (Ostroff 1995). Det ledde fram till att yersinios blev en anmälningspliktig sjukdom enligt smittskyddslagen i Sverige den 1 januari 1996. Ökningen förklarades med att det blev mer allmänt att kylförvara livsmedel. Bakterien är psykrotrof, d.v.s. speciellt anpassad för kyla, och kan växa i temperaturer ända ner till noll grader.

Antalet rapporterade fall av yersinios i Sverige är 500-700 per år. Ungefär 75-85 % av dessa är inhemska fall, d.v.s. personerna är smittade i Sverige. Av ett tiotal länder i Europa som anmäler yersiniosfall hör Sverige och Tyskland till dem som de senaste åren har rapporterat ett ökat antal. För samtliga länder (med undantag för Finland) gäller att yersinia framför allt drabbar barn i åldersgruppen upp till och med fyra år. Incidensen (antal fall per 100 000 invånare) i andra åldersgrupper är betydligt lägre och spridningen är mera jämn över åldrarna. Oavsett åldersgrupp är incidensen något högre bland män än bland kvinnor (Smittskyddsinstitutet 2005).

Det finns starka indirekta bevis för att fläskkött och fläskprodukter är de viktigaste smittkällorna för yersinia (Kapperud 1995). Till exempel är grisen det enda djur som regelbundet är bärare av bakterien. En rad undersökningar från olika delar av världen har visat att grisar är friska bärare av samma bioserogrupp som orsakar human yersinios i det aktuella geografiska området. Dessutom har det inte varit möjligt att fenotypiskt eller genotypiskt skilja stammar åt som isolerats från gris respektive människa (Kapperud 1991).

Det faktum att yersinios nästan uteslutande rapporteras som sporadiska fall, och att utbrott är mycket sällsynta, bidrar till problem att kartlägga smittvägarna. Ett annat hinder är svårigheterna att påvisa bakterien med konventionella odlingsmetoder (Kapperud 1991). De senaste åren har man emellertid i ett antal studier funnit att man kan påvisa bakterien i livsmedel med PCR. I Riksprojektet användes en kombinerad PCR- och odlingsmetod för påvisande av bakterien (Thisted Lambertz 2000).

Yersiniainfektionen - yersinios

Yersiniainfektion är en zoonos, d.v.s. en sjukdom som kan överföras mellan djur och människa. Bakterien är invasiv och penetrerar hos människan slemhinnan i den nedre delen av tunntarmen. Inkubationstiden är normalt 1-11 dygn. Symtomen vid yersinios skiljer sig för olika åldersgrupper och kan variera mycket. De vanligaste symtomen är diarré (ibland blodig), illamående, feber och kräkningar, speciellt hos barn. Symtomen varar i allmänhet 1-3 veckor, men kan kvarstå flera månader med kroniska magsmärtor och upprepade diarréepisoder (Robins Browne 1997). Hos äldre barn och vuxna kan kraftiga buksmärtor (p.g.a. mesenteriell lymfadenit) dominera. Dessa symtom gör det svårt att utesluta blindtarmsinflammation (appendicit) utan operation. Symtomen kan också vara halsont. Framför allt i åldersgruppen 20-40 år kan infektionen kompliceras av ledbesvär (postinfek-tiös artrit), hudbesvär (erythema nodosum) eller systeminfektion. Ledbesvären varar vanligtvis 3-5 månader men uppföljningsstudier visar att en betydande andel av patienterna har problem under en längre period. Oberoende av klinisk bild utsöndras yersinia i faeces i upp till ett par månader efter infektion. Den kritiska infektionsdosen, d.v.s. den minsta mängd som krävs för att framkalla infektion, är inte känd.

I hela världen finns rapporterat ett 30-tal fall med dödlig utgång efter blodtransfusioner där yersinia varit orsaken (Robins Browne 1997). Bakterien har härletts till blodgivare som vid blodgivningstillfället varit friska bärare. Inga sådana fall har rapporterats från Sverige. Numera är leukocytfiltrering standard eller blir allt vanligare i Sverige. Yersinia finns intracellulärt i leukocyterna och smittan förhindras genom filtreringen.

En övervägande del (80 %) av de yersiniospatienter som får ledbesvär har gener för en speciell vävnadstyp, HLA-B27. Det är inte känt vilken roll genen har men det finns ett samband mellan genotyp och ledaffektion. Ungefär 10 % av Sveriges befolkning har denna vävnadstyp, och samma andel (ca 10 %) av yersiniospatienterna får ledbesvär (Infomedica 2005). Ledbesvär i samband med yersinios rapporteras nästan uteslutande från de nordiska länderna. Vad det beror på är inte känt. Det kan vara fråga om underrapportering i andra länder. En annan förklaring kan vara att vävnadstypen HLA-B27 är vanligare här (Robins Browne 1997).

De patogena varianterna av yersinia har virulensgener på kromosomen och på en s.k. virulensplasmid (Robins Browne 1997). Exempel på kromosomala gener är *ail* (attachment and invasion locus) och *inv* (invasin) - adhesiner som kodar för proteiner som ger bakterien invasiva egenskaper, d.v.s. de kan fästa på epitelcellerna och ta sig genom tarmväggen. *Ail*-genen används som mål-DNA i analysmetoden i Riksprojektet. En annan kromosomal gen är *yst* (yersinia temp-stable toxin) som kodar för ett toxin som bidrar till irritationen av tarmslemhinnan. Fullt patogena stammar har en virulensplasmid. Virulensplasmiden kodar för en serie proteiner (mer än 14) som har avgörande betydelse för den patogena processen. Stammar som saknar plasmid förlorar förmågan att tränga djupare in i vävnader.

Smittkällor och smittvägar

Den huvudsakliga reservoaren för yersinia är grisar, och i Norden är mellan 50 och 90 % av svinbesättningarna smittade (Nielsen and Wegener 1997; Skjerve 1998). Griskultingarna är fria från yersinia när de föds (Zheng 1987). De blir däremot bärare inom 2-3 veckor efter födelsen om bakterien finns i deras omgivning. Bakterien koloniserar svalgregionen på grisarna, speciellt tonsiller och tunga, och finns där som en del av den naturliga floran. Därifrån sprids den till grisens mag/tarmkanal. I samband med den primära infektionen kan en del grisar få en övergående diarré innan de blir friska bärare av bakterien.

I samband med slakten finns i princip två viktiga smittvägar för bakterien. Den ena är från tarminnehållet när tarmpaketet tas bort, den andra är från svalget. På slakterierna i Sverige har man försökt begränsa spridningen från dessa delar, bland annat genom att använda en s.k. bungcutter, för att effektivt avsnöra och avlägsna paketet med tarmar, magsäck m.m. För att begränsa smittan från svalgregionen använder man en särskild anordning i form av en krok där tonsiller, tunga m.m., det vill säga de mest infekterade delarna, hängs upp. På det sättet kan det oundvikliga droppandet från dessa delar hamna på golvet i stället för på andra delar av slaktkroppen (Andersen 1991). Åren efter introduktionen av bungcuttern minskade antalet rapporterade yersiniosfall till ungefär hälften, från ca 1200-1400 fall per år till dagens nivå på ca 600 fall per år (Smittskyddsinstitutet 2005).

Olika stammar av yersinia kan ge olika DNA-profiler. Att ta fram DNA-profiler förutsätter emellertid att bakterien har isolerats. Profilerna kan användas till att följa spridningen av bakterien. Genom att jämföra DNA-profiler från isolat från grisens svalg med isolat från yersiniospatienter har man funnit att dessa utgör samma kloner (Asplund 1998). I en mindre studie, utförd på Livs-medelsverket våren 1999, hittades samma kloner i isolat från patienter som i isolat från rå fläskfilé, karré, grytbitar och fläskfärs. Studien omfattade 48 yersiniospatienter. Livsmedlen samlades in från de butiker där patienterna hade handlat och motsvarande de produkter de hade köpt före insjuknandet (Thisted Lambertz 2005).

Andra smittkällor än grisar diskuteras också (Kapperud 1991). Humanpatogen yersinia kan undantagsvis isoleras från andra djur, t.ex. hundar, katter och råttor. Fredriksson-Ahomaa et al (2001) har visat att rått fläskkött är en viktig smittkälla för hundar och katter, som alltså kan infekteras. Djuren kan vara friska bärare och utsöndra bakterien i flera veckor. De kan alltså därmed utgöra en smittkälla. Vidare visar en fall/kontrollstudie utförd i Norge 1988-1990 att användning av obehandlat vatten kan innebära ökad risk för att få yersinios (Kapperud 1995).

Några egenskaper hos *Yersinia*

Yersinia är i hög grad anpassad till vårt moderna sätt att förvara livsmedel. Den kan växa både i kyla, ända ned till 0°C, och i vakuumpförpackningar (Robins Browne 1997). Medan kylagring av livsmedel stoppar tillväxt av de flesta andra

mikroorganismer kan yersinia alltså växa vid låg temperatur. Bakterien klarar också frysning under längre perioder, liksom infrysning/upptining upprepade gånger, men överlever däremot inte kokning, stekning eller pastörisering. Under i övrigt gynnsamma förhållanden tål yersinia en salthalt på upp till 5 % och överlever i pH-intervallet 4-10. Flera studier har visat att bakterien växer på en stor mängd olika livsmedel, t.ex. på kött, fisk, skaldjur och mejeriprodukter, bättre på kokt än på rått kött. Bakterien inaktiveras av klorering, UV-ljus, joniserande strålning och nitratsalter.

PCR -polymerase chain reaction

PCR-tekniken bygger på kännedom om arvsmassan hos den bakterie man vill påvisa – man måste veta den exakta nukleotidsekvensen i en viss del av bakteriens DNA-sträng. Principen är att man ”kopierar” en del av DNA:t, ofta en del av en gen, som man noga valt ut som unik för just den bakterie man söker. Under PCR-analysen görs kopior av den del av genen man valt ut - så många kopior att man med en viss färgteknik kan göra dem synliga. Därmed har man påvisat bakterien. PCR är så känslig att man i princip kan påvisa närvaro av en enda bakterie. En faktor som emellertid starkt begränsar denna potential är att PCR-reaktionen äger rum i en mycket liten vätskevolym, endast 5-10 µl (Olsen 1995). Man måste alltså i en förbehandling av sitt prov, före PCR-analysen, koncentrera den sökta bakterien i en ytterst liten volym.

Material och metoder

Provtagning

Kommunala livsmedelsinspektörer ansvarade för provtagningen i livsmedelsbutik, gårdsbutik, daghem/förskola samt i förpacknings- och produktionsanläggningar för kött och köttprodukter. Provtogs av råa fläskprodukter samt kallrökta och värmebehandlade produkter innehållande fläskkött. Livsmedelsverkets besiktningveterinärer ansvarade för provtagningen vid några av landets större produktionsanläggningar och fläskkött importerat från tredje land provtogs av importkontrollen i Ystad. Specifika önskemål om produkttyper för provtagning i första hand hade angetts i förväg (tabell 1). Urvalet hade gjorts utifrån kriterierna ”vanligast hanterad” och ”konsumerad” i alla åldersgrupper, specifika produkter för åldersgruppen ”barn under 5 år” samt analysmetodens känslighet för vissa hämmande faktorer i livsmedlet (fett och blod). Provtagarna hade instruerats att merparten av proverna (2/3) skulle väljas bland de råa fläskprodukterna. Provtagningen skedde under ett år (januari 2004-januari 2005) med undantag för provtagningen från tredje land, som endast ägde rum under perioden januari-april 2004. Samtliga livsmedelsinspektörer (i totalt 290 kommuner) och besiktningveterinärer i landet inbjöds att delta. Målsättningen var att få med så många som möjligt, en provtagning med god geografisk spridning över landet och vid olika tillfällen under året.

Tabell 1. Planerade provtyper för analys, att välja i första hand

| <i>Välj 2/3</i> | <i>Välj 1/3</i> | |
|--------------------|---|---------------|
| Råa fläskprodukter | Kallrökta och värmebehandlade produkter | |
| Fläskfärs | Hushållsmedwurst | Kassler |
| Blandfärs | Cognaesmedwurst | Bacon |
| Filé | Prickig korv | Rimmat fläsk |
| Karré | Prinskorv | Rimmad skinka |
| Kotlett | Varmkorv | |
| Skinkstek | Wienerkorv | |
| Grytbitar | Frukostkorv | |
| Fläskfärs | Falukorv | |
| Blandfärs | Sylta | |

Provtagarna fyllde i en följesedel för varje prov (Appendix 3).

Följande uppgifter noterades

- kommun, ort och datum för provtagningen
- provtagningsplats (butik, gårdsbutik, daghem/förskola, stycknings-/förpackningsanläggning)
- provtyp (råa fläskprodukter eller kallrökt/värmebehandlade)

- provets märkning, produktnamn, varumärke, anläggningsnummer
- ursprungs- eller tillverkningsland (ej råvarans)
- provets bäst före-dag eller sista förbrukningsdag, förpackningsdag
- provets temperatur vid provtagningen och enligt förpackningen
- förpackning (färdig- eller butiksförpackat, annat)
- förpackningstyp (vakuum, modifierad atmosfär, plasttråg/luft)

Något önskemål om visst antal prov tagna från varje provtagare/kommun framfördes inte - allt från ett och uppåt var mycket välkommet. På specifik förfrågan rekommenderades 5-10 prov, tagna vid olika tillfällen under året. För att få så stor spridning som möjligt på olika produktslag fanns en särskild rekommendation att hellre ta ett prov av flera olika produkter än att ta flera prov av samma produkt. Provuttag och transport till laboratoriet rekommenderades ske enligt LIVSFS 2003:26. Dessutom fanns specifika anvisningar för provpackning, transport och tider m.m. att följa kopplat till det aktuella, analyserande laboratoriet.

Analyser

Vid ankomst till laboratoriet hanterades proven enligt det enskilda laboratoriets specifika rutiner för mottagning av prov. Provens temperatur registrerades. Enligt anvisning påbörjades analys senast dagen före bäst före-dag. Prov som inte analyserades direkt vid ankomsten belastades fram till analystillfället. Fanns inte bäst före-dag angiven på provet startades analysen i anslutning till att provet anlände. För färsprover kunde analysen, på grund av den korta hållbarhetstiden, starta till och med sista förbrukningsdag. Hade frysta prov tinat under transporten startades analysen i omedelbar anslutning till ankomsten.

Två av landets privata laboratorier (A och B) ackrediterades för NMKL-metoden 163 A ”Kombinerad PCR- och odlingsmetod för detektion av patogen *Yersinia enterocolitica* i livsmedel, NMKL-163 A” (figur 1).

Om en PCR-analys ger ett negativt svar kan man för att höja metodkänsligheten (100-1000 ggr) överföra 10 µl av PCR-produkten (d.v.s. vätskan i PCR-röret efter en PCR-analys) till en ny PCR-mix (innehållande ett inre primerpar) och göra en ny PCR-analys, s.k. PCR_{II}. Samtliga PCR_I-negativa prov i Riksprojektet analyseras med PCR_{II}.

Förutom de ackrediterade delarna av metoden gjorde laboratorierna vissa tilläggsanalyser (A) och Livsmedelsverkets mikrobiologiska enhet viss laboratoriskt efterarbete (B).

A. Tilläggsanalyser, enligt följande instruktion

1) *Samtliga prov behandlas, förutom enligt metoden, på följande sätt Dag 0*

Späd provet (enligt metod) 1:10 med TSB och homogenisera i 2 min (påse med nät). Låt det homogeniserade provet stå i 22-25°C ca (minst) 2 timmar. Blanda om homogenatet. Tag ut en volym på ca 10 ml. Anrika resten och behandla vidare enligt metoden. Låt grova partiklar sjunka i 10 millilitersvolymen; t.ex. kan homogenatet överföras till ett smalt 10 milliliters Falconrör som får stå i kyl ca ½ timme. Överför 600 µl 50 % Percoll till ett 1,5 milliliters Eppendorfrör. Skikta försiktigt 900 µl homogenat av den klara överlösningen ovanpå Percollvolymen. Centrifugera rören vid 13 200 rpm i 30 sekunder inklusive start- och bromstid. Livsmedelspartiklarna ska nu finnas i övre delen av röret och bakterierna i botten-spetsen. Avlägsna försiktigt med en pasteurpipett så mycket av vätskan att ca 0,1 ml återstår; markeringen på röret kan utnyttjas. Tvätta 0,1 millilitersvolymen genom att tillsätta 1,0-1,4 ml PBS och blanda genom att vända röret upp och ner så att all vätska rinner från rörets botten. Vänd röret rätt och vortexa. Centrifugera provet vid 10 000 rpm i 5 minuter. Avlägsna med en pasteurpipett försiktigt så mycket av vätskan att ca 75 µl finns kvar i röret. Blanda pelleten och den kvarvarande vätskan väl. *Består provet av (i) färska, råa fläskprodukter:* tag 25 µl av 75 mikrolitersvolymen och blanda den med 100 µl PBS (5.3). Rackla ut 125 µl:s volymen på en CIN-platta. Inkubera i 25°C över natt. Analysera misstänkta kolonier Dag 1. Resterande volym (ca 50 µl bakteriesuspension) upphettas i 5 minuter vid 94°C och fryses omedelbart (-20°C). Skickas senare till Livsmedelsverket. *Består provet av (ii) behandlade fläskprodukter:* 75 mikroliters bakteriesuspensionen upphettas i 5 minuter vid 94°C och fryses omedelbart. Dessa skickas också senare till Livsmedelsverket.

2) *Negativa PCR_I-produkter analyseras med ett inre primerpar(1 och 2), PCR_{II}.*

För att minska kontaminationsrisken rekommenderas att plocka ut PCR-produkter som blivit positiva i PCR_I innan PCR_{II} körs.

3) *För att minska risken för påverkan på analyskänsligheten* rekommenderas laboratorierna att använda internkontrollen endast i separata rör, alltså inte tillsammans med provet.

4) *För att minska risken att virulensplasmiden selekteras bort* rekommenderas att göra så få omstryk som möjligt av isolerade stammar.

5) *ail-positiva isolat* skickas till Livsmedelsverket; 1-5 positiva kolonier rekommenderas per prov, ju flera desto bättre. Livsmedelsverket gör samtliga nödvändiga biokemiska test.

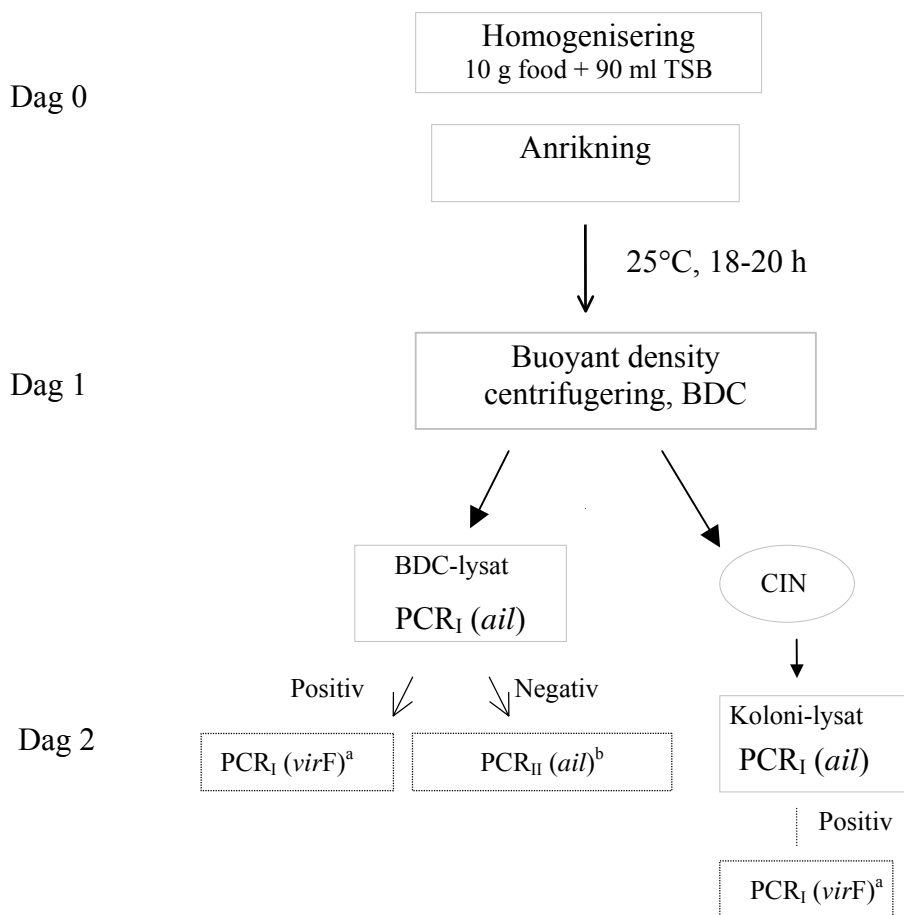
6) *För att undvika falskt-negativa PCR-svar orsakade av matriseffekter* rekommenderas analys av 8 µl homogenat och 2 µl internkontroll, en för varje matrisvariant och PCR-körning. Livsmedelsverket levererade internkontroll.

7) För att minska risken för falsk-positiva PCR-svar på grund av kontamination rekommenderas användning av (i) mineralolja vid samtliga PCR-analyser, även om lock med värme används; samt (ii) att aldrig använda en positiv kontrollstam.

8) Laboratorierna rekommenderas att spara följensedlarna tills projektet är avslutat och sammanställt.

B. Laboratoriskt efterarbete

- 1) Lysat dag 0, från prov som blivit positiva Dag 1, analyseras med PCR_{II}.
- 2) Samtliga PCR-positiva produkter, såväl PCR_I som PCR_{II}, konfirmeras.
- 3) Samtliga *ail*-positiva isolat artbestäms och serotypas.
- 4) Sekvensering av vissa PCR-produkter vid behov.



Figur 1. NMKL-metod 163A. Dag 0, Dag 1 och Dag 2 är analysdagar

^aPCR med primrar avgränsande ett fragment på virulensplasmiden, *virF*-genen

^bPCR med primer avgränsande en sekvens innanför det första *ail* fragmentet, PCR_{II}.

Bearbetning av analyssvar

Laboratorierna överförde uppgifter om provtagaren och provtagningen som angetts på följesedeln till datafiler som skickades till Livsmedelsverket för analys och sammanställning. Analysdata bearbetades statistiskt med χ^2 -test för att analysera betydelsen av olika faktorer.

Resultat

Totalt antal prov

Totalt analyserades 1 581 prov. Av dessa godkändes 1 455. Bortfallet på 126 prov (motsvarande 8 %) berodde på misstankar om kontamination. Av de kvarvarande proven överskred 18 % (260 prov) 8°C vid ankomsten till laboratoriet; 53 hade en temperatur på mellan 11 och 19°C. Ingen statistiskt signifikant skillnad i andel positiva prov erhöles mellan prov med en uppmätt temperatur på högst 8°C och de över 8°C (χ^2 -test, $P>0,05$) och inga av dessa prov uteslöts. För 5 prov påbörjades analys efter bäst före-dagen. De kasserades och ersattes med nya.

Totalt antal positiva prov

Av de totalt 1 455 analyserande proven blev 9 % (132) positiva för yersinia. Samtliga påvisades med PCR och från ett av proven isolerades en stam genom odling. Två laboratorier ansvarade för analyserna: laboratorium A analyserade 936 prov, varav 87 blev yersinia-positiva, och laboratorium B analyserade 519, varav 45 blev yersinia-positiva.

Provtagningsplatser

Antalet prov uttagna från olika provtagningsplatser var 1 270 från butik, 76 från stycknings- och förpackningsanläggningar, 42 från dagis/förskola, 12 från gårdsbutik samt 16 från restaurang och storhushåll (tabell 2). Från januari till april 2004 togs dessutom prov på importerat fläskkött. Provvuttaget upphörde den 1 maj 2004 då de aktuella importländerna blev EU-medlemmar och varor därifrån inte längre genomgår gränskontroll.

En majoritet av proven togs i butik. Av dessa blev 9,4 % (119 prov) positiva för yersinia (tabell 2). Ingen statistiskt signifikant skillnad fanns mellan andelen positiva prov från butik och andelen positiva prov från övriga platser (χ^2 -test, $P>0,05$).

Tabell 2. Totalantalet analyserade prov och antalet yersinia-positiva prov

| Provtagningsplats | Totalt | Positiva |
|--------------------------|--------|----------|
| Butik | 1 270 | 119 |
| Anläggning | 76 | 4 |
| Daghem/förskola | 42 | 5 |
| Gårdsbutik | 12 | 2 |
| Gränskontrollen | 39 | 0 |
| Restaurang o storhushåll | 16 | 2 |
| Totalt | 1455 | 132 |

Geografisk fördelning av provuttaget

Prov togs i 20 av landets 21 län; Blekinge län deltog inte (tabell 3). Inom varje län togs 10-196 prov. Yersinia påvisades i prov från samtliga län, utom Gotlands och Uppsala län. Antalet deltagande kommuner inom varje län varierade mellan 1 och 24. Av landets totalt 290 kommuner deltog 122. Antalet prov tagna i respektive

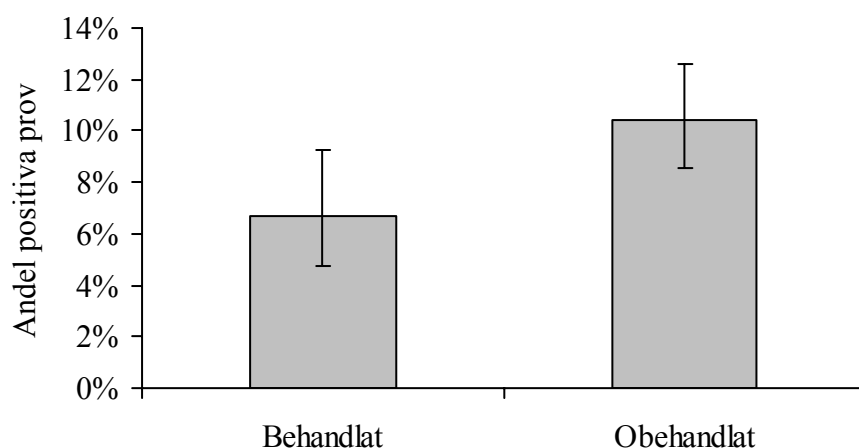
kommun varierade mellan 1 och 97 (Appendix 1). Flest prov togs i Stockholms kommun (97 prov). I genomsnitt togs 12 prov per kommun; medianen av antalet uttagna prov per kommun var 10.

Tabell 3. Antal positiva och totalt antal prov per län

| Län | Pos/totalt | Län | Pos/totalt | Län | Pos/totalt |
|------------|------------|---------------|------------|----------------|------------|
| Dalarnas | 6/36 | Kronobergs | 1/21 | Västerbottens | 5/23 |
| Gotlands | 0/10 | Norrbottnens | 6/69 | Västernorrland | 5/68 |
| | 5/79 | | 13/100 | s | 5/42 |
| Gävleborgs | 4/48 | Skåne | 14/196 | Västmanlands | 18/175 |
| Hallands | 2/41 | Stockholms | 3/27 | V. Götalands | 9/54 |
| Jämtlands | 7/116 | Södermanlands | 0/28 | Örebro | 4/45 |
| Jönköpings | 9/67 | Uppsala | 2/24 | Östergötlands | |
| Kalmar | | Värmlands | | | |

Produktgrupper

Det önskade provuttaget på 1:2 av *behandlade fläskprodukter och obehandlat fläskkött* förverkligades: totalt togs 522 prov av behandlade fläskprodukter och 933 prov av obehandlat fläskkött (figur 2). Andelen positiva prov av obehandlat fläskkött blev 10 % (97 prov) och motsvarande för de behandlade fläskprodukterna blev 7 % (35 prov). Skillnaden i förekomst av yersinia mellan de två grupperna var statistiskt signifikant (χ^2 -test, $P < 0,05$).



Figur 2. Fördelning av positiva prov av yersinia mellan behandlade fläskprodukter och obehandlat fläskkött. Resultatet härrör från totalt 1 455 prov. Felstaplarna visar 95 % konfidensintervall.

De provtagna *obehandlade fläskprodukterna* bestod av karré, färs och fläskfilé, skinka, sidfläsk, grytbitar, kotlett och bog samt *diverse fläskkött* (tabell 4). Andelen positiva prov uppgick till mellan 11 och 17 % för produkter märkta karré, färs och filé, och mellan 4 och 10 % för skinka, sidfläsk, grytbitar, kotlett och bog. De fem positiva proven av *diverse fläskkött* var fläskkött, ”miniflinta”, grishals, ”råvara fläsklägg” och fläskben. Ingen statistiskt signifikant skillnad i förekomsten av yersinia erhöles mellan de olika undersökta obehandlade produktslagen (χ^2 -test, $P > 0,05$).

Tabell 4. Andelen prov positiva för yersinia i obehandlat fläskkött

| Produktgrupp | Totala antalet prov | Antal positiva | Andel (%) |
|---------------|---------------------|----------------|-------------|
| Karré | 124 | 21 | 17 % |
| Fläskfilé | 62 | 8 | 13 % |
| Färs | 212 | 26 | 12 % |
| Skinka | 104 | 10 | 10 % |
| Sidfläsk | 31 | 3 | 10 % |
| Grytbitar | 88 | 8 | 9 % |
| Kotlett | 182 | 14 | 8 % |
| Bog | 50 | 2 | 4 % |
| Diverse | 80 | 5 | 7 % |
| Totalt | 933 | 96 | 10 % |

Gruppen *behandlade fläskprodukter* bestod av fermenterade, beredda och värmebehandlade produkter samt kombinationer av dessa (tabell 5). (Produktslag med 10 eller fler prov är nämnda här). Produkter som till exempel pressylta, kalvsylta och smålandssylta sammanfördes till *sylta*. Gruppen *korv* bestod av frukostkorv (10 prov), grillkorv (22 prov), prinskorv (26 prov), varmkorv (13 prov) och wienerkorv (15 prov). I gruppen *fläskkött* fanns produkter som rimmat fläsk (23 prov), sidfläsk (10) och stekfläsk (10). Slutligen sammanfördes olika typer av *påläggskorv*.

Högst andel positiva prov påvisades i gruppen *sylta* (13 %). I övriga grupper varierade andelen mellan 4 och 10 % (tabell 5). Av de undersökta produkterna *kokt och rökt skinka* och *påläggskorv* (värmebehandlade produkter färdiga för konsumtion), totalt 207 prov, blev drygt 8 % positiva. Ingen signifikant skillnad i förekomst av yersinia mellan de olika grupperna av *behandlade fläskprodukter* erhöles (χ^2 -test, $P > 0,05$).

Tabell 5. Andelen prov positiva för yersinia i behandlade fläskprodukter

| Produktgrupp | Totala antalet prov | Antal positiva | Andel (%) |
|---------------------|---------------------|----------------|-----------|
| Sylta | 24 | 3 | 13 % |
| Påläggskorv | 145 | 14 | 10 % |
| Kassler | 25 | 2 | 8 % |
| Kokt el rökt skinka | 62 | 3 | 5 % |
| Korv | 133 | 6 | 5 % |
| Bacon | 53 | 2 | 4 % |
| Div. fläskkött | 80 | 5 | 6 % |
| Totalt | 522 | 35 | 7 % |

Tillverkningsland

Landet där produkten (inte råvaran) hade tillverkats angavs för 91 % (1 322) av proven. För resterande 133 prov saknades antingen uppgiften på förpackningen eller också hade man glömt att anteckna det på följesedeln. Av produkterna med känt tillverkningsland var ca 80 % (1 193 prov), tillverkade i Sverige. Resten, 129 produkter, var tillverkade i: Danmark (49 prov), Ungern (33 prov), Tyskland (15 prov), Polen (10 prov), Finland (10 prov), Italien (4 prov), Norge (3 prov), Nederländerna (3 prov) och Spanien (2 prov).

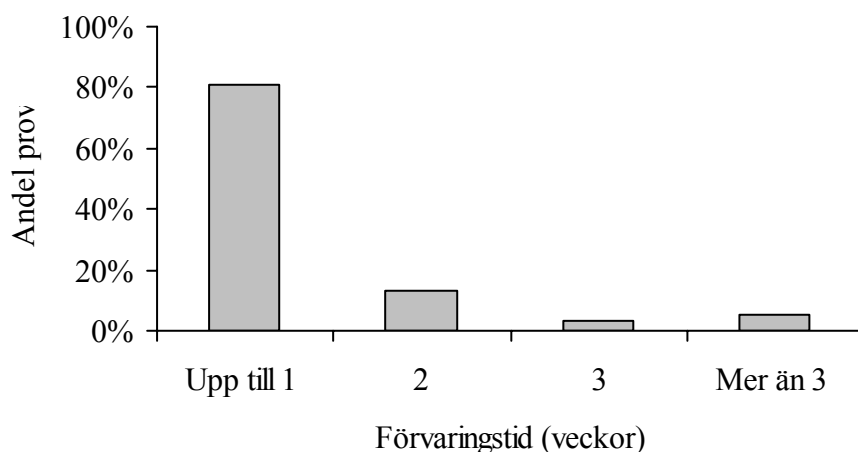
Av produkterna som var tillverkade i Sverige påvisades yersinia i 9 % (106/1 193). Motsvarande uppgift för de övriga tillverkningsländerna var sammanlagt 10 % (13/129). Positiva prov med annat tillverkningsland än Sverige

var: Danmark, 7 positiva av 49 undersökta (14 %); Tyskland, 3 positiva av 15 (20 %); Polen, 1 positiv av 10; Norge, 1 positiv av 3; och Spanien, 1 positiv av 2 undersökta. Positiva prov av obehandlade produkter med annat tillverkningsland än Sverige var: fläskfilé (4 prov), karré (2 prov) och kotlett (1 prov). De positiva behandlade produkterna var samtliga olika varianter av korv.

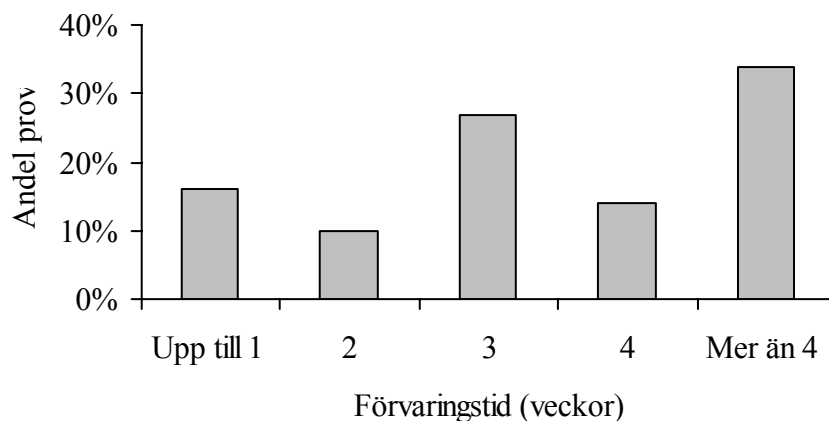
Förvaringstid och förpackningstyp

Typ av förpackning, d.v.s. om produkten var förpackad i modifierad atmosfär, vakuum eller luft, angavs för 74 % (1 076) av proven: 626 var förpackade i luft, 450 i antingen vakuum eller modifierad atmosfär. Det fanns ingen signifikant skillnad i andelen positiva prov mellan de olika förpackningstyperna (χ^2 -test, $P>0,05$).

Produktens förvaringstid, d.v.s. tid från förpackningsdag till analysdag, angavs för 807 (56 %) av proven: 241 behandlade och 566 obehandlade fläskprodukter. En majoritet (81 %) av de *obehandlade fläskprodukterna* analyserades inom en vecka efter det att de förpackats (figur 3), 13 % efter andra veckan, 3 % efter tredje och resterande efter mer än tre veckor efter förpackningsdagen. Ingen signifikant skillnad erhöles mellan andelen positiva prov analyserade efter upp till en veckas förvaring jämfört med produkterna som hade förvarats mer än en vecka (χ^2 -test, $P>0,05$). De *behandlade fläskprodukterna* analyserades istället fördelade över en fyraveckorsperiod (figur 4): 16 % analyserades första veckan, 10 % andra veckan, 27 % tredje veckan och 14 % fjärde veckan och resten (34 %) efter mer än fyra veckor. Ingen signifikant skillnad påvisades mellan andelen positiva svar för prov som hade förvarats upp till fyra veckor jämfört med dem förvarade mer än 4 veckor (χ^2 -test, $P>0,05$).



Figur 3. Tid mellan förpackning och analys av obehandlat fläskkött. Totala antalet prov var 566.



Figur 4. Tid mellan förpackning och analys av behandlade fläskprodukter. Totala antalet prov var 241.

Årstidsvariationer

En månadsvis sammanräkning av samtliga analyserade prov gav mellan 114 och 198 prov per månad för åtta av årets månader (tabell 6) och 22, 67 och 79 prov för januari, februari respektive december. Orsaken till att få prov analyserades i januari och februari var förseningar vid starten av projektet. De första proven togs först i månadsskiftet januari/februari 2004. Projektet förlängdes därför till 2 veckor in i januari 2005, vilket emellertid inte kompenserade för förlusten. Endast 22 prov analyserades i januari. Det låga antalet prov redovisade för juli, och i viss mån för augusti, förklaras av bortfallet (se ovan under ”Totala antalet prov”). Bortfallet drabbade juli med 67 kasserade prov och augusti med 20 kasserade prov.

Andelen positiva prov var högst under månaderna mars, maj, juni, september, oktober och november. Bortsett från månaderna med förklarad bortfall var andelen positiva prov lägst i april (tabell 6).

Tabell 6. Andelen positiva prov av yersinia per månad.
 Februari 2004-januari 2005

| | Totalt | Antal positiva | Andel |
|-----------|--------|----------------|-------|
| Januari | 22 | 0 | 0 % |
| Februari | 67 | 3 | 4 % |
| Mars | 163 | 18 | 11 % |
| April | 147 | 6 | 4 % |
| Maj | 198 | 19 | 10 % |
| Juni | 161 | 18 | 11 % |
| Juli | 52 | 4 | 8 % |
| Augusti | 114 | 6 | 5 % |
| September | 170 | 19 | 11 % |
| Oktober | 121 | 14 | 12 % |
| November | 161 | 20 | 12 % |
| December | 79 | 5 | 6 % |
| | 1455 | 132 | |

Analysmetod och konfirmering

Samtliga prov (n=1455) PCR-analyserades Dag 1, d.v.s. efter anrikning i buljong över natt (metodschema figur 1). Av de totalt 132 PCR-positiva proven påvisades 10 med PCR_I, resten med PCR_{II}. De PCR_I-positiva proven var samtliga obehandlade fläskprodukter: fläskfilé (2 prov), fårs (2 prov), karré (3 prov), kotlett (2 prov) och skinka (1 prov). PCR-produkterna, d.v.s. DNA-kopiorna konfirmerades genom enzymklyvning.

Av de totalt 132 positiva proven som alla analyserats Dag 1 testades 90 även Dag 0: 7 av dessa blev positiva Dag 0 (2 PCR_I-positiva och 5 PCR_{II}-positiva).

En stam isolerades (från en fläskfilé) och bestämdes till *Y. enterocolitica* bioserogrupp 4/O:3. Stammen var positiv i virulensplasmidtesten.

Diskussion

Patogen *Yersinia enterocolitica* fanns i 9 % av de analyserade fläskprodukterna. Under ett par decennier har det funnits indirekta bevis för att fläskprodukter är viktiga överförare av yersinia till människa, men först nyligen, efter att PCR-metoder tagits i bruk för analys, har man också lyckats visa att bakterien verkligen finns i denna typ av livsmedel (Boyapalle 2001). Resultatet från Riksprojektet överensstämmer med detta och visar att det med PCR är möjligt att påvisa yersinia i en rad olika fläskprodukter. Studien visar också att bakterien är vanligare i obehandlade (ca 10 % positiva) än i behandlade (ca 7 % positiva) fläskprodukter.

Yersinia kan påvisas med konventionella odlingsmetoder i prov av tunga och tonsiller från gris, men ytterst sällan i vanliga fläskprodukter. Flera studier har emellertid visat att det finns ett samband mellan yersinios och konsumtion av fläskkött (Ostroff 1994; Tauxe 1987). Under åren 1980-97 gjordes ett antal studier i olika länder, bl.a. Canada, Finland, Italien och Japan, för att kartlägga förekomsten av yersinia i denna typ av produkter. Man använde olika odlingsmetoder men hittade mycket få positiva prov - mellan 0 och 3 %, vilket var alldeles för lite för att förklara antalet fall av human yersinios. Under de senaste åren har man dock med PCR lyckats visa att yersinia-DNA finns i fläskkött i mycket högre grad än vad som motsvaras av resultaten från odlingsmetoderna (Johannessen 2000; Fredriksson-Ahomaa 1999). Till exempel analyserades 300 obehandlade fläskprodukter i en norsk studie och 17 % blev positiva med PCR medan endast 2 % blev positiva med odling. I en amerikansk studie analyserades 350 prov av fläskkött och 10 % blev positiva med PCR, inget påvisades med odling (Boyapalle 2001). I Riksprojektet analyserades totalt 1 455 prov av fläskprodukter. I genomsnitt blev 9 % positiva med PCR medan endast ett prov blev positivt med odling. Resultatet i Riksprojektet överensstämmer således väl med resultaten av dessa bägge studier.

Det finns emellertid en stor skillnad mellan ett PCR-positivt svar och ett odlingspositivt svar. Ett PCR-positivt svar ger ingen upplysning om den påvisade bakterien är levande eller död. Det är en stor nackdel eftersom endast levande bakterier kan orsaka infektion. Fördelarna med PCR-metoder är dock att de är helt ööverträffade både när det gäller precisionen i detektionen och i analys hastigheten. Den upplysning ett PCR-positivt svar ger är att DNA från bakterien har påvisats och att det därmed också finns risk för att det finns levande bakterier i provet.

I projektet undersöktes både obehandlat fläskkött (n=933) och behandlade fläskprodukter (n=522). Fler positiva prov påvisades i det obehandlade fläskkötet

(10 %) än i de behandlade produkterna (7 %). Skillnaden var statistiskt signifikant. Att yersinia förekommer i mindre utsträckning på behandlade produkter än på obehandlade kan förklaras med att de förra oftast, med undantag av skinka och rimmat fläsk, består av en blandning av olika ingredienser med större eller mindre mängd fläsk. Flera andra faktorer är därefter viktiga för vilken spridning bakterien får, t.ex. i vilken grad bakterien haft möjlighet att tillväxa och i vilken grad den aktuella produkten har hanterats. Olika studier visar att yersinia kan överleva och växa på olika typer av obehandlat fläskkött (Robins Browne 1997). Däremot växer den troligtvis mycket långsamt där. Vidare klarar bakterien kyltemperaturer och kan växa ända ner till 0°C. Den klarar också frysning och kan överleva på livsmedel under längre perioder av infrysning, även efter upprepad upptining. De PCR-positiva proven av rått, obehandlat fläskkött som påvisades i Riksprojektet hade från tillverkning fram till analys förvarats vid eller under 8°C. Sammanfattningsvis kan därmed sägas att det finns goda skäl att anta att de påvisade yersinibakterierna i denna typ av prov är levande. När det gäller de behandlade produkterna däremot är förutsättningarna annorlunda. Bakterien är värmekänslig och tål inte temperatur nämnvärt över 55°C och samtliga positiva prov hade med största sannolikhet värmebehandlats. Man kan således anta att bakterierna i dessa produkter var döda.

I Riksprojektet analyserades 933 prov av obehandlat fläskkött. Bland dessa fanns produkter som till exempel kotlett, skinka, sidfläsk, fläskfärs, filé och karré. En stor mängd prov, mellan 30 och 200, av de nämnda produktslagen analyserades och yersinia påvisades i mellan 8 och 17 % av dessa. Prevalens-studier från andra länder är svåra att hitta. Som tidigare har sagts är det svårt att påvisa yersinia med traditionell odling och många studier publicerade de senaste åren har därför handlat om att utveckla effektivare metoder. I dessa studier har rå fläskfärs ofta använts som ett naturligt kontaminerat livsmedel eftersom det i alla fall ibland ger upphov till positiva odlingsvar. Tack vare dessa studier finns det därför uppgifter på förekomst av yersinia i rå fläskfärs. I en amerikansk studie testades 350 prov av fläskfärs (Boyapalle 2001). Yersinia påvisades med PCR i ca 38 % av proven, ingen blev positiv efter odling. I en finsk studie analyserade Fredriksson-Ahomaa et al. (1999) 255 prov av fläskfärs: 2 % blev positiva efter odling och 25 % blev positiva med PCR. Eftersom dessa studier i första hand är metodjämförelser och inte prevalensstudier går resultaten inte direkt att jämföra med resultatet i Riksprojektet där 12 % av 212 analyserade prov av fläskfärs var positiva med PCR.

Andra produkter av obehandlat fläskkött än rå fläskfärs har sällan analyserats med PCR (Fredriksson-Ahomaa and Korkeala 2003). I en studie utförd på Livsmedelsverket 1999, där 48 yersiniospatienter intervjuades, analyserades fläskprodukter av samma typ som patienterna hade ätit två veckor före insjuknandet. Av 91 insamlade prov av råa fläskprodukter blev 10 % positiva med PCR. Yersinia påvisades i karré (2 av 7), filé (2 av 7), kotlett (1 av 20), skinka (1 av 10) och fläskfärs (3 av 24). Stämningar isolerades från 6 av proven (Thisted Lambertz 2005). I Riksprojektet analyserades bl.a. 124 prov av karré, varav 17 % blev positiva; 62

prov av filé, varav 13 % blev positiva; 182 prov av kotlett, varav 8 % blev positiva, och 104 prov av skinka, varav 10 % blev positiva. Resultat från Riksprojektet med i genomsnitt 10 % positiva prov av obehandlat fläskkött stämmer således väl överens med resultatet i den nämnda studien.

Betydelsen av fläskkött som smittkälla för yersinia understryks bland annat av ett antal fall/kontrollstudier (Ostroff 1994; Tauxe 1987). Den norska studien, publicerad 1994, visar att smittade patienter i högre utsträckning än en jämförande kontrollgrupp hade konsumerat fläskkött eller fläskkötsprodukter eller hade en generell preferens för ofullständigt värmebehandlat kött eller hade använt obehandlat vatten. Utbrottsstudier kan också vara vägledande när det gäller förståelsen för vilka smittvägarna kan vara. Sporadiska fall av yersinios dominerar helt och utbrott är mycket sällsynta. Endast ett publicerat utbrott finns där smittkällan fastställts till obehandlat fläskkött. Det var i ett stort privat hushåll i Atlanta, USA, och 15 personer, varav 14 barn, insjuknade. Ett antal vuxna hade hanterat rått fläskkött, inklusive inälvor, inför en stor festmåltid samtidigt som de hade hand om ganska många barn (Lee 1990). I det här fallet finns en stark koppling till ett kulturellt betingat levnadssätt inklusive matvanor. Vidare, i den ovan nämnda studien utförd på Livsmedelsverket våren 1999 där 48 yersiniospatienter - samtliga sporadiska fall - intervjuades om vilka fläskprodukter de ätit tiden före insjuknandet, svarade två personer att de hade provsmakat rå fläskfärs. Eftersom yersinia finns i obehandlat fläskkött och kan isoleras från rå fläskfärs var det en mycket tänkbar smittkälla i de två fallen.

Yersinia kan kontaminera livsmedel på i princip två sätt. Det ena är vid slakten, företrädesvis från grisens svalgregion till olika styckningsdetaljer och från tarmen, särskilt när man som tidigare inte förslöt ändtarmen. Bakterien finns då på köttets yta under den fortsatta hanteringen. Om det råa köttet tillagas och värms upp tillräckligt kommer den här typen av kontamination inte att innebära några problem eftersom bakterierna dör vid upphettningen. Det andra är om yersinia sprids från ytan av det råa fläskköttet till ett värmebehandlat, färdiglagat livsmedel. Yersinia kan nämligen växa snabbt på en värmebehandlad produkt. I studier med artificiellt kontaminerat värmebehandlat kött har man visat att yersinia kan öka med en faktor 10^6 inom loppet av 24 timmar vid 25°C och inom 10 dagar om temperaturen är 7°C (Robins Browne 1997). Speciella egenskaper hos yersinia gör också att den kan växa under hela kylförvaringen, även i vakuumförpackat kött.

I Riksprojektet analyserades 522 behandlade fläskprodukter varav 7 % visade sig vara positiva för yersinia. Bland de analyserade proven fanns t.ex. *påläggskorv* såsom medwurst, salami och skinka; olika varianter av *korv* såsom grillkorv, varmkorv och wienerkorv; *kokt och rökt skinka*; samt bacon, kassler och sylta. De behandlade fläskprodukterna bestod av både fermenterade, beredda och värmebehandlade livsmedel, men av de påvisade positiva hade samtliga, med undantag för några få positiva prov av rymmat fläsk, utsatts för någon form av värmebehand-ling.

Uppgifter från Smittskyddsinstitutet (SMI) visar att incidensen av human yersinios i Sverige skiljer sig påtagligt mellan åldersgrupper. Till exempel har barn under 5 år mellan 5 och 10 gånger högre incidens än övriga åldersgrupper: majoriteten av de insjuknade är till och med under 2 år. Orsaken till detta är okänd, men man kan tänka sig att det kan bero på att små barn är känsligare, att de umgås närmare med husdjur eller äter annan mat än vuxna. Man har bland annat spekulerat i om kon-sumtion av vissa fläskprodukter, som påläggskorv, skinka, prinskorv och grillkorv o.dyl. kan vara orsaken. Resultat från Riksprojektet, där 340 prov av denna typ av produkter analyserades och där ca 7 % blev positiva, gav emellertid inget stöd för det. Yersinia påvisades i samtliga positiva prov med PCR och inga kolonier isolerades. Det innebär att bevis saknas för att det skulle vara fråga om levande bakterier. Antalet internationellt publicerade studier där denna typ av prov har undersökts är mycket begränsat (Fredriksson-Ahomaa and Korkeala 2003). I en ännu opublicerad studie, utförd på Livsmedelsverket 2003, omfattande 100 prov av fem varianter av kallrökt korv, blev 10 % positiva för yersinia. Inga kolonier isolerades. Resultaten från Riksprojektet, med ungefär samma typ av prov, är i samma storleksordning som resultaten från studien 2003.

Ett utbrott av yersinios där man har kunnat fastställa att en behandlad fläskprodukt varit smittkällan har publicerats (Marjai E 1987). Exemplet illustrerar också väl de svårigheter som finns att isolera kolonierna från livsmedel. Samtliga som insjuknade (1 barn och 7 vuxna) hade ätit en ungersk hemlagad korv som i artikeln benämns ”pork cheese”. Delar av korven fanns kvar efter diagnosen och kunde analyseras. Artikeln publicerades 1987 och traditionell odlingsmetodik användes. Fem olika metodvarianter testades. De inkluderade både selektiva och oselektiva medier och olika inkuberingstider och temperaturer. Dessutom testades två olika halter och tider av en KOH-behandling av anrikningarna (före utspridning på agarplatta). Man lyckades med ett par av dessa metodvarianter att isolera kolonier. KOH-behandlingen hade minskat omgivningsfloran och därmed gjort det möjligt. Å andra sidan visar andra studier att KOH-behandling inte har haft någon nämnvärd påverkan på de omgivande bakterierna (Thisted Lambertz, manuskript).

Orsaken till att de existerande odlingsmetoderna för yersinia är så ineffektiva anses vara att de är framtagna primärt för kliniska prov (Schiemann 1979). Yersinia finns i samband med infektion i allmänhet i höga halter i human faeces, omgiven av en flora som är speciell för den miljön. I livs-medelsprov däremot finns yersinia för det mesta (troligtvis) i mycket lägre halter och tillsammans med en annan omgivningsflora (Fredriksson-Ahomaa and Korkeala 2003). En förvirrande omständighet under åren har varit att odlingsmetoderna har fungerat väl i tester med artificiellt kontamine-rade livsmedel. Vetskapen om detta kom först sedan man börjat använda DNA-metoder, för ett antal år sedan (Nesbakken 1991). Fortfarande kvarstår dock problemet med DNA-baserade metoder att man inte kan avgöra om bakterierna är levande.

Fem utbrott av yersinios inträffade i Sverige mellan åren 1980 och 1994. Smittkällan har inte kunnat fastställas i något av fallen. Vid ett av utbrotten, i Väster-norrlands län 1994, insjuknade samtidigt 11 personer. De hade ätit sylta av samma fabrikat. Kvarvarande sylta undersöktes utan resultat. Några år senare analyserades de 11 humanisolaten. De hade samtliga samma DNA-profil vilket indikerar att de mycket väl kan ha haft samma ursprung. Som smittkälla misstänktes grisblod. Flytande grisblod hade portionerats i bägare med en packningsmaskin. Samma maskin hade därefter använts att portionera syltan. Sylta tillverkas vid temperaturer på omkring 80-90°C så kontaminationen måste rimligen ha skett efter avsvälningen. *Yersinia* är inte känd för att bilda biofilm och etablera sig i exempelvis livsmedelsanläggningar. Å andra sidan visade Fredriksson-Ahomaa et al (2000) att bakterien var påvisbar i 13 % av 89 tagna prov på ytor, t.ex. bord, golv, knivar och tangentbord, i ett svin-slakteri. I Riksprojektet analyserades ett antal (24) prov av sylta, 13 % blev positiva för yersinia. Inga kolonier isolerades och det kan antas att de detekterade bakterierna inte var levande. Trots att fläskkött inte utgjorde basen i de positiva proven fanns det som en ingrediens i samtliga, det är tillräckligt för att ge ett PCR-positivt svar.

De fall av yersinios hos människan som årligen rapporteras till SMI följer en tydlig årstidsvariation med högst frekvens fall i augusti/september och lägst i april. Orsaken till denna variation är okänd. Om man på motsvarande sätt sorterar andelen positiva livsmedelsprov från Riksprojektet månadsvis blir andelen positiva prov högst och ungefär lika stor i mars, maj, juni, september, oktober och november och lägst i februari och april. Något samband mellan variationen i antalet humanfall och motsvarande positiva livsmedelsprov kunde alltså inte fastställas. Riksprojektets resultat pekar snarast på en relativt jämn fördelning.

Slutord

Patogen *Yersinia enterocolitica* bioserogrupp 4/O:3, som svarar för mer än 95 % av de ca 600 fall av yersinios som rapporteras årligen i Sverige, finns i hela världen och på ett internationellt plan pågår arbete med utveckling av effektivare metoder för detektion. Att det med nuvarande PCR-metoder inte är möjligt att med säkerhet avgöra om bakterierna är levande är en stor nackdel men det kommer med största sannolikhet inom en snar framtid att få en lösning.

Riksprojektet begränsades i denna kartläggning till att gälla förekomst av yersinia i fläskprodukter. Orsaken var att studier under många år har visat att grisar är

huvudreservoaren för bakterien och att det finns ett samband mellan yersinios och konsumtion av fläskprodukter. Dessutom har nyligen PCR-metoder utvecklats som gör det möjligt att påvisa bakterien i denna typ av livsmedel, möjligheter som inte tidigare funnits.

Att smittkällan för bakterien verkar vara begränsad till i huvudsak ett djurslag (grisar) öppnar unika möjligheter att vidta effektiva åtgärder för att begränsa spridning av bakterien.

Referenser

- Andersen, J. K., R. Sorensen, et al. (1991). "Aspects of the epidemiology of *Yersinia enterocolitica*: a review." *Int J Food Microbiol* 13(3): 231-7.
- Asplund, K., T. Johansson, et al. (1998). "Evaluation of pulsed-field gel electrophoresis of genomic restriction fragments in the discrimination of *Yersinia enterocolitica* O:3." *Epidemiol Infect* 121(3): 579-86.
- Boyapalle, S., I. V. Wesley, et al. (2001). "Comparison of culture, multiplex, and 5' nuclease polymerase chain reaction assays for the rapid detection of *Yersinia enterocolitica* in swine and pork products." *Journal of Food Protection* 64(9): 1352-1361.
- Fredriksson-Ahomaa, M., S. Hielm, et al. (1999). "High prevalence of yadA-positive *Yersinia enterocolitica* in pig tongues and minced meat at the retail level in Finland." *J Food Prot* 62(2): 123-7.

- Fredriksson-Ahomaa, M. and H. Korkeala (2003). "Low occurrence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in clinical, food, and environmental samples: a methodological problem." *Clin Microbiol Rev* 16(2): 220-9.
- Fredriksson-Ahomaa, M., T. Korte, et al. (2001). "Transmission of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 to pets via contaminated pork." *Lett Appl Microbiol* 32(6): 375-8.
- Infomedia (2005) www.infomedia.se
- Johannessen, G. S., G. Kapperud, et al. (2000). "Occurrence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in Norwegian pork products determined by a PCR method and a traditional culturing method." *Int J Food Microbiol* 54(1-2): 75-80.
- Kapperud, G. (1991). "*Yersinia enterocolitica* in food hygiene." *Int J Food Microbiol* 12(1): 53-65.
- Kapperud, G., S. M. Ostroff, et al. (1995). "Risk factors for sporadic *Yersinia enterocolitica* infections in Norway: a case-control study." *Contrib Microbiol Immunol* 13: 25-8.
- Lee, L. A., A. R. Gerber, et al. (1990). "*Yersinia enterocolitica* O:3 infections in infants and children, associated with the household preparation of chitterlings." *N Engl J Med* 322(14): 984-7.
- Marjai E, K. M., Kajáry I, Délteky Á and M Rodler (1987). "Isolation from food and characterization by virulence tests of *Yersinia enterocolitica* associated with an outbreak." *Acta Microbiol Hung* 34(2): 97-109.
- Nesbakken, T., G. Kapperud, et al. (1991). "Comparative study of a DNA hybridization method and two isolation procedures for detection of *Yersinia enterocolitica* O:3 in naturally contaminated pork products." *Appl Environ Microbiol* 57(2): 389-94.
- Nielsen, B. and H. C. Wegener (1997). "Public health and pork and pork products: regional perspectives of Denmark." *Rev Sci Tech* 16(2): 513-24.
- Olsen, J. E., S. Aabo, et al. (1995). "Probes and polymerase chain reaction for detection of food-borne bacterial pathogens." *International Journal of Food Microbiology* 28(1): 1-78.
- Ostroff, S. (1995). "*Yersinia* as an emerging infection: epidemiologic aspects of Yersiniosis." *Contrib Microbiol Immunol* 13: 5-10.
- Ostroff, S. M., G. Kapperud, et al. (1994). "Sources of sporadic *Yersinia enterocolitica* infections in Norway: a prospective case-control study." *Epidemiol Infect* 112(1): 133-41.
- Robins Browne, R. M. (1997). *Yersinia enterocolitica*. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. ASM Press, Washington DC, 1997, pp. 192-215. L. R. B. e. T. J. M. é. M.P. DOYLE.
- Schiemann, D. A. (1979). "Synthesis of a selective agar medium for *Yersinia enterocolitica*." *Can J Microbiol* 25(11): 1298-1304.
- Skjerve, E., B. Lium, et al. (1998). "Control of *Yersinia enterocolitica* in pigs at herd level." *Int J Food Microbiol* 45(3): 195-203.
- Smittskyddsinstitutet (SMI) hemsida (2005). www.smittskyddsinstitutet.se
- Tauxe, R. V., J. Vandepitte, et al. (1987). "*Yersinia enterocolitica* infections and pork: the missing link." *Lancet* 1(8542): 1129-32.

- Thisted Lambertz, S., R. Lindqvist, et al. (2000). "A combined culture and PCR method for detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in food." *International Journal of Food Microbiology* 57(1/2): 63-73.
- Thisted Lambertz, S and M-L Danielsson-Tham 2005 "Identification and Characterization of Pathogenic *Y. enterocolitica* by PCR and Pulsed-Field Gel Electrophoresis". *Applied and Environmental Microbiology* 71(7). *I tryck*
- Thisted Lambertz, S., Granath, K., Fredriksson-Ahomaa, M., Johansson, K-E and M-L Danielsson-Tham. Evaluation of a combined culture and PCR method for detection of pathogenic *Yersinia* in food". *Manuskript*
- Zheng, X. B. (1987). "Isolation of *Yersinia enterocolitica* from the faeces of diarrhoeic swine." *J Appl Bacteriol* 62(6): 521-5.

Appendix 1

Deltagande kommuner och antal prov per kommun

| | | | | | | | |
|------------|----|-------------|----|------------|----|-------------|----|
| Alingsås | 9 | Hallsberg | 5 | Lund | 20 | Söderhamn | 43 |
| Aneby | 6 | Hammarö | 4 | Malå | 6 | Södertälje | 5 |
| Bengtstors | 3 | Hedemora | 6 | Mariestad | 25 | Tjörn | 8 |
| Berg | 18 | Helsingborg | 25 | Markaryd | 14 | Tomelilla | 14 |
| Boden | 14 | Hjo | 2 | Mellerud | 5 | Torså | 2 |
| Borlänge | 12 | Huddinge | 15 | Mjölby | 10 | Tranås | 4 |
| Botkyrka | 8 | Hudiksvall | 25 | Motala | 10 | Trollhättan | 15 |
| Burlöv | 6 | Hultsfred | 18 | Mölnadal | 6 | Tyresö | 1 |
| Danderyd | 9 | Höganäs | 6 | Mönsterås | 10 | Töreboda | 2 |
| Dorotea | 1 | Höör | 6 | Mörbylånga | 5 | Uddevalla | 20 |
| Eda | 7 | Jönköping | 28 | Norberg | 7 | Umeå | 7 |
| Ekerö | 8 | Kalmar* | 4 | Norrköping | 20 | Vaggeryd | 10 |
| Eksjö | 13 | Katrineholm | 10 | Norrstälje | 16 | Vallentuna | 8 |
| Emmaboda | 16 | Karlstad | 6 | Nybro | 14 | Varberg* | 17 |
| Enköping | 11 | Kil | 2 | Nässjö | 19 | Vetlanda | 10 |
| Eskilstuna | 9 | Kiruna | 17 | Orust | 9 | Vimmerby | 4 |

| | | | | | | | |
|--------------|----|--------------|----|-------------|----|--------------|----|
| Essunga | 5 | Klippan | 5 | Osby | 1 | Vindeln | 2 |
| Fagersta | 8 | Knivsta | 18 | Oskarshamn | 6 | Vänersborg | 7 |
| Falkenberg | 5 | Kristinehamn | 1 | Partille | 11 | Värnamo | 10 |
| Falköping | 4 | Kumla | 10 | Piteå | 12 | Västervik | 4 |
| Flens | 8 | Kungsbacka | 15 | Sigtuna | 10 | Västerås | 11 |
| Forshaga | 5 | Köping | 16 | Skellefteå | 10 | Växjö | 10 |
| Gagnef | 2 | Laholm | 21 | Skövde | 11 | Ystad | 44 |
| Gislaved | 5 | Landskrona | 13 | Sollefteå | 24 | Åmål | 6 |
| Gnosjö | 9 | Lerum | 7 | Solna | 17 | Öckerö | 12 |
| Gotlands | 10 | Lidköping | 19 | Stenungsund | 1 | Örebro | 21 |
| Gullsprång | 3 | Lindesberg | 20 | Stockholm | 97 | Örkelljunga | 9 |
| Gällivare | 22 | Linköping | 7 | Sundbyberg | 10 | Örnsköldsvik | 13 |
| Göteborg | 21 | Ljusdal | 11 | Sundsvall | 36 | Östersund | 28 |
| Götene | 19 | Ludvika | 20 | Svalöv | 2 | | |
| Habo/Mullsjö | 10 | Luleå | 6 | Sävsjö | 10 | | |

*De fyra proven i Kalmar och tre av proven i Varberg togs ut av personal vid livsmedelsverket.

Totala antalet kommuner: 122

Totala antalet prov: 1455

Susanne Thisted Lambertz

Till Miljö- och hälsoskyddsmynderna,
Livsmedelsverkets besiktningsveterinärer

För kännedom
Länsveterinärer
Smittskyddsläkare m fl

PROJEKTBEKRIVNING

Patogen *Yersinia enterocolitica* i obehandlade och behandlade fläskprodukter

Allmän bakgrund

Yersiniainfektionen (yersinios) är en sjukdom som kan smitta både djur och människa. Den finns i hela världen men rapporteras mycket ojämnt eftersom den är anmälningspliktig endast i ett fåtal länder. Den orsakande bakterien är *Yersinia enterocolitica* bio/serogrupp 4/O:3, en bakteriell mag-tarmpatogen som smittar huvudsakligen via maten. Bakterien har en del speciella egenskaper, bl.a. kan den växa i kylskåpstemperatur och i vakuumförpackade produkter. Däremot överlever den inte vanlig matlagningstemperatur, d.v.s. ca 70°C. Ungefär 600 fall av yersinios anmäls årligen i Sverige, ca 2/3 av dessa är inhemska. Närmare 70 % av fallen smittade i Sverige under de senaste 5 åren (1998-2002) har varit barn under 5 år med majoriteten t o m under 2 år.

Kunskapen om smittvägarna är ofullständig. Yersiniosfallen uppträder nästan uteslutande som sporadiska fall vilket gör det mycket svårt att på det sättet få hjälp att identifiera smittvägarna. Grisar är med största sannolikhet den enda reservoaren för *Y. enterocolitica* bio/serogrupp 4/O:3. Bakterien finns framför allt i grisarnas svalg samt mag/tarmsystem, och kan i samband med slakten spridas till olika styckningsdetaljer som används för konsumtion. Med traditionell odlings-teknik kan man lätt påvisa bakterien i t.ex. tunga, hjärta, njurar, lever och lunga från gris, organ som ju inte konsumeras i någon nämnvärd grad numera. Däremot är bakterien svår att påvisa i t.ex. filé, kotlett, karré och färs. Orsaken till

det är med största sannolikhet att den där finns i mycket lägre halter och att metoden att påvisa dem inte varit tillräckligt känslig. I nyligen publicerade studier från USA har man emellertid, med användning av DNA-baserad metodik, visat att bakterien finns i fläskfärs i mycket högre frekvens än vad som tidigare varit möjligt att visa. Motsvarande, men mera begränsade, studier gjorda på Livsmedelsverket på bl.a. fläskfärs, fläskfilé, karré och grytbitar pekar åt samma håll. I riksprojektet kommer proverna att analyseras med en DNA-baserad metod.

Antalet årligen rapporterade humanfall i Sverige skiljer sig mellan länen med viss variation från år till år. Generellt kan sägas att de sydligaste länen, Mälardalen och mellersta Norrland under åren haft de högsta incidenserna. Det finns också en årstidsvariation; det sker en nedgång i antalet anmälda fall under en period under våren och en uppgång under sommaren/sensommaren. Finns det på motsvarande sätt geografiska skillnader när det gäller förekomsten av bakterien i livsmedel? Och, finns det variationer över året? Det är frågor som vi hoppas få svar på genom riksprojektet. För att provtagningen ska kunna avspegla det hoppas vi att så många kommuner som möjligt vill delta i projektet.

Syfte

- att kartlägga förekomsten av patogen *Y. enterocolitica* i obehandlade och behandlade fläskprodukter i Sverige
- att ge ett underlag för bedömning om speciella åtgärder mot patogen *Y. enterocolitica* i livsmedel är motiverade
- att öka kunskapen om organismen, patogen *Y. enterocolitica*, som matförgiftningsagens

Studier parallellt med riksprojektet

Parallellt med kommunernas provtagning på livsmedel kommer Smittskyddsinstitutet (SMI) att göra en fall-kontroll studie bland barn under 6 år för att undersöka riskfaktorer och riskbeteenden. Statens veterinärmedicinska anstalt (SVA) kommer att provta husdjur, företrädesvis hundar, i familjerna där det är aktuellt.

När samtliga analyser är klara kommer Livsmedelsverket att samla in stammarna och göra en genetisk karakterisering av samtliga livsmedel-, djur- och humanisolat. Det görs med hjälp av en multiplex-PCR för 4 av bakteriens virulensmarkörer och med pulsfältgelelektrofores (PFGE). Förhoppningsvis kommer dessa projekt att öka vår förståelse för smittvägarna.

Övrigt

Några utvalda artiklar med mer information om patogen *Y. enterocolitica* finns i referenslistan. Nyhetsbrev och information som tidigare har skickats ut i projektet finns på hemsidan (www.slv.se/offentlig_tillsyn/projekt).

Projektbeskrivning

Provtyper

Nedan finns listade ett antal produkttyper som föreslås och rekommenderas för provtagning i projektet. *Välj i första hand, d.v.s. i 2 av 3 prover, råa, färska, fläskprodukter!* (Vi hoppas att totalt 2/3 av proverna blir av det slaget.) De olika produkttyperna har valts med hänsyn till resultat från tidigare undersökningar, åldersgruppen ”barn under 5 år” och PCR-analysens känslighet för vissa hämmande faktorer i livsmedlen. Det går naturligtvis att välja andra produkter än de listade men det måste då vara varianter av dessa. Inga produkter med högre fetthalter eller produkter innehållande blod kan ingå då de innehåller ämnen som verkar hämmande på analysmetoden.

Kylvara och/eller frysta produkter väljs av följande två kategorier

I. Färska, råa fläskprodukter såsom

Fläskfärs, blandfärs, filé, karré, kotlett, skinkstek och grytbitar

II. Kallrökta och värmebehandlade produkter innehållande fläskkött såsom

Hushållsmedwurst, cognacsmedwurst, prickig korv, grillkorv, prinskorv, varmkorv, wienerkorv, frukostkorv, falukorv, sylta, kassler, bacon, rimmad fläsk och rimmad skinka

Provtagning

Provtagningen kan ske i livsmedelsbutik, gårdsbutik, daghem/förskola samt i förpacknings- och produktionsanläggningar för kött och köttprodukter. Provtagningen vid de större produktionsanläggningarna görs av Livsmedelsverkets inspektörer. Fläskkött importerat ifrån tredje land provtas av importkontrollen.

Det är önskvärt att spridningen på de olika produktslagen blir så stor som möjligt; tag därför hellre flera olika produktslag än flera prov av samma produkt.

Prov tas ut, transporteras mm enligt LIVSFS 2003:26.

Varje kommun svarar själv för kontakten med analyslaboratoriet. Det är mycket viktigt att *varje prov* följs till laboratoriet av *en särskild följesedel* (finns på SLV:s hemsida: [www.slv.se /offentlig tillsyn/projekt](http://www.slv.se/offentlig_tillsyn/projekt)).

Glöm inte kryssat varje gång du fyller i en ny följesedel!
Provtagaren sätter *alltid* ett kryss i särskild ruta överst på följesedeln. Det är mycket viktigt eftersom det innebär ett godkännande för laboratoriet att för det enskilda provet få lämna analysvaret till Livsmedelsverket.

Projektet löper under hela 2004 och vi hoppas att kommunerna om möjligt fördelar provtagningen till olika tillfällen under året.

Analys

Provens temperatur mäts alltid och registreras vid ankomsten till laboratoriet. Analys påbörjas *senast* dagen före ”bäst före dag”. Ett undantag är färsprover där den korta hållbarheten gör att analysen nog för det mesta kommer att ske på ”sista förbrukningsdag”. Finns inte ”bäst före dag” angivet på provet startas analysen i anslutning till ankomsten till laboratoriet. Om frysta prov har tinat under transporten startas analysen i omedelbar anslutning till ankomsten.

Metoden är MODIFIERING av NMKL-metod 163 A, ”Kombinerad PCR- och odlingsmetod för detektion av patogen *Yersinia enterocolitica*” utarbetat av Livsmedelsverket. Isolerade livsmedelsstammar skickas till Livsmedelsverket. Särskild anvisning angående det kommer att skickas till laboratorerna som ackrediteras för metoden.

Kostnader

Samtliga kostnader i samband med provtagningen och transport till laboratoriet bekostas kommunerna med sina tillsyns pengar. Varje kommun sköter själv upphandlingen hos ackrediterat laboratorium. (Vid årsskiftet 2003/2004 kommer två laboratorier att vara ackrediterade för metoden.) Livsmedelsverket bekostar utveckling av analys- och subtypningsmetodik samt transport och subtypning av bakteriestammar som isolerats i projektet. Vidare bekostar Livsmedelsverket den utveckling av systemet för inrapportering som görs av WM-data samt sammanställningen av analysresultaten och utskick av SLV-rapporten.

Användning av analysresultaten

I den kommande rapporten behandlas proverna som helt oidentifierade. De preciserade uppgifterna om provets härkomst (varumärke, provtagningsplats mm) som ska anges på följesedeln kommer endast att användas för den matchning och gruppering av de insamlade livsmedel-, djur- och humanisolaten som kommer att göras i en separat studie efter att riksprojektet har avslutats.

Tidsplan

Fas 1, år 2003. Projektgruppen tillsattes och organiserade projektet. Information till kommunerna, smittskyddsläkare, länsveterinärer, kommungruppen på Livsmedelsverket samt kommunförbundet gavs via Nyhetsbrev, e-post eller telefon. Metodutveckling på Livsmedelsverket. Projektplan godkändes av Bertil Norbelie, generaldirektör, Livsmedelsverket. Projektbeskrivning skickas till kommunerna och övriga provtagare. Laboratorierna besökte Livsmedelsverket och ackrediteras före årsskiftet för analysmetoden. WM-data engagerades att utveckla inrapportering av analysresultaten från laboratorierna till Livsmedelsverket via webben. Fas 2, år 2004. Provtagning och analys av livsmedel sker under hela året. Nyhetsbrev med löpande information under projektets gång läggs ut på webben regelbundet. Rapportskrivning påbörjas. Fas 3, år 2005. Livsmedelsverket utvärderar och sammanställer resultatet. Efter projektåret sker redovisning dels i form av en slutrapport som skickas till samtliga projektdeltagare dels som en kortare artikel i Livsmedelsverkets tidskrift *Vår Föda*. En PM skrivs, av samordningsgruppen för mikrobiologiska livsmedelsfrågor (SMIL) på Livsmedelsverket, med slutsatser av projektet ur ett riskhanteringsperspektiv. Projektet presenteras på Mikrobiologiska enhetens mikroriskmöte.

Projektgruppen

Susanne Thisted Lambertz, mikrobiolog, projektledare, Mikrobiologiska enheten
Tel 018/175562; e-mail: sula@slv.se

Marianne Boysen, enhetschef, Mikrobiologiska enheten
Lars Plym Forshell, veterinärinspektör, Tillsynsavdelningens stab
Karin Gustavsson, informatör, Avdelningen för information och nutrition
Åsa Kjellgren, veterinärinspektör, Enheten för internationell handel
Sven Lindgren, prof. Mikrobiologi, Generaldirektörens stab
Lennart Nilsson, veterinärinspektör, Enheten för kötttillsyn
Inger Wikström, veterinärinspektör, Enheten för kommunstöd

Projektgruppens medlemmar nås via växel 018/175500

Referenser

1. Bottone EJ. *Yersinia enterocolitica*: overview and epidemiologic correlates. *Microbes Infect*, 1, 1999, 323-333.
2. Kapperud G. *Yersinia enterocolitica* in food hygiene. *International Journal of Food Microbiology* 1991, 12, 53-66.
3. Smittskyddsinstitutet, www.smittskyddsinstitutet.se

Uppsala, den 17 november 2003,
Projektgruppen, genom

Susanne Thisted Lambertz

Appendix 3

FÖLJESEDEL PROVTAGARE

Endast *ett* prov per följesedel! Vänligen fyll i alla uppgifter!

SÄTT ALLTID ETT KRYSS HÄR! Krysset betyder att laboratoriet får lämna uppgifterna på följesedeln samt analysresultatet till Livsmedelsverket.

ALLMÄNT

Namn, provtagare..... Provtagningsdatum.....

Kommun/BVO..... Provtagningsstid.....

Adress..... Postnr/Ort.....

PROVTAGNINGSPLATS

Namn och ort:

Butik.....

Gårdsbutik.....

Daghem/Förskola.....

Styckn./Förpackningsanläggning (+kontrollnr).....

PROVTYP MM

Välj i första hand färska, råa fläskprodukter! (helst 2/3 av proverna av denna kategori).

Färskt, rått fläskkött¹⁾ Kallrökta²⁾, värmebehandlade produkter eller köttberedningar innehållande fläskkött³⁾

Provets märkning..... Tillverkningsland⁴⁾..... ”Bäst före dag”⁵⁾.....

Provets temperatur vid provtagningen..... °C

Förvaringstemperatur enligt förpackningen..... °C

Produktnamn⁶⁾..... Varumärke⁷⁾.....

Anläggningsnr⁸⁾..... Förpackningsdag.....

...

FÖRPACKNING

Färdigförpackat

Butiksförpackat

Annat (ange vad).....

Förpackningstyp⁹⁾.....

KOMMENTAR:.....

1-9) se sidan 2

FÖLJESEDEL, SPECIFIKATION

1) *Välj bland följande råa, färska fläskprodukter:*

Fläskfärs; färs; filé; karré; kotlett; stek; grytbitar

2) Med kallrökt menas produkt som behandlats i en process med temperatur under 55°C

3) *Välj bland följande kallrökta, värmebehandlade produkter och köttberedningar:*

Hushållsmedwurst; cognacsmedwurst; prickig korv; grillkorv; prinskorv; varmkorv

wienerkorv; falukorv; sylta; kassler; bacon; rimmat fläsk;

4) Produktens ursprungs- eller tillverkningsland anges (råvarans ursprung behöver inte anges).

5) Eller motsvarande tex ”sista förbrukningsdag”.

6) Ange så fullständigt produktnamn som möjligt.

7) Varumärken t.ex. Scan, Pärsons, Signum, Tulip o.s.v. (varumärket kan vara namn på tillverkaren, förpackaren eller säljaren).

8) Ett kontrollnummer kopplat till anläggningen, finns tex på ”ovalen eller fyrkanten”.

9) Typ av förpackning, t.ex. Vakuumförpackad
 Modifierad atmosfär förpackning
 Annat (tex Plasttråg/luft)