

Mikroprofil Nötkreatur

Kartläggning av mikroorganismer på slaktroppar

av Mats Lindblad



**LIVSMEDELS
VERKET**

NATIONAL FOOD
ADMINISTRATION, Sweden

Produktion:
Livsmedelsverket, Box 622
SE-751 26 Uppsala, Sweden
Teknisk redaktör:
M Olausson
Tryck: Kopieringshuset,
Uppsala
Uppsala 2008-01-21

Livsmedelsverkets rapportserie är avsedd för publicering av projektrapporter, metodprövningar, utredningar m m. I serien ingår även reserapporter och konferensmaterial. För innehållet svarar författarna själva.

Rapporterna utges i varierande upplagor och tilltrycks i mån av efterfrågan. De kan rekvireras från Livsmedelsverkets kundtjänst (tel 018-17 55 06) till självkostnadspris (kopieringskostnad + expeditonsavgift).

Projektgrupp

Mats Lindblad, projektledare
Roland Lindqvist
Björn Arenander

FoU / mikrobiologiska enheten
FoU / mikrobiologiska enheten
Tillsynsavgd. / enheten för köttillsyn

Analysgrupp

Catarina Nilsson
Lina Thebo
Christer Wiberg
Paula Ågren
Hans Lindmark
Susanne Thisted Lambertz

FoU / mikrobiologiska enheten
FoU / mikrobiologiska enheten
FoU / mikrobiologiska enheten
FoU / mikrobiologiska enheten
FoU / mikrobiologiska enheten
FoU / mikrobiologiska enheten

Provtagning

Besiktningveterinärer och besiktningssassistenter samt personal på två småskaliga slakterier

Sammanställning av rapport

Mats Lindblad

| | |
|---|----|
| Summary | 6 |
| Sammanfattning | 7 |
| Slutsatser ur ett riskhanteringsperspektiv | 8 |
| Inledning | 10 |
| Syfte | 11 |
| Förekomst av patogena mikroorganismer hos nötkreatur | 11 |
| Material och metoder | 13 |
| Provtagning | 13 |
| Analyser | 14 |
| Statistisk bearbetning | 16 |
| Totalt antal analyserade prov | 16 |
| Resultat..... | 18 |
| Baslinjedata från storskaliga slakterier | 18 |
| Data från småskaliga slakterier och jämförelser med storskaliga slakterier .. | 22 |
| Samband mellan olika bakteriegrupper..... | 27 |
| Diskussion | 29 |
| Tack! | 31 |
| Referenser | 32 |
| Appendix 1 | 36 |

Summary

Reliable data on the occurrence of microorganisms from farm to table are necessary to improve our understanding and our possibilities to reduce the incidence of foodborne illnesses. Knowledge of the average occurrence of bacteria will also provide a baseline against which hygiene in the slaughterhouses can be evaluated. The baseline may also serve as a reference for evaluation of changes or future risk management actions.

The objective of this one-year survey was to estimate the prevalence and levels of selected pathogenic bacteria and indicator organisms on Swedish cattle carcasses. In addition, the occurrence of bacteria on cattle carcasses from low- and high-capacity slaughterhouses was compared. The results were also used to examine the relation between the levels of different indicator organisms and the occurrence of pathogenic bacteria.

The sampling was performed by swabbing of carcasses at four places (rump, flank, brisket and neck) directly before chilling. All samples were sent to the National Food Administration for analysis. The thirteen largest slaughterhouses in Sweden (601 samples) and four low-capacity slaughterhouses (152 samples) were included in the study.

Baseline data from the thirteen largest slaughterhouses in Sweden show that none of the sampled carcasses were positive for *Salmonella*, and that the prevalences of *Campylobacter* spp. and *Listeria monocytogenes* were low (0.2 and 1 %, respectively). Verotoxin producing *Escherichia coli* (VTEC) with virulence genes for production of both verotoxin (*vt1* and/or *vt2*) and adherence (*eae* or *saa*) were isolated from 2 % of the carcasses from high-capacity slaughterhouses. Serotyping is still ongoing. So far, the results show that VTEC O157:H7 was isolated but only constituted a minor part of the potentially human pathogenic isolates. Pathogenic *Yersinia enterocolitica* could not be cultivated from any sample, but 5 % of the samples tested positive by a realtime-PCR analysis. Coagulase positive staphylococci were found on about one third of the carcasses, in most in cases at low levels (<10 CFU/cm²). *E. coli* was isolated from one third of the samples and *Enterobacteriaceae* from two thirds. The levels of both these bacterial groups were in most cases lower than 10 CFU/cm². The levels of aerobic microorganisms ranged from 10² to 10⁴ CFU/cm² on most (85 %) of the carcasses.

The prevalence and levels of indicator bacteria and pathogenic bacteria did not differ significantly between low- and high-capacity slaughterhouses. However, one sample from a low-capacity slaughterhouse was positive for *Salmonella*, and *L. monocytogenes* occurred repeatedly at another low-capacity slaughterhouse.

The mean level of *Enterobacteriaceae* was about 0.3 log CFU/cm² higher than the mean level of *E. coli* on carcasses positive for both bacterial groups. The probability of finding VTEC in enriched samples increased with increasing levels of *E. coli* on the carcasses.

Sammanfattning

Syftet med Mikroprofil Nötkreatur var att upprätta en nationell baslinje över förekomst och halter av indikatorbakterier och patogena bakterier på slaktkroppar av nötkreatur. Baslinjen baseras på resultaten från provtagning på de tretton största slakterierna i landet som tillsammans står för 90 % av nötkreatursslakten i Sverige. Dessutom undersöktes förekomst och halter av bakterier på slaktkroppar från fyra småskaliga slakterier och jämfördes med resultaten från storskaliga slakterier. Resultaten från både små- och storskaliga slakterier användes för att undersöka sambandet mellan halter av indikatorbakterier och förekomst av patogena bakterier på slaktkroppar.

Slaktkroppar provtogs genom att fyra ställen på kroppen (lårets insida, flank, bringa, hals) svabbades med kompress. Provtagningen skedde efter klyvning och putsning men före kylning. Provtagningen pågick från september 2006 till och med september 2007. Under denna period analyserades 601 prov från storskaliga och 152 prov från småskaliga slakterier.

Samtliga prov från storskaliga slakterier var negativa för *Salmonella* och förekomsten av *Campylobacter* och *Listeria monocytogenes* var låg (0,2 respektive 1 % positiva prov). Stammar av verotoxinproducerande *Escherichia coli* (VTEC) med virulensgener för både toxinproduktion (*vt1* och/eller *vt2*) och vidhäftning vid tarmkanalen (*eae* eller *saa*) isolerades från 2 % av proverna från storskaliga slakterier. Serotypning pågår fortfarande. Resultaten hittills visar att VTEC O157:H7 förekom men endast utgjorde en mindre del av isolaten av potentiellt humanpatogena VTEC. Patogen *Yersinia enterocolitica* kunde inte isoleras genom odling men 5 % av proverna var positiva i Realtids-PCR. Koagulaspositiva stafylokocker förekom på knappt en tredjedel av slaktkropparna, oftast i låga halter (< 10 CFU/cm²). Av indikatorbakterierna isolerades *E. coli* från en tredjedel av proverna och *Enterobacteriaceae* från två tredjedelar. Flertalet positiva prov hade halter som var lägre än 10 CFU/cm² av båda bakteriegrupperna. Halten av aeroba mikroorganismer och varierade på de flesta (85 %) av slaktkropparna mellan 100 och 10 000 CFU/cm².

Jämförelsen mellan små- och storskaliga slakterier visar att genomsnittliga halter av aeroba mikroorganismer och andel *E. coli* eller *Enterobacteriaceae* positiva prov per slakteri inte skiljde sig signifikant. Det fanns inte heller signifikanta skillnader i förekomst av patogena bakterier mellan småskaliga och storskaliga slakterier. Ett prov från ett småskaligt slakteri var dock positivt för *Salmonella*, och *L. monocytogenes* påvisades vid upprepade tillfällen i prov från ett annat småskaligt slakteri.

De genomsnittliga halterna av *Enterobacteriaceae* var ca 0,3 log CFU/cm² högre än halterna av *E. coli* på slaktkroppar som var positiva för båda bakteriegrupperna. Sannolikheten att slaktkroppar var positiva för VTEC ökade med stigande halter av *E. coli*. Däremot fanns det inget signifikant samband mellan halter av *Enterobacteriaceae* och förekomst av VTEC.

Slutsatser ur ett riskhanteringsperspektiv

Framtagna av Tillsynsavdelningen/Enheten för kötttillsyn

Vid värdering (revision) av HACCP-planer för slakt av nöt måste kontrollmyndigheten kunna avgöra följande:

- Om livsmedelsföretagaren identifierat de hälsofaror som är signifikanta vid slakt av nöt, dvs. har denne identifierat de agens som är kända för att orsaka hälsostörning hos konsument efter konsumtion av slutprodukter från nötslakt och för vilka det är nödvändigt att identifiera steg för styrning (CCP) på slakterinivå.
- Om de förfaranden för styrning som livsmedelsföretagaren inrättat är ändamålsenliga, dvs. effektiva om de följs.
- Om de förfaranden för verifiering av styråtgärderna som livsmedelsföretagaren inrättat är ändamålsenliga.

Följande resultat, slutsatser och andra uppgifter i rapporten ser vi som särskilt användbara när ovanstående avgöranden skall fällas:

- Resultaten bekräftar i stort tidigare erfarenheter gällande *Salmonella* spp. Befintliga styråtgärder baserar sig på övervakning i mottagningssteget (levande djur) i vilket det säkerställs att endast djur från gårdar som inte är spärrade för salmonella slaktas i ordinarie slakt.
- I undersökningen finns ett positivt prov avseende salmonella. Den besättning som det undersökta slaktfallet kom från var inte spärrad för salmonella. Slutsatsen blir att, för att befintliga styråtgärder ska vara effektiva, är en effektiv smittspårning i primärproduktionsledet av största betydelse.
- En ytterligare slutsats blir att övervakning i mottagningssteget inte kan ersätta styråtgärder mot fekal kontamination av slaktkroppar.
- Att VTEC är att betrakta som en kritisk hälsofara vid slakt av nöt är på förhand givet då det är välkänt att nötköttsprodukter är en källa för insjuknande i EHEC. Rapporten visar att ju högre halt av indikatorbakterien *E. coli* som påvisas på slaktkroppen desto större är risken att VTEC förekommer på slaktkroppen. Ju effektivare styråtgärderna mot fekal kontamination är desto lägre bör risken för förekomst av VTEC vara och att varje reduktion av förekomsten fekal kontamination på slaktkroppar därför nedbringar risken för EHEC hos konsument.

- Resultaten visar att *E. coli* är en bättre indikator på förekomst av VTEC än *Enterobacteriaceae* och att kontroll av *E. coli* är en bra metod för att verifiera effekten av styråtgärder mot VTEC. Genom rapporten finns även ett underlag för att bedöma relationerna mellan *E. coli* och *Enterobacteriaceae* för företag som vill använda *E. coli* vid verifiering.
- Resultaten visar att *Yersinia enterocolitica* förekommer på slaktkroppar. Halterna kunde inte bestämmas eftersom bakterien bara påvisades med en känslig PCR-metodik och inte genom odling. Det innebär att halterna kan vara mycket låga. Eftersom nötkött inte är känt som en smittkälla för *Yersinia* kan det på goda grunder antas att befintliga styråtgärder mot fekal förorening reducerar förekomsten av *Yersinia enterocolitica* till acceptabla nivåer trots att bakterien kan konstateras förekomma på köttet.
- Rapporten visar att befintliga styråtgärder mot fekal kontamination med god marginal reducerar *Campylobacter* till en acceptabel nivå. Slutsatsen blir att *Campylobacter* inte behöver hanteras som en kritisk hälsofara vid slakt av nöt.
- Förekomsten av *Listeria monocytogenes* på slaktkroppar är låg. Effektiva allmänna hygienåtgärder torde reducera risken till en acceptabel nivå. Slutsatsen bekräftas av att det företag som i undersökningen fått höga halter *Listeria* efter undersökningen kraftigt reducerat förekomsten av *Listeria* genom allmänhygieniska åtgärder.
- Halterna av koagulaspositiva stafylokocker på slaktkroppar är låga. Inget i rapporten tyder på annat än att effektiva allmänna hygienåtgärder kan reducera risken till en acceptabel nivå.
- Typning av stafylokockstammarna kan vara aktuell som ett led i att bedöma kontaminationskälla. En sådan typning kan användas för att kartlägga i vilket led i livsmedelskedjan eventuell tillförsel av patogena stafylokocker till nötköttsprodukter sker och därmed underlätta bedömningen av till vilket steg i livsmedelskedjan styråtgärderna mot stafylokocker ska fokuseras.

Inledning

Livsmedelssäkerhetsfrågor avgörs i allt större utsträckning med utgångspunkt från ett riskanalytiskt arbetssätt. I det perspektivet är ett systematiskt insamlande av mikrobiologiska data för olika livsmedel och vid olika punkter i jord-till-bordkedjan nödvändigt för att kunna identifiera och hantera problem. Kött och köttprodukter har tillsammans med blandade rätter (där även kött ingår) varit den vanligaste livsmedelskategorin som utpekats vid matförgiftningar både i Mat Upp-projektet 1998-99 och i den ordinarie rapporteringen från kommunerna till Livsmedelsverket. Detta visar på betydelsen av kunskap om förekomsten av patogener för att förstå och kunna förebygga uppkomsten av livsmedelsburna sjukdomar.

Behovet av kartläggningar för att kunna besvara frågor rörande riktvärden och egenskaper hos bakterier på kött från olika djurslag har också aktualiserats i det nationella tillsynsarbetet. Data från den här typen av baslinjestudier kan också användas som ett stöd för att utvärdera anläggningar med utgångspunkt från deras egentillsyn, som ett underlag för arbetet med mikrobiologiska kriterier och för att värdera mikrobiologiska risker. Dessutom kan resultaten från projekten tjäna som en viktig referens för framtida undersökningar och för utvärdering av framtida riskhanteringsåtgärder.

Mikroprofil Nötkreatur är det tredje i en serie av kartläggningar av förekomsten av mikroorganismer på slaktkroppar av olika djurslag. I det första projektet (2002-2003) kartlades förekomsten av mikroorganismer på kyckling (Lindblad & Lindqvist 2003) och i det andra (2004-2005) på slaktkroppar av gris (Lindblad 2006). Motsvarande kartläggning för nötkreatur har nu genomförts under perioden september 2006 till och med september 2007.

Syfte

Projektets syfte var att kartlägga förekomsten av sjukdomsframkallande bakterier och ett urval indikatorbakterier på slaktkroppar av nötkreatur. Avsikten är att ge en översiktlig bild för hela produktionen i Sverige, samt att beskriva eventuella skillnader i förekomst och genomsnittliga halter av mikroorganismer på storskaliga och småskaliga slakterier. Kartläggningen ska ge ett underlag för värdering och hantering av mikrobiologiska risker genom att:

- upprätta en baslinje för förekomst och i vissa fall halter av patogena bakterier och indikatorbakterier på slaktkroppar av nötkreatur från svenska slakterier. Aktuella patogener är verotoxinproducerande *Escherichia coli* (VTEC), *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia enterocolitica*, koagulaspositiva stafylokocker och *Listeria monocytogenes*. Indikatorbakterierna är aeroba mikroorganismer, *Enterobacteriaceae* och *E. coli*
- undersöka sambandet mellan förekomsten av olika indikatorbakterier och patogena bakterier på slaktkroppar av nötkreatur
- jämföra förekomst och halter av olika bakterier på slaktkroppar från småskaliga och storskaliga slakterier

Förekomst av patogena mikroorganismer hos nötkreatur

Verotoxinproducerande *Escherichia coli* (VTEC) är stammar av *E. coli* som kan producera verotoxin (Anonym 2007). Det finns två huvudsakliga typer av verotoxin, *vt1* och *vt2*. Eftersom dessa bakterier ofta ger upphov till blodig diarré kallas de också enterohemorragiska *E. coli* (EHEC). För att VTEC bakterier ska kunna orsaka sjukdom krävs att de förutom förmågan att producera verotoxin också har andra förmågor, till exempel att kunna fästa vid tarmen hos människor. Den serotyp av VTEC som oftast varit orsaken till utbrott är O157:H7, men många andra serotyper kan också producera verotoxin och orsaka sjukdom. På senare tid har betydelsen av VTEC ej-O157 kommit att uppmärksammas allt mer (Brooks et al. 2005, Johnson et al. 2006, Anonym 2007).

Undersökningar över förekomsten av VTEC O157 hos nötkreatur i Sverige har visat att cirka 10 % av mjölkbesättningarna och 3 - 4 % av djuren var positiva. Unga djur är oftare bärare av VTEC O157 än äldre djur. Förekomsten av VTEC O157 är högst i Halland där 23 % av mjölkgårdarna var positiva, medan förekomsten är lägst i norra Sverige. Det finns dock en tendens till spridning från sydvästra Sverige till övriga delar av landet (Anonym 2007). Förekomsten av andra serotyper än O157 är till stora delar okänd. De data som finns pekar på en ungefär lika stor förekomst av serotyper som O26 och O103 som av O157. Den sammanlagda bilden blir att VTEC stammar som är potentiellt humanpatogena förekommer på en mycket stor andel av svenska gårdar som håller nötkreatur (Anonym 2007).

I många länder är det relativt vanligt att *Salmonella* finns hos nötkreatur (McEvoy et al. 2003, Rivera-Betancourt et al. 2004) och flera utbrott har kopplats till nötkött (Haeghebaert et al. 2001, McLaughlin et al. 2006, Ethelberg et al. 2007, Kivi et al. 2007). I Sverige är förekomsten av *Salmonella* mycket låg tack vare de omfattande kontrollåtgärder som vidtagits sedan lång tid tillbaka. I de fall då positiva fynd ändå förekommer är *S. Dublin* och *S. Typhimurium* de vanligaste serotyperna hos svenska nötkreatur (SVA 2007).

Campylobacter är vanligt förekommande hos levande nötkreatur. Den vanligaste arten är *C. jejuni*, medan *C. coli* är mera ovanlig (Nielsen et al. 1997, Johnsen et al. 2006). Tack vare en hygienisk slakt och att *Campylobacter* är känsliga för den uttorkning som sker vid nedkylningen av slaktkropparna är förekomsten på nötkött i handeln betydligt lägre än hos levande djur (Westöö & Lindberg 2002, Whyte et al. 2004, Wong et al. 2007).

Fläskkött och fläskprodukter anses vara den främsta smittkällan till patogen *Yersinia enterocolitica* (Kapperud 1991, Ostroff et al. 1994), men bakterien har också isolerats från nötkreatur (McNally et al. 2004, Milnes et al. 2007). Utbrott har inte kopplats till nötkött men däremot till opastöriserad mjölk eller mjölk som kontaminerats efter pastöriseringen (Thisted Lambertz 2007).

Listeria monocytogenes är en köldtålig bakterie som kan förekomma på en mängd olika platser i slakterier och andra livsmedelsanläggningar (Lunden et al. 2003). Källan till *L. monocytogenes* på kött kan därför ofta vara verktyg och arbetsytor i slakteriet snarare än de slaktade djuren. Effektiva hygieniska åtgärder är viktiga för att förhindra spridning av denna bakterie.

Staphylococcus aureus finns framförallt på huden, i sår och på slemhinnor hos djur och människor. Den kan också etablera sig på utrustning i slakteriet och kan därför, liksom *L. monocytogenes*, ses som indikatorbakterie för att utvärdera hygienåtgärder på ett slakteri. Stammar av *S. aureus* som har förmågan att producera de toxiner som orsakar matförgiftningar är vanligare hos människor än hos djur (Isigidi et al. 1992).

Material och metoder

Provtagning

För att ta fram en baslinje över förekomst och halter av olika bakterier på nötkreatur togs svabbprover från slaktkroppar på de största storskaliga slakterierna i Sverige. Provtagningen omfattade vuxna djur och mellankalvar.

I den första urvalsramen ingick de 14 största slakterierna i landet. Dessa slaktar tillsammans drygt 400 000 nötkreatur, vilket utgör 90 % av den inhemska produktionen. Två slakterier i Norrland (i Skellefteå och Ullånger) ingick bland dessa, men på grund av problem med transporter från övre Norrland överfördes den planerade provtagningen från Skellefteå till slakteriet i Ullånger. I början av projektperioden togs således prover från 13 storskaliga slakterier. Efter årsskiftet minskade antalet till 12 på grund av att slakteriet i Helsingborg lades ner. Antalet prov per slakteri var proportionellt mot den årliga slaktvolymen, vilket innebär att flest prov togs på de största slakterierna. Målsättningen var att analysera totalt 600 prov från storskaliga slakterier.

Dessutom togs prover från fyra småskaliga slakterier för att kunna jämföra förekomst och halter av olika bakterier på småskaliga och storskaliga slakterier. Urvalskriterier för de småskaliga slakterier som skulle ingå i studien var att antalet slaktade nötkreatur skulle vara tillräckligt stort för att möjliggöra regelbunden provtagning (ca 500 - 1500 per år). Det måste också vara ett slakteri där det är praktiskt möjligt för Livsmedelsverkets personal att ta prover eller där slakteriet kunde ställa upp med egen personal. Målsättningen var att analysera totalt 200 prov från småskaliga slakterier (50 prov per slakteri).

Provtagningen startade i början av september 2006 och pågick till och med september 2007, med uppehåll för helger och semester under totalt tio veckor (vecka 52-1, 14, 18, 20, 23, 25, 30, 31). På samtliga storskaliga slakterier och på två av de småskaliga slakterierna skötte besiktningsveterinärer och besiktningsassistenter provtagningen. På de två återstående småskaliga slakterierna togs proverna av slakteriets egen personal. För att minska analysarbetet under veckohelger togs alla prover i början av veckan, på måndagar och tisdagar.

Vid provtagningen svabbades slaktkroppshalvor av nötkreatur på fyra ställen (lårets insida, flank, bringa, och hals: se bilder i appendix 1). Provtagningsställena överensstämmer med dem som rekommenderades i kommissionsbeslut 2001/471/EG och som också används vid slakteriernas provtagning för egenkontroll. Proverna togs efter klyvning och putsning av slaktkropparna men före kylning. Vid provtagningen fuktades en kompress med 10 ml buffrat peptonvatten och på vart och ett av de fyra provtagningsställena svabbades ca 10 x 10 cm² (totalt 400 cm²). En och samma kompress användes för alla fyra ytorna. Vid svabbningen använde provtagarna plasthandskar som byttes mellan varje slaktkropp. Efter provtagningen tillsattes ytterligare 10 ml buffrat peptonvatten till varje kompress varefter de skickades i kylåda per post till Livsmedelsverket.

Vid ankomsten till Livsmedelsverket registrerades kompressernas temperatur med en IR termometer (Raytek® Raynger ST™). I likhet med tidigare baslinjestudier i USA (Eblen et al. 2005) bedömdes prover med temperaturer upp till och med 10 °C som godtagbara. Vid högre ankomsttemperaturer gjordes inga analyser.

Analys

Efter tillsats av 90 ml buffrat peptonvatten (totalt 100 ml per kompress inklusive de 10 ml som tillsattes av provtagaren efter svabbning) kördes kompresserna i stomacher under 1 minut. Analyser på spädningsserier av homogenatet påbörjades samma dag som provet ankom. Samtliga prov analyserades kvantitativt (halter av bakterier) för aeroba mikroorganismer, *Enterobacteriaceae*, *E. coli*, *Campylobacter* och koagulaspositiva stafylokocker samt kvalitativt (förekomst eller ej) för VTEC, *Salmonella* och patogen *Y. enterocolitica*. Dessutom gjordes kvalitativa analyser av *L. monocytogenes* på hälften av proverna. Detektionsgränsen för de kvantitativa analyserna var 0,25 CFU/cm².

De analysmetoder som användes var huvudsakligen baserade på NMKL-metoder med vissa modifikationer i enlighet med Mikrobiologiska enhetens metodkatalog. Förutom metoderna för analys av VTEC, patogen *Y. enterocolitica* och kvantitativ bestämning av *Campylobacter* var samtliga metoder ackrediterade. De flesta metoderna bygger på odling på agarplattor, men VTEC och patogen *Y. enterocolitica* analyserades med Realtids-PCR. Nedan följer en översiktlig beskrivning av analysmetoderna.

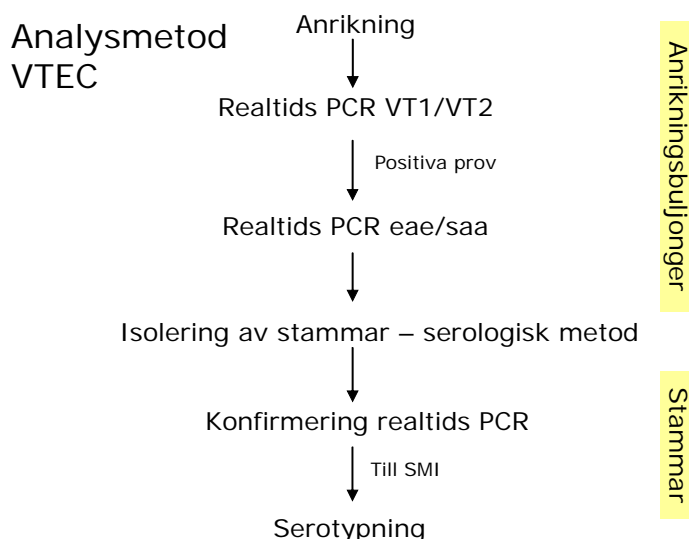
Presumptiva *E. coli* analyserades genom att 1 ml av homogenatet och lämpliga spädningsblandades med smält trypton soja agar (TSA) och preinkuberades 1–2 timmar i rumstemperatur. Därefter övergöts plattan med smält violetröd galla agar (VRG) och inkuberades vid 44 °C i ett dygn. *Enterobacteriaceae* analyserades genom att 1 ml homogenat blandades med smält violetröd galla glukos agar (VRGG). Sedan agarn stelnat övergöts denna med ett nytt tunt lager smält agar och inkuberades vid 37 °C i ett dygn. Analyser av aeroba mikroorganismer gjordes genom att blanda 1 ml av lämplig spädning med smält Plate Count agar (PCA) som sedan övergöts med ett nytt tunt lager smält agar och inkuberades vid 30 °C i tre dygn. Analyser av koagulaspositiva stafylokocker utfördes på Rabbitplasma Fibrinogen Agar (RPFA) som inkuberades i två dygn vid 37 °C. Analyserna gjordes genom ingjutning av 1 ml och ytspridning av 0,1 ml av homogenatet.

Vid analyser av *L. monocytogenes* blandades först 25 ml av homogenatet med 225 ml Half Fraser (HF) buljong och primäranrikades vid 30 °C i ett dygn. Dag två överfördes 0,1 ml av buljongen till Fraser buljong för sekundäranrikning vid 37 °C i två dygn. Från svärtade rör gjordes utstryk på Hemolytic Cefazidime Litium Chloride (HCLA) agar och på PALCAM agar som inkuberades vid 37 °C i ett dygn. Utstryk på selektiva agarplattor gjordes även från den primära anrikningsbuljongen.

Salmonella analyserades genom att 25 ml av homogenatet blandades med 225 ml buffrat peptonvatten (BPV) och preanrikades vid 37 °C i 18 timmar. Dag två överfördes 0,1 ml av buljongen till Rappaport Vassiliadis sojapepton (RVS) buljong och inkuberades i ett dygn vid 42 °C. Därefter gjordes utstryk på Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) agar och på manitol lysin kristallviolett briljantgrönt (MLCB) agar. Agarplattorna inkuberades vid 37 °C i ett dygn. Positiva fynd skickades till Statens Veterinärmedicinska Anstalt (SVA) för serotypning.

Campylobacter analyserades genom direktstryk (utan anrikning) av homogenat och lämpliga spädningar på ”modified charcoal cefoperazone desoxycholate agar” (mCCDA). Från homogenatet spreds 1 ml på en stor agarplatta. Agarplattorna inkuberades vid 42 °C i två dygn. För konfirmering och artbestämning av presumtiva *Campylobacter* användes följande PCR-metoder: thermotoleranta *Campylobacter* (Josefsen et al. 2004), *C. jejuni* (Nogva et al. 2000), *C. coli* (LaGier et al. 2004).

I det första steget i analyser av VTEC (figur 1) användes Realtids-PCR för att detektera gener för produktion av verotoxin 1 och 2. Analysen gjordes efter anrikning av 25 ml av homogenatet i en icke selektiv buljong (Tryptone Soy Broth, TSB) vid 41,5 °C i 16 timmar. Därefter analyserades positiva buljonger för förekomst av virulensgenerna *eae* eller *saa*, som båda styr bakteriens förmåga till vidhäftning vid tarmen. En immunoblot metod, med antikroppar riktade mot verotoxinerna, användes för att isolera VTEC stammar från de PCR-positiva buljongerna. Isolerade stammar konfirmerades med Realtids-PCR och skickades till Smittskyddsinstitutet (SMI) för serotypning. Dessutom testades positiva anrikningsbuljonger för förekomst av VTEC O157:H7 med en snabbmetod, ”VIP for EHEC” (Biocontrol systems Inc.).



Figur 1. Analysmetod VTEC.

Statistisk bearbetning

Den ursprungliga kvantitativa analysenheten, antal kolonibildande enheter (CFU) per ml, räknades om till CFU/cm² genom att dividera med provtagningsytans storlek (400 cm²) och multiplicera med den tillsatta volymen peptonvatten (100 ml).

Data från de storskaliga slakterierna användes för att upprätta en baslinje för förekomst och halter av olika bakteriegrupper på slaktkroppar. Eftersom antalet prov per slakteri är proportionellt mot den årliga slaktvolymen ger denna baslinje ett mått på förekomsten av bakterier på slaktkroppar i svensk produktion. Alla genomsnittliga halter av bakterier är redovisade som medianvärden (CFU/cm²) och som medelvärden av logaritmerade värden (medel log CFU/cm²) från positiva prover. Medianvärdet motsvarar det mittersta värdet när haltdata från positiva prover ordnats från det lägsta till högsta.

Förekomsten av bakterier på slaktkroppar från små- respektive storskaliga slakterier jämfördes baserat på analysdata från de fyra småskaliga slakterierna och från de sex största storskaliga slakterierna. För de övriga storskaliga slakterierna bedömdes antalet prov per slakteri för litet (mindre än 30) för att ta med data från dessa. Ett Mann-Whitney (MW) test användes vid jämförelserna. Detta är ett icke-parametriskt test där alla observationer rankas från lägst till högst. Efter att observationerna rankats summeras rankingtalen för olika grupper. Är skillnaden stor pekar det på att grupperna skiljer sig åt.

Alla konfidensintervall för andelar positiva prov är beräknade enligt Newcombe's metod med kontinuitetskorrektion. Samtliga data från både små- och storskaliga slakterier användes för att undersöka samband mellan förekomst och halter av olika bakteriegrupper på slaktkroppar. Sambandet mellan förekomsten av indikatorbakterier och patogena bakterier prövades med χ^2 -test.

En beräkning av skillnaden i medelvärden (medel log CFU/cm²) mellan *Enterobacteriaceae* och *E. coli* gjordes baserat på haltdata från slaktkroppar som var positiva för både bakteriegrupperna.

Totalt antal analyserade prov

Totalt analyserades 723 prov, varav 601 från storskaliga och 152 från småskaliga slakterier. Uppgifter om djurets kön och ålder fanns angivna för 656 av de provtagna slaktkropparna. Av dessa var 373 (57 %) vuxna handjur, 255 (39 %) vuxna hondjur och 28 (4 %) mellankalvar. Antalet analyserade prov per slakteri anges i tabell 1.

Tabell 1. Antal analyserade prov per slakteri

| Storlek | Anläggning | Antal prov |
|--------------------------|------------|------------|
| Småskaliga | A | 45 |
| | B | 37 |
| | C | 30 |
| | D | 40 |
| <i>Summa småskaliga</i> | | <i>152</i> |
| Storskaliga | E | 10 |
| | F | 28 |
| | G | 27 |
| | H | 28 |
| | I | 60 |
| | J | 123 |
| | K | 32 |
| | L | 26 |
| | M | 117 |
| | N | 14 |
| | O | 71 |
| | P | 57 |
| | Q | 8 |
| <i>Summa storskaliga</i> | | <i>601</i> |

Resultat

Baslinjedata från storskaliga slakterier

Indikatorbakterier

E. coli isolerades från drygt en tredjedel av de provtagna slaktkropparna (tabell 2). Merparten (98 %) av proven hade en halt som var lägre än 10 CFU/cm² (figur 2). Halterna på positiva slaktkroppar var låga, medianvärdet var 0,5 CFU/cm² (tabell 3). Den högsta halten på en enskild slaktkropp var 36 CFU/cm² (1,6 log CFU/cm²).

Enterobacteriaceae isolerades från två tredjedelar av proverna (tabell 2). De flesta (93 %) av proven hade en halt som var lägre än 10 CFU/cm² (figur 3). Halterna på positiva slaktkroppar var något högre än halterna av *E. coli*, medianvärdet var 1 CFU/cm² (tabell 3). Den högsta halten som uppmättes var 2 150 CFU/cm² (3,3 log CFU/cm²).

Halter av aeroba mikroorganismer kunde fastställas för samtliga analyserade prov. Medianvärdet var drygt 600 CFU/cm² (tabell 3). Halterna på flertalet (87 %) av slaktkropparna varierade från 100 upp till 10 000 CFU/cm² (figur 4). Den högsta halten som uppmättes var ca 80 000 CFU/cm² (4,9 log CFU/cm²).

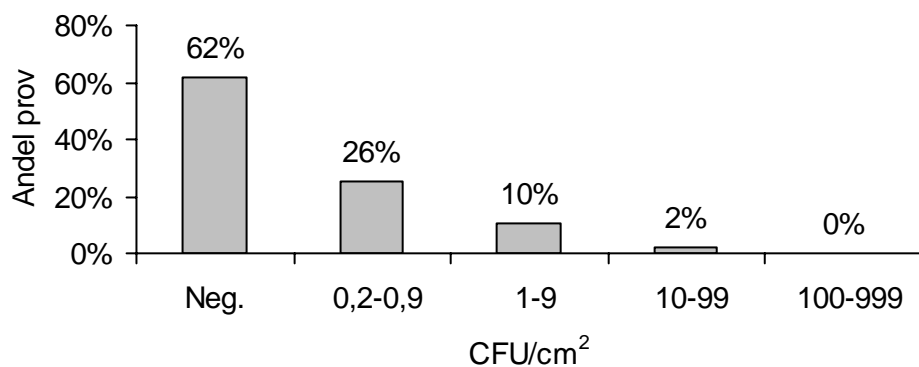
Tabell 2. Andel positiva slaktkroppar. Data från storskaliga slakterier

| Bakteriegrupp | Antal analyser | Antal positiva | Andel positiva (%) |
|---------------------------------------|----------------|----------------|--------------------|
| <i>E. coli</i> | 598 | 227 | 38 |
| <i>Enterobacteriaceae</i> | 601 | 407 | 68 |
| Aeroba mikroorganismer | 601 | 601 | 100 |
| Koagulaspositiva stafylokker | 601 | 175 | 29 |
| VTEC, <i>eae/saa</i> positiva isolat* | 600 | 10 | 2 |
| <i>Salmonella</i> | 601 | 0 | 0 |
| <i>Campylobacter</i> | 599 | 1 | 0,2 |
| <i>Y. enterocolitica</i> | 600 | 28 | 5 |
| <i>L. monocytogenes</i> | 273 | 3 | 1 |

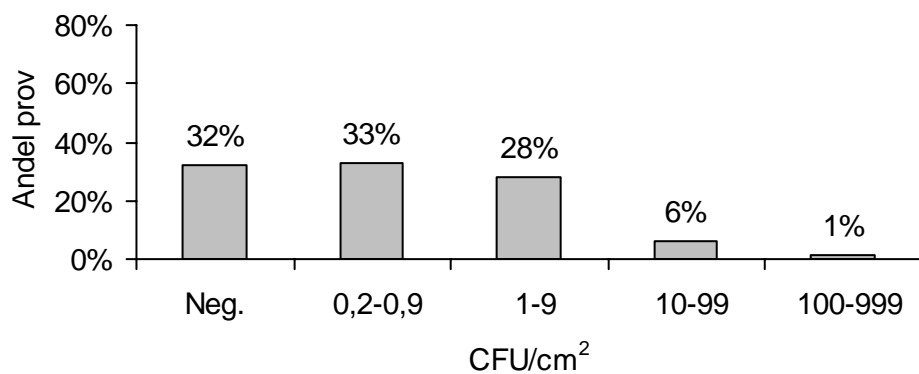
* isolat med virulensgener för både verotoxinproduktion (*vt1* och/eller *vt2*) och vidhäftning vid tarmkanalen (*eae* eller *saa*)

Tabell 3. Genomsnittliga halter för positiva prov. Data från storskaliga slakterier

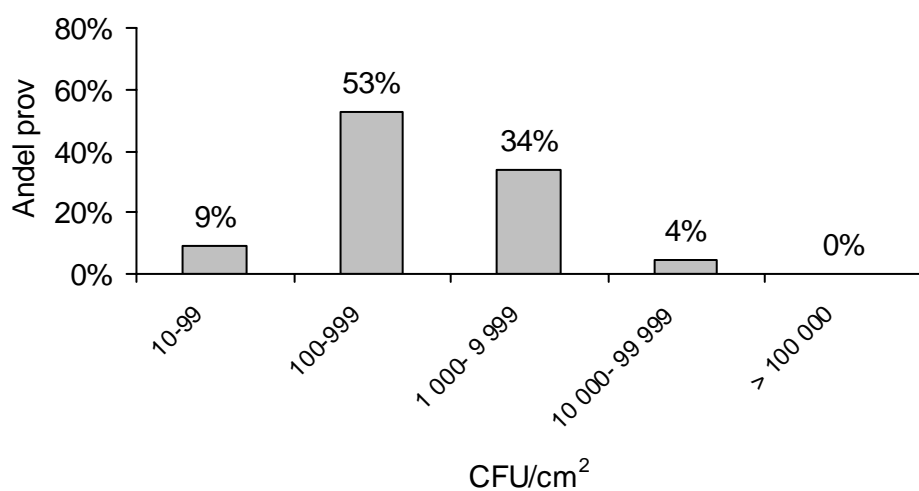
| Bakteriegrupp | Antal positiva prov | Median (CFU/cm ²) | Medel (log CFU/cm ²) | Standardavvikelse (log CFU/cm ²) |
|---------------------------|---------------------|-------------------------------|----------------------------------|--|
| <i>E. coli</i> | 227 | 0,5 | 0,0 | 0,5 |
| <i>Enterobacteriaceae</i> | 407 | 1 | 0,2 | 0,7 |
| Aeroba mikroorganismer | 601 | 609 | 2,9 | 0,7 |
| Koagulaspos. stafylokker | 175 | 1 | 0,1 | 0,6 |



Figur 2. Fördelning av halter av *E. coli*.



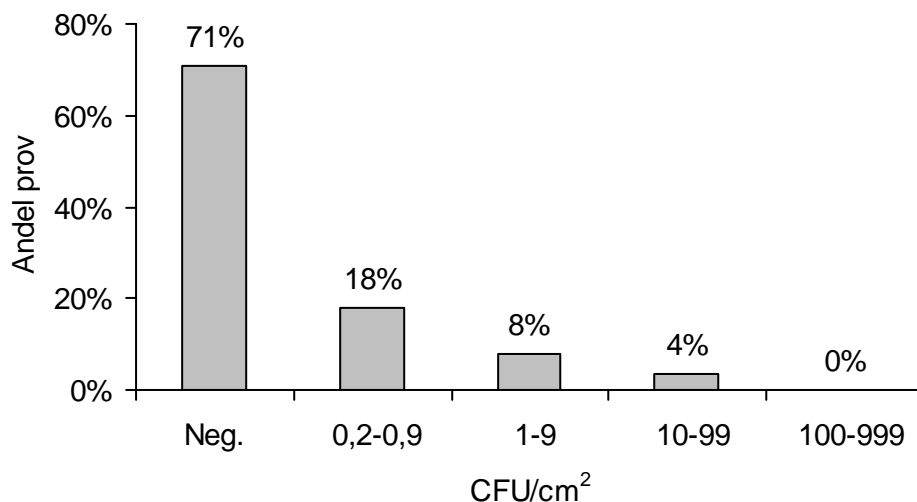
Figur 3. Fördelning av halter av *Enterobacteriaceae*.



Figur 4. Fördelning av halter av aeroba mikroorganismer.

Koagulaspositiva stafylokker

Koagulaspositiva stafylokker isolerades från en knapp tredjedel av de provtagna slaktkropparna (tabell 2). Merparten (96 %) av proven hade en halt som var lägre än 10 CFU/cm² (figur 5). Halterna på positiva slaktkroppar var oftast låga, medianvärdet var 1 CFU/cm² (tabell 3). Den högsta halten på en enskild slaktkropp var 70 CFU/cm² (1,6 log CFU/cm²).



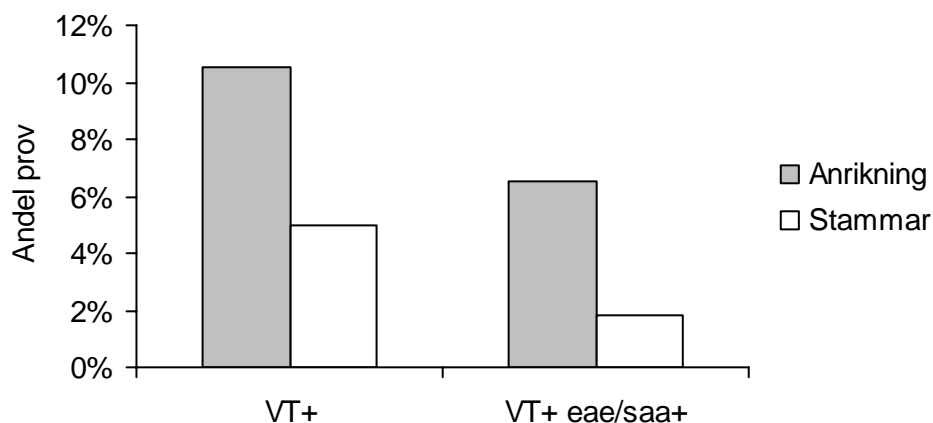
Figur 5. Fördelning av halter av koagulaspositiva stafylokker.

VTEC

Resultaten från realtids-PCR visar att 63 (10 %) av 600 anrikade prov från stor-skaliga slakterier var positiva för gener för verotoxinproduktion (*vt1* och/eller *vt2*). Vidare analyser av de positiva proven visade att drygt hälften av dessa också var positiva för virulensgenerna *eae* och/eller *saa*, vilket innebär att 39 (7 %) av de 600 anrikningsbuljongerna var positiva för både gener för verotoxinproduktion och för *eae* och/eller *saa* (figur 6). Verotoxinproducerande stammar kunde isoleras från 29 (5 %) av anrikningsbuljongerna. Från 10 (2 %) av buljongerna isolerades stammar som var positiva för både gener för verotoxinproduktion och virulensgenerna *eae* eller *saa* (figur 6). Inga analyser av eventuella skillnader i förekomst av VTEC mellan unga och vuxna djur gjordes eftersom antalet prov från mellankalvar var litet.

Serotypningen av de verotoxinproducerande stammarna är ännu inte avslutad. I dagsläget finns resultat för 14 av de 29 isolat som skickats till SMI (tabell 4). VTEC O157:H7 isolerades från två prov. Dessutom pekar resultaten från serologiska tester med ”VIP for EHEC” på att serotypen förekom i ytterligare två prov, även om detta inte kunnat konfirmeras genom odling. Totalt visar

således resultaten från serotypning av isolat och serologiska tester att fyra (0,7 %) av de 600 proven var positiva för VTEC O157:H7.



Figur 6. Andel slaktkroppar som var positiva för gener för enbart verotoxinproduktion (*vt+*) och för både verotoxinproduktion och virulensgenerna *eae* och/eller *saa* (*vt+ eae/saa+*).

Tabell 4. Resultat av serotypning av VTEC isolat från storskaliga slakterier, uppdelade på isolat med virulensgener för enbart verotoxinproduktion (*vt+*) och isolat med virulensgener för både verotoxinproduktion och vidhäftning vid tarmkanalen (*vt+ eae/saa+*)

| Provresultat | Antal prov med isolerade stammar | Antal prov med resultat från serotypning | Serotyper |
|---------------------|----------------------------------|--|--|
| <i>vt+</i> | 19 | 9 | O2:H27 (3 prov), O7:H29, O91 (2 prov), O113:H21, O174 (2 prov) |
| <i>vt+ eae/saa+</i> | 10 | 5 | O113, O113:H21, O157:H7 (2 prov), O177 |

Salmonella

Samtliga prover från storskaliga slakterier var negativa (tabell 2).

Campylobacter

Campylobacter isolerades från ett (0,2 %) av proven från storskaliga slakterier (tabell 2). Isolatet artbestämdes till *C. coli* och halten var 13 CFU/cm² (1,1 log CFU/cm²).

Yersinia enterocolitica

Patogen *Y. enterocolitica* kunde inte isoleras från något prov genom odling men 5 % av proven från storskaliga slakterier var positiva i realtids-PCR (tabell 2).

Listeria monocytogenes

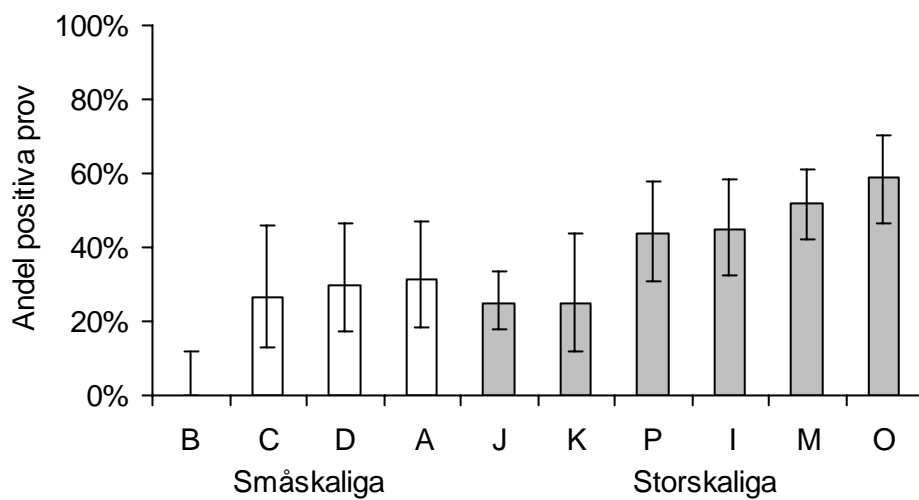
Tre (1 %) av proven från storskaliga slakterier var positiva för *L. monocytogenes* (tabell 2).

Data från småskaliga slakterier och jämförelser med storskaliga slakterier

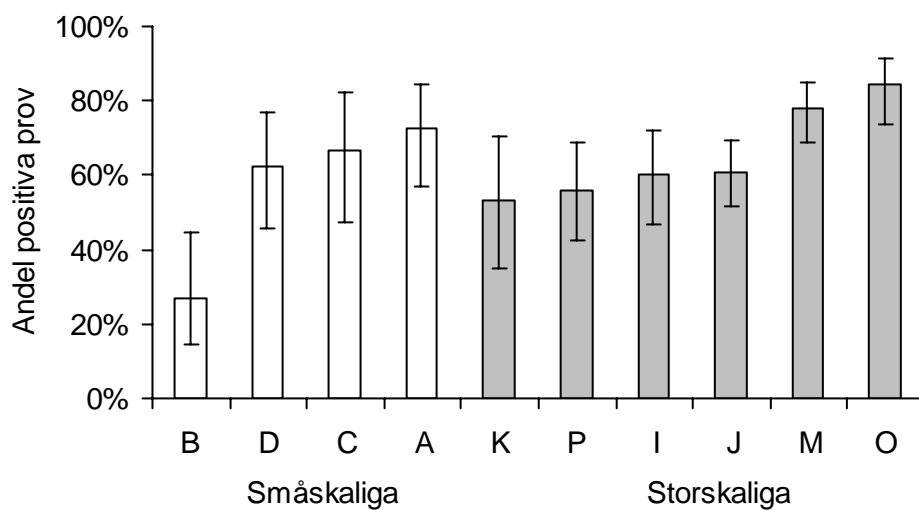
Andelen prov per slakteri som var positiva för olika indikatorbakterier och patogena bakterier skiljde sig inte signifikant mellan små- och storskaliga slakterier (MW test, $P > 0,05$). De genomsnittliga halterna av aeroba mikroorganismer skiljde sig inte heller signifikant mellan små- och storskaliga slakterier (MW test, $P > 0,05$).

Indikatorbakterier

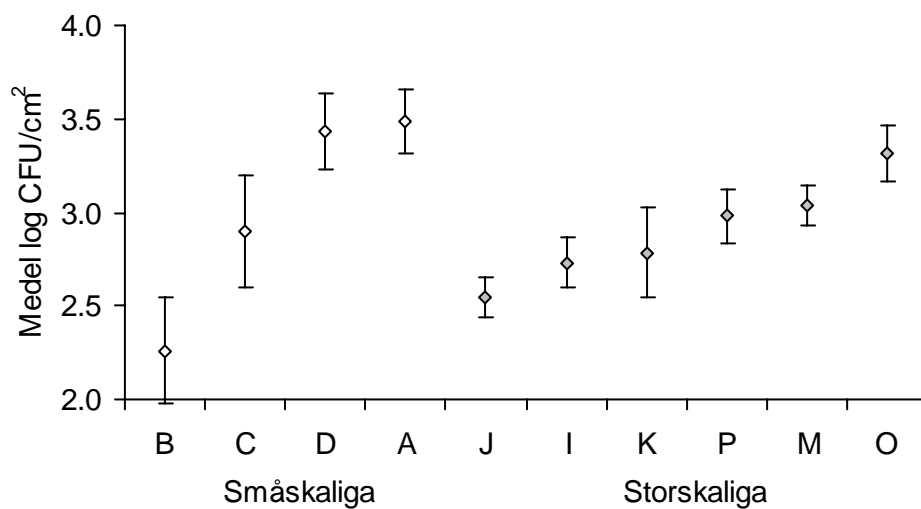
Bland småskaliga slakterier varierade andelen *E. coli* positiva prov från 0 - 31 % och bland storskaliga slakterier från 25 - 59 % (figur 7). Andelen prov positiva för *Enterobacteriaceae* varierade från 27 - 73 % bland småskaliga slakterier, och bland storskaliga slakterier från 53 - 85 % (figur 8). De genomsnittliga halterna av aeroba mikroorganismer varierade mellan 2,3 - 3,5 log CFU/cm² på småskaliga slakterier, och mellan 2,5 - 3,3 log CFU/cm² på storskaliga slakterier (figur 9).



Figur 7. Andel prov med *E. coli* på småskaliga och storskaliga slakterier (vita respektive grå staplar). Felstaplarna visar 95 % konfidensintervall.



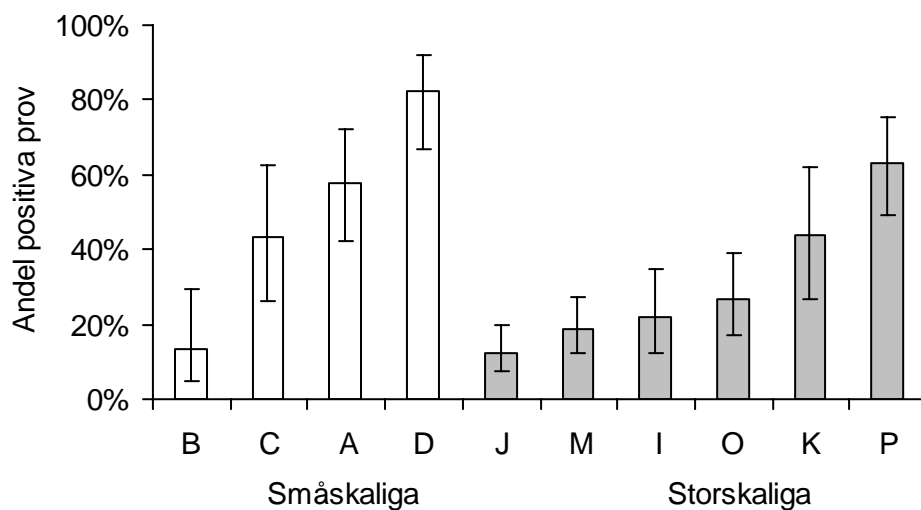
Figur 8. Andel prov med *Enterobacteriaceae* på småskaliga och storskaliga slakterier (vita respektive grå staplar). Felstaplarna visar 95 % konfidensintervall.



Figur 9. Genomsnittliga halter av aeroba mikroorganismer på småskaliga och storskaliga slakterier (vita respektive grå symboler). Felstaplarna visar 95 % konfidensintervall.

Koagulaspositiva stafylokker

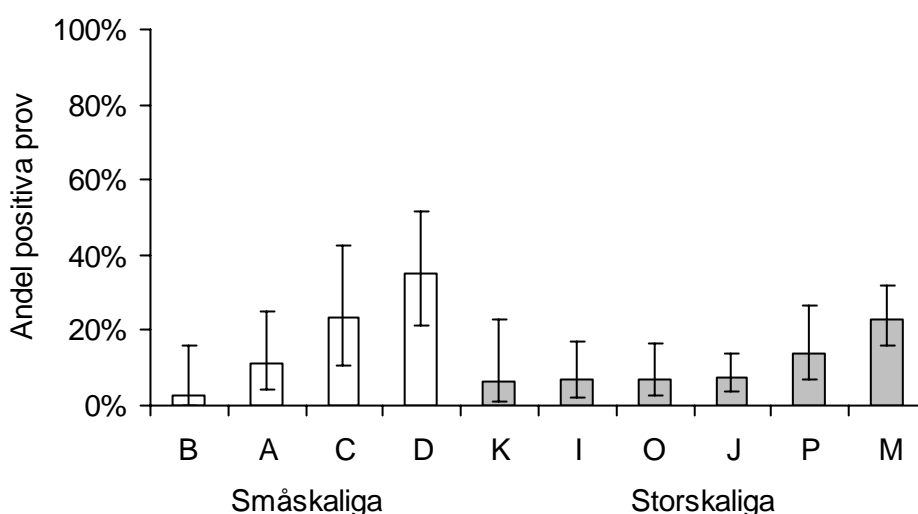
Bland småskaliga slakterier varierade andelen positiva prov från 14 - 83 % och bland storskaliga slakterier från 12 - 63 % (figur 10).



Figur 10. Andel prov med koagulaspositiva stafylokker på småskaliga och storskaliga slakterier (vita respektive grå staplar). Felstaplarna visar 95 % konfidensintervall.

VTEC

Bland småskaliga slakterier varierade andelen positiva anrikningsbuljonger från 3 - 35 % och bland storskaliga slakterier från 6 - 23 % (figur 11). Analyser av de positiva proven från småskaliga slakterier visade att 17 (11 %) av de 152 anrikningsbuljongerna var positiva för både gener för verotoxinproduktion och för *eae* och/eller *saa*. Verotoxinproducerande stammar kunde isoleras från 27 (18 %) av anrikningsbuljongerna. Från 7 (5 %) av buljongerna isolerades stammar som var positiva för både gener för verotoxinproduktion och virulensgenerna *eae* eller *saa*. Serotypningen av de verotoxinproducerande stammarna är ännu inte avslutad. I dagsläget finns resultat för 8 av de 12 isolat som skickats till SMI (tabell 5).



Figur 11. Andel anrikade prov som var positiva för gener för verotoxinproduktion på småskaliga och storskaliga slakterier (vita respektive grå staplar). Felstaplarna visar 95 % konfidensintervall.

Tabell 5. Resultat av serotypning av VTEC isolat från småskaliga slakterier, uppdelade på isolat med virulensgener för enbart verotoxinproduktion (*vt+*) och isolat med virulensgener för både verotoxinproduktion och vidhäftning vid tarmkanalen (*vt+ eae/saa+*)

| Provresultat | Antal prov med isolerade stammar | Antal prov med resultat från serotypning | Serotyper |
|---------------------|----------------------------------|--|--|
| <i>vt+</i> | 6 | 3 | O8:H9, O128, O170:H28 |
| <i>vt+ eae/saa+</i> | 7 | 6 | O113, O113:H21, O157:H7, O170:H28, O178:H19 (2 prov) |

Salmonella

Salmonella isolerades från ett (0,7 %) av de 152 proven från småskaliga slakterier. Isolatet serotypades till *S. Agona*. Det positiva fyndet föranledde att vederbörliga kontrollåtgärder vidtogs av SLV och Jordbruksverket.

Campylobacter

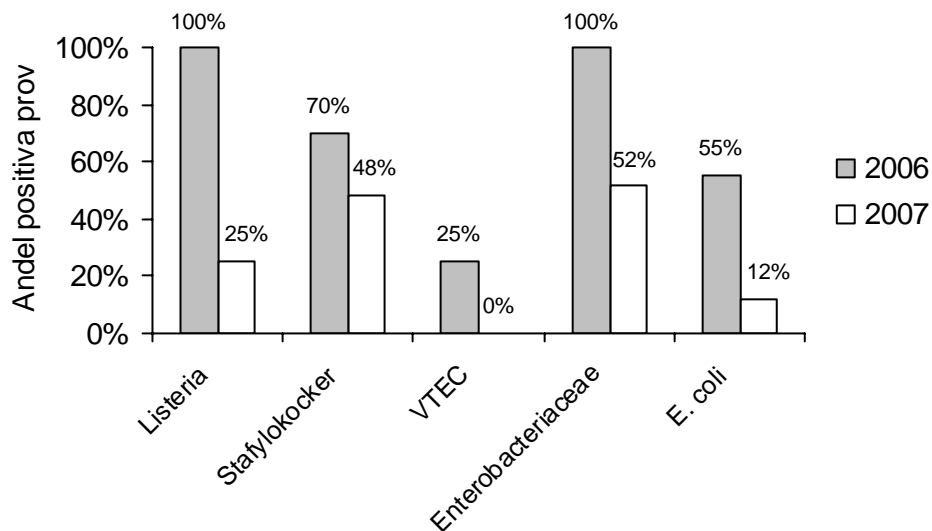
Campylobacter isolerades från ett (0,7 %) av de 152 proven från småskaliga slakterier. Isolatet artbestämdes till *C. coli* och halten var 38 CFU/cm² (1,6 log CFU/cm²).

Yersinia enterocolitica

Resultaten från Realtids-PCR visar att nio (6 %) av de 152 proven från småskaliga slakterier var positiva för patogen *Y. enterocolitica*.

Listeria monocytogenes

L. monocytogenes visade sig förekomma regelbundet på ett av de småskaliga slakterierna, medan samtliga prov från de övriga tre anläggningarna var negativa. Vid de första två provtagningsomgångarna med analys av *Listeria* på den aktuella anläggningen var samtliga provtagna slaktkroppar positiva (fem per gång). Vid anläggningen gjordes därför en genomgång av slaktrutinerna och efter årsskiftet vidtogs åtgärder för att förbättra slakthygien (bland annat desinficering av flåtrissa med varmvatten och tätare skrapning av golv). Resultaten från fyra provtagningsomgångar efter årsskiftet visar att åtgärderna åtminstone delvis hade effekt på förekomsten av *L. monocytogenes*, eftersom antalet positiva prov per omgång då varierade mellan noll och tre. Provtagningarna efter årsskiftet visar också att de förbättrade hygienrutinerna resulterade i minskad förekomst av andra patogena bakterier och indikatorbakterier (figur 12) och att den genomsnittliga halten av aeroba mikroorganismer minskade från 3,8 till 3,5 log CFU/cm².

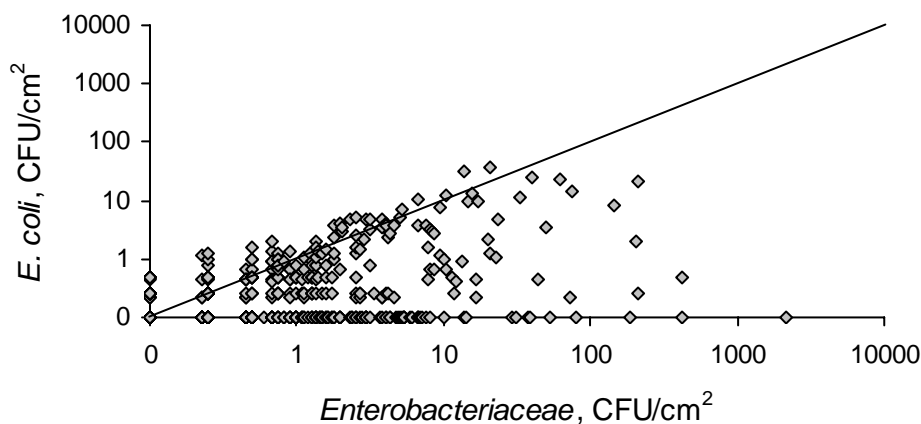


Figur 12. Förekomst av olika bakteriegrupper på ett småskaligt slakteri före och efter förbättrade hygienrutiner vid årsskiftet 2006-2007. VTEC syftar på anrikningsbuljonger positiva för gener för verotoxinproduktion.

Samband mellan olika bakteriegrupper

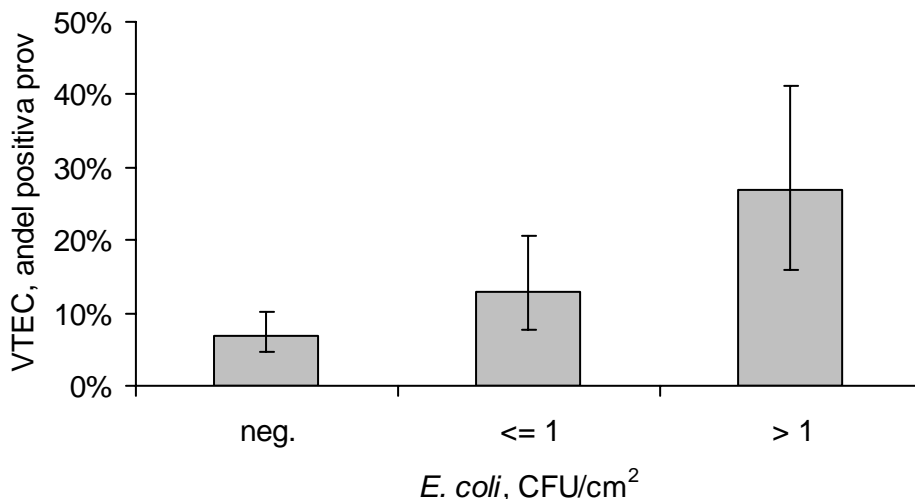
Halterna av *Enterobacteriaceae* på enskilda slaktroppar var ofta högre än halterna av *E. coli* från samma prov (figur 13). Som förväntat fanns det ett samband mellan de båda bakteriegrupperna, men vissa prov höll höga halter av *Enterobacteriaceae* samtidigt som halterna av *E. coli* var låga eller under detektionsgränsen (figur 13).

De genomsnittliga halterna av *Enterobacteriaceae* och *E. coli* på de totalt 190 slaktroppar som var positiva för båda bakteriegrupperna var 0,35 respektive 0,00 log CFU/cm². Den genomsnittliga halten av *Enterobacteriaceae* var således 0,35 log CFU/cm² högre än halten av *E. coli* (95 % konfidensintervall 0,21 - 0,43 log CFU/cm²).



Figur 13. Samband mellan halter av *Enterobacteriaceae* och *E. coli* på 526 slaktkroppar från små- och storskaliga slakterier. Den streckade linjen har lutningen 1 (värden som ligger på denna linje är lika höga).

Om en slaktkropp var positiv för *E. coli* så var sannolikheten för att det anrikade provet också skulle vara positivt för gener för verotoxinproduktion större än om inga *E. coli* påvisades på slaktkroppen (χ^2 -test, $P < 0,001$). Andelen positiva prov ökade med stigande halter av *E. coli* (figur 14). Däremot fanns det inget signifikant samband mellan halter av *Enterobacteriaceae* och andelen anrikade prov som var positiva för gener för verotoxinproduktion (χ^2 -test, $P > 0,05$).



Figur 14. Andel anrikade prov som var positiva för gener för verotoxinproduktion i förhållande till halter av *E. coli* på slaktkropparna. 526 prov från små- och storskaliga slakterier. Felstaplarna visar 95 % konfidensintervall.

Diskussion

Baslinjedata från de 13 största slakterierna för slakt av nötkreatur i Sverige visar att inga slaktkroppar var positiva för *Salmonella* och att endast ett prov var positivt för *Campylobacter*, medan potentiellt humanpatogena VTEC isolerades från 2 % av slaktkropparna. Kartläggningen beskriver också förekomsten av patogen *Y. enterocolitica*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* samt indikatorbakterier för hygien och fekal förorening. Resultaten ger därmed en övergripande bild över förekomsten av bakterier på slaktkroppar som tidigare saknats.

Medan tidigare undersökningar av förekomsten av VTEC hos svenska nötkreatur främst fokuserat på VTEC O157 (Anonym 2007) ger Mikroprofilprojektet en uppfattning om hur stor förekomsten var av både VTEC O157 och VTEC ej-O157. VTEC O157 isolerades från tre prover från små- och storskaliga anläggningar och utgjorde därmed endast en mindre andel av det totala antalet isolerade stammar av potentiellt humanpatogena VTEC (16 stycken). Alla isolat har ännu inte serotypats, men de tillgängliga resultaten visar att VTEC O113 förekom i fyra av dessa prov, O178 i två prov och O177 i ett prov. VTEC O113 anses som en betydelsefull VTEC ej-O157 och har isolerats från patienter i flera länder (Bettelheim 2003, Johnson et al. 2006, Bettelheim 2007). Även O177 och O178 har isolerats från patienter (Friedrich et al. 2003, Beutin et al. 2004, Seto et al. 2007). De kunskaper som Mikroprofilprojektet gett om förekomsten av andra serotyper än VTEC O157 utgör ett viktigt underlag inför kommande kartläggningar och studier av möjligheter att reducera förekomsten av VTEC i Sverige.

Frånvaron av *Salmonella* på storskaliga slakterier var förväntad med tanke på att denna bakterie under lång tid övervakats och bekämpats i produktion av foder, djur och livsmedel i Sverige. Förekomsten av *Salmonella* är mycket låg, mindre än 0,1 %, vilket innebär att i stort sett allt inhemskt producerat rött och vitt kött samt ägg är fritt från *Salmonella* (SVA 2007). Enstaka fynd, i likhet med det positiva fynd som konstaterades från ett småskaligt slakteri, förekommer dock.

Resultaten bekräftar också att förekomsten och halterna av *Campylobacter* på nötkött är mycket låga. Eftersom proverna är tagna före kylning kan man dessutom förvänta sig en minskning av halterna efter nedkylning. Resultaten från ett tidigare Riksprojekt där förekomsten av *Campylobacter* undersöktes i samarbete mellan Livsmedelsverket och landets kommuner visar att bakterien var ovanlig på rått nötkött. Av drygt 1500 prover var inget positivt för *Campylobacter* (Westöö & Lindberg 2002).

Mikroprofil Nötkreatur är den första kartläggningen i Sverige av patogen *Y. enterocolitica* på slaktkroppar av nötkreatur. Internationellt har en del studier av förekomsten i fekala prover gjorts (Bailey et al. 2003, McNally et al. 2004, Milnes et al. 2007), men data över förekomsten på slaktkroppar saknas. I kartläggningen användes realtids-PCR, en molekylärbiologisk metod som är mycket känslig och kan fånga upp låga halter av bakterien. Eftersom proverna anrikas innan de analyseras går det inte att säga hur höga halterna var. Resultaten är heller inte direkt jämförbara med den tidigare kartläggningen (Mikroprofil

Gris) av *Y. enterocolitica* på slaktkroppar av svin, eftersom en annan och inte fullt lika känslig PCR-metod användes i den studien (Lindblad 2006).

Den låga förekomsten av *L. monocytogenes* på de provtagna slaktkropparna tyder på att slakteriernas rutiner för rengöring och desinfektion fungerar väl, åtminstone fram till den punkt då proverna togs. Undersökningar i andra länder pekar också på att förekomsten av bakterien normalt är låg på slaktkroppar (Rivera-Betancourt et al. 2004, Guerini et al. 2007). Under den fortsatta hanteringen kan förekomsten sedan öka (Wendlandt & Bergann 1994, Lunden et al. 2003), *L. monocytogenes* har till exempel påträffats i upp till 90 % av prover av nötfärs (Fenlon et al. 1996, Bohaychuk et al. 2006).

Jämfört med en tidigare studie av mikrobiologisk köttkvalitet på fyra småskaliga och fyra storskaliga svenska slakterier från 1998 (Hansson 2001) visar resultaten att förekomst av stafylokocker och *E. coli* samt halterna av aeroba mikroorganismer ligger på ungefär samma nivå nu som då. I Hanssons studie, som baserades på svabbprov från totalt 200 cm² från låret och vid bröstbenets snittyta, var andelen prov som var positiva för stafylokocker (> 1 CFU/cm²) i genomsnitt 9 % på storskaliga slakterier. Motsvarande siffror från Mikroprofilprojektet (omräknat till samma detektionsgräns som i Hanssons studie) var 11 %. Förekomsten av *E. coli* skiljer sig inte heller mellan undersökningarna. År 1998 var andelen positiva prov i genomsnitt 34 % på storskaliga slakterier (Hansson 2001), vilket kan jämföras med 38 % i Mikroprofilprojektet. Den genomsnittliga halten av aeroba mikroorganismer på storskaliga anläggningar 1998 var 2,6 log CFU/cm², vilket är något lägre än det aktuella resultatet på 2,9 log CFU/cm².

Resultaten kan också jämföras en amerikansk undersökning där slaktkroppar av nötkreatur svabbades på flank, bringa och lår efter kylning (Eblen et al. 2005). Kartläggningen genomfördes 1997-1998 och visar att förekomsten av *E. coli* på slaktkroppar från storskaliga slakterier i USA var något lägre än i Sverige (17 respektive 38 %). Eftersom halterna av *E. coli* kan sjunka under kylprocessen (Bacon et al. 2000) är det möjligt att högre förekomster skulle ha noterats i USA om proverna (i likhet med provtagningen i Mikroprofilprojektet) tagits före kylning.

Förekomst och halter av bakterier skiljde sig inte signifikant mellan små- och storskaliga slakterier. De tendenser som fanns indikerade att förekomsten av *E. coli*, som är en indikator på fekal förorening, snarast var lägre på småskaliga än på storskaliga anläggningar (Figur 7). Spridningen i genomsnittliga halter av aeroba mikroorganismer var stor på småskaliga slakterier där både de lägsta och högsta halterna uppmättes (Figur 9), vilket tyder på att det fanns en stor variation i allmän hygien mellan småskaliga slakterier. Tidigare jämförelser har visat att den genomsnittliga halten av aeroba mikroorganismer var högre på småskaliga än på storskaliga anläggningar, medan förekomsten av koagulaspositiva stafylokocker och *E. coli* var likartad (Hansson 2001).

Samband mellan indikatorbakterier och patogena bakterier har ofta visat sig vara svåra att fastställa, men resultaten från Mikroprofilprojektet visar att det fanns ett signifikant samband mellan halter av *E. coli* och förekomst av VTEC. I

likhet med den tidigare kartläggningen av bakterier på slaktkroppar av gris (Lindblad 2006) pekar resultaten på att *E. coli* är mer användbar som indikator för att utvärdera styrningen av slaktprocessen än *Enterobacteriaceae*, eftersom det inte gick att påvisa något tydligt samband mellan halter av *Enterobacteriaceae* och förekomst av patogena bakterier.

Tack!

Ett stort tack till besiktningsveterinärer, besiktningsassistenter och egen personal vid slakterierna som tack vare tålmodig provtagning gjort det möjligt att genomföra denna kartläggning. Tack också till Sven Löfdahl på Smittskyddsinstitutet för hjälp med serotypning av VTEC isolat.

Referenser

- Anonym. 2007. Verotoxinbildande *E.coli* – VTEC-bakteriers smittvägar, förekomst samt risker för folkhälsan. Rapport från Livsmedelsverket, Statens Jordbruksverk, Statens veterinärmedicinska anstalt, Smittskyddsinstitutet, Socialstyrelsen och Naturvårdsverket.
- Bacon, R. T., K. E. Belk, J. N. Sofos, R. P. Clayton, J. O. Reagan, & G. C. Smith. 2000. Microbial populations on animal hides and beef carcasses at different stages of slaughter in plants employing multiple-sequential interventions for decontamination. *J. Food Prot.* 63:1080-1086.
- Bailey, G. D., B. A. Vanselow, M. A. Hornitzky, S. I. Hum, G. J. Eamens, P. A. Gill, K. H. Walker, & J. P. Cronin. 2003. A study of the foodborne pathogens: *Campylobacter*, *Listeria* and *Yersinia*, in faeces from slaughter-age cattle and sheep in Australia. *Commun. Dis. Intell.* 27:249-257.
- Bettelheim, K. A. 2003. Non-O157 verotoxin-producing *Escherichia coli*: a problem, paradox, and paradigm. *Exp. Biol. Med.* 228:333-344.
- Bettelheim, K. A. 2007. The non-O157 shiga-toxigenic (verocytotoxigenic) *Escherichia coli*; under-rated pathogens. *Crit. Rev. Microbiol.* 33:67-87.
- Beutin, L., G. Krause, S. Zimmermann, S. Kaulfuss, & K. Gleier. 2004. Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from human patients in Germany over a 3-year period. *J. Clin. Microbiol.* 42:1099-1108.
- Bohaychuk, V. M., G. E. Gensler, R. K. King, K. I. Manninen, O. Sorensen, J. T. Wu, M. E. Stiles, & L. M. McMullen. 2006. Occurrence of pathogens in raw and ready-to-eat meat and poultry products collected from the retail marketplace in Edmonton, Alberta, Canada. *J. Food Prot.* 69:2176-2182.
- Brooks, J. T., E. G. Sowers, J. G. Wells, K. D. Greene, P. M. Griffin, R. M. Hoekstra, & N. A. Strockbine. 2005. Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in the United States, 1983-2002. *J. Infect. Dis.* 192:1422-1429.
- Eblen, D. R., P. Levine, B. E. Rose, P. Saini, R. Mageau, & W. E. Hill. 2005. Nationwide microbiological baseline data collected by sponge sampling during 1997 and 1998 for cattle, swine, turkeys, and geese. *J. Food Prot.* 68:1848-1852.
- Ethelberg, S., G. Sorensen, B. Kristensen, K. Christensen, L. Krusell, A. Hempel-Jorgensen, A. Perge, & E. M. Nielsen. 2007. Outbreak with multi-resistant *Salmonella* Typhimurium DT104 linked to carpaccio, Denmark, 2005. *Epidemiol. Infect.* 135:900-907.
- Fenlon, D. R., J. Wilson, & W. Donachie. 1996. The incidence and level of *Listeria monocytogenes* contamination of food sources at primary production and initial processing. *J. Appl. Bacteriol.* 81:641-650.
- Friedrich, A. W., J. Borell, M. Bielaszewska, A. Fruth, H. Tschape, & H. Karch. 2003. Shiga toxin 1c-producing *Escherichia coli* strains: phenotypic and

- genetic characterization and association with human disease. *J. Clin. Microbiol.* 41:2448-2453.
- Guerini, M. N., D. M. Brichta-Harhay, T. S. Shackelford, T. M. Arthur, J. M. Bosilevac, N. Kalchayanand, T. L. Wheeler, & M. Koochmaraie. 2007. *Listeria* prevalence and *Listeria monocytogenes* serovar diversity at cull cow and bull processing plants in the United States. *J. Food Prot.* 70:2578-2582.
- Haeghebaert, S., L. Duche, C. Gilles, B. Masini, M. Dubreuil, J. C. Minet, P. Bouvet, F. Grimont, E. Delarocque Astagneau, & V. Vaillant. 2001. Minced beef and human salmonellosis: review of the investigation of three outbreaks in France. *Euro Surveill.* 6:21-26.
- Hansson, I. B. 2001. Microbiological meat quality in high- and low-capacity slaughterhouses in Sweden. *J. Food Prot.* 64:820-825.
- Isigidi, B. K., A. M. Mathieu, L. A. Devriese, C. Godard, & J. v. Hoof. 1992. Enterotoxin production in different *Staphylococcus aureus* biotypes isolated from food and meat plants. *J. Appl. Bacteriol.* 72:16-20.
- Johnsen, G., K. Zimmerman, B. A. Lindstedt, T. Vardund, H. Herikstad, & G. Kapperud. 2006. Intestinal carriage of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* among cattle from south-western Norway and comparative genotyping of bovine and human isolates by amplified-fragment length polymorphism. *Acta Vet. Scand.* 48:4.
- Johnson, K. E., C. M. Thorpe, & C. L. Sears. 2006. The emerging clinical importance of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Clin. Infect. Dis.* 43:1587-1595.
- Josefsen, M. H., N. R. Jacobsen, & J. Hoorfar. 2004. Enrichment followed by quantitative PCR both for rapid detection and as a tool for quantitative risk assessment of food-borne thermotolerant campylobacters. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:3588-3592.
- Kapperud, G. 1991. *Yersinia enterocolitica* in food hygiene. *Int. J. Food Microbiol.* 12:53-66.
- Kivi, M., A. Hofhuis, D. W. Notermans, W. J. Wannet, M. E. Heck, A. W. Van De Giessen, Y. T. Van Duynhoven, O. F. Stenvers, A. Bosman, & W. Van Pelt. 2007. A beef-associated outbreak of *Salmonella* Typhimurium DT104 in The Netherlands with implications for national and international policy. *Epidemiol. Infect.* 135:890-899.
- LaGier, M. J., L. A. Joseph, T. V. Passaretti, K. A. Musser, & N. M. Cirino. 2004. A real-time multiplexed PCR assay for rapid detection and differentiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Mol. Cell. Prob.* 18:275-282.
- Lindblad, M. 2006. Mikroprofil Gris - kartläggning av mikroorganismer på slaktkroppar. Livsmedelsverkets rapport nr 1.
- Lindblad, M., & R. Lindqvist. 2003. Mikroprofil Kyckling - kartläggning av mikroorganismer på slaktkroppar. Livsmedelsverkets rapport nr 21.

- Lunden, J. M., T. J. Autio, A. M. Sjöberg, & H. J. Korkeala. 2003. Persistent and nonpersistent *Listeria monocytogenes* contamination in meat and poultry processing plants. *J. Food Prot.* 66:2062-2069.
- McEvoy, J. M., A. M. Doherty, J. J. Sheridan, I. S. Blair, & D. A. McDowell. 2003. The prevalence of *Salmonella* spp. in bovine faecal, rumen and carcass samples at a commercial abattoir. *J. Appl. Microbiol.* 94:693-700.
- McLaughlin, J. B., L. J. Castrodale, M. J. Gardner, R. Ahmed, & B. D. Gessner. 2006. Outbreak of multidrug-resistant *Salmonella* Typhimurium associated with ground beef served at a school potluck. *J. Food Prot.* 69:666-670.
- McNally, A., T. Cheasty, C. Fearnley, R. W. Dalziel, G. A. Paiba, G. Manning, & D. G. Newell. 2004. Comparison of the biotypes of *Yersinia enterocolitica* isolated from pigs, cattle and sheep at slaughter and from humans with yersiniosis in Great Britain during 1999-2000. *Lett. Appl. Microbiol.* 39:103-108.
- Milnes, A. S., I. Stewart, F. A. Clifton-Hadley, R. H. Davies, D. G. Newell, A. R. Sayers, T. Cheasty, C. Cassar, A. Ridley, A. J. Cook, S. J. Evans, C. J. Teale, R. P. Smith, A. McNally, M. Toszeghy, R. Futter, A. Kay, & G. A. Paiba. 2007. Intestinal carriage of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157, *Salmonella*, thermophilic *Campylobacter* and *Yersinia enterocolitica*, in cattle, sheep and pigs at slaughter in Great Britain during 2003. *Epidemiol. Infect.*:1-13.
- Nielsen, E. M., J. Engberg, & M. Madsen. 1997. Distribution of serotypes of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* from Danish patients, poultry, cattle and swine. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 19:47-56.
- Nogva, H. K., A. Bergh, A. Holck, & K. Rudi. 2000. Application of the 5'-nuclease PCR assay in evaluation and development of methods for quantitative detection of *Campylobacter jejuni* *Appl. Environ. Microbiol.* 66:4029-4036.
- Ostroff, S. M., G. Kapperud, L. C. Hutwagner, T. Nesbakken, N. H. Bean, J. Lassen, & R. V. Tauxe. 1994. Sources of sporadic *Yersinia enterocolitica* infections in Norway: a prospective case-control study. *Epidemiol. Infect.* 112:133-141.
- Rivera-Betancourt, M., S. D. Shackelford, T. M. Arthur, K. E. Westmoreland, G. Bellinger, M. Rossman, J. O. Reagan, & M. Koohmaraie. 2004. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* in two geographically distant commercial beef processing plants in the United States. *J. Food Prot.* 67:295-302.
- Seto, K., M. Taguchi, K. Kobayashi, & S. Kozaki. 2007. Biochemical and molecular characterization of minor serogroups of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from humans in Osaka prefecture. *J. Vet. Med. Sci.* 69:1215-1222.
- SVA. 2007. Svensk zoonosrapport 2006.

- Thisted Lambertz, S. 2007. Riskprofil *Yersinia enterocolitica*. Livsmedelsverkets rapport nr 8.
- Wendlandt, A., & T. Bergann. 1994. *Listeria monocytogenes*. Occurrence in a factory for slaughtering, carving and meat processing. Fleischwirt. 74:1329-1331.
- Westöö, A., & T. Lindberg. 2002. Riksprojekt 1 - *Campylobacter* i kött och vatten. Livsmedelsverkets rapport nr 10.
- Whyte, P., K. McGill, D. Cowley, R. H. Madden, L. Moran, P. Scates, C. Carroll, A. O'Leary, S. Fanning, J. D. Collins, E. McNamara, J. E. Moore, & M. Cormican. 2004. Occurrence of *Campylobacter* in retail foods in Ireland. Int. J. Food Microbiol. 95:111-118.
- Wong, T. L., L. Hollis, A. Cornelius, C. Nicol, R. Cook, & J. A. Hudson. 2007. Prevalence, numbers, and subtypes of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in uncooked retail meat samples. J. Food Prot. 70:566-573.

Appendix 1

Anvisning för provtagning av slaktkroppar

Mottagning av provlåda

- För varje prov som ska tas finns en följesedel, en burk, en kompress, ett par handskar och två rör med provvätska. Dessutom finns i varje låda två kylklampar, isoleringsmaterial och en adresslapp för retur.
- Lägg kylklamparna i frys direkt så hinner de frysa ordentligt. Resten av materialet kan stå i rumstemperatur.

Tidpunkt för provtagning

- Slaktkropparna ska svabbas efter putsning men före kylning.
- Följ provtagningsplanen och ta prover på rätt dag, viktigt för att arbetet i labbet ska fungera.

Slumpmässigt val av slaktkroppar

- Välj ut en slaktkropp som startpunkt och ta sedan det första provet på en som kommer ett visst förutbestämt antal senare, t ex den femte eller tionde (på småskaliga slakterier kan man behöva ta med kortare mellanrum). Ta resten av proverna med samma mellanrum mellan de provtagna slaktkropparna.

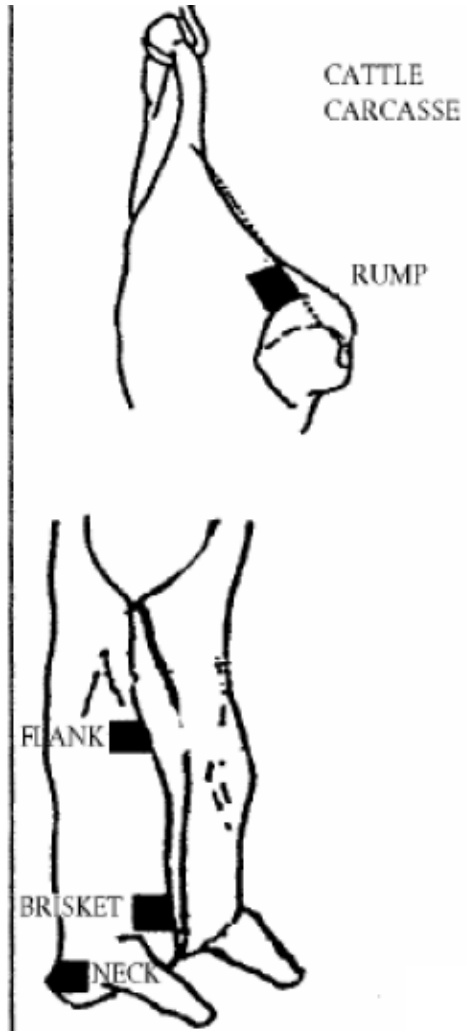
Provtagningen

- Sätt på handskar
- Häll ett rör med provvätska på kompressen i burken. Ta ur kompressen ur burken och krama ur kompressen
- Svabba den ena halvan av slaktkroppen på fyra ställen: lårets baksida, flank, bringa, och hals. Använd en och samma kompress för alla fyra ställena
- På varje ställe ska en yta på ca 10x10 cm svabbas med så stor kraft som möjligt, tio gånger vågrätt och tio gånger lodrätt (jämför med kompressen som har samma storlek som ytan)
- Lägg kompressen i burken igen, håll på provvätskan ur det andra röret och sätt sedan på locket
- Fyll i följesedeln
- Upprepa för nästa prov, byt handskar mellan varje

Transport

- Lagg en kylklamp i botten av provlådan och isolering på. Lagg sedan i burkar, följesedlar och lådan med tomma rör för provtagningsvätska. Slutligen isolering igen och den andra kylklampen överst. Stäng locket, tejpa runt lådan och sätt på adresslappen
- Se till att proverna postas i tid så att de kan gå iväg med posten samma dag som de tas

Provtagningsytor



1. Algtoxiner i avsaltat dricksvattena
2. Nationellt tillsynsprojekt 2006 om livsmedelsmärkning
3. Indikatorer för bra matvanor av W Becker
4. Interkalibrering av laboratorier: Mikrobiologi – Livsmedel, januari 2007 av C Normark och K Mykkänen
5. Proficiency Testing – Food Chemistry, Nutritional Components of Food, Round N-39 by L Merino and M Åström
6. Nutrient Analysis of Dairy Foods and Vegetarian Dishes by M Arnemo, M Arnemo, S Johansson, L Jorhem, I Mattisson, S Wretling and C Åstrand
7. Proficiency Testing: Food Chemistry, Trace Elements in Food, Round T:14 by C Åstrand and L Jorhem
8. Riskprofil: Yersinia enterocolitica av S Thisted Lambertz
9. Riskvärdering av persistenta klorerade och bromerade miljöföroreningar i livsmedel av E Ankarberg, M A, G Concha, P O Darnerud, A Glynn, S Lignell och A Törnkvist
10. Riskvärdering av metylkvicksilver i fisk av K Petersson-Grawé, G Concha och E Ankarberg
11. Risk assessment of non-developmental health effects of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and dioxin-like polychlorinated biphenyls in food by A Hanberg, M Öberg, S Sand, P O Darnerud and A Glynn
12. Fiskkonsumtion: risk och nytta av W Becker, P O Darnerud och K Petersson-Grawé
13. Riksprojekt 2006: Mögel och mykotoxiner av P Johnsson och A M Thim
14. Interkalibrering av laboratorier: Mikrobiologi – Livsmedel, April 2007 av C Normark och K Mykkänen
15. Rapportering av livsmedelskontrollen 2006 av Doris Rosling
16. Interkalibrering av laboratorier: Mikrobiologi – Dricksvatten 2007:1, mars av T Šlapokas och C Gunnarsson
17. Rapportering av dricksvattenkontrollen 2006 av D Rosling
18. Kontroll av restsubstanser i levande djur och animaliska livsmedel; Resultat 2006 av I Nordlander, H Green och I Nilsson
19. Lead Extracted from Ceramics under Household Conditions by L Jorhem, P Fjeldal, B Sundström and K Svensson.
20. Proficiency Testing – Food Chemistry, Nutritional Components of Food, Round N-40 by L Merino and M Åström.
21. Proficiency Testing – Food Chemistry, Vitamins in Foods, Round V-5 by H S Strandler and A Staffas.
22. Proficiency Testing – Food Chemistry, Trace Elements in Food, Round T-15 by C Åstrand and L Jorhem.
23. Fördjupad kartläggning av bekämpningsmedelsrester i färska ekologiska frukter och grönsaker 2006-2007; slutrapport av P Bergkvist, L Wallin, A Andersson, A Strömberg, M Pearson och A Önell
24. Interkalibrering av laboratorier; – Mikrobiologi – Dricksvatten 2007:2 September av T Šlapokas och C Gunnarsson
25. Interkalibrering av laboratorier – Mikrobiologi - Livsmedel Oktober 2007 av C Normark och K Mykkänen
26. Kontrollprojekt om nyckelhålsmärkning 2007 av I Lindeberg, A Laser Reuterswärd och L Janson

1. Mikroprofil Nötkreatur. Kartläggning av mikroorganismer på slaktkroppar av M Lindblad

