

Förekomst och tillväxt av *Listeria monocytogenes* i livsmedel

Riskvärderingsrapport

Av Jakob Ottoson



Denna titel kan laddas ner från: www.livsmedelsverket.se/publicerat-material/.

Citera gärna Livsmedelsverkets texter, men glöm inte att uppge källan. Bilder, fotografier och illustrationer är skyddade av upphovsrätten. Det innebär att du måste ha upphovsmannens tillstånd att använda dem.

© Livsmedelsverket, 2019

Livsmedelverkets rapportserie nr 09 del 2 2017

ISSN 1104-7089

Foto/illustration omslag: Mostphotos

Grafisk produktion: Livsmedelsverket

Förord

Livsmedelsverket arbetar för att skydda konsumenternas intressen genom att arbeta för säker mat och bra dricksvatten, att informationen om maten är pålitlig så ingen blir lurad och för att främja bra matvanor.

En av Livsmedelsverkets uppgifter är att ta fram och förvalta olika konsumentråd som rör livsmedel och dricksvatten. Råden baseras på vetenskapliga rön och behöver löpande uppdateras.

Livsmedelsverkets rapport nr 9-2017 om förekomst och tillväxt av *Listeria monocytogenes* i livsmedel består av två delar, där del 1 är en riskhanteringsrapport och del 2 är en oberoende riskvärdering.

I denna rapport del 2 redovisas en riskvärdering som är uppdaterad utifrån aktuellt kunskapsläge i ämnet. Den har tagits fram och sammanställts av Livsmedelsverkets experter inom området mikrobiologi.

Rapporten har tagits fram på beställning av Livsmedelsverkets Rådgivningsavdelning och besvarar både allmänna samt specifika frågeställningar. Den är uppdelad i faroidentifiering, farokarakterisering, exponeringsuppskattning och riskkarakterisering, där de specifika frågeställningarna besvaras. I riskvärderingen ingår inte åtgärdsförslag till hur eventuella risker ska hanteras. Det redovisas i motsvarande riskhanteringsrapport.

Följande personer har arbetat med att ta fram denna rapport: Jakob Ottoson, mikrobiolog, risk- och nyttovärderare. Rapporten har kvalitetsgranskats av Monica Olsen och Mia Egervärn, risk- och nyttovärderare samt Roland Lindqvist, teamchef, risk- och nyttovärderingsavdelningen. Per Bergman, avdelningschef på Risk- och nyttovärderingsavdelningen, har godkänt publicering av rapporten.

Livsmedelverket 2019

Innehåll

| | |
|---|----|
| Förord..... | 3 |
| Sammanfattning..... | 5 |
| Summary | 6 |
| Risk assessment report – occurrence and growth of <i>Listeria monocytogenes</i> in food | 6 |
| Bakgrund | 7 |
| Specifik frågeställning | 7 |
| Metod..... | 9 |
| Faroidentifiering..... | 10 |
| Farokarakterisering | 12 |
| Exponeringsuppskattning..... | 14 |
| Fisk..... | 16 |
| Charkprodukter | 18 |
| Ost | 22 |
| Vegetabilier | 26 |
| Amning | 28 |
| Riskkarakterisering..... | 29 |
| Svar på specifik frågeställning | 30 |
| Fisk..... | 30 |
| Charkprodukter | 31 |
| Ost | 32 |
| Vegetabilier | 33 |
| Amning | 34 |
| Osäkerhet | 34 |
| Referenser | 35 |

Sammanfattning

Listeria monocytogenes är en vanlig bakterie i vår omgivning som kan finnas i jord och vatten samt har en reservoar i tarmen hos många däggdjur. Människor kan smittas från infekterade djur eller via förorenade livsmedel. I och med att bakterien kan föröka sig i kylskåpstemperatur utgör förtäring av produkter med lång hållbarhet i kyla – såsom kallrökt och gravad lax, dessertostar och smörgåspålägg – den mest troliga exponeringsvägen.

Detta underlag utgörs av en kombination av publicerad litteratur samt tillväxtsimuleringar i modellverktygen PMP, ComBase och FSSP. Det största bidraget till förekomstdata har den svenska respektive den europeiska baslinjestudien som genomfördes 2010–2012 stått för, men även vetenskapliga artiklar som studerat förekomst och tillväxt av listeria i specifika produkter har använts. I modellverktygen har tiden för tillväxt från ej detekterad i 25 g till 100 CFU/g (det vill säga $3,4 \log_{10}$ tillväxt), inklusive fördröjningsfas, simulerats för olika typprodukter med avseende på deras pH, salthalt och vattenaktivitet vid 4–10 °C.

Tiden kunde vara så kort som 3,8 dagar (cantaloupe vid 10 °C) upp till drygt 80 dagar (fetaost vid 4 °C). Dessa tider kan jämföras med hållbarhetstiden för respektive produkt för att ge en indikation om produkten kan anses leva upp till kriteriet för säkra livsmedel (< 100 CFU/g vid slutet av hållbarhetstiden). För vegetabilier tar tillväxten längre tid än angivna hållbarhetstider. En snabb tillväxt kan ske under upptining av fryst majs, vilket är en produkt där det inte finns någon angiven hållbarhetstid. I fisk, charkuteriprodukter och ost kan tillväxten enligt simuleringarna ske på en kortare tid än angiven hållbarhet.

L. monocytogenes har påvisats i de flesta livsmedel i butiksledet. Högst var förekomsten i fiskprodukter där listeria påvisades i 17 % av den kallrökta och i 12 % av den gravade laxen på den europeiska marknaden. Förekomsten i chark och ost i samma kartläggning var 2,1 respektive 0,03 %. *L. monocytogenes* har också påvisats i bland annat färska och frysta grönsaker. Halterna i alla produkter ligger i regel under kriteriet för säkra livsmedel, men högre halter har påvisats, framför allt bland de fåtal positiva prover från ost som har bestämts.

Förutom temperatur är pH en viktig faktor för listeriatillväxt, som sker långsamt eller inte alls vid pH 5 och under. Andra faktorer av betydelse för tillväxten av listeria är vattenaktivitet, förpackningsgas, fenolhalt, naturlig mikrobiota och tillsats av mjölksyrabakterier samt konserveringsmedel. Trots alla studier som gjorts och modeller som konstruerats finns det fortfarande luckor i kunskapen om exakt vilka förhållanden som skiljer tillväxt från ingen tillväxt av listeria. Dessutom kan listeria teoretiskt utsöndras och överföras via bröstmjolk, men det finns inte något stöd i litteraturen för att så har skett.

Summary

Risk assessment report – occurrence and growth of *Listeria monocytogenes* in food

The *Listeria monocytogenes* bacterium is common in our surroundings. Besides being present in soil and water, it multiplies in the intestines of many mammals. It can infect people via infected animals or via contaminated food. As the bacterium can propagate at refrigerator temperatures, consumption of products with long shelf lives is a likely route of exposure. Examples of such products are salmon (e.g. cold-smoked or gravad), dessert cheeses and charcuterie.

This report comprises information compiled from published scientific literature and growth simulations using three predictive microbiology modelling tools (PMP, ComBase and FSSP). Most of the occurrence data is from Swedish and European baseline studies on listeria in food. These studies were carried out between 2010 and 2012. Scientific articles on the presence and growth of listeria in specific foods also provided input. For the predictive modelling, the time needed to grow from detected in 25 g to 100 CFU/g (*i.e.* 3.4 log₁₀ growth), including lag phase, was used. This time was simulated (based on pH, salinity and water activity at 4 °C to 10 °C) for different foods.

The modelled time for 3.4 log₁₀ growth of listeria was between 3.8 days (cantaloupe at 10 °C) and 80 days (feta cheese at 4 °C). Comparing such times with stated shelf lives provides an indication of whether a product can be considered to meet the microbial food safety criterion of < 100 *L. monocytogenes* CFU/g at the end of shelf life. For vegetables, simulated growth takes longer than the stated shelf life. However, rapid growth can occur when thawing frozen corn. This is a product with no specified shelf life. In fish, charcuterie and cheese, 3.4 log₁₀ listeria growth can be predicted to occur within stated shelf lives.

In the European baseline survey, *L. monocytogenes* was detected in most types of food at retail outlets. The highest occurrence was in fish products. Here, listeria was detected in 17% of cold-smoked salmon and 12% of gravad salmon. In the same survey, occurrence in charcuterie and cheese was 2.1% and 0.03%, respectively. *L. monocytogenes* have also been isolated from fresh and frozen vegetables and fruits. Bacterial levels in all products are usually below the *L. monocytogenes* criterion for safe food. Nonetheless, higher levels were detected in the survey especially in the few positive cheese samples.

In addition to temperature, pH is important in listeria growth. At pH 5 and below, growth is slow or non-existent. Other factors relevant to listeria growth are: water activity; packaging gas; phenol content; natural microbiota and addition of lactic acid bacteria; and, preservatives. Despite all the studies and models, there are still gaps in our knowledge of the precise differences between the conditions in which listeria grows and those in which it does not. Theoretically, listeria can also be excreted and transmitted via breast milk. However, there is no scientific support for this occurring in practice.

N.B. The title of the publication is translated from Swedish, however no full version of the publication has been produced in English.

Bakgrund

Idag finns det på Livsmedelsverkets webbplats många olika råd om åtgärder som konsumenten kan göra i köket för att minska risken för att få i sig hälsoskadliga ämnen/agens. Det gäller till exempel råd för hur personer i riskgrupper för listerios ska undvika att infekteras av *Listeria monocytogenes*.

Nuvarande råd och informationstext om *Listeria monocytogenes* som kan kopplas till det egna köket:

Kostråd för gravida

- Förvara kylvaror kallt, ha gärna +4 °C i kylskåpet
- Gravad, rökt fisk och sushi: ät nygjorda eller nyförpackade produkter. Kontrollera förpackningsdatum.
- Undvik skivat smörgåspålägg och kall färdigmat mot slutet av hållbarhetstiden.
- Undvik ost gjord på opastöriserad mjölk. Undvik också mögel- och kittost även om den är gjord på pastöriserad mjölk, till exempel brie, gorgonzola, chèvre, vacherol och taleggio. Ost i matlagning som upphettas till bubblande het går bra att äta. Hårdost gjord på pastöriserad och opastöriserad mjölk går bra att äta, likaså fetaost gjord på pastöriserad mjölk.
- Ricotta, mozzarella, halloumi: ät nygjord eller nyförpackade produkter. Kontrollera förpackningsdatum.

Specifik frågeställning

Rådgivningsavdelningen behöver hjälp med att ta fram och sammanställa ett vetenskapligt underlag för Livsmedelsverkets råd om *Listeria monocytogenes* i det egna köket för följande produkter och frågeställningar:

1. Rökt och gravad fisk
Utifrån nuvarande kunskapsläge, gör en uppdaterad riskbedömning för *L. monocytogenes* i gravad, kallrökt, varmrökt vakuumförpackad fisk.
 - a. Begreppen ”nygjorda eller nyförpackade” är oprecisa begrepp som tolkas olika av olika personer. Givet att *L. monocytogenes* finns mellan 1-10 CFU/gram i en helt nygjord produkt, hur många dagar kan det ta för *L. monocytogenes* att uppnå hälsoskadliga nivåer i gravad, kallrökt, varmrökt vakuumförpackad fisk? Även om förvaringstemperaturen för dessa produkter normalt är högst 4 °C så bör högre temperaturer beaktas eftersom temperaturen i konsumenters kylar kan variera mycket. Redovisa gärna svaret i diagramform.
 - b. Gör en riskbedömning för *L. monocytogenes* i sushi och sashimi utifrån förekomst, halter och tillväxtpotential.
2. Skivat smörgåspålägg och kall färdigmat
Utifrån nuvarande kunskapsläge, gör en uppdaterad riskbedömning för *L. monocytogenes* i skivat smörgåspålägg och kall färdigmat.
 - a. Finns det skillnader i risk mellan olika sorters pålägg, till exempel lufttorkad skinka, kokt skinka, salami, kokt medwurst/mortadella etc?
 - b. Begreppet ”mot slutet av hållbarhetstiden” är oprecist och tolkas olika av olika personer. Givet att *L. monocytogenes* finns mellan 1-10 CFU/gram i en helt nygjord produkt, hur många

dagar kan det ta för *L. monocytogenes* att uppnå hälsoskadliga nivåer i olika typer av skivat smörgåspålägg och kall färdigmat? Redovisa gärna svaret i diagramform.

c. De flesta skivade smörgåspålägg förpackas i så kallad skyddande atmosfär, vilket kan bestå av olika sammansättningar av koldioxid, kväve, och syre. Hur påverkas tillväxt av *L. monocytogenes* mellan olika gassammansättningar? Beakta, om möjligt, tillväxt i kombination med konkurrerande mikroflora.

3. Ostar

Gör en riskbedömning för *L. monocytogenes* i hårda, halvhårda, mjuka och halvmjuka mögel och kittostar samt färskostar (inklusive fetaost) för både opastöriserad och pastöriserad mjölk.

a. Begreppen ”nygjorda eller nyförpackade” är oprecisa begrepp som tolkas olika av olika personer. Givet att *L. monocytogenes* finns mellan 1-10 CFU/gram i en helt nygjord produkt, hur många dagar kan det ta för *L. monocytogenes* att uppnå hälsoskadliga nivåer i mozzarella, ricotta, halloumi och halvhård ost?

b. Hur påverkar produktionsprocessen sannolikheten för förekomst av *L. monocytogenes* i färdig ost. Det kan till exempel vara om osten upphettas i sin slutförpackning eller om tillverkningen innefattar andra processteg som påverkar förekomsten. De ostar som om möjligt bör beaktas är: philadelphiaost, mascarpone, ricotta, mozzarella, feta och halloumi.

4. Andra livsmedel

Finns det andra livsmedel än de som anges i fråga 1-3 som kan utgöra ett säkerhetsproblem med avseende på *L. monocytogenes*? I så fall vilka och hur stort är problemet?

a. Hur vanligt förekommande är *L. monocytogenes* och vad är tillväxtpotentialen i färska, djupfrysta, processade frukter och grönsaker inklusive rotfrukter?

b. Gör en tillväxtsimulering vid 4-10 °C för *L. monocytogenes* i:

- i. Frysta grönsaker, till exempel majs
- ii. Färskskuren frukt, till exempel melon

5. Amning

Utred om *L. monocytogenes* kan smitta det nyfödda barnet i samband med amning.

a. Kan bakterien överföras via bröstmjök?

Metod

Sannolikheten att exponeras för *Listeria* via livsmedel beror på förekomsten i det aktuella livsmedlet vilken är nära förknippad med tillväxtpotentialerna i detsamma. Det har gjorts omfattande förekomststudier på troliga risklivsmedel på såväl den europeiska (EFSA, 2013) som den svenska marknaden (Nilsson & Lindblad, 2011) vilka har utgjort grunden för underlaget. För att jämföra data på simulerad med uppmätt tillväxt gjordes breda sökningar efter vetenskapliga artiklar i PubMed med vidare sortering på titel och abstractnivå:

- *listeria* growth (salmon OR sushi OR sashimi), 116 träffar (2015-10-21).
- *listeria* (growth OR behaviour) (ham OR salami), 134 träffar (2015-10-21).
- *listeria* (growth OR behaviour) modified atmosphere, 170 träffar (2015-10-28).
- *listeria* (growth OR behaviour) cheese, 289 träffar (2015-10-21).
- *listeria* (growth OR behaviour) vegetables, 164 träffar (2016-02-26).
- neonatal listeriosis, 297 träffar (2016-02-26).

Dessutom gjordes tillväxtmodelleringar i Pathogen Modeling Program online (PMP) (USDA, 2018a), Combase (USDA, 2018b) och Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) v.4.0 (DTU, 2016). Syftet med dessa var att visa på hur lång tid det kan ta för listeriahalten att tillväxa från 0,04 bakterier per gram till 100 bakterier per gram (3,4 log₁₀ tillväxt), vilket motsvarar gränsvärdet för ett livsmedel vid bäst före-datum¹. Underlag för inputparametrar såsom pH, salthalt och vattenaktivitet eftersöktes i livsmedelsdatabasen och i vetenskapliga artiklar. PMP användes för att få en tid för lag-fasen med avseende på temperatur, pH och salthalt och modelleringen baserades på buljongförsök i aerob eller anearob (fisk) miljö med en starthalt på 1 000 CFU/ml. Det senare leder till en kortare lag-fas jämfört med halter < 1 CFU/g. En utvärdering av PMP tyder på att modelleringarna i 85 % av fallen överskattar den faktiska tillväxten i livsmedel (Martino *et al.*, 2005) varför generationstiden för *listeria* bestämdes i ComBase där även vattenaktiviteten kan anges. Även dessa simuleringar leder enligt (FSA, 2006) till en överskattning i ost. Det tredje verktyget, FSSP, är mer anpassat för tillväxt av *listeria* i ett antal havs- och köttprodukter respektive färskost. I FSSP gjordes jämförelser av tillväxthastigheten för *listeria* med avseende på fenolkoncentration i kallrökt lax, olika typer av förpackningsgas för rökt skinka samt pH och mjölksyrabakterier för färskost. I FSSP anges resultaten som hundra gånger tillväxt, det vill säga 2 log₁₀.

Sedan riskvärderingen om *L. monocytogenes* togs fram 2016 har det rapporterats om listeriautbrott som orsakats av bland annat vegetabilier samt det största listeriautbrottet någonsin i Sydafrika, där Polony (mortadella/kokt medwurst) identifierades som den mest troliga smittkällan (WHO, 2018a). För att kunna göra en aktuell riskhantering önskade Råd- och beredskapsavdelningen att riskvärderingen från 2016 kompletterades med avseende på tillväxtpotential i olika vegetabilier, mortadella samt tillägg om i vilka färdigförpackade ostar som bakterien sannolikt kan finnas i. Tillägsfrågor med svar och metoder finns i Dnr 2015/08087, men är även inklippta i denna rapport.

¹ Kommissionens förordning (EG) nr 2073/2005 den 15 november 2005 om mikrobiologiska kriterier för livsmedel.

Faroidentifiering

Listeria monocytogenes är en Gram-positiv, psykotrof, fakultativt anaerob stav som orsakar sjukdomen listerios som kan uttrycka sig på flera olika sätt. Det vanligaste är blodförgiftning eller hjärnhinneinflammation hos äldre, personer med nedsatt immunförsvar såsom transplantations- och cancerpatienter samt gravida (Swaminathan & Gerner-Smidt, 2007). I Sverige har mellan 40 och 70 fall rapporterats årligen under 2000-talet men med en viss förhöjning under 2013 och 2014, till följd av ett livsmedelsburet utbrott. De flesta fallen (88,5% 2009-2015) är inhemska (Folkhälsomyndigheten, 2016).

Listeria delas idag upp i fyra linjer, I – IV och 13 serotyper (1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e och 7) baserat på agglutineringsmed somatiska (O) och/eller flagell (H) antigen. Linje I och II omfattar de serotyper som orsakar humanfall inklusive utbrott fr.a. 4b (I), 1/2a (II) och 1/2b (I) som sammanlagt står för > 90 % av rapporterade humanfall (Lomonaco *et al.*, 2015). Stammar från linje I (4b) förekommer oftare bland kliniska isolat än stammar från linje II relativt frekvensen de påvisas på livsmedel (Maury, *et al.*, 2016). Stammar från linje III och IV saknar, i dagsläget, klinisk relevans och studeras främst ur ett evolutionärt perspektiv (Lomonaco, *et al.*, 2015). Vid sidan av serotypning används idag ofta en molekylär, PCR-baserad, metod (Kerouanton, *et al.*, 2010) som delar in *L. monocytogenes* i fem molekylära serogrupper där IIa motsvarar 1/2a och 3a, IIb motsvarar 1/2b, 3b och 7, IIc motsvarar 1/2c och 3c, IVa motsvarar 4a och 4c och IVb motsvarar 4b, 4ab, 4d och 4e (Socialstyrelsen, 2013).

För att utreda och fastställa orsaker till utbrott behövs i regel en mer diskriminerande metod än serotypning. Pulsfältsgelelektrofores (PFGE) har varit den vanligaste metoden för vidare sub-typning av listeriaisolat och är än idag guldstandard även om det finns molekylära metoder som ger en bättre upplösning (Nyarko & Donnelly, 2015). Multi-Locus Sequence Typing (MLST) baseras på sekvenserna av gener som är nödvändiga för bakteriens fortlevnad, s.k. housekeeping genes, i sju olika loci (Parisi, *et al.*, 2010). I och med att dessa gener är grundläggande för bakterien är de relativt konserverade. För att kunna skilja mellan distinkta utbrottskloner bör man inkludera sekvensering av virulensgener i analysen. Med Multi Virulence-Locus Sequence Typing (MVLST) analyseras regionerna i och runt sex (ibland åtta) virulensgener. Bland annat har man funnit att området upp- och nedströms profagen ComK var specifik för isolat från olika produktionsanläggningar i USA (Verghese, *et al.*, 2011). Idag baseras i regel både MLST och MVLST på helgenomssekvensering av isolatet snarare än ett antal PCR-reaktioner med vidare sekvensering av produkterna vilket innebär att man efter att ha sekvenserat sitt isolat kan välja den upplösning som är mest lämplig utifrån frågeställningen (Nyarko & Donnelly, 2015).

De viktigaste virulens-faktorerna är membranproteinet internalin (Inl), som inducerar cellulärt upptag av bakterien genom fagocytos. Listeriolysin (ett hemolysin) gör att bakterien sedan kan ta sig ur fagosomen och ActA som gör att bakterierna kan polymerisera aktin vilket bidrar till deras intracellulära rörlighet (Posfay-Barbe & Wald, 2009). En annan viktig egenskap som är förknippad med de flesta kloner som orsakat utbrott är förmågan att etablera sig i lokaler för livsmedelstillverkning genom att bilda biofilmer och där leva som saprofyter. Denna förmåga är förknippad med förekomsten av en profag (virus som sitter i bakteriekromosomen och som kan föra över gener mellan närbesläktade bakterier) ComK, men det finns även epidemiska stammar utan denna

profag (Lomonaco, *et al.*, 2015). Studier har visat att stammar med ett trunkerat, icke-funktionellt, internalin ofta isoleras från livsmedel har nedsatt virulens. Trunkeringen är vanlig i ½-stammar, medan den inte har påvisats i 4b (Van Stelten, *et al.*, 2010).

L. monocytogenes är vanlig i vår omgivning och kan finnas i jord och vatten samt har en reservoar i tarmen hos många däggdjur. Människor kan smittas från infekterade djur eller via förorenade livsmedel. I och med att bakterien kan föröka sig i kylskåps-temperatur utgör förtäring av produkter med lång hållbarhet i kyla - såsom rökt och gravad lax, dessertostar och smörgåspålägg – den mest troliga exponeringsvägen. Förutom temperatur, pH och vattenaktivitet är endogen mikrobiota en viktig hämmande faktor för listeriatillväxt (Schuenzel & Harrison, 2002), vilket är en trolig förklaring till en begränsning av utbrott och fall från vegetabiliska livsmedel (Garner & Kathariou, 2016), där produkten i regel hinner blir dålig innan den blir farlig. Inte desto mindre har det skett fler utbrott från vegetabilier, som kan ha berott på att konkurrensen från den naturliga mikrobiotan var satt ur spel såsom i blancherade frysta grönsaker (EFSA, 2018), sallat som sköljts med klorhaltigt vatten (Anon, 2006; Self, *et al.*, 2016) samt frukt med skal (WHO, 2018b) där fruktköttet kan förorenas av kniven vid delning.

Farokarakterisering

Listerios är en zoonos som är anmälningspliktig för både människor och djur. Vid humansmitta ska en smittspårning utföras. *L. monocytogenes* kan förorsaka en allvarlig invasiv sjukdom eller en mildare icke-invasiv mag-tarminfektion. Den invasiva sjukdomen drabbar framför allt personer med nedsatt immunförsvar på grund av underliggande sjukdomar eller mediciner, samt gravida och nyfödda barn. Hög ålder är också en riskfaktor för listerios (tabell 1). Hjärnhinneinflammation, blodförgiftning och aborter förekommer vid den invasiva sjukdomsbilden. En mortalitet på 20 - 30% har rapporterats från olika delar av världen trots behandling med antibiotika (Swaminathan & Gerner-Smidt, 2007). Gravida kvinnor är mer mottagliga än genomsnittet (> 100 ggr; tabell 1) men får i regel (diffusa) influensaliknande symptom. Bakterierna kan dock ta sig över placenta-barriären och infektera fostret och orsaka den metrogena (smittad från livmodern) formen av listerios vilket kan leda till abort, dödfött eller allvarligt sjukt barn (Swaminathan & Gerner-Smidt, 2007). *L. monocytogenes* kan också orsaka en kutan form, vilken är vanligast hos veterinärer och lantbrukare som har hanterat kontaminerat material, t.ex. ett kastat foster (Godshall, *et al.*, 2013). Kutan listerios samt icke-invasiv mag-tarmsjukdom ligger dock utanför frågeställningen.

Metrogen listerios påvisas oftast i tredje trimestern och leder i ungefär en femtedel av fallen till spontan abort. Av dem som föds utvecklar ungefär två tredjedelar neonatal listerios, majoriteten av dessa fall infekteras sannolikt perinatalt (innan födseln). Då höga halter av bakterien påvisats i lungor och tarm kan detta tyda på att intag av fostervatten, inte bara via blod, är en möjlig spridningsväg. Tidig neonatal listerios uttrycker sig i regel som blodförgiftning dagar efter födseln, medan hjärnhinneinflammation är det vanligaste symptomet vid sen start (veckor efter födseln) (Posfay-Barbe & Wald, 2009). I det senare fallet antas överföringen av listeriabakterier ske under födseln eller nosokomialt (sjukhusmitta). I en retrospektiv studie från Peking omfattande 16 fall av perinatal listerios påvisades åtta fall i andra trimestern, sju i tredje (Wang *et al.*, 2015).

I Sverige har antalet gravida kvinnor och/eller nyfödda barn med listerios minskat sedan 90-talet och under senare år har 1-2 gravida kvinnor/nyfödda barn rapporterats med infektionen (Folkhälsomyndigheten, 2016). År 1999, 2001 och 2007 rapporterades fem gravida listeriafall och 2010 sju stycken, vilket innebar den högsta noteringen sedan 1992. Därför gjordes det en speciell utvärdering av dessa fall. Det visade sig att fem av sju fall utgjordes av gravida kvinnor med utländsk bakgrund som hade problem med det svenska språket. Sett till totalantalet fall verkade dock andelen bland gravida ha minskat över tid; kostråden har betydelse och når gravida kvinnor väl, men att det är viktigt att med specifika insatser nå kvinnor med utländsk bakgrund (Ivarsson, 2010). Även om rapporterade antal fall bland gravida endast handlar om ett fåtal per år kan det verkliga antalet vara betydligt högre. I och med att symptomen är diffusa (influensaliknande) är underrapporteringen sannolikt betydande. Jämfört med rapporterade frekvenser internationellt - där andelen fall bland gravida och nyfödda av totala antalet listeriafall uppskattades av Maertens de Noordhout, *et al.*, (2014) till 20,7% - ligger Sverige lågt.

I tabell 1 finns en sammanställning av resultaten från en fransk respektive en nederländsk studie som båda har tittat på underliggande riskfaktorer för listerios (Friesema, *et al.*, 2015, Pouillot, *et al.*, 2015). Sannolikheten att infekteras beror på bakterieklonens virulens samt den infekterades mottaglighet. Pouillot, *et al.*, (2015) har föreslagit dos-respons-förhållanden anpassade för olika riskgrupper baserat på utbrottsdata från Frankrike mellan 2001 och 2008 (Goulet *et al.*, 2012). Inkubationstiden kan variera, från tre till 70 dagar (median 21) har rapporterats, men är i regel lång, särskilt för fall hos gravida (Goulet *et al.*, 2013), vilket försvårar smittspårning och utbrottsutredning (WHO, 2004, Socialstyrelsen, 2013). Till exempel tog det sexton månader från starten för att upptäcka ett utbrott orsakat av ost i Portugal (Magalhaes, *et al.*, 2015). Ett utbrott som sedan pågick i ytterligare 20 månader.

Listeriabakterien är naturligt känslig mot penicilliner, aminoglykosider, trimetoprim, tetracyclin och vankomycin (Swaminathan & Gerner-Smidt, 2007). Förvärvad resistens hos kliniska isolat är ovanligt men förekommer, likaså bland livsmedelsisolat (Lungu, *et al.*, 2011). Invasiv listeriainfektion behandlas i regel intravenöst med höga doser penicillin eller ampicillin, ofta ihop med en aminoglykosid. Den senare ges dock inte till gravida (Swaminathan & Gerner-Smidt, 2007). Listeria är naturligt resistent mot cefalosporiner (Lungu, *et al.*, 2011).

Tabell 1. Relativ risk (= incidensen i riskgruppen/incidensen bland personer under 65) för invasiv listerios i olika populationer från Pouillot *et al.* (2015) samt Odds Ratio (= fall:icke-fall i fallgruppen/fall:icke-fall i kontrollgruppen) för icke-metrogen invasiv listerios i en fall-kontrollstudie (Friesema *et al.* 2015)

| Subpopulation | Relativ risk (95% CI) (Pouillot, <i>et al.</i> , 2015) | Odds Ratio (95% CI) (Friesema, <i>et al.</i> , 2015) |
|--|---|---|
| Under 65 år | 1,0 (referens) | ND ^a (fall-kontroll) |
| Över 65 år | 14 (8,6 – 23) | ND |
| Hjärt- kärlsjukdom | 5,4 (1,5 – 14) | 1,7 (1,2 – 2,4) |
| Diabetes | 7,6 (3,5 – 16) | 1,4 (1,0 – 2,1) |
| HIV/AIDS | 47 (10 – 140) | 15 (7,4 – 29) ^b |
| Cancer (ej hematologisk) | 55 (34 – 90) | 25 (15 – 40) ^c |
| Inflammatoriska sjukdomar | 58 (25 – 123) | 1,5 (0,9 – 2,6) ^d |
| Graviditet | 116 (71 – 194) | ND |
| Nedsättning av njur- eller leverfunktion | 149 (82 – 270) | 18 (8,8 – 38) ^e |
| Organtransplanterade | 164 (24 – 551) | 139 (16 - ∞) |
| Hematologisk cancer | 374 (217 – 649) | ND |
| Immunsupprimerande medicin | ND | 80 (50 – 130) |
| Magsyreinhibitorer | ND | 3,8 (2,7 – 5,3) |

^a Not determined, ^b Immunstörning inkl. HIV/AIDS, ^c All cancer, ^d Reumatism, ^e Kronisk njursjukdom

Exponeringsuppskattning

Att listeria kan tillväxa vid låga temperaturer (från 0 °C), brett pH-spann (4,4 – 9,4) och låg vattenaktivitet/hög salthalt (0,92/13 %) (Miller, 1992) gör bakterien speciell då livsmedlet i sig inte behöver vara dåligt men samtidigt kan vara farligt. I Kommissionens förordning 2073/2005/EG delas livsmedel upp i dem som möjliggör tillväxt av listeria och dem som inte antas göra det. Produkter med $\text{pH} \leq 4,4$ eller vattenaktivitet (a_w) $\leq 0,92$ samt produkter med $\text{pH} \leq 5,0$ och $a_w \leq 0,94$ räknas till dem där listeria inte kan tillväxa. Hit hör även livsmedel med en hållbarhetstid på mindre än fem dagar.

I bilaga II till förordning (EG) nr 2073/2005 anges att livsmedelsföretagare vid behov ska genomföra studier för att utvärdera tillväxten av *L. monocytogenes* som kan finnas i produkten under sin hållbarhetstid under rimligen förutsebara lagringsförhållanden (med avseende på temperatur). Detta ska göras genom så kallade ”Challengestudier” där listeriabakterier tillsätts till livsmedlet och där halten listeria sedan bestäms under lagringstiden. Upplägget och utförandet av dessa tester finns beskrivna i en teknisk manual (Technical guidance) utgiven av EUs referenslaboratorium för *L. monocytogenes* (Anses, 2014). Challengestudier kan även utföras som modelleringar likt dem i denna rapport. I vilken utsträckning tester eller modelleringar utförs av företag i Sverige och om sådana resultat ligger till grund för hållbarhetstider är inte undersökt i detta underlag.

I frågeställningen till RN ingick fem delfrågor som var och en avsåg olika exponeringsvägar för listeria. Tabell 2 visar de produkter för vilka tillväxtpotentialen prognosticerades vid olika temperaturer (4, 6, 8 och 10 °C) som underlag för riskkarakteriseringen. Enligt en riskvärdering utförd av Mataragas, *et al.*, (2010) utgörs de flesta av alla listeriosfall av konsumtion av höga doser, uppemot en miljon bakterier eller mer, vilket då motsvarar konsumtionen av tio kilo av ett livsmedel som lever upp till livsmedelskriterierna ($< 100 \text{ CFU/g}$)².

² Kommissionens förordning (EG) nr 2073/2005 den 15 november 2005 om mikrobiologiska kriterier för livsmedel.

Tabell 2. Karakteristik för olika riskprodukter med avseende på pH, salthalt, vattenaktivitet och hållbarhet. För pH och saltkoncentration motsvarar de siffror som står i tabellen vad som användes i modelleringen. Dessa kan dock variera mellan olika produkter och varumärken

| Produkt | Produkt | pH | Salt ^a [%] | a _w ^b | Hållbarhet ^c [dygn] | Referens |
|---------------------------|---------------------------|-----|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|--|
| Fisk | Rökt lax | 6,1 | 4,1 | 0,970 | 6-35 | (Tang, <i>et al.</i> , 2015) |
| | Gravad lax | 6,1 | 4,7 | 0,970 | 6-35 | (Orozco, 2000) |
| | Sushi | 6,1 | 0,4 | 0,990 | - | (Skjerdal, <i>et al.</i> , 2014) |
| | Sashimi | 6,1 | 0,4 | 0,990 | - | (Skjerdal, <i>et al.</i> , 2014) |
| Smörgåspålägg | Rökt skinka | 5,9 | 3,7 | 0,979 | 24-28 | |
| | Torkad skinka | 5,6 | 4,5 | 0,934 ^d | > 100 | (Laureati, <i>et al.</i> , 2014) |
| | Mortadella | 6,5 | 2,1 | 0,970 | 28-50 | (Porto-Fett, <i>et al.</i> , 2018) |
| | Kalkon | 6,3 | 3,1 | 0,983 | 21-28 | (Porto-Fett, <i>et al.</i> , 2014) |
| | Salami | 5,1 | 3,7 | 0,940 | > 100 | (Trani, <i>et al.</i> , 2010) |
| | Rökt medwurst | 5,2 | 2,1 | 0,980 | 28-35 | (Rundqvist, 2015) |
| | Skivat vegetariskt pålägg | 5,0 | 2,5 | 0,986 | 21-28 | |
| | Paté | 6,4 | 1,0 | 0,980 | 45-90 | (Fernandez-Salguero, <i>et al.</i> , 1993) |
| Ost | Taleggio | 6,1 | 2,9 | 0,960 | 42-45 | (Prencipe, <i>et al.</i> , 2010) |
| | Halloumi | 6,1 | 2,9 | 0,960 | > 100 | (Kourtis, 2016) |
| | Camembert | 6,8 | 1,5 | 0,980 | 33-40 | (Prencipe, <i>et al.</i> , 2010) |
| | Gorgonzola | 6,6 | 2,9 | 0,960 | 33-40 | (Prencipe, <i>et al.</i> , 2010) |
| | Gouda | 5,2 | 1,1 ^e | 0,950 | 30-100 | (Marcos, 1993) |
| | Mozzarella | 5,7 | 1,1 | 0,994 | 5-40 | (Guinee, <i>et al.</i> , 2002) |
| | Mascarpone | 6,0 | 0,5 ^f | 0,970 | - 60 | (Franciosa, <i>et al.</i> , 1999) |
| | Feta | 4,6 | 2,7 | 0,985 | > 100 | (Belessi, <i>et al.</i> , 2008) |
| | Ricotta | 6,0 | 0,5 | 0,997 | 30-45 | (Kindstedt & Kosikowski, 1984) |
| | Färskost ^g | 4,9 | 0,7 | 0,996 | > 100 | |
| Vegetabilier ^h | Bladsallat | 6,0 | 0,0 | 0,99 | Ca. 10 | (FDA, 2018) |
| | Fryst majs | 7,5 | 0,0 | 0,99 | - | (FDA, 2018) |
| | Cantaloupe | 6,4 | 0,0 | 0,99 | 2 ⁱ | (FDA, 2018) |

^a Data från Livsmedelsdatabasen, eller referens i högra kolumnen när denna saknades, användes som indata vid modellering i PMP och FSSP samt för modelleringen i fisk i ComBase. ^b Vattenaktivitet enligt referens i högra kolumnen, medel i ett spann användes som indata i ComBase. ^c Enligt förpackning vid kylförvaring från (Nilsson & Lindblad, 2011) samt egna observationer i butik. Såväl rekommenderad förvaringstemperatur som hållbarhet kan skilja sig åt mellan olika varumärken. ^d Lägsta möjliga vattenaktivitet i ComBase, i regel ligger torkat kött under denna vilket inte medger tillväxt av listeria. ^e Låg salthalt som inte motsvarar a_w i halvhård ost vilket leder till en underskattning av lag-fasen i PMP. ^f Lägsta möjliga salthalt i PMP, i regel är salthalten lägre i Mascarpone, påverkar resultaten endast marginellt. ^g Philadelphia, som har förhållandevis lågt pH. ^h För vegetabilier antogs en vattenaktivitet på 0,99. ⁱ Färdigskuren vattenmelon i butik.

Fisk

Förekomst i ätfärdiga fiskprodukter

I den senaste svenska förekomststudien, Riksprojekt 2010 (Nilsson & Lindblad, 2011), påvisades listeria i 10,7 % av de analyserade fiskproverna vid utgångsdatum (n = 487). Alla positiva prov, förutom från en varmrökt makrill (n = 33), var från kallrökt eller gravad lax (13 respektive 12 %)³. Listeria påvisades däremot inte i varmrökt lax (n = 47). Endast i två av proverna, en gravad och en kallrökt lax, översteg halten 100 CFU/g och i majoriteten av de positiva proverna (77 %) låg halten under 10 CFU/g. Sett till tillverkningsland var hälften av proverna från Polen positiva, 44 % av de danska, 20 % av de norska samt 5 % (19 av 391) av dem från Sverige. Andelen positiva prov var lägre under vintern (5 %) än övriga årstider (10-12 %). Hållbarhetstiden angavs för drygt hälften av fiskprodukterna och varierade från mindre än en vecka till upp till mer än fem veckor. Det vanligaste var angiven hållbarhet på tre eller fyra veckor, vilket var i det spann flest positiva prover återfanns. Det påvisades inte listeria i några prover på fisk med en hållbarhet kortare än 20 dagar (Nilsson & Lindblad, 2011).

I den europeiska undersökningen från samma tid analyserades fisken (n = 3053 prover) vid ankomst till laboratoriet samt vid utgångsdatum efter kylförvaring. Andelen positiva prov motsvarade den svenska studiens för gravad lax (12,2 %) medan den var något högre för kallrökt lax (17,4 %). Ingen årstidsvariation kunde påvisas. Endast de prover där listeria översteg 10 CFU/g räknades dock som positiva. Vid slutet av hållbarhetstiden hade inte förekomsten ökat, däremot var andelen prov som översteg 100 CFU/g högre vid utgångsdatum än vid tiden för provtagning - 1,7 % jämfört med 1,0 % (EFSA, 2013).

I en utökad statistisk studie (EFSA, 2014) visade det sig att skivade produkter oftare var positiva för listeria vid tidpunkten för provtagning (OR = 1,59; p = 0,04) medan denna skillnad inte var signifikant vid slutet av hållbarhetstiden (OR = 1,39; p = 0,13). Vidare var förekomsten av listeria mer än sju gånger vanligare vid såväl tiden för provtagning som vid slutet av hållbarhetstiden i produkter där två eller fler konserverings- eller surhetsreglerande medel hade tillsatts (p < 0,00001). Det gick dock inte att påvisa någon signifikant skillnad i kategorin > 100 CFU/g. Att paradoxen fler tillsatser inte gav säkrare produkt kan eventuellt ha berott på att de tillverkare som tillsätter mer konserveringsmedel gjorde det på grund av en historia av listerieförekomst, men detta var endast spekulationer. Alternativt kan listeriabakterien ges en kompetitiv fördel gentemot annan mikrobiota då flertalet tillsatser endast har en begränsad tillväxthämmande effekt på listeria (EFSA, 2014).

I en norsk studie förändrades såväl andelen positiva prov som halterna i dessa över tid. Andelen listeriapositiva filéer ökade från en tredjedel vid ankomst till laboratoriet till hälften efter två veckors förvaring i vacuumförpackning vid 4 °C (Skjerdal *et al.* 2014). Syftet med denna studie var dock att bedöma risken med sushi och sashimi, så ingen vidare processning såsom gravning eller kallrökning gjordes. Första dagen låg halten i samtliga positiva prover under 10 CFU/g medan 16 % av proverna hade halter över 100 CFU/g efter två veckor. Det visade sig också att fisk tagen under den varmare perioden i högre grad var positiv för listeria än övriga delar av året (Skjerdal, *et al.*, 2014). När det gäller den vidare bearbetningen till ätfärdig produkt var tillväxten långsammare i sushi än i sashimi

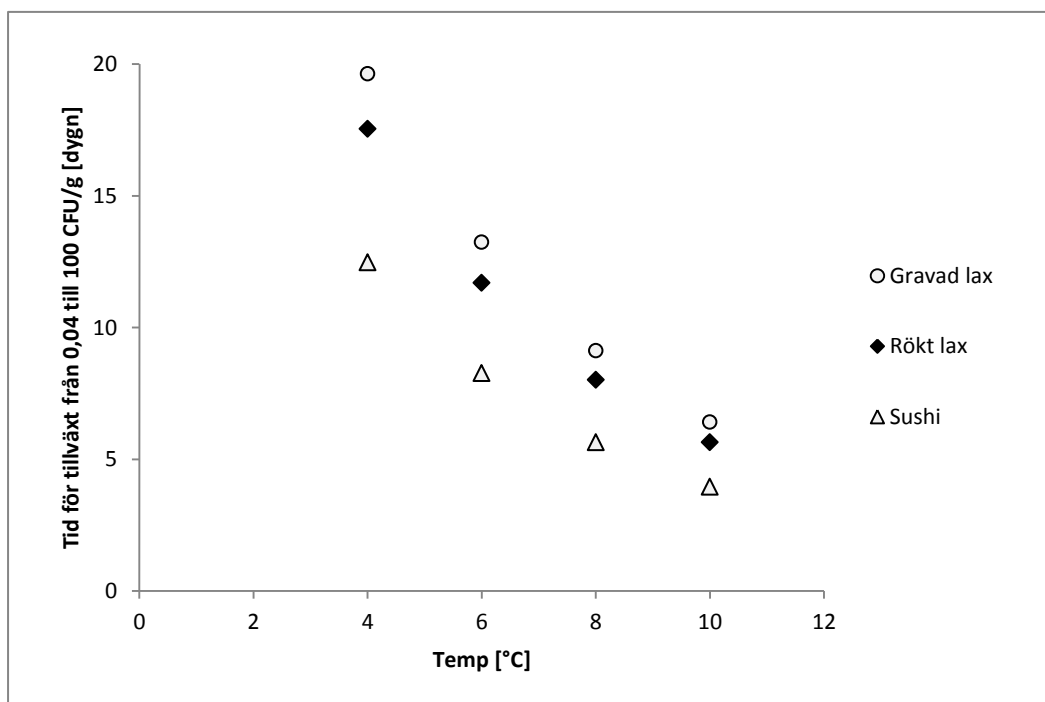
³ I den uppföljande kartläggningen 2016 hade förekomsten minskat till 3 respektive 5 % i kallrökt och gravad fisk (Lindblad & Flink, 2017).

(Skjerdal, *et al.*, 2014). Detta är sannolikt en effekt av lägre pH i den förra där sidan som ligger mot riset inte medger snabb tillväxt då sushiris bör ha ett pH < 4,6 (Solna Stad, 2007).

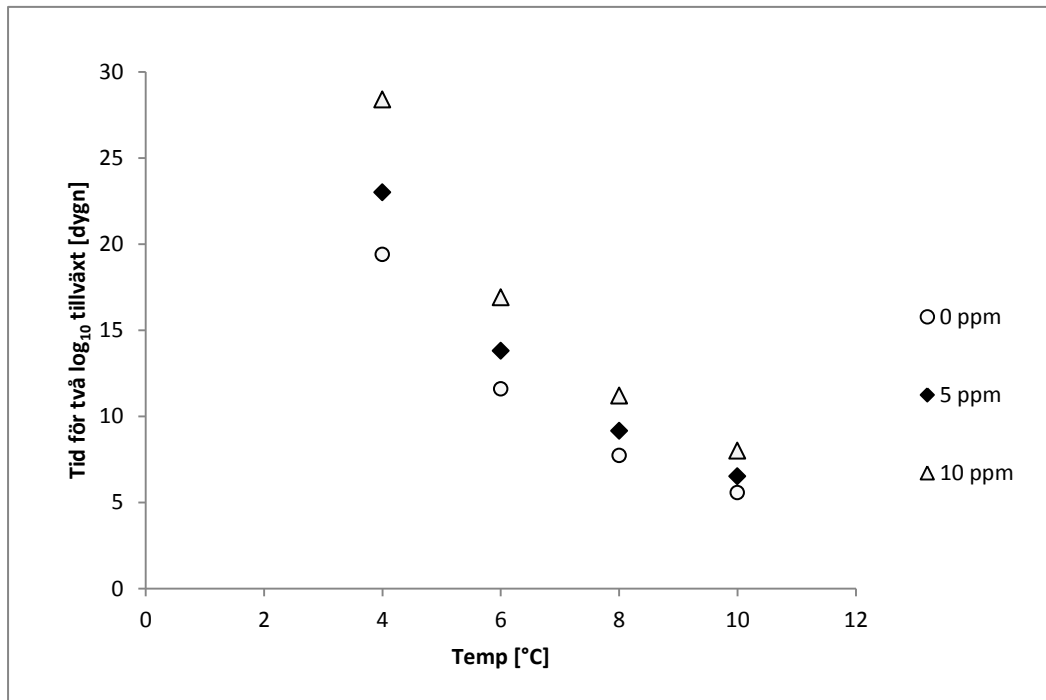
Tillväxt i ätfärdiga fiskprodukter

I figur 1 visas tiden för 3,4 log₁₀ tillväxt för listeria i obehandlad (sushi), rökt och gravad lax. Skillnaden i tillväxthastighet återspeglas väl i de förekomststudier som citeras ovan, med tydlig tillväxtpotential i lax som inte processas alls (Skjerdal *et al.*, 2014) och färre andel positiva prover bland gravad jämfört med kallrökt lax (Nilsson & Lindblad, 2011; EFSA 2013). Enligt modelleringen i PMP/ComBase tar det vid 4 °C 18 respektive 20 dagar för listeria att växa från detektionsgränsen (0,04 CFU/g) till halter över gränsvärdet i rökt respektive gravad lax. Denna tid blir kortare med ökad temperatur enligt ett exponentiellt förhållande (17,4 % snabbare per grad temperaturökning) och är vid 8 °C åtta respektive nio dagar (figur 1a). I en ren laxfilé ämnad för t.ex. sushi, tar motsvarande tillväxt 12 respektive 5,7 dagar.

Enligt prognosticeringen i modellverktyget FSSP (Gimenez & Dalgaard, 2004) tog tiden för hundra gånger tillväxt (2 log₁₀) i rökt lax vid 4 °C 19 dygn (figur 1b). Temperatur-faktorn var något mer accentuerad i FSSP med en relativ hastighetsökning på 20 % per grad i FSSP jämfört med 17,4 % i PMP/ComBase. Fenolhalten i rökt lax påverkar tillväxthastigheten marginellt (figur 1b). I studier av Hwang, (2007) såg man främst en förlängd lag-fas med ökad fenolkoncentration vid lägre temperaturer.



Figur 1a. Tiden i dygn för tillväxt från 0,04 till 100 CFU/g, inklusive lagfas, av *Listeria monocytogenes* i gravad, rökt samt oprocessad lax baserat på modellering i PMP/ComBase med avseende på pH, salthalt och temperatur i anaerob miljö.



Figur 1b. Tiden i dygn för hundra gångers tillväxt, inklusive lagfas, av *Listeria monocytogenes* för kallrökt lax med olika fenolkoncentrationer (i ppm) utförd i FSSP.

Charkprodukter

Förekomst

Charkuteriprodukter är i de flesta fall värmebehandlade men riskerar att sedan kontamineras efter värmebehandlingen t.ex. vid skivning. Av 429 provtagna charkuteriprover var sex positiva för listeria i Riksprojekt 2010 (1,4 %). Fyra av dessa var prover på skinka (n = 247) samt en vardera från kalkon (n = 51) och övriga (n = 28). Halterna var i samtliga sex prov under en kolonibildande enhet per gram vid utgångsdatum (Nilsson & Lindblad 2011)⁴. I Europa var motsvarande andel positiva prov 2,07 % (72 av 3470). Majoriteten av dessa hade halter under 10 CFU/g medan listeria kunde påvisas i halter över 100 CFU/g i femton prover (0,43 %). Av dessa femton var åtta produkter gjorda av fläsk-, en av nöt-, fyra kyckling- samt en av kalkon- och blandat kött respektive. Tolv produkter räknades som kalla kokta kött-produkter, två som patéer och en korv (EFSA, 2013). I den utökade statistiska analysen föll paté jämfört med andra kokta kalla köttprodukter ut som en produkttyp med signifikant mer frekvent förekomst av listeria (OR = 2,91; p = 0,005). Även om skivade produkter oftare innehöll listeria än icke-skivade var denna skillnad inte signifikant (OR = 2,61; p = 0,07) (EFSA, 2014). Även förpackningen hade betydelse, där listeria hittades mer sällan i förpackningar med modifierad atmosfär än i övriga förpackningstyper (OR = 0,60; p = 0,048). I kategorin listeria i halter över 100 CFU/g kunde ett signifikant samband med vilket djurslag köttet kom ifrån visas där det var mindre vanligt med listeria i andra djurslag jämfört med fågel (OR = 0,35; p = 0,04). Detta kan bero på en

⁴ I den uppföljande kartläggningen 2016 var förekomsten 1 % (Lindblad & Flink, 2017).

kombination av högre förekomst på fågel och/eller bättre tillväxtmöjligheter med avseende på pH i fågelkött jämfört med andra produkter (Glass & Doyle, 1989).

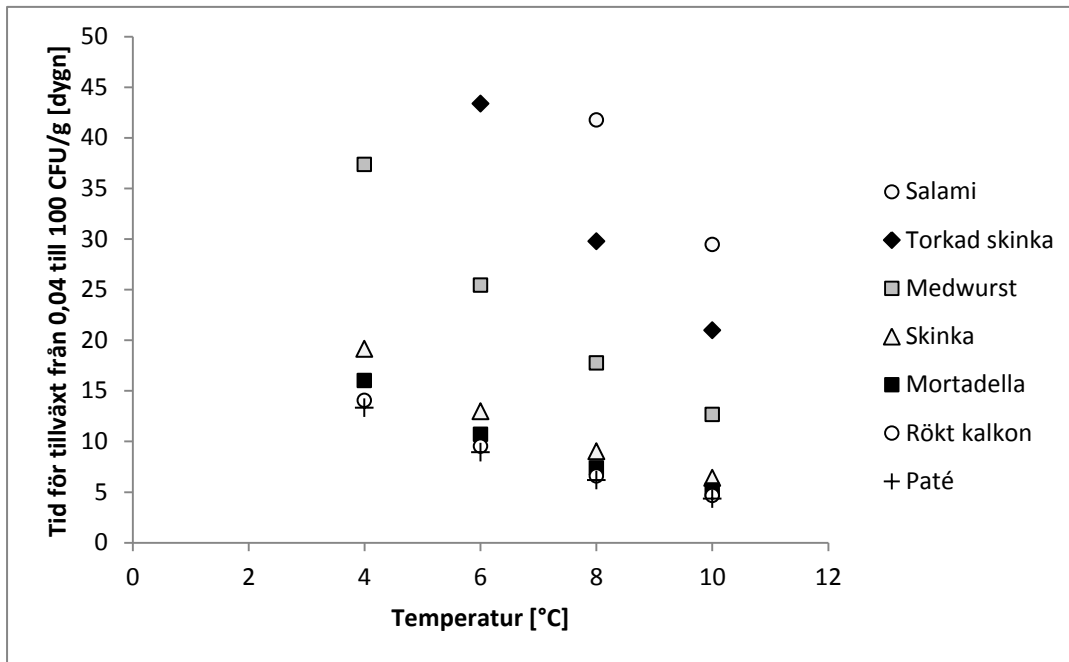
Som sagts har det rapporterats om det största listeriautbrottet någonsin i Sydafrika, där Polony (mortadella/kokt medwurst) identifierades som den mest troliga smittkällan (WHO, 2018a). Kokt medwurst har vid ett tillfälle misstänks orsaka ett fall av listerios i Sverige. Samma typ (PFGE-mönster) kunde påvisas från såväl den insjuknande som korven hos den insjuknade. Dessutom påvisades höga halter (64 000 CFU/g) på korv av samma märke i butik som också tillhörde samma pulstyp (Loncarevic, *et al.*, 1997). I den senaste svenska kartläggningen påvisades inte listeria i någon kokt medwurst, dock uppgick provantalet till endast 10 förpackningar. Inte heller någon av de 17 förpackningar med fermenterad eller rökt medwurst kunde listeria påvisas (Lindblad & Flink, 2017). Det har dock skett återkallanden från kokt medwurst i Sverige på grund av listeriefynd (Anon, 2014). I en italiensk kartläggning påvisades listeria i två av 336 prover på Mortadella, i ett av dessa var halten > 100 CFU/g (Iannetti, *et al.*, 2016).

Tillväxt

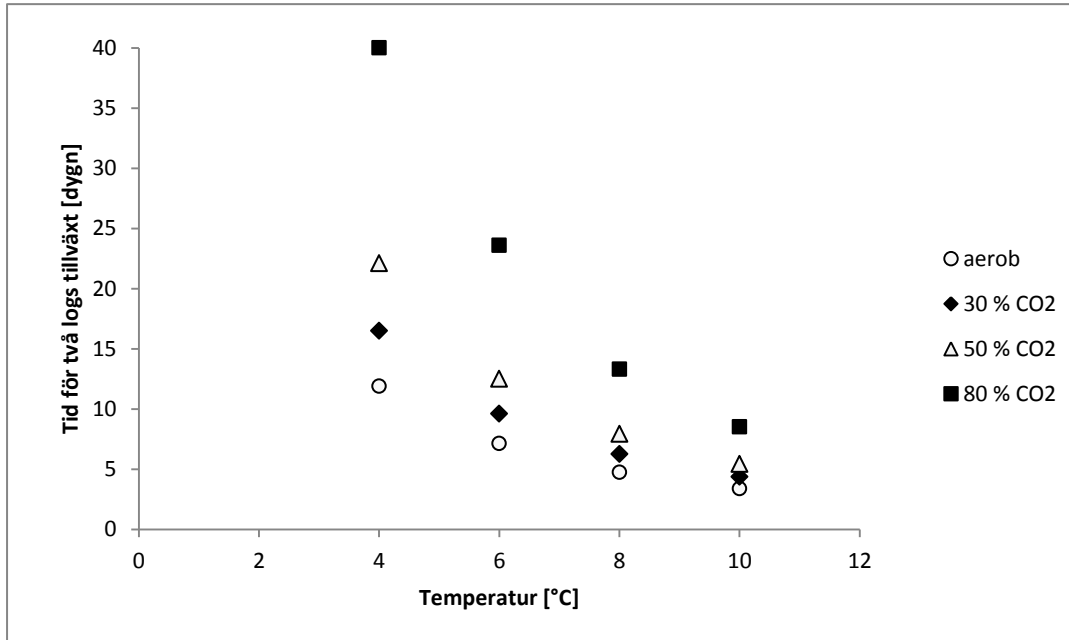
I figur 2a visas tiden för tillväxt från 0,04 till 100 CFU/g i mortadella, kalkon, rökt skinka, rökt medwurst, lufttorkad skinka och salami i temperaturspannet 4 – 10 °C. Enligt modelleringar i PMP/ComBase kan det ta mindre än två veckor i produkter som paté och kalkon vid 4 °C, 16 dagar i kokt medwurst/mortadella samt 19 dagar för rökt skinka. Eftersom salthalten och inte den egentliga vattenaktiviteten anges i PMP ser det ut som att salami och lufttorkad skinka har en viss tillväxtpotential enligt figur 2a. Denna ska dock vara begränsad enligt kriterier för ingen listeriatillväxt. Även om listeria påvisades frekvent (22,7 %) av salamiproverna i en större italiensk studie så var halterna alltid under 10 CFU/g vid slutet av hållbarhetstiden. Salami innehåller en rad ingredienser som potentiellt kan kontaminera produkten. Under själva processen (fermentering med mjölksyrabakterier) sjunker pH och möjlig tillväxt av listeria vänds till att en avdödning av listeria sker (Gianfranceschi, *et al.*, 2006).

Betydelse av atmosfär

Rökt skinka användes som typ-produkt i FSSP med överensstämmande resultat i aerob miljö jämfört med modeleringen i PMP/ComBase. Tillväxthastigheten sjönk med ökad andel koldioxid i förpackningen och vid 80 % CO₂ tar det mer än 40 dagar för hundra gånger tillväxt vid 4 °C (figur 2b). Enligt modellen finns även en kombinationseffekt med temperatur där tiden för hundra gånger tillväxt blir 19 % snabbare per grad Celsius temperatur i aerob miljö medan motsvarande värde är 23 % vid 80 % koldioxid (data visas inte). Såväl Farber, *et al.*, (1996) som Harrison, *et al.*, (2000) har visat på vikten av låg temperatur för att effekten av modifierad atmosfär (koldioxid) ska vara optimal. Normal gasblandning i förpackningar i skivat smörgåspålägg är 30 % koldioxid och 70 % kväve. Enligt simuleringar i ComBase var skillnaden i tillväxthastighet för kalkon och rökt skinka vid 30 % koldioxid endast marginellt långsammare (data visas inte).



Figur 2a. Tiden i dygn för tillväxt från 0,04 till 100 CFU/g, inklusive lagfas, av *Listeria monocytogenes* i ett antal charkuteriprodukter baserat på modellering i PMP/ComBase med avseende på pH, vattenaktivitet, salthalt och temperatur i en aerob miljö.



Figur 2b. Tiden i dygn för 100 gångers tillväxt, inklusive lagfas, av *Listeria monocytogenes* i rökt skinka under olika atmosfäriska förhållanden i FSSP.

Betydelse av mjölksyrabakterier

Vidare gjordes modelleringar i FSSP med simulerad halt mjölksyrabakterier. Enligt dessa sker en begränsning av listeriatillväxten i form av reducerad max-halt i produkten när mjölksyrabakterierna når stationärfas ($\sim 10^8$ CFU/g) vilket brukar tillskrivas den så kallade Jameson-effekten⁵, d.v.s. att det finns en max-halt för totalantalet bakterier i en produkt, och när den uppnås kan inte tillväxt längre ske. Även om Jameson-effekten kan förklara utfallet i många observationer kan även andra faktorer ha betydelse, t.ex. att mjölksyrabakteriernas tillväxt leder till ett sänkt pH i produkten som i sin tur hämmar listeria (Mellefont, *et al.*, 2008). Listeriabakterierna hinner dock i de flesta fall tillväxa till halter över 100 CFU/g innan detta inträffar och tiden för hundra gånger tillväxt påverkas inte (data visas inte). Tillsatser såsom laktat och diacetat (Hwang & Tamplin, 2007, Zhang, *et al.*, 2012) kan potentiellt påverka tillväxten av listeria. Enligt Hwang & Tamplin, (2007) gav tillsatserna dock främst en förlängd lagfas vid kylskåpstemperatur medan tillväxthastigheten endast påverkades vid högre temperaturer (15 – 35 °C).

Smörgåspålägg – jämförelse med försök på livsmedel

Med tanke på hur få produkter som varit positiva i Riksprojektet, och i vilka halter, är sannolikt halten listeria på den nytillverkade produkten < 1 CFU/g och/eller tillväxthastigheten långsammare än vad modelleringarna i PMP/ComBase och FSSP visar. Fler studier på produkter har gjorts, slutsatserna från dessa är att de relativa skillnaderna enligt modellerna bekräftas, men att tiden för hundra gångers tillväxt är längre än vad simuleringarna anger (Glass & Doyle, 1989, Farber & Daley, 1994, Cornelius, *et al.*, 2008, Luo, *et al.*, 2015).

Försäljning över disk

Chark- och ostprodukter skivas och säljs också över disk och från hyllor i butik. Gombas, *et al.*, (2003) rapporterade högre förekomst av listeria på charkprodukter paketerade i butik än hos tillverkare. Fler prover med listeria > 100 Most probable number (MPN)/g återfanns däremot i prover som skivats hos tillverkare. Studien var dock inte upplagd för att jämföra lokal för paketering, men har använts av bland annat Pradhan *et al.* (2010) i riskvärderingen nedan. Enligt en riskvärdering av Endrikat, *et al.*, (2010) orsakar butiksförsäljning av skivade köttprodukter potentiellt en större andel av dödsfallen i USA jämfört med fabriksförpackade. I en uppföljande observationsstudie anser Pouillot, *et al.*, (2015) att korskontaminering av produkter som medger listeriatillväxt sker i (bakom) ”disken” vilket i kombination med felaktig förvaring i affären och hos konsumenten, som i vissa fall är känslig, kan leda till sporadiska fall. Pradhan, *et al.*, (2010) kom också fram till samma slutsats i en riskvärdering från producent till konsument av skivade charkprodukter. En scenarioanalys visade att antalet dödsfall bland äldre personer i USA skulle minska signifikant om temperaturen i konsumenternas kylskåp alltid låg ≤ 7 °C och vara < 1 /år om konsumenternas förvaring sker vid en temperatur ≤ 4 °C.

⁵ Jameson-effekten uppstår när bakterier i blandkultur konkurrerar om näring och resulterar i att tillväxten av alla arter stoppas när en art når stationärfas. Cornu M, Billoir E, Bergis H, Beaufort A & Zuliani V (2011) Modeling microbial competition in food: application to the behavior of *Listeria monocytogenes* and lactic acid flora in pork meat products. *Food Microbiol* **28**: 639-647.

Ost

Förekomst i mjölkkråvaran

I en studie från tankmjölkfilter utförd av Sveriges veterinärmedicinska anstalt (SVA) var fynd av släktet listeria relativt vanligt och bakterien kunde påvisas i mjölken från drygt 20 % av nöt- respektive get/får-besättningarna. Cirka två tredjedelar av Listeria-isolaten typades till arten *L. monocytogenes* (SVA, 2016). I en sammanställning från Farber & Peterkin, (1991) uppskattades förekomsten till 2,2 % och med halter runt 10 CFU/ml. Dock var förekomsten högre senare i processen än i mottagningen på ett antal mejerier på Irland, vilket tolkades som att råmjölken inte var den viktigaste källan till listeria i mjölk (Champagne, *et al.*, 1994). Oavsett källa kan man utgå ifrån att råvaran kan vara förorenad och att ett steg för kontroll såsom pastörisering ska finnas. Normal pastörisering, 71,6 °C i 15 s eller 63 °C i 30 min (Westöö, 2008) har en bra inaktiverande effekt. Reduktionen för listeria beräknades till 11 log₁₀ vid 72 °C 15 s (Piyasena, *et al.*, 1998) samt uppmättes till > 6,9 log₁₀ vid 65 °C i 15 s (Pearce, *et al.*, 2012). Halterna efter en fungerande pastöriseringsprocess bör alltså vara en bra bit under detektionsnivån vid starten för tillverkning av osten. Det går däremot inte att garantera total avsaknad av listeria, men en förorening senare i tillverkningen är mer trolig än att det finns kvarvarande celler med tillväxtpotential i den pastöriserade mjölken.

Vattenaktivitet i ost

Mjölkenzymer och startkulturer hydrolyserar lågmolekylära föreningar i mjölk gradvis och sänker vattenaktiviteten. Förändringen är relativt liten i färsk- och mjukost men av stor betydelse i halvhård och hård ost (Rüegg, 1985). Vattenaktiviteten sträcker sig från 0,70 för hårdostar (parmesan och liknande) till 0,99 för färska, mjuka ostar, medan halvhårda ostar (vanlig svensk hårdost) i regel har a_w-värden på omkring 0,90 (Liu, *et al.*, 1998). I simuleringen användes för halvhårda ostar dock en relativt hög vattenaktivitet (0,95) (Marcos, 1993) vilket var den a_w som angavs för Gouda som en exempelost på halvhård skivbar ost. Detta a_w stämmer överens med den av Marcos (1993) angivna funktionen mellan vattenaktivitet och vatteninnehåll som är linjär inom intervallet a_w 0,98 – 0,85 samt vatteninnehåll 46 – 20 %. I livsmedelsdatabasen för hårdost anges ett vatteninnehåll på 40,2 % för ost med 28 % fetthalt (Livsmedelsverket, 2018). Fetare ostar har under detta antagande en lägre a_w medan magrare ligger högre.

Förekomst i ost

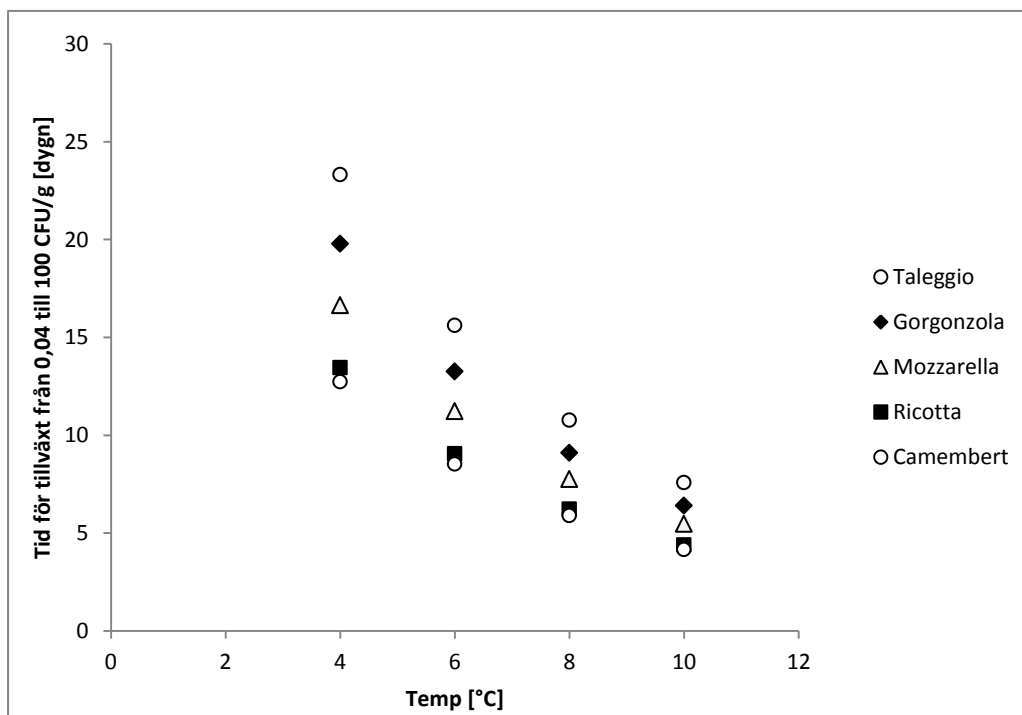
I Riksprojekt 2010 var två av 457 provtagna ostar positiva för listeria, en av 220 blå/grönmögelostar samt en av 173 vitmögelostar. I den senare, en ost av franskt ursprung men bitad och omförpackad i Sverige, uppmättes dock den högsta halten listeria av samtliga provtagna produkter inom Riksprojektet, > 10 000 CFU/g (Nilsson & Lindblad, 2011). Även på europeisk nivå var förekomsten i ost låg, 12 av 3448 (0,03 %), de flesta i halter under 10 CFU/g. I två ostar uppmättes mer än 100 CFU/g. Båda var gjorda på pastöriserad komjolk och ingen av dem var bitad (EFSA, 2013). Prover med höga halter i ost har även rapporterats från England och Wales, i 20 av 4172 prover uppmättes halter > 1 000 CFU/g (Greenwood, *et al.*, 1991). Oftast påvisades listeria i mogna mjuka ostar gjorda på komjolk, 8,2 %. I en italiensk studie som omfattade 2 132 ostprover påvisades listeria i 47 (2,2 %). Högst var förekomsten i Taleggio (21/324) följt av Gorgonzola (21/444) och Brie (3/330). Inget av de 178 proverna på Camembert var positivt. I endast ett av alla prover låg halten över 110 MPN/g - en Taleggio med 460 MPN/g (Prencipe, *et al.*, 2010). I en äldre svensk studie påvisades högre förekomst

i ost gjord på opastöriserad (42 %) jämfört med pastöriserad (2 %) mjölk. *Listeria* påvisades framförallt i vitmögel- (15/154) och kittost (4/26) men även i en av 122 blågröna mögelostar (Loncarevic, *et al.*, 1995).

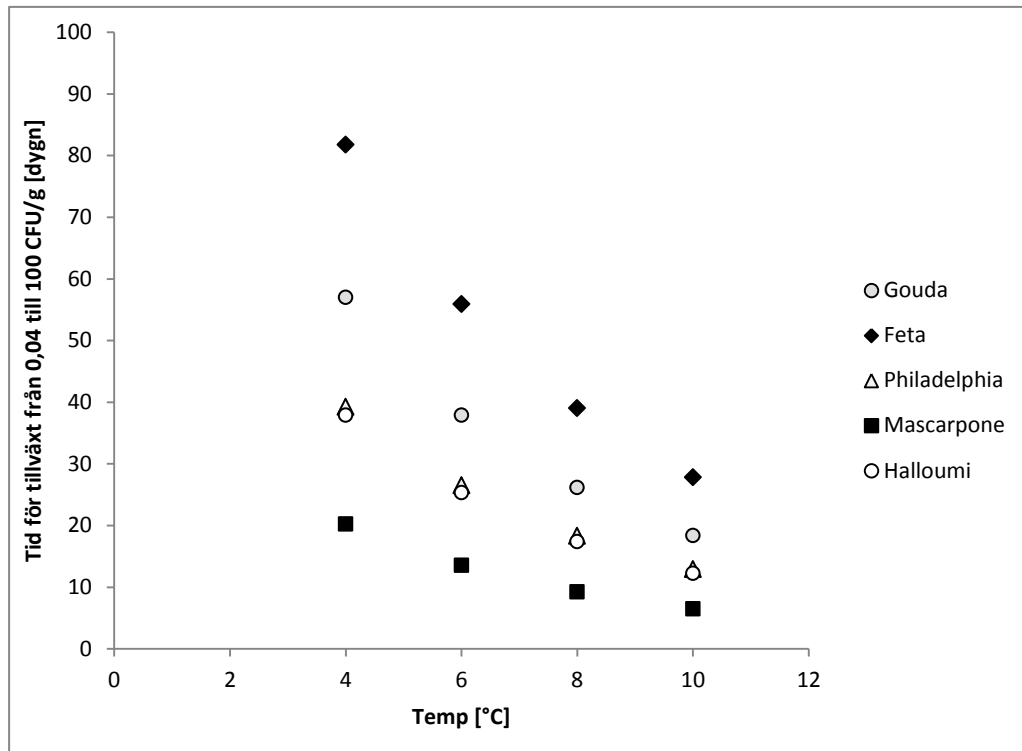
Tillväxt i ost

Med undantag för Feta och färskostar med pH 5 och lägre är tillväxtpotentialen med avseende på temperatur, salthalt/vattenaktivitet och pH god i de flesta typer av mjuka och halvmjuka ostar. Tiden för tillväxt från 0,04 till 100 CFU/g vid 4 °C ligger mellan två till tre veckor i en färdig ost enligt simuleringar i PMP/ComBase. Vid högre temperaturer kan samma tillväxt teoretiskt ske inom en vecka (figur 3ab). Med avseende på pH och vattenaktivitet är tillväxten snabbast i Camembert och Ricotta.

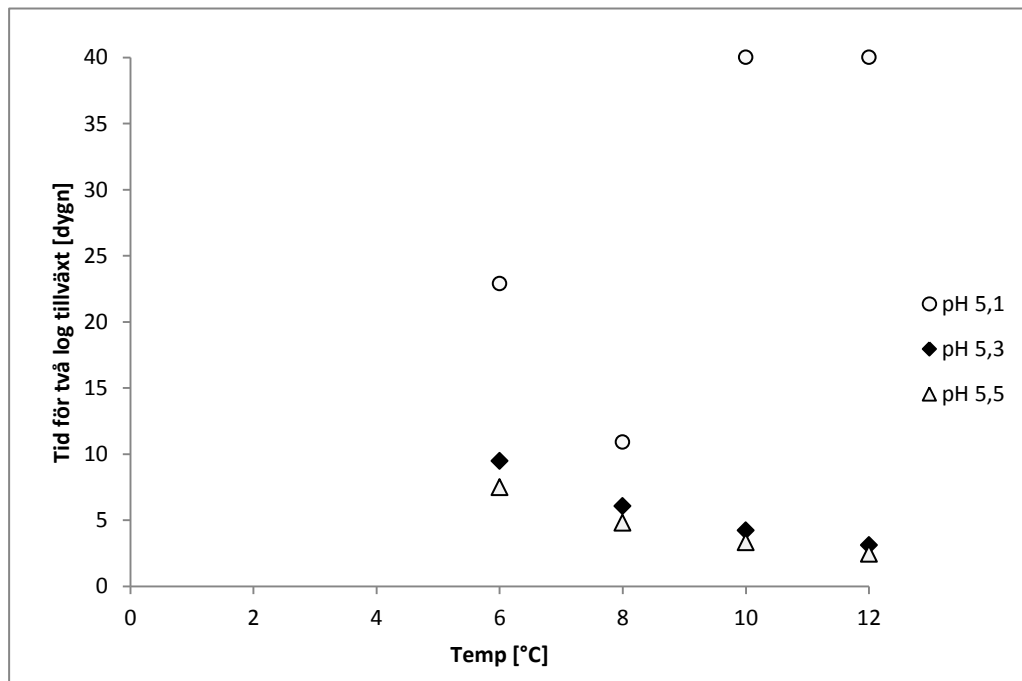
Enligt simuleringarna skedde en långsam tillväxt i halvhård hyvelbar ost såsom Gouda; vid 4 °C tar det 60 dagar för att komma upp i halter över 100 CFU/g, vid 8 °C 30 dagar (Figur 3b). Eftersom salthalten och inte vattenaktiviteten angavs i PMP så underskattades lagfasen i denna simulering med cirka 40 dagar vid 4 °C. Denna skillnad mellan a_w och salthalt är (som beskrivet ovan) av särskild betydelse för halvhårda och hårda ostar (Rüegg, 1985). Food Standards Agency (UK) fastslog att prediktiv modellering baserad på pH, vattenaktivitet och salthalt överskattade tillväxten och överlevnaden av *Listeria* i ost, med den tentativa förklaringen att starterkulturer kunde hämma tillväxten av *Listeria* (FSA, 2006). I (Leong, *et al.*, 2014) påvisades inte tillväxt av *Listeria* i någon hård eller halvhård ost, med undantag för en Gruyere, efter 15 dagar vid 25 °C.



Figur 3a. Tiden i dygn för tillväxt från 0,04 till 100 CFU/g, inklusive lagfas, av *Listeria monocytogenes* i ett antal ostar baserat på modellering i PMP/ComBase med avseende på pH, salthalt, vattenaktivitet och temperatur i en aerob miljö.

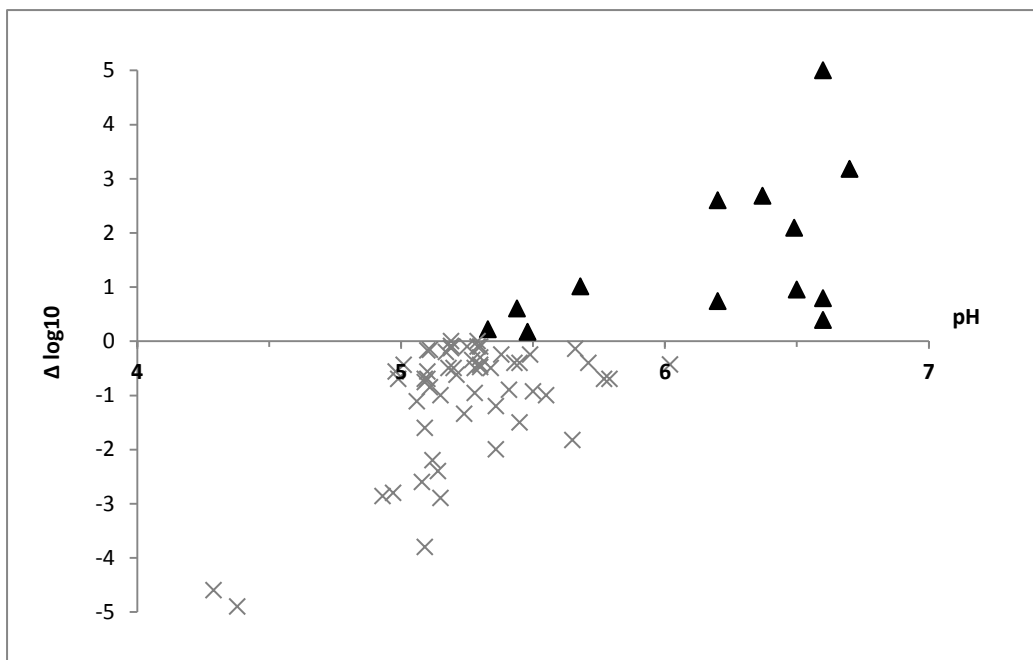


Figur 3b. Tiden i dygn för tillväxt från 0,04 till 100 CFU/g, inklusive lagfas, av *Listeria monocytogenes* i ett antal ostar baserat på modellering i PMP/ComBase med avseende på pH, salthalt, vattenaktivitet och temperatur i en aerob miljö.



Figur 3c. Tiden i dygn för hundra gånger tillväxt, inklusive lagfas, av *Listeria monocytogenes* i färskost med mjölkssyrabakterier (1000 CFU/g) vid olika pH simulerat i FSSP.

Ostergaard, *et al.*, (2014) har utvecklat ett verktyg i FSSP för att studera inverkan av mjölksyrabakterier och andra startkulturer på tillväxten av listeria i färskost. Detta verktyg användes för att jämföra tillväxten med avseende på pH med en starthalt av mjölksyrabakterier motsvarande 1 000 CFU/g. Enligt modelleringar i FSSP hämmas listeria under vissa förhållanden i närvaro av mjölksyrabakterier och vid 10 °C och 12 °C vid pH 5,1 kunde inte listeriabakterierna tillväxa (figur 3c). Dock visade Leong, *et al.*, (2014) att listeria tillväxte i en del ostar trots närvaro av höga halter mjölksyrabakterier vid 25 °C under 15 dagar. I de allra flesta fall hämmades dock tillväxten av listeria. Den enskilt mest bidragande faktorn var dock pH där tillväxt kunde påvisas i nästan alla ostar med pH > 6. Det lägsta pH som medgav tillväxt var 5,3 (figur 4). Framförallt tillväxte listeria i olika typer av latinska färskostar (Queso blanco, Queso fresco etc); alla med ett pH > 6 (6,2 – 6,8) (Leong *et al.*, 2014).



Figur 4. Skillnaden i \log_{10} listeriahalt (tillväxt (▲)/ingen tillväxt (X)) efter femton dagar (ibland kortare) på ost förvarad mellan 20 och 30 °C baserat på ostens pH (dag 0). För fullständiga data se tabellerna 1,2 och 4 i Leong *et al.*, (2014).

Förekomst i förpackad ost

Trots god tillväxtpotential och lång hållbarhetstid påvisas *Listeria* ytterst sällan i förpackad ost vilket beror på framställningsprocessen som ofta innehåller två uppvärmningssteg, pastörisering av mjölkkråvaran samt av själva ostmassan vid sträckningen av osten. Halloumi upphettas till > 90 °C under mer än 30 min för att ge osten sina speciella egenskaper (EU, 2015). Möjliga riskfaktorer är att osten kontamineras via vatten vid saltningen (för Halloumi tillsätts även torkade myntablad) och/eller i samband med förpackning. Det är därför viktigt att företagen har god kontroll på vattenkvalitet samt god hygien i förpackningsprocessen.

pH för Feta är < 4,6 (Mauropoulos & Arvanitoyannis, 1999) vid vilket listeriatillväxt är starkt hämmad och enligt George *et al.*, (1996) kan listeria inte tillväxa i kylskåpstemperatur vid detta pH. Även om hållbarheten är längre än simulerad 3,4 log tillväxt (Figur 3b) är det inte troligt att Feta stödjer tillväxt av listeria. Halloumi har ett högre pH och de tillväxthämmande faktorerna är en låg vattenaktivitet

(0,96) samt hög salthalt, vilka inte har samma påvisade effekt. *Listeria* har dock aldrig påvisats under de senaste tio åren (> 1 000 prover) på livsmedelslaboratoriet i Nicosia (Kourtis, 2018, personlig kontakt). Även Mozzarella kyls ner i saltlake innan förpackning. Mozzarella har i vissa fall en kort hållbarhetstid (ca 10 dagar) men produkter med hållbarhet i upp till 40 dagar finns på den svenska marknaden.

I och med att ostmassan är varm vid förpackningen av ricotta, mascarpone och cream cheese minskar sannolikheten för kontaminering av dessa produkter. I Food Standard Agency's riskvärdering ansågs risken för *Listeria* i färska mjuka ostar vara låg beroende på den hygieniska processen och förpackningen som används (FSA, 2006).

Vegetabilier

Utbrott förknippade med vegetabilier

I en källattribueringsstudie från England och Wales pekas något överaskande färdigförpackad sallad ut som en riskprodukt med avseende på sekvenstyper (Little, *et al.*, 2010). En tidigare genomgång av (Hanning, *et al.*, 2008) rankade förpackad sallad i en låg kategori för *Listeria*-risk, men att detta i första hand berodde på avsaknaden av rapporterade utbrott. Under 2015 rapporterades dock ett utbrott från Kanada och USA som orsakades av paketerad sallad kopplat till en produktionsanläggning (Garner & Kathariou, 2016). Andra vegetabilier som har förknippats med *Listeria*utbrott är bl.a.: alfa-alfagroddar, cantaloupe-melon, coleslaw, fruktsallad, selleri (Hoelzer, *et al.*, 2012a) och nyligen fryst majs; ett utbrott som även omfattade fall i Sverige (EFSA, 2018). Vidare sätter Little, *et al.*, (2010) fingret på ett annat problem; ätfärdiga rätter t.ex. gjorda på de tre riskprodukterna (fisk, chark och ost) listade ovan såsom smörgåsar med lax- eller skinkröror samt färdigblandade sallader. Även om rätten i sig sällan har en hållbarhet längre än en dag kan den innehålla ett risklivsmedel mot slutet av sin hållbarhet som inte har upphettats.

Förekomst i vegetabilier

Eftersom *Listeria* finns allmänt i miljön såsom jord är det vanligt att bakterien kan isoleras från vegetabilier. En genomgång av utbrott orsakade av vegetabilier i USA visade dock att kontamineringen i nästan alla dessa fall skedde på anläggningen och inte i primärproduktionen (Garner & Kathariou, 2016). I en norsk studie påvisades *Listeria* i tre av 859 prov (0,3 %) på färska vegetabilier; ett från sallad, champinjoner och jordgubbar respektive. Ingen haltbestämning gjordes (Johannessen, *et al.*, 2002). I en dansk kartläggning under 1997-1998 påvisades *Listeria* i halter mellan 10 och 100 CFU/g i 70 av 350 prover på groddar och skuren sallad. I 0,5 % av proverna låg halterna över 100 CFU/g (Norrung, *et al.*, 1999). Från USA har Heisick, *et al.*, (1989) rapporterat *L. monocytogenes* från 21 % av proverna på potatis, 14 % på rädisa, 2,2 % på gurka, 1,1 % på vitkål men inte i 92 prov från vardera champinjoner eller isbergssallad. Frys- tiningprocessen kan minska halten av bakterier på ett livsmedel men *Listeria* verkar relativt tåliga och på en frys- tiningcykel kan man inte förvänta sig mer än max 0,5 log₁₀ reduktion (Azizoglu, *et al.*, 2009, Simpson Beauchamp, *et al.*, 2010). *Listeria* kan därför potentiellt finnas i liknande halter på frysta grönsaker som i färska om de inte har behandlats på något annat sätt. *Listeria* påvisades i 31 av 1750 prov på frysta grönsaker från Navarra, Spanien (Vitas & Garcia-Jalon, 2004). Eftersom selektiv anrikning på 25 g produkt användes angavs inga halter. En kontaminering i samband med förpackning kan tillväxa under upptining av frysta produkter, vilket har påvisats av Kataoka, *et al.*, (2017). Särskilt snabb var tillväxten under

upptining av majs; en \log_{10} /dygn vid 8 °C och utan någon mätbar lagfas. Vid 4 °C tog 3,4 \log_{10} , inklusive lag-fas, cirka 10 dygn (Kataoka, *et al.*, 2017).

Tillväxt i vegetabilier

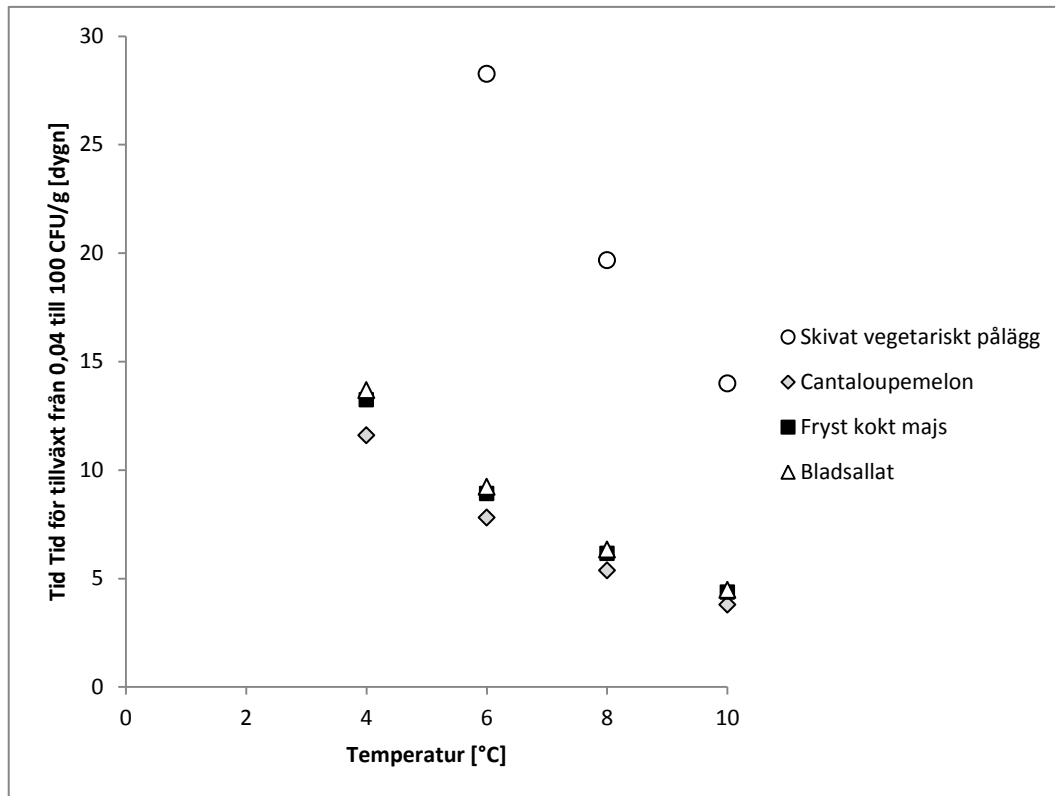
Hoelzer, *et al.*, (2012a) har sammanställt studier från fler olika experiment utförda i olika temperaturer som visar på tillväxtpotentialen i en rad vegetabilier (tabell 3). Inom en produkttyp kan det dock vara skillnader beroende på temperatur och tänkt förvaring. Till exempel visade (Sant'Ana, *et al.*, 2013) på stor skillnad i tillväxtpotential för listeria på förpackad sallat vid 7 och 15 °C. Trots att tillväxtpotentialen verkar kunna vara väl så god i vegetabiliska livsmedel som i riskprodukterna listade ovan har man endast i ett fåtal fall kunnat koppla utbrott till dem. Anledningen till detta kan bero på kortare hållbarhetstid än för fisk, ost och smörgåspålägg och/eller att listeriabakterierna på dessa livsmedel konkurrerar med en annan typ av mikrobiota med påvisat hämmande effekt på listeriatillväxt, såsom *Pseudomonas fluorescens* (Babic, *et al.*, 1997, Schuenzel & Harrison, 2002). Den naturliga mikrobiotan leder dessutom till en förskämning vilket gör att produkten i regel hinner bli dålig innan den blir farlig. Inte desto mindre har det skett fler utbrott från vegetabilier (Garner & Kathariou, 2016), som kan ha berott på att konkurrensen från den naturliga mikrobiotan var satt ur spel såsom i frysta grönsaker, sallat som sköljts med klorhaltigt vatten samt frukt med skal (Ottoson, 2018).

På såväl majs som sallat gav simuleringarna likartade tider för 3,4 log tillväxt, i 4 °C var den 13 dygn och vid 10 °C drygt 4 dygn (figur 5). Tiden för 2 log tillväxt vid 10 °C är 3,1 dagar (data visas inte) vilket är jämförbart med publicerade tillväxtdata på majs (Hoelzer, *et al.*, 2012)(tabell 3). I cantaloupe var den simulerade tillväxten något snabbare. Förvaring av melon sker dessutom ofta i butik inte i kyl och vid tio grader tar det endast tre dagar för tillväxt från detektionsgräns till gränsvärdet för listeria (figur 5). Jämfört med publicerade tillväxtförsök (tabell 3) gav simuleringen en till synes stor överskattning av tillväxtpotentialen. I sex av 14 studier kunde inte tillväxt påvisas i cantaloupe, i två skedde begränsad tillväxt ($< 0,5 \log_{10}$) och i sex skedde tillväxt, dock tog det längre tid jämfört med i simuleringen (tabell 3). Vattenmelon har ett lägre pH (5,18 – 5,60) än cantaloupe (6,13 – 6,58) (FDA, 2018) vilket kan förklara varför utbrott inte har skett från den varan.

Tabell 3. Sammanfattning av tillväxt/ingen tillväxt över studier för *Listeria monocytogenes* på vegetabilier samt tid för 100 gångers tillväxt vid 10 °C utan lagfas i ett antal vegetabilier baserat på publicerade data från ett antal experiment (modifierat från Hoelzer *et al.*, 2012a)

| Produkttyp | Antal experiment som visar tillväxt | | | Tid för 100 ggr tillväxt [dygn] | | Antal experiment |
|-------------------------|-------------------------------------|------------------------|----------|---------------------------------|-------------------------|------------------|
| | Ingen | Begränsad ^a | Tillväxt | Medel | 95 % konfidensintervall | |
| Broccoli | 2 | 13 | 14 | 7,4 | 5,1 – 11,1 | 24 |
| Bladsallat ^b | 18 | 26 | 90 | 5,0 | 3,8 – 6,7 | 33 |
| Bönor | 1 | 4 | 9 | 6,7 | 4,3 – 11,1 | 14 |
| Cantaloupemelon | 6 | 2 | 6 | ∞ | 12,5 – ∞ | 2 |
| Champinjoner | 2 | - | 3 | 4,2 | 1,8 – 16,7 | 2 |
| Vitkål | 8 | 9 | 9 | 10,0 | 3,1 – 200 | 2 |
| Kålrot | - | 1 | 7 | 12,5 | 3,6 – ∞ | 2 |
| Majs ^c | - | 1 | 4 | 3,7 | 2,3 – 7,1 | 6 |
| Morötter | 26 | - | 13 | 3,6 | 2,2 – 6,9 | 6 |
| Paprika | 6 | 1 | 1 | 12,5 | 3,6 – ∞ | 2 |
| Sparris ^d | - | 1 | 10 | 1,4 | 0,96 – 2,35 | 4 |

^a Mindre än 0,5 \log_{10} på 10 dagar; ^b Flera typer, både hela och skurna förpackade; ^c Kokt; ^d Pastöriserad



Figur 5. Tiden i dygn för tillväxt från 0,04 till 100 CFU/g, inklusive lagfas, av *Listeria monocytogenes* i vegetabilier baserat på modellering i PMP/ComBase med avseende på pH, vattenaktivitet (a_w) och temperatur i en aerob miljö.

Amning

Det är inte ovanligt med zoonotisk överföring av olika patogener via mjölk från andra däggdjur. *Listeria* kan t.ex. utsöndras av infekterade idisslare, men huruvida *Listeria* kan smitta via amning är dåligt undersökt. En studie har visat på överföring mellan mor och barn via bröstmjölken (Svabic-Vlahovic, *et al.*, 1988). I den aktuella artikeln beskrivs ett fall där en mor eventuellt kan ha smittat sitt barn via bröstmjölken. *Listeria* påvisades från centrala nervsystemet och blodet hos barnet samt i bröstmjölken. Vidare hade tre hundvalpar fått överbliven bröstmjölken varefter de visade symptom som kräkningar, feber och blodig diarré. En av valparna dog medan de övriga två överlevde. *L. monocytogenes* serogrupp 4b påvisades i avföringen hos en av de två överlevande valparna. Serotypen hos *Listeria*-bakterierna som isolerades från barnet eller i bröstmjölken redovisades dock inte (Svabic-Vlahovic, *et al.*, 1988). Poulsen, *et al.*, (2013) visade att *Listeria*-bakterier kan påvisas i bröstmjölken hos infekterade möss. Eftersom volymerna var för små för att möjliggöra en kvantifiering av halten anrikades mjölken och svaret gavs endast som positivt.

Riskkaraktärisering

Bakterien

De flesta patientfallen orsakas av listeria-stammar från linje I (serotyp 4b och 1/2a) medan linje II-stammar är överrepresenterade bland livsmedelsisolat. En trunkering av internalin som minskar virulensen är vanlig bland linje II-isolat vilket kan förklara en del av den relativa skillnaden mellan vad som isoleras från livsmedel jämfört med patienter. Det finns dock idag inte tillräckligt med underlag för att göra en distinktion mellan fynd av olika linjer på en anläggning utan alla *L. monocytogenes* bör betraktas som potentiellt patogena (innan motsatsen bevisats).

Förekomst

De baslinjestudier som har gjorts på svensk och europeisk nivå visar på att det framför allt är i fiskprodukter (kallrökt och gravad lax) som listeria förekommer, dock inte särskilt ofta i nivåer över 100 CFU/g vid utgångsdatum. Förekomsten i chark och ost är signifikant lägre, framför allt påvisas sällan listeria i ost. I de fall där ostar har varit positiva kan halterna däremot vara höga. I vegetabiliska livsmedel har listeria påvisats sporadiskt, oftast i låga halter.

Skivning är ett steg i processen där risk-produkter kan kontamineras (Hoelzer, *et al.*, 2012b). En viss ökad förekomst har påvisats i såväl skivade fisk- som charkprodukter (EFSA, 2014). Vidare påvisades den högsta halten i ett svenskt prov från en ost som bitats i Sverige (Nilsson & Lindblad, 2011) och delad frukt har orsakat utbrott i USA (Garner & Kathariou, 2016) och Australien (WHO, 2018b). Produkter som skivas och säljs i detaljhandeln kan potentiellt vara förknippade med ett betydande antal (sporadiska) fall trots en kortare hållbarhetstid än fabriksförpackade produkter. Detta på grund av att de oftare är förorenade och inte förpackas i en skyddande atmosfär (Pradhan, *et al.*, 2010).

Tillväxt

Simuleringarna har syftat till att ta fram tiden för tillväxt från 0,04 till 100 CFU/g (det vill säga 3,4 log₁₀ tillväxt), inklusive lagfas över ett temperaturspann från 4 – 10 °C (figurer 1 – 3, 5). Denna tid bör alltså jämföras med hållbarhetstiden i tabell 2 som en riktlinje för risken att det mikrobiologiska kriteriet (100 CFU/g vid bäst-före-datum)⁶ överskrids.

Generella slutsatser från modelleringarna:

- Tiden för simulerad tillväxt från 0,04 till 100 CFU/g är kortare än hållbarhetstiden för alla livsmedelskategorier förutom vegetabilier. Dock kan en snabb tillväxt ske under upptining av fryst majs, vilket är en produkt där det inte finns någon angiven hållbarhetstid.
- Skillnaden i tillväxthastighet mellan olika smörgåspålägg speglade väl publicerade förekomstdata, det vill säga tillväxtpotentialen spelar stor roll för risken att exponeras för listeria via charkvaror.
- För varje grads temperaturhöjning tillväxer listeria 17 % snabbare enligt modelleringar i PMP/ComBase. Detta innebär mindre än halva tiden för listeria att tillväxa från 0,04 till 100

⁶ Kommissionens förordning (EG) nr 2073/2005 den 15 november 2005 om mikrobiologiska kriterier för livsmedel.

CFU/g vid 8 °C jämfört med 4 °C. I FSSP var denna faktor 20 % (för lax) och en halvering i tiden för hundra gånger tillväxt vid en temperaturökning på drygt tre grader Celsius.

- Tillväxten av *L. monocytogenes* är långsam i livsmedel vid pH 5 och lägre medan det på livsmedel med pH 6 och uppåt kan ske snabb tillväxt
- Låg vattenaktivitet i kombination med lågt pH begränsar tillväxten av listeria. Omvandlat som salthalt i vattenfasen behövs dock höga saltkoncentrationer.
- Mjölksyrabakterier kan konkurrera om näring och därmed begränsa listeriatillväxten. Framför allt påverkas max-halten, medan tiden för hundra gånger tillväxt kan vara densamma som utan konkurrens enligt simuleringar i FSSP.

Övrigt

Listeria kan teoretiskt överföras via bröstmjolk, men det finns inte stöd i litteraturen för att så har skett.

Svar på specifik frågeställning

Fisk

Utifrån nuvarande kunskapsläge, gör en uppdaterad riskbedömning för *L. monocytogenes* i gravad, kallrökt, varmrökt vakuumpackad fisk.

a. Begreppen ”nygjorda eller nyförpackade” är oprecisa begrepp som tolkas olika av olika personer. Givet att *L. monocytogenes* finns mellan 1-10 CFU/gram i en helt nygjord produkt, hur många dagar kan det ta för *L. monocytogenes* att uppnå hälsoskadliga nivåer i gravad, kallrökt, varmrökt vakuumpackad fisk? Även om förvaringstemperaturen för dessa produkter normalt är högst 4 °C så bör högre temperaturer beaktas eftersom temperaturen i konsumenters kylar kan variera mycket. Redovisa gärna svaret i diagramform.

b. Gör en riskbedömning för *L. monocytogenes* i sushi och sashimi utifrån förekomst, halter och tillväxtpotential.

Svar: Enligt de baslinjestudier som har utförts förekommer listeria i mellan 10 – 20 procent i vakuumpackad kallrökt och gravad lax, oftast i halter under 100 CFU/g. I den europeiska baslinjestudien (EFSA 2013) överstegs livsmedelskriteriet i 1,7 % och i Riksprojekt 2010 i 0,4 % av de analyserade proverna. Listeria påvisades inte i några prover på fisk med en hållbarhet kortare än 20 dagar (Nilsson & Lindblad, 2011).

a. Tiden det kan ta för listeria att tillväxa från 0,04 till 100 CFU/g i kallrökt och gravad lax ligger mellan 17 – 19 dagar vid 4 °C och ner till 8 – 9 dagar vid 8 °C (figur 1a). I FSSP, som bättre speglar verkliga förhållanden var tiden för hundra gånger tillväxt i kallrökt lax 19 dagar vid 4 °C (figur 1b). Med tanke på att det sällan påvisas halter över 100 CFU/g i lax är halterna troligtvis < 1 CFU/g i en helt nygjord produkt i de allra flesta fall, alternativt att tillväxten överskattas i modelleringarna.

b. Tillväxtpotentialen för listeria i icke-processad lax är god och det kan ta mindre än två veckor för halten att gå från 0,04 till 100 CFU/g vid 4 °C, cirka sex dagar vid 8 °C (figur 2a). Vid kylförvaring (4 °C) upp till en vecka bör laxråvaran som ska användas till sushi och sashimi enligt Skjerdal *et al.* (2014) inte innehålla mer än 1 – 2 CFU/g.

Charkprodukter

Utifrån nuvarande kunskapsläge, gör en uppdaterad riskbedömning för *L. monocytogenes* i skivat smörgåspålägg och kall färdigmat.

- a. Finns det skillnader i risk mellan olika sorters pålägg, till exempel lufttorkad skinka, kokt skinka, salami etc?
- b. Begreppet ”mot slutet av hållbarhetstiden” är oprecist och tolkas olika av olika personer. Givet att *L. monocytogenes* finns mellan 1-10 CFU/gram i en helt nygjord produkt, hur många dagar kan det ta för *L. monocytogenes* att uppnå hälsoskadliga nivåer i olika typer av skivat smörgåspålägg och kall färdigmat? Redovisa gärna svaret i diagramform.
- c. De flesta skivade smörgåspålägg förpackas i så kallad skyddande atmosfär, vilket kan bestå av olika sammansättningar av koldioxid, kväve, och syre. Hur påverkas tillväxt av *L. monocytogenes* mellan olika gassammansättningar? Beakta, om möjligt, tillväxt i kombination med konkurrerande mikroflora.

Svar: Enligt de baslinjestudier som har utförts förekommer *L. monocytogenes* i 1,7 % av charkprodukterna på den svenska marknaden vid utgångsdatum. I samtliga prover var halten < 1 CFU/g. På EU-nivå var förekomsten drygt 2 %. I 15 av 3470 (< 0,5 %) prov var halten > 100 CFU/g.

- a. Det var relativt vanligare med listeria i halter över 100 CFU/g i charkuteriprodukter gjorda på fågel än kött från övriga djurslag (EFSA, 2013). Detta kan bero på en kombination av högre förekomst på fågel samt bättre tillväxtmöjligheter med avseende på pH i fågelkött jämfört med andra produkter (Glass & Doyle, 1989) (figur 2). Skinka som smörgåspålägg konsumeras i hög utsträckning i Sverige. I Riksprojekt 2010 påvisades listeria i fyra av 279 prov, dock aldrig i halter > 1 CFU/g (Nilsson & Lindblad, 2011). Tillväxtmöjligheterna i lufttorkad skinka och salami är begränsade på grund av låg vattenaktivitet och/eller pH. Skivade produkter är oftare förorenade än icke-skivade med undantag för patéer där den europeiska studien visade på högst förekomst bland charkprodukterna (EFSA, 2014).
- b. Tiden för 3,4 log tillväxt är i regel kortare än angiven hållbarhetstid. Vid 4 °C tar det omkring två veckor för listeria att tillväxa från 0,04 till 100 CFU/g i kalkon, mortadella och 19 dagar i rökt skinka under aeroba förhållanden enligt modelleringar i PMP/ComBase. Dessa tider är halverade vid 8 °C (Figur 2a). Tillsammans med temperatur är pH betydande där *L. monocytogenes* växer bra i köttprodukter med pH 6 men dåligt, eller inte alls, i produkter med pH 5 (Glass och Doyle 1989). I salami och torkad skinka tillväxer listeria mest troligt inte på grund av lågt pH och/eller vattenaktivitet.
- c. Modifierad atmosfär bromsar tillväxten för listeria och konkurrerande mikrobiota. En sammanställning av publicerad litteratur och simuleringar (figur 2b) tyder på att listeriatillväxten är sjunkande från förpackning i syre > vacuum > modifierad atmosfär. Inom den senare kategorin är tillväxten långsammare ju högre andelen koldioxid är. Det finns även en kombinationseffekt där en låg temperatur förstärker tillväxthämningen från koldioxiden. Antalet extra dagar som det tar för listeria att tillväxa från 0,04 till 100 CFU/g jämfört med aerob miljö är dock begränsad. Mjölksyrabakterier och annan konkurrerande mikrobiota hämmar listeria genom att begränsa den maximala halten som kan uppnås i respektive livsmedel. Listeria hinner dock ofta nå upp till 100 CFU/g innan detta inträffar.

Ost

Gör en riskbedömning för *L. monocytogenes* i hårda, halvhårda, mjuka och halvmjuka mögel och kittostar samt färskostar (inklusive fetaost) för både opastöriserad och pastöriserad mjölk.

a. Begreppen ”nygjorda eller nyförpackade” är oprecisa begrepp som tolkas olika av olika personer. Givet att *L. monocytogenes* finns mellan 1-10 CFU/gram i en helt nygjord produkt, hur många dagar kan det ta för *L. monocytogenes* att uppnå hälsoskadliga nivåer i mozzarella, ricotta och halloumi?

b. Hur påverkar produktionsprocessen sannolikheten för förekomst av *L. monocytogenes* i färdig ost. Det kan till exempel vara om osten upphettas i sin slutförpackning eller om tillverkningen innefattar andra processteg som påverkar förekomsten. De ostar som om möjligt bör beaktas är: philadelphiaost, mascarpone, ricotta, mozzarella, feta och halloumi.

Svar: Förekomsten av *L. monocytogenes* är vanligast i ost från opastöriserad mjölk och särskilt i vitmögel och kittostar (Loncarevic, *et al.*, 1995). I kartläggningsstudierna från 2010 var förekomsten av *L. monocytogenes* i ost låg på såväl europeisk som svensk nivå, 0,03 samt 0,04 % respektive (EFSA 2013; Nilsson & Lindblad 2011). Även om förekomsten är låg har olika typer av ostar orsakat flera utbrott eftersom tillväxtpotentialen är god med avseende på pH och en eventuell kontaminering snabbt kan växa till höga halter. Tillväxt av listeria har skett trots mjölksyrabakterier i nivåer $> 10^8$ CFU/g (Leong *et al.*, 2014). I camembert och ricotta kan listeria teoretiskt tillväxa från 0,04 till 100 CFU/g på mindre än två veckor vid 4 °C, snabbare vid högre temperaturer (figur 3ab).

I fetaost, med pH 4,6, tillväxer listeria däremot långsamt, eller inte alls, och vid 4 °C tar motsvarande tillväxt nästan tre månader (figur 3b). Enligt simuleringarna skedde en långsam tillväxt i halvhård hyvelbar ost; vid 4 °C tar det över 60 dagar för att komma upp i halter över 100 CFU/g, vid 8 °C 30 dagar (Figur 3b). Detta var baserat på en vattenaktivitet på 0,95. I vanliga fall har halvhård ost en a_w runt 0,9 (vilket inte medger tillväxt för listeria) samt ett pH i närheten av 5 vilket innebär att det inte är troligt att halvhård ost stöder tillväxt av *L. monocytogenes* ((Leong, *et al.*, 2014), figur 4). Att en överskattning av tillväxt-potentialen sker i modelleringarna har även påpekats av Food Standards Agency vilka ansåg att *risken för listeria var låg i halvhård ost och förpackad färskost*. Däremot är risken hög för vita och blågröna mögelostar samt kittost (FSA, 2006).

a. Tiden för *L. monocytogenes* att tillväxa från 0,04 till 100 CFU/g vid 4 °C är två veckor i ricotta, sju dagar i mozzarella och 26 dagar i halloumi enligt simuleringar i PMP/ComBase. Vid högre temperaturer kan samma tillväxt potentiellt ske inom en vecka (figur 3ab).

b. Färskost stöder tillväxt av *L. monocytogenes* och vid en kontamination i en förpackning kan halterna nå över gränsvärdet inom ett par veckor enligt simuleringarna (figur 3ab). Trots detta sker sällan utbrott från dessa produkter sannolikt på grund av att tillverkningsprocessen sker under strikt hygienisk kontroll där varm ostmassa (ricotta, philadelphia och mascarpone) fylls i sterila förpackningar (FSA, 2006). Vidare är pH i regel relativt lågt vilket har en tillväxthämmande effekt för listeria. Baserat på flödesscheman över produktionen sker en nedkylning av mozzarella, halloumi och feta innan förpackning (Ottoson, 2018). Mozzarella har i regel en kort hållbarhetstid (ca 10 dagar) även om det finns undantag på den svenska marknaden. Listeria-tillväxt begränsas i Feta av lågt pH (George *et al.*, 1996; Mauropoulos & Arvanitoyannis, 1999) medan salthalten har större betydelse för kontroll av Halloumi (Kourtis, 2018, personlig kontakt).

Vegetabilier

Finns det andra livsmedel än de som anges i fråga 1-3 som kan utgöra ett säkerhetsproblem med avseende på *L. monocytogenes*? I så fall vilka och hur stort är problemet?

a. Hur vanligt förekommande är *L. monocytogenes* och vad är tillväxtpotentialen i färska, djupfrysta, processade frukter och grönsaker inklusive rotfrukter?

b. Gör en tillväxtsimulering vid 4-10 °C för *L. monocytogenes* i frysta grönsaker, till exempel majs samt färskskuren frukt, till exempel melon.

Svar Listeria har påvisats i de flesta livsmedel som undersökts men sällan i halter över 100 CFU/g. En sammanställning av experimentella studier visar att listeria kan tillväxa på fler vegetabilier och enstaka utbrott orsakade av olika vegetabilier finns rapporterade bl.a.; cole-slaw, färdigförpackad sallad, alfa-alfagroddar, cantaloupe-melon, fruktsallad, och selleri (Hoelzer, *et al.*, 2012a) samt majs (EFSA, 2018).

a. I studier på olika vegetabilier har förekomster på mellan 0 och 20 % rapporterats. De högsta förekomsterna var från en dansk studie på alfa-alfagroddar och skuren förpackad sallad. I två prover var halten > 100 CFU/g (Norrung *et al.*, 1999). Hög förekomst på rädisor och potatis har rapporterats från USA, men ingen haltbestämning var gjord (Heisick *et al.*, 1989). För vegetabilier är tillväxttiden (figur 5) längre än angivna hållbarhetstider (tabell 2). Dock kan en snabb tillväxt ske under upptining av fryst majs, vilket är en produkt där det inte finns någon angiven hållbarhetstid. I de experiment där listeriatillväxt har påvisats var tiden för hundra gånger tillväxt i medel mellan 1,4 och 13 dagar för vegetabilier vid olika temperaturer (tabell 3). Den kortare tiden var från pastöriserad sparris, d.v.s. i minskad konkurrens av naturlig mikrobiota. En genomgång av utbrott orsakade av vegetabilier i USA identifierade att kontamineringen i nästan alla fall sker på anläggningen och inte i primärproduktionen (Garner & Kathariou, 2016).

b. Majs: Tiden för tillväxt från 0,04 till 100 CFU/g på majs var vid 4 °C 13 dygn och vid 10 °C drygt 4 dygn (figur 5). Tillväxthastigheten stämmer väl överens med publicerade tillväxtstudier (Hoelzer, *et al.*, 2012a) även om (Kataoka, *et al.*, 2017) uppmätte kortare lagfas än vad som erhöles i simuleringen vid temperaturer ≥ 8 °C. För fryst majs finns ingen hållbarhetstid angiven efter upptining, endast att produkten inte ska frysas på nytt.

Melon: Tiden för tillväxt från 0,04 till 100 CFU/g var vid 4 °C 11 dygn. Förvaring av melon sker dessutom ofta i butik inte i kyl och vid tio grader tar det endast tre dagar för tillväxt från detektionsgräns till gränsvärdet för listeria (figur 5). Jämfört med publicerade tillväxtförsök (tabell 3) gav dock simuleringen en till synes stor överskattning av tillväxtpotentialen. Hållbarhetstiden för skivad vattenmelon som låg framme i butik var angiven till två dagar (tabell 2).

Amning

Utred om *L. monocytogenes* kan smitta det nyfödda barnet i samband med amning.

- a. Kan bakterien överföras via bröstmjök?

Svar: Vid neonatal listerios (d.v.s. listerios hos nyfödda) smittas barnet i de flesta fall redan i livmodern och sjukdomssymptomen syns inom dagar. Dock finns det fall där sjukdomen utvecklas senare, så kallad sen neonatal listerios, där det kan dröja veckor till dess att de första symptomen syns (i snitt 14 dagar). Troligtvis har barnet i dessa fall smittats under födseln eller nosokomialt (på sjukhuset) (Posfay-Barbe *et al.*, 2009).

- a. *Listeria* kan teoretiskt överföras via bröstmjök, men sannolikheten är minimal. I litteraturen finns ett eventuellt fall beskrivet. Den aktuella artikeln (Svabic-Vlahovic, *et al.*, 1988) redovisar dock inte tillräckligt med underlag för att fastställa att smittkällan var bröstmjölken.

Osäkerhet

Resultaten är baserade på modelleringar vid bestämda pH och a_w , vilka jämfört med experimentella försök ger en överskattning av risken, så kallade ”fail-safe-värderingar”. I försöken med tillväxt under upptining av majs var dock lagfasen kortare i försöket (Kataoka *et al.*, 2017) än vad simuleringen angav vid 8 °C och uppåt. Simuleringarna utgår från olika pH, temperatur och vattenaktivitet; siffror som är hämtade från den vetenskapliga litteraturen. Dessa kan skilja sig mellan produkter och varumärken vilket innebär att de angivna tiderna i figurerna bör ses som riktmärken. Är till exempel pH 0,1 steg högre (inom intervallet 4,8 – 6,2) motsvarar det cirka 10 % förkortning av tillväxttiden (data visas inte). På motsvarande sätt ger en höjning av a_w på 0,01 (inom intervallet 0,94 – 0,99) en 23 % snabbare tillväxt enligt modellering vid samma temperatur och pH i PMP/ComBase.

Förutom med avseende på mjölksyrabakterier och andra starterkulturer i kött- och charkuteriprodukter samt ost finns det dåligt med underlag på hur mikrobiell konkurrens påverkar sannolikheten för *Listeria* att tillväxa, i synnerhet på vegetabilier. Flera studier har visat att många vegetabilier har en konkurrerande, naturlig, mikrobiota med listeriahämmande effekt (Babic, *et al.*, 1997, Schuenzel & Harrison, 2002). Huruvida det är den enskilt viktigaste faktorn för begränsning av tillväxten är dock inte klarlagt.

Referenser

- Anses (2014) EURL *Lm* technical guidance document for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, Maisons-Alfort.
- Anon (2006) *E. coli* outbreak raises questions about bagged salad. Hemsida besökt 2018-08-27, senast uppdaterad 2006-10-06. URL: https://marlerclark.com/news_events/e-coli-outbreak-raises-questions-about-bagged-salad.
- Anon (2014) HKScan återkallar kokt medwurst på grund av påvisad listeria. Framtidens kött 2014-02-08. Accessed 2018-05-18. URL: <http://framtidenskott.se/2014/02/08/hkscan-aterkallar-kokt-medwurst-pa-grund-av-pavisad-listeria/>.
- Azizoglu RO, Osborne J, Wilson S & Kathariou S (2009) Role of growth temperature in freeze-thaw tolerance of *Listeria* spp. *Appl Environ Microbiol* **75**: 5315-5320.
- Babic I, Watada A & Buta J (1997) Growth of *Listeria monocytogenes* restricted by native microorganisms and other properties of fresh-cut spinach. *J Food Prot* **60**: 912-917.
- Belessi CI, Papanikolaou S, Drosinos EH & Skandamis PN (2008) Survival and acid resistance of *Listeria innocua* in Feta cheese and yogurt, in the presence or absence of fungi. *J Food Prot* **71**: 742-749.
- Champagne CP, Laing RR, Roy D, Mafu AA & Griffiths MW (1994) Psychrotrophs in dairy products: their effects and their control. *Crit Rev Food Sci Nutr* **34**: 1-30.
- Cornelius AJ, Hudson JA & Wong TL (2008) Enumeration and growth of naturally occurring *Listeria* spp. in unpackaged ham. *Food Microbiol* **25**: 407-412.
- Cornu M, Billoir E, Bergis H, Beaufort A & Zuliani V (2011) Modeling microbial competition in food: application to the behavior of *Listeria monocytogenes* and lactic acid flora in pork meat products. *Food Microbiol* **28**: 639-647.
- DTU (2016) Food Spoilage and Safety Predictor. Accessed 2016. Last updated July 2014. Danmarks Tekniske Universitet, Lyngby. URL: <http://fssp.food.dtu.dk/>.
- EFSA (2013) Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Listeria monocytogenes* in certain ready-to-eat foods in the EU, 2010-2011 Part A: *Listeria monocytogenes* prevalence estimates. *EFSA Journal* **11**: 3241.
- EFSA (2014) Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Listeria monocytogenes* in certain ready-to-eat foods in the EU, 2010-2011 Part B: analysis of factors related to prevalence and exploring compliance. *EFSA Journal* **12**: 3810.
- EFSA (2018) Multi-country outbreak of *Listeria monocytogenes* serogroup IVb, multi-locus sequence type 6, infections probably linked to frozen corn. ECDC and EFSA Technical Report, EFSA Supporting Publication 2018:EN-1402.
- Endrikat S, Gallagher D, Pouillot R, Hicks Quesenberry H, Labarre D, Schroeder CM & Kause J (2010) A comparative risk assessment for *Listeria monocytogenes* in prepackaged versus retail-sliced deli meat. *J Food Prot* **73**: 612-619.

- EU (2015). Publication of an application pursuant to Article 50(2)(a) of Regulation (EU) No 1151/2012 of the European Parliament and the Council on quality schemes for agricultural products and foodstuff. *Official J Eur Union* **C426**:9-12.
- Farber JM & Peterkin PI (1991) *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiol Rev* **55**: 476-511.
- Farber JM & Daley E (1994) Presence and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally-contaminated meats. *Int J Food Microbiol* **22**: 33-42.
- Farber JM, Cai Y & Ross WH (1996) Predictive modeling of the growth of *Listeria monocytogenes* in CO₂ environments. *Int J Food Microbiol* **32**: 133-144.
- FDA (2018) Approximate pH of food and food products. US Food and drug administration, Washington.
- Fernandez-Salguero J, Gomez R, Carmona MA (1993) Water activity in selected high-moisture foods. *J Food Comp Anal* **6**: 364-9.
- Folkhälsomyndigheten (2016) Smittsamma sjukdomar. Sjukdomsinformation om listeriainfektion. Hemsida besökt 2016-08-22, senast uppdaterad 2016-02-03. URL: <https://www.folkhalsomyndigheten.se/smittskydd-beredskap/smittsamma-sjukdomar/listeriainfektion>.
- Franciosa G, Pourshaban M, Gianfranceschi M, et al. (1999) *Clostridium botulinum* spores and toxin in mascarpone cheese and other milk products. *J Food Prot* **62**: 867-871.
- Friesema IH, Kuiling S, van der Ende A, Heck ME, Spanjaard L & van Pelt W (2015) Risk factors for sporadic listeriosis in the Netherlands, 2008 to 2013. *Euro Surveill* **20**.
- FSA (2006) Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in UK retail cheese. Food Standards Agency, London.
- Garner D & Kathariou S (2016) Fresh Produce-Associated Listeriosis Outbreaks, Sources of Concern, Teachable Moments, and Insights. *J Food Prot* **79**: 337-344.
- George SM, Richardson LC & Peck MW (1996) Predictive models of the effect of temperature, pH and acetic and lactic acids on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol* **32**: 73-90.
- Gianfranceschi M, Gattuso A, Fiore A, D'Ottavio MC, Casale M, Palumbo A & Aureli P (2006) Survival of *Listeria monocytogenes* in uncooked Italian dry sausage (salami). *J Food Prot* **69**: 1533-1538.
- Gimenez B & Dalgaard P (2004) Modelling and predicting the simultaneous growth of *Listeria monocytogenes* and spoilage micro-organisms in cold-smoked salmon. *J Appl Microbiol* **96**: 96-109.
- Glass KA & Doyle MP (1989) Fate of *Listeria monocytogenes* in processed meat products during refrigerated storage. *Appl Environ Microbiol* **55**: 1565-1569.
- Godshall CE, Suh G & Lorber B (2013) Cutaneous listeriosis. *J Clin Microbiol* **51**: 3591-3596.
- Gombas DE, Chen Y, Clavero RS & Scott VN (2003) Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. *J Food Prot* **66**: 559-569.
- Goulet V, Hebert M, Hedberg C, Laurent E, Vaillant V, De Valk H, Desenclos JC. (2012). Incidence of listeriosis and related mortality among groups at risk of acquiring listeriosis. *Clin Infect Dis*. **54**(5):652-60.

- Goulet V, King LA, Vaillant V & de Valk H (2013) What is the incubation period for listeriosis? *BMC Infect Dis* **13**: 11.
- Greenwood MH, Roberts D & Burden P (1991) The occurrence of *Listeria* species in milk and dairy products: a national survey in England and Wales. *Int J Food Microbiol* **12**: 197-206.
- Guinee TP, Feeney EP, Auty MA & Fox PF (2002) Effect of pH and calcium concentration on some textural and functional properties of mozzarella cheese. *J Dairy Sci* **85**: 1655-1669.
- Hanning IB, Johnson MG & Ricke SC (2008) Precut prepackaged lettuce: a risk for listeriosis? *Foodborne Pathog Dis* **5**: 731-746.
- Harrison WA, Peters AC & Fielding LM (2000) Growth of *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* colonies under modified atmospheres at 4 and 8 degrees C using a model food system. *J Appl Microbiol* **88**: 38-43.
- Heisick JE, Wagner DE, Nierman ML & Peeler JT (1989) *Listeria* spp. found on fresh market produce. *Appl Environ Microbiol* **55**: 1925-1927.
- Hoelzer K, Pouillot R & Dennis S (2012a) *Listeria monocytogenes* growth dynamics on produce: a review of the available data for predictive modeling. *Foodborne Pathog Dis* **9**: 661-673.
- Hoelzer K, Pouillot R, Gallagher D, Silverman MB, Kause J & Dennis S (2012b) Estimation of *Listeria monocytogenes* transfer coefficients and efficacy of bacterial removal through cleaning and sanitation. *Int J Food Microbiol* **157**: 267-277.
- Hwang CA (2007) Effect of salt, smoke compound, and storage temperature on the growth of *Listeria monocytogenes* in simulated smoked salmon. *J Food Prot* **70**: 2321-2328.
- Hwang CA & Tamplin ML (2007) Modeling the lag phase and growth rate of *Listeria monocytogenes* in ground ham containing sodium lactate and sodium diacetate at various storage temperatures. *J Food Sci* **72**: M246-253.
- Iannetti L, Acciari VA, Antoci S, *et al.* (2016) *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods in Italy: Prevalence of contamination at retail and characterisation of strains from meat products and cheese. *Food Control* **68**: 55-61.
- Ivarsson, S (2010) *Listeria* bland gravida kvinnor i Sverige. Smittskyddsinstitutets Rapportserie nr. 3 2010, Solna.
- Johannessen GS, Loncarevic S & Kruse H (2002) Bacteriological analysis of fresh produce in Norway. *Int J Food Microbiol* **77**: 199-204.
- Kataoka A, Wang H, Elliott PH, Whiting RC & Hayman MM (2017) Growth of *Listeria monocytogenes* in thawed frozen foods. *J Food Prot* **80**: 447-453.
- Kerouanton A, Marault M, Petit L, Grout J, Dao TT & Brisabois A (2010) Evaluation of a multiplex PCR assay as an alternative method for *Listeria monocytogenes* serotyping. *J Microbiol Methods* **80**: 134-137.
- Kindstedt P & Kosikowski F (1984) Measurement of Sodium Chloride in Cheese by a Simple Sodium Ion Electrode Method. *J Dairy Sci* **67**.
- Kourtis, C. (2018). Christos Kourtis, ckourtis@sgl.moh.gov.cy, Personlig kommentar.
- Laureati M, Buratti S, Giovanelli G, Corazzin M, Lo Fiego DP & Pagliarini E (2014) Characterization and differentiation of Italian Parma, San Daniele and Toscano dry-cured hams: a multi-disciplinary approach. *Meat Sci* **96**: 288-294.

- Leong WM, Geier R, Engstrom S, Ingham S, Ingham B & Smukowski M (2014) Growth of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7, and *Staphylococcus aureus* on cheese during extended storage at 25 degrees C. *J Food Prot* **77**: 1275-1288.
- Lindblad M & Flink C (2017) *Listeria monocytogenes* i kallrökt eller gravad fisk och skivade charkprodukter – Samordnat kontrollprojekt 2016. Livsmedelsverkets rapport 31-2017. Uppsala.
- Little CL, Pires SM, Gillespie IA, Grant K & Nichols GL (2010) Attribution of human *Listeria monocytogenes* infections in England and Wales to ready-to-eat food sources placed on the market: adaptation of the Hald Salmonella source attribution model. *Foodborne Pathog Dis* **7**: 749-756.
- Livsmedelsverket (2018) Livsmedelsdatabasen. Accessed 2018-04-15. Livsmedelsverket, Uppsala. URL: <http://www7.slv.se/SokNaringsinnehall>.
- Lomonaco S, Nucera D & Filipello V (2015) The evolution and epidemiology of *Listeria monocytogenes* in Europe and the United States. *Infect Genet Evol* **35**: 172-183.
- Loncarevic S, Danielsson-Tham ML & Tham W (1995) Occurrence of *Listeria monocytogenes* in soft and semi-soft cheeses in retail outlets in Sweden. *Int J Food Microbiol* **26**: 245-250
- Loncarevic S, Danielsson-Tham ML, Martensson L, Ringner A, Runehagen A & Tham W (1997) A case of foodborne listeriosis in Sweden. *Lett Appl Microbiol* **24**: 65-68.
- Lungu B, O'Bryan CA, Muthaiyan A, Milillo SR, Johnson MG, Crandall PG & Ricke SC (2011) *Listeria monocytogenes*: antibiotic resistance in food production. *Foodborne Pathog Dis* **8**: 569-578.
- Luo K, Hong SS, Wang J, Chung MJ & Deog-Hwan O (2015) Development of Predictive Models for the Growth Kinetics of *Listeria monocytogenes* on Fresh Pork under Different Storage Temperatures. *J Food Prot* **78**: 921-926.
- Maertens de Noordhout C, Devleeschauwer B, Angulo FJ, *et al.* (2014) The global burden of listeriosis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* **14**: 1073-1082.
- Magalhaes R, Almeida G, Ferreira V, *et al.* (2015) Cheese-related listeriosis outbreak, Portugal, March 2009 to February 2012. *Euro Surveill* **20**.
- Martino, KG, Marks BP, Campos DT, Tamplin ML. (2005). Quantifying the robustness of a broth-based model for predicting *Listeria monocytogenes* growth in meat and poultry products. *J Food Prot.* 68(11):2310-6
- Marcos A (1993) Water activity in cheese in relation to composition, stability and safety. *Cheese: chemistry, physics and microbiology*, Vol 2 (Fox P, ed.), 439-469. Chapman and Hall, London.
- Mataragas M, Zwietering MH, Skandamis PN & Drosinos EH (2010) Quantitative microbiological risk assessment as a tool to obtain useful information for risk managers--specific application to *Listeria monocytogenes* and ready-to-eat meat products. *Int J Food Microbiol* **141 Suppl 1**: S170-179.
- Mauropoulos AA & Arvanitoyannis IS (1999) Implementation of hazard analysis critical control point to Feta and Manouri cheese production lines. *Food Control* **10**: 213-219.
- Maury MM, Tsai YH, Charlier C, *et al.* (2016) Uncovering *Listeria monocytogenes* hypervirulence by harnessing its biodiversity. *Nat Genet.* **48**(3): 308-13.
- Mellefont LA, McMeekin TA & Ross T (2008) Effect of relative inoculum concentration on *Listeria monocytogenes* growth in co-culture. *Int J Food Microbiol* **121**: 157-168.

- Miller AJ (1992) Combined Water Activity and Solute Effects on Growth and Survival of *Listeria monocytogenes* Scott A. *Journal of Food Protection* **55**: 414-418.
- Nilsson C & Lindblad M (2011) *Listeria monocytogenes* i kyld och ätfärdig mat. Livsmedelsverket, Uppsala.
- Norrung B, Andersen JK & Schlundt J (1999) Incidence and control of *Listeria monocytogenes* in foods in Denmark. *Int J Food Microbiol* **53**: 195-203.
- Nyarko EB & Donnelly CW (2015) *Listeria monocytogenes*: Strain Heterogeneity, Methods, and Challenges of Subtyping. *J Food Sci*.
- Orozco L (2000) The occurrence of *Listeria monocytogenes* and microbiological quality of cold smoked and gravad fish on the Icelandic retail market. Thesis.
- Ostergaard NB, Eklow A & Dalgaard P (2014) Modelling the effect of lactic acid bacteria from starter- and aroma culture on growth of *Listeria monocytogenes* in cottage cheese. *Int J Food Microbiol* **188**: 15-25.
- Ottoson, J (2018) Vetenskapligt underlag. Förekomst och tillväxt av *Listeria monocytogenes* - Kompletterande frågor. Ärnede RN21_2018, Dnr. 2015/08087.
- Parisi A, Latorre L, Normanno G, Miccolupo A, Fraccalvieri R, Lorusso V & Santagada G (2010) Amplified Fragment Length Polymorphism and Multi-Locus Sequence Typing for high-resolution genotyping of *Listeria monocytogenes* from foods and the environment. *Food Microbiol* **27**: 101-108.
- Pearce LE, Smythe BW, Crawford RA, Oakley E, Hathaway SC & Shepherd JM (2012) Pasteurization of milk: the heat inactivation kinetics of milk-borne dairy pathogens under commercial-type conditions of turbulent flow. *J Dairy Sci* **95**: 20-35.
- Piyasena P, Liou S & McKellar RC (1998) Predictive modelling of inactivation of *Listeria* spp. in bovine milk during high-temperature short-time pasteurization. *Int J Food Microbiol* **39**: 167-173.
- Porto-Fett AC, Campano SG, Shoyer BA, Wadsworth S & Luchansky JB (2014) Viability of *Listeria monocytogenes* on uncured turkey breast commercially prepared with and without buffered vinegar during extended storage at 4 and 10 degrees C. *J Food Prot* **77**: 987-992.
- Porto-Fett ACS, Campano SG, Rieker M, *et al.* (2018) Behavior of *Listeria monocytogenes* on mortadella formulated using a natural, clean-label antimicrobial agent during extended storage at 4 or 12 degrees C. *J Food Prot* **81**:769-775.
- Posfay-Barbe KM & Wald ER (2009) Listeriosis. *Semin Fetal Neonatal Med* **14**: 228-233.
- Pouillot R, Hoelzer K, Chen Y & Dennis SB (2015) *Listeria monocytogenes* dose response revisited - incorporating adjustments for variability in strain virulence and host susceptibility. *Risk Anal* **35**: 90-108.
- Pouillot R, Gallagher D, Tang J, Hoelzer K, Kause J & Dennis SB (2015) *Listeria monocytogenes* in Retail Delicatessens: an Interagency Risk Assessment-model and baseline results. *J Food Prot* **78**: 134-145.
- Poulsen KP, Pillers DM, Conway JH, Faith NG & Czuprynski CJ (2013) Post-parturient shedding of *Listeria monocytogenes* in breast milk of infected mice. [corrected]. *J Neonatal Perinatal Med* **6**: 145-151.

- Pradhan AK, Ivanek R, Grohn YT, Bukowski R, Geornaras I, Sofos JN & Wiedmann M (2010) Quantitative risk assessment of listeriosis-associated deaths due to *Listeria monocytogenes* contamination of deli meats originating from manufacture and retail. *J Food Prot* **73**: 620-630.
- Prencipe V, Migliorati G, Matteucci O, Calistri P & Di Giannatale E (2010) Assessment of hygienic quality of some types of cheese sampled from retail outlets. *Vet Ital* **46**: 221-231, 233-242.
- Rüegg M (1985) Water in dairy products related to quality, with special reference to cheese. *Properties of water in foods*, (Simatos D & Multon J, ed.), Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht.
- Rundqvist A-K (2015) Konsistensförbättring av skivad salami och hushållsmedwurst på Siljans Chark AB. MSc Thesis, Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala.
- Sant'Ana AS, Landgraf M, Destro MT & Franco BD (2013) Growth potential of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat lettuce and collard greens packaged under modified atmosphere and in perforated film. *J Food Prot* **76**: 888-891.
- Schuenzel KM & Harrison MA (2002) Microbial antagonists of foodborne pathogens on fresh, minimally processed vegetables. *J Food Prot* **65**: 1909-1915.
- Self JL, Conrad A, Stroika S, *et al.* (2016) Notes from the field: Outbreak of listeriosis associated with consumption of packaged salad - United States and Canada, 2015-2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* **65**: 879-881.
- Simpson Beauchamp C, Byelashov OA, Geornaras I, *et al.* (2010) Fate of *Listeria monocytogenes* during freezing, thawing and home storage of frankfurters. *Food Microbiol* **27**: 144-149.
- Skjerdal T, Reitehaug E & Eckner K (2014) Development of performance objectives for *Listeria monocytogenes* contaminated salmon (*Salmo salar*) intended used as sushi and sashimi based on analyses of naturally contaminated samples. *Int J Food Microbiol* **184**: 8-13.
- Socialstyrelsen (2013) Infektion med *Listeria monocytogenes* - ett nationellt strategidokument. Socialstyrelsen, Smittskyddsinstitutet, Livsmedelsverket, Statens veterinärmedicinska anstalt, Jordbruksverket, Stockholm.
- Solna Stad (2007) Kontroll av Sushiresaturanger. Solna.
- SVA (2016) Sjukdomsframkallande bakterier i opastöriserad mjölk. Hemsida besökt 2016-08-22, senast uppdaterad 2013-10-04. URL: <http://www.sva.se/om-sva/pressrum/nyheter-fran-sva/sjukdomsframkallande-bakterier-i-opastoriserad-mjolk>.
- Svabic-Vlahovic M, Pantic D, Pavicic M & Bryner JH (1988) Transmission of *Listeria monocytogenes* from mother's milk to her baby and to puppies. *Lancet* **2**: 1201.
- Swaminathan B & Gerner-Smidt P (2007) The epidemiology of human listeriosis. *Microbes Infect* **9**: 1236-1243.
- Tang S, Orsi RH, den Bakker HC, Wiedmann M, Boor KJ & Bergholz TM (2015) Transcriptomic Analysis of the Adaptation of *Listeria monocytogenes* to Growth on Vacuum-Packed Cold Smoked Salmon. *Appl Environ Microbiol* **81**: 6812-6824.
- Trani A, Gambacorta G, Loizzo P, *et al.* (2010) Biochemical traits of Ciauscolo, a spreadable typical Italian dry-cured sausage. *J Food Sci* **75**: C514-524.
- Tsigarida E, Skandamis P & Nychas GJ (2000) Behaviour of *Listeria monocytogenes* and autochthonous flora on meat stored under aerobic, vacuum and modified atmosphere packaging conditions with or without the presence of oregano essential oil at 5 degrees C. *J Appl Microbiol* **89**: 901-909.

- USDA (2018a) Pathogen Modeling Program (PMP) Online. United States Department of Agriculture. Accessed 2018-09-11. Washington. URL: <https://pmp.errc.ars.usda.gov/PMPOnline.aspx>.
- USDA (2018b) ComBase predictive models. United States Department of Agriculture and University of Tasmania. Accessed 2018-09-11 URL: <http://www.combase.cc/index.php/en/>.
- Van Stelten A, Simpson JM, Ward TJ & Nightingale KK (2010) Revelation by single-nucleotide polymorphism genotyping that mutations leading to a premature stop codon in *inlA* are common among *Listeria monocytogenes* isolates from ready-to-eat foods but not human listeriosis cases. *Appl Environ Microbiol* **76**: 2783-2790.
- Vergheze B, Lok M, Wen J, Alessandria V, Chen Y, Kathariou S & Knabel S (2011) *ComK* prophage junction fragments as markers for *Listeria monocytogenes* genotypes unique to individual meat and poultry processing plants and a model for rapid niche-specific adaptation, biofilm formation, and persistence. *Appl Environ Microbiol* **77**: 3279-3292.
- Vitas AI & Garcia-Jalon VA (2004) Occurrence of *Listeria monocytogenes* in fresh and processed foods in Navarra (Spain). *Int J Food Microbiol* **90**: 349-356.
- Wang P, Chen Y, Wang H1, Yang S, Xu Y, Li T (2015). A clinical analysis of 16 patients with maternal listeriosis. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*. 54(9):763-7. [Article in Chinese].
- Westöö A (2008) Bakterier och parasiter vid graviditet - Vetenskapligt underlag inför revideringen av Livsmedelsverkets kostråd för gravida och ammande. Livsmedelsverket, Uppsala.
- WHO (2004) *Risk assessment of Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods*. World Health Organisation, Geneva.
- WHO (2018a) Listeriosis – South Africa. Accessed 2018-05-21. Last update 2018-03-28. World Health Organisation, Geneva. URL: <http://www.who.int/csr/don/28-march-2018-listeriosis-south-africa/en/>.
- WHO (2018b) Listeriosis – Australia. Accessed 2018-05-21. Last update 2018-04-09. World Health Organisation, Geneva. URL: <http://www.who.int/csr/don/09-april-2018-listeriosis-australia/en/>.
- Zhang L, Moosekian SR, Todd EC & Ryser ET (2012) Growth of *Listeria monocytogenes* in different retail delicatessen meats during simulated home storage. *J Food Prot* **75**: 896-905.

Denna rapport är ett vetenskapligt underlag om *Listeria monocytogenes*, en bakterie som orsakar sjukdomen listerios, vilket är en allvarlig sjukdom med hög dödlighet. Rapporten behandlar förekomsten och tillväxten av *L. monocytogenes* i ätbara livsmedel: gravad och rökt fisk, smörgåspålägg, ost och vegetabilier. Avsikten är att uppskatta i vilka livsmedel listeriabakterien inom hållbarhetstiden kan tillväxa till halter över de mikrobiologiska gränsvärden som är satta i syfte att minska risken för konsumenter att bli sjuka i listerios från ätbar mat.

Rapporten är skriven på förfrågan från avdelningen hållbara matvanor som behöver detta underlag för att kunna ge råd till konsumenter i allmänhet och specifika riskgrupper i synnerhet.

Livsmedelsverket är Sveriges expert- och centrala kontrollmyndighet på livsmedelsområdet. Vi arbetar för säker mat och bra dricksvatten, att ingen konsument ska bli lurad om vad maten innehåller och för bra matvanor. Det är vårt recept på matglädje.