

Inaktivering av bakterier, parasiter och virus

Riskvärderingsrapport

av Karin Nyberg

Innehåll

Förord	4
Sammanfattning	5
Summary.....	6
Inledning	7
Övergripande frågeställning	7
Specifika frågor	7
Metodik	8
Söksträngar	8
Faroidentifiering	9
Bakterier	9
Parasiter.....	9
Fiskparasiter	9
Toxoplasma.....	10
Virus.....	10
Farokarakterisering.....	12
Bakterier	12
Campylobacter spp.....	12
Clostridium botulinum.....	12
Listeria monocytogenes.....	12
Salmonella spp.....	12
STEC	13
Parasiter.....	13
Anisakis simplex – spiralmask.....	13
Diphyllobothrium latum - fiskbinnikemask	13
Pseudoterranova decipiens – torskmask	13
Toxoplasma gondii.....	13
Virus.....	14
Norovirus	14
Exponeringsuppskattning	15
Upphettning.....	15
Inaktivering av bakterier genom upphettning	15
Inaktivering av fiskparasiter genom upphettning	23
Inaktivering av Toxoplasma gondii genom upphettning.....	23
Inaktivering av virus genom upphettning	24
Frysning.....	25
Inaktivering av bakterier genom frysning	25
Inaktivering av fiskparasiter genom frysning	26
Inaktivering av Toxoplasma genom frysning.....	26
Sänkning av vattenaktiviteten	27

Inaktivering av fiskparasiter genom saltning.....	28
Inaktivering av Toxoplasma genom saltning	28
Inaktivering av Toxoplasma genom rökning	29
Risikkaraktisering	30
Fråga 1. Värmeinaktivering av bakterier	30
Svar om värmeinaktivering av bakterier	30
Fråga 2. Inaktivering av fiskparasiter.....	32
Svar om inaktivering av fiskparasiter	32
Fråga 3. Inaktivering av Toxoplasma	34
Svar om inaktivering av Toxoplasma	34
Fråga 4. Inaktivering av norovirus i hallon	35
Svar om inaktivering av norovirus i hallon	35
Referenser	36

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 3-2017 om inaktivering av bakterier, parasiter och virus består av två delar, där del 1 är en riskhanteringsrapport och del 2 är en oberoende riskvärdering eller kunskapsöversikt.

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: Karin Nyberg, mikrobiolog, Roland Lindqvist, mikrobiolog och Mia Egervärn, mikrobiolog.

Livsmedelverket, november 2017

Sammanfattning

Förtäring av råa eller otillräckligt tillagade livsmedel kan leda till infektion om livsmedlet innehåller sjukdomsframkallande mikroorganismer. För att undvika matförgiftning kan livsmedlet behandlas genom olika metoder med syfte att avdöda oönskade mikroorganismer. I detta vetenskapliga underlag besvaras frågor rörande inaktivering av bakterier, parasiter och virus i olika livsmedel genom olika metoder såsom upphettning och frysning samt metoder som sänker vattenaktiviteten såsom saltning, rökning och gravning.

Olika inaktiveringsmetoder skiljer sig i effektivitet beroende på vilken typ av mikroorganism som ska avdödas. Så till exempel är upphettning ofta ett bra sätt att avdöda bakterier, medan frysning fungerar väl mot parasiter. Virus däremot är tåligare än bakterier avseende upphettning, och klarar också frystemperaturer bra. Inaktivering sker inte direkt, utan som en funktion av avdödande parameter och tid. För inaktivering genom upphettning eller frysning är således en förutsättning att tillräckligt höga respektive låga temperaturer uppnås i hela den livsmedelsprodukt som behandlas, och att denna temperatur upprätthålls under tillräckligt lång tid. Generellt sett så dör mikroorganismer fortare vid högre respektive lägre temperaturer. Det sker dock inaktivering även under upphettnings- respektive nedkylningstiden, som kan påverka den slutgiltiga tiden.

Livsmedlets egenskaper kan också påverka hur effektiva olika inaktiveringsmetoder är. Men det är svårt att dra generella slutsatser, eftersom det ofta är stor variation mellan olika studier. När det gäller bakterier och upphettning har variationen mellan studier visat sig ofta överskugga den eventuella påverkan som livsmedlens egenskaper har. En låg fukthalt och en hög fetthalt är två livsmedelsfaktorer som ökar motståndskraften mot upphettning hos bakterier. För inaktivering av parasiter i fisk och virus finns det inte så mycket litteratur om påverkan av livsmedlens sammansättning.

Summary

Consumption of raw or insufficiently prepared food can lead to infections if the food contains disease-causing microorganisms. This scientific report presents the efficiency of different methods for inactivation of bacteria, parasites, and viruses in food. Methods in focus are heating, freezing, salting, smoking and gravning. Depending on the type of microorganism different methods have different efficiencies. For example, heating is often a good method for reducing bacteria in food, while freezing is efficient for most parasites. Viruses, on the other hand, are often more tolerant than other types of microorganisms to both heating and freezing.

The composition of the food can affect the efficiency of different pathogen inactivation methods. For instance, low moisture content and a high fat content are two factors that have been shown to increase the resistance of bacteria to heat. However, it is difficult to draw general conclusions in this regard because great variability is often associated with the results presented in the scientific literature, e.g., due to differences in the strain of the microorganism and to differences in experimental methodologies. For parasites and viruses, there is a lack of studies on the impact of food composition on inactivation.

Inledning

Matförgiftning med symtom främst från mag-tarmkanalen orsakas av att maten som ätits innehåller sjukdomsframkallande mikroorganismer (bakterier, virus eller parasiter) eller giftiga ämnen (toxiner). För att minska risken att livsmedel orsakar matförgiftning finns en rad olika behandlingsmetoder. Dessa metoder används också för att förlänga hållbarheten hos livsmedel, i och med att mikroorganismer avdödas eller förhindras att växa till.

Övergripande frågeställning

Detta vetenskapliga underlag tar upp olika metoder för inaktivering av ett urval sjukdomsframkallande mikroorganismer som kan förekomma i livsmedel.

Specifika frågor

1. Sammanställ aktuella tid-temperaturdata (D-värden) för värmeinaktivering av olika sjukdomsframkallande bakterier i ett fettriikt, ett halv- eller helflytande samt ett magert livsmedel, t. ex majonnäs, kötsoppa/kött gryta och spenat. Det går bra att ange ett ”worst case” scenario. Ange, om möjligt svaret i diagramform. Samt:
 - a. Hur kan inaktivering skilja sig för samma bakterie i olika livsmedel (se exempel ovan) vid en och samma temperatur? Vilka faktorer, till exempel skillnad mellan stammar, egenskaper hos olika livsmedel och i vilken miljö bakterien tidigare befunnit sig i, kan påverka värmetåligheten hos *Campylobacter* och eventuella andra sjukdomsframkallande bakterier?
 - b. Finns det risk att konsumenter blir sjuka av *Campylobacter* i kycklingkött som värmts upp till en kärntemperatur av 70 °C? I så fall hur stor är den risken? Utgå från aktuell föroreningsgrad av *Campylobacter* på svensk kyckling och en tillagningstid på 15 sekunder samt 1, 2 och 5 minuter. Räkna med att det sker en viss avdödning även under uppvärmningstiden. Hur stor skillnad i avdödningstid är det för samma föroreningsgrad om kärntemperaturen är 71 °C respektive 72 °C istället för 70 °C?
 - c. EHEC: De flesta konsumenter använder inte termometer vid tillagning av hamburgare, köttfärsbiffar eller köttbullar. Hur ska konsumenten då kunna avgöra när till exempel en hamburgare är säker? Är det befintliga rådet att genomsteka och eller att undvika rosa köttfärs tillräckligt för att avdöda EHEC? Hur vet konsumenten att hamburgaren är genomstekt? Kan EHEC överleva i en hamburgare som är ljusbrun i kärnan och kan det vara så att EHEC har dött även om köttfärsen är rosa?

2. I många recept anges betydligt lägre temperaturer än 60 °C vid tillagning av fisk, till exempel 47 – 56 °C beroende på fiskart. Varmare temperaturer anses göra fisken torr.
 - a. Hur påverkas inaktivering av parasiter i färsk ofrusen fisk vid tillagning vid olika tillagningstemperaturer, till exempel 47 – 65 °C. Ta hänsyn till typ av parasit.
 - b. Inaktivering genom saltning: Vid vilka saltkoncentrationer dör fiskparasiter?
 - c. Inaktivering genom frysning: Är det befintliga rådet att frysa fisk i tre dygn lagom eller onödigt länge för fisk som ska ätas rå, gravas, lättmarineras eller kallrökas? Ta fram och sammanställ data på inaktivering av olika parasiter vid frysning, gärna i tabellform.
3. Ta fram och sammanställ förekomst-data av Toxoplasma i olika livsmedel samt data för inaktivering av Toxoplasmas vävnadscystor avseende:
 - a. Värmebehandling vid tillagning (temperatur– tid).
 - b. Frysning (temperatur– tid)
 - c. Gravning
 - d. Torkning
 - e. Kall- och varmrökning
4. Se över och uppdatera temperaturdata för värmeinaktivering av norovirus i hallon. Är det fortfarande enbart vid tid-temperaturkombinationen 1 minut vid 100 °C som med säkerhet inaktiverar viruset eller kan längre tider vid lägre temperaturer ge en tillfredställande inaktivering?

Metodik

Detta vetenskapliga underlag bygger på data från litteraturen och till viss del på egen bearbetning av data som tagits fram i publicerade studier.

Söksträngar

(EHEC OR Escherichia coli OR campylobacter OR listeria) AND inactivation AND (temperature OR heat)
(bacteria OR parasites) AND (food OR foodborn OR foodborne) AND inactivation AND review
toxoplasma AND inactivation AND food
raspberry AND virus AND inactivation

Faroidentifiering

Bakterier

Av bakterier har en sporbildande och toxinbildande bakterie valts; *Clostridium botulinum*, två bakterier som kan orsaka sjukdom vid konsumtion av små mängder; *Campylobacter* spp. och shigatoxinbildande *Escherichia coli* (STEC), samt två bakterier som oftast orsakar sjukdom vid högre mängd och i sådant fall måste växa till i livsmedlet; *Salmonella* spp. och *Listeria monocytogenes*.

Clostridium botulinum är en sporbildande bakterie som finns naturligt i jord, som växer i syrefria miljöer och då kan producera det mycket potenta botulinumtoxinet. Bakterien delas in i tre grupper (I-III), varav *Clostridium botulinum* grupp I och II kan bilda toxin som orsakar botulism hos människor. *Clostridium botulinum* grupp II skiljer sig från grupp I genom att kunna växa och bilda toxin ner till 3 °C, och därmed vara ett problem i kylvaror (Adams and Moss, 2008). *Campylobacter* spp., STEC och *Salmonella* spp. är bakterier som kan finnas naturligt i tarmen hos djur, och som sprids med avföring. *Listeria monocytogenes* är en bakterie som finns naturligt i miljön. *Listeria* kan växa vid låga temperaturer och kan därmed potentiellt orsaka problem i kylvaror.

Parasiter

Av parasiter har tre fiskparasiter valts; *Anisakis simplex* (spiralmask), *Pseudoterranova decipiens* (torskmask) och *Diphyllobothrium latum* (fiskbinnikemask), samt en encellig parasit (protozo) som kan finnas i kött eller avföringsförorenade livsmedel; *Toxoplasma gondii*.

Fiskparasiter

Anisakis simplex, eller spiralmask, är en fiskparasit av typen rundmaskar som kan finnas i fisk från salta vatten, till exempel längs Västkusten, och även i Östersjön. Spiralmaskens larver kan ofta hittas i bukhålan hos havsfisk som sill, makrill och torsk, men kan även påvisas i fiskens muskulatur (Anonym, 2016b). Larverna är ljusa, 1-4 centimeter långa och ligger ofta hoprullade i en spiral. Parasiten *Pseudoterranova decipiens*, eller torskmask, är också av typen rundmaskar. Torskmasken kan infektera ett flertal olika fiskarter, men är vanligast i bland annat i torsk, och kan finnas i hela fiskfilén. I svenska vatten förekommer den i Skagerack, Kattegatt, Öresund och Östersjön, men är vanligast runt Skånes och Blekinges kuster (Anonym, 2016b). Fiskbinnikemasken, *Diphyllobothrium latum*, är en parasit av typen bandmask som i Sverige kan finnas i vilda sötvattensfiskar som gädda, abborre och lake. Den förekommer också i bräckta vatten, såsom i Bottniska viken. I fisk hittar man parasitlarven fritt liggande i muskulatur, lever eller i bukhålan (Anonym, 2016b).

Toxoplasma

Toxoplasma gondii är en protozo som har katter som huvudvärd vilket betyder att det endast är katter som kan utsöndra oocystor, det vill säga parasitägg, i sin avföring. *Toxoplasma gondii* kan dock infektera andra djurarter inklusive människa (Jones and Dubey, 2012). Parasiten kan förekomma i många olika djurslag, men främst i gris samt får och get (EFSA and ECDC, 2015) samt i vilda djur såsom hare, älg, rådjur och vildsvin (Anonym, 2016c). Parasiten bildar så kallade vävnadscystor i olika organ eller i muskulatur (Tenter et al., 2000). Parasiten smittar via konsumtion av otillräckligt tillagat kött som innehåller vävnadscystor eller via vegetabilier och vatten som förorenats med avföring, till exempel avföringsförorenad jord eller bevattningsvatten. Smitta kan också spridas via direkt kontakt med avföring från en infekterad katt eller via jord som förorenats med kattavföring.

I tabell 1 visas en sammanställning av resultat från litteraturen på förekomst av *Toxoplasma gondii* i olika livsmedelsproducerande djur. En vanlig metod som används vid undersökningar om förekomst av toxoplasma är att leta efter antikroppar mot parasiten i serum (seroprevalens). Det ger en indirekt indikation på toxoplasmainfektion. Det bör noteras att det saknas standardiserade metoder för att påvisa seroprevalens av *Toxoplasma gondii*, vilket gör det svårt att jämföra data från olika studier (Tenter et al., 2000). Prevalensen kan dessutom skilja sig över tid, och beroende av åldern på de djur som testas (Tenter et al., 2000). Det har visats att äldre vildsvin och gris har högre seroprevalens än yngre djur (Halová et al., 2013; Wallander et al., 2015).

Ett stort sammarbetsprojekt om *Toxoplasma gondii* som har utförts på beställning av Efsa har bland annat visat att det finns vissa problem med att använda seroprevalens som mått på förekomst gällande *Toxoplasma gondii* (Opsteegh et al., 2016). Resultaten från denna studie visade att korrelationen mellan positivt utslag i serologiskt test och sannolikheten att påvisa vävnadscystor i kroppsvävnader kan skilja sig mellan djurslag (Opsteegh et al., 2016). För nötkreatur var korrelationen mellan positivt seroprevalensresultat och förekomst av vävnadscystor låg medan det för gris och kyckling finns en tydligare korrelation (Opsteegh et al., 2016). Detta exemplifieras genom att de höga värden för seroprevalens för nöt som Opsteegh et al. (2016) visat från Storbritannien (13%), Rumänien (33%) och Nederländerna (24%) inte korrelerar till det faktiskt påvisade antalet vävnadscystor hos djuren, som var Storbritannien (0%), Rumänien (0%) och Nederländerna (2%).

Virus

Det virus som valts är norovirus, som är ett virus inom gruppen calicivirus och är vanligt förekommande i hela världen. Norovirus finns i avföring och kräkningar från smittade personer och i avloppsvatten. Norovirus kan också spridas med mat som blivit förorenad antingen genom överföring av virus från en smittbärande person i samband med hantering eller att livsmedlet någon gång under produktionen kommit i kontakt med vatten som förorenats med avloppsvatten. Bufféer, smörgåsbord och mat som inte behöver värmas är vanliga smittkällor vid utbrott. Livsmedel som vi äter råa eller endast lätt upphettade, exempelvis bär (främst frysta utländska hallon), grönsaker och ostron är också en vanlig källa till utbrott av norovirus.

Tabell 1. Seroprevalensdata från olika publicerade studier om förekomst av *Toxoplasma gondii* i livsmedels-producerande djur.

Djur	Land	Källa	Prov (st)	Andel positiva (%)	Korr ^a	Referens
Gris	Sverige ^b	Slakt	599	16	Hög	(Uggla and Hjort, 1984)
	Sverige ^b	Slakt	695	3,3	Hög	(Lundén et al., 2002)
	Sverige ^b	Slakt	362	1	Hög	(Wallander et al., 2016)
	Sverige ^c	Slakt	646	8	Hög	(Wallander et al., 2016)
	Finland ^d	Slakt	1847	2,5	Hög	(Hirvelä-Koski, 1992)
	Irland ^{d,e}	Slakt	317	4,7	Hög	(Halová et al., 2013)
	Irland ^{d,g}	Slakt	317	4,7	Hög	(Halová et al., 2013)
	Lettland ^e	Slakt	803	4,2	Hög	(Deksne and Kirjušina, 2013)
	Lettland ^c	Slakt	-	6,2	Hög	(Deksne and Kirjušina, 2013)
	Schweiz ^e	Slakt	270	23,3	Hög	(Berger-Schoch et al., 2011)
	Schweiz ^b	Slakt	50	14	Hög	(Berger-Schoch et al., 2011)
	Schweiz ^c	Slakt	100	13	Hög	(Berger-Schoch et al., 2011)
	USA ^d	Slakt	1000	17	Hög	(Dubey et al., 1995)
	USA ^d	Butik	2094	0,3	Hög	(Dubey et al., 1995)
	England	Gård	2071	6,3	Hög	(Opsteegh et al., 2016)
	Frankrike	Slakt	1549	4,5	Hög	(Opsteegh et al., 2016)
	EU ^d		2557	9,7	Hög	(EFSA and ECDC, 2015)
	Vildsvin	Sverige ^e	Vilt	1327	49,5	-
Sverige ^f		Vilt	275	34	-	(Wallander et al., 2015)
Sverige ^g		Vilt	205	55	-	(Wallander et al., 2015)
Belgien		Vilt	973	24,4	-	(Opsteegh et al., 2011)
Lettland		Vilt	606	33,2	-	(Deksne and Kirjušina, 2013)
Schweiz		Vilt	150	6,7	-	(Berger-Schoch et al., 2011)
Nöt	Schweiz	Slakt	406	45,6	Låg	(Berger-Schoch et al., 2011)
	EU ^d		3471	3,9	Låg	(EFSA and ECDC, 2015)
	UK	Slakt	90	13	Låg	(Opsteegh et al., 2016)
	Italien	Slakt	96	4,2	Låg	(Opsteegh et al., 2016)
	Rumänien	Slakt	75	33	Låg	(Opsteegh et al., 2016)
	Holland	Slakt	81	24	Låg	(Opsteegh et al., 2016)
Fjäder	Irland	Slakt	364	18	Hög	(Halová et al., 2013)
	Tyskland ^c	Gård	470	8-15	Hög	(Opsteegh et al., 2016)
Får	Schweiz	Slakt	250	61,6	-	(Berger-Schoch et al., 2011)
	Irland ^c	Slakt	292	36	-	(Halová et al., 2013)

^a Korrelation seroprevalens/ förekomst av vävnadscystor

^b Konventionellt uppfödda grisar

^c Djur med utevistelse

^d Djurhållning ej specificerad

^e Totalt

^f ≤ unga djur

^g < äldre djur

Farokarakterisering

Bakterier

Campylobacter spp.

Infektion med campylobacter kan orsaka magsjuka med diarré, kräkningar och feber (FDA, 2012). Följsjukdomar som kan förekomma är ledinflammation, kroniska magbesvär som överkänslig tarm (IBS) och i sällsynta fall Guillain-Barrés syndrom, en nervsjukdom som kan ge muskelsvaghet och förlamning. Bakterien kan orsaka sjukdom vid låga koncentrationer, vilket betyder att den inte behöver växa i livsmedlet för att nå upp till sjukdomsframkallande nivåer (FDA, 2012).

Clostridium botulinum

Clostridium botulinum orsakar botulism, vilket är en allvarlig nervsjukdom som orsakas av neurotoxin som bakterien producerar då den tillväxer. Symptomen på botulism är först illamående och kräkningar följt av synrubbningar, muskelsvaghet, tal- och sväljsvårigheter samt andningssvårigheter. Om den drabbade inte får vård kan tillståndet vara dödligt då andningsmuskulaturen till slut förlamas. Det räcker med en mycket låg dos, endast några nanogram, av giftet för att orsaka botulism (ICMSF, 1996). Det tar vanligtvis mellan 18-36 timmar efter konsumtion innan symptom uppkommer.

Listeria monocytogenes

Listeria monocytogenes orsakar två typer av sjukdom, dels en icke-invasiv variant som vanligtvis inte orsakar några större problem hos annars friska individer, dels en invasiv variant som kan orsaka blodförgiftning och hjärnhinneinflammation (FDA, 2012). *Listeria monocytogenes* har en hög dödlighet, då den ofta drabbar äldre och immunsvaga individer. Infektion med *Listeria monocytogenes* kan också orsaka missfall om den drabbade är gravid. För att nå upp till sjukdomsframkallande nivåer krävs oftast att bakterien växt till i livsmedlet, men infektionsdosen kan variera beroende känslighet hos mottagaren (FDA, 2012).

Salmonella spp.

Salmonella orsakar illamående, magkramper och kräkningar som vanligtvis uppkommer mellan 12 till 36 timmar efter konsumtion av kontaminerat livsmedel (ICMSF, 1996). Ofta anges att en dos på $>10^5$ bakterier krävs för att orsaka sjukdom, men mycket lägre infektionsdos har också rapporterats, beroende på såväl serotyp av salmonella, typ av livsmedel samt hälsotillståndet hos konsumenten (FDA, 2012). Således krävs oftast att salmonella växer till i livsmedlet för att nå upp till sjukdomsframkallande nivåer.

STEC

Infektion med shigatoxinproducerande *E. coli* (STEC) kan ge allvarliga symptom, framförallt hos känsliga individer som barn och äldre. I sjukdomsbilden ingår allt ifrån lindrig gastroenterit till blodiga diarréer samt mer allvarliga komplikationer såsom sönderfall av röda blodkroppar, njursvikt (hemolytiskt uremiskt syndrom, HUS) samt neurologiska symtom (Mead and Griffin, 1998). Färre än 100 bakterier kan orsaka sjukdom, vilket betyder att den inte behöver växa i livsmedlet för att nå upp till sjukdomsframkallande nivåer (FDA, 2012).

Parasiter

Anisakis simplex – spiralmask

Det kan räcka med en levande larv av *Anisakis simplex* för att orsaka infektion, så kallad anisakiasis (FDA, 2012). Anisakislarver orsakar illamående och ibland också kräkningar eller magsmärtor. Symtomen uppträder redan efter några timmar och försvinner vanligtvis inom två veckor. Komplikationer är sällsynta. Allergiska reaktioner kan också förekomma (Audicana and Kennedy, 2008).

Diphyllobothrium latum - fiskbinnikemask

Diphyllobothrium latum är en av de största parasiter som kan infektera människor, då den kan växa upp till 15 meter inne i människotarmen (Scholz et al., 2009). Personer som smittas av har i regel inga symtom, men enstaka personer kan dock utveckla vitamin B12-brist eftersom den vuxna masken förbrukar detta vitamin (FDA, 2012). För lite vitamin B12 kan leda till blodbrist och påverkan på nervsystemet. Ökad eller minskad aptit och buksmärtor kan också förekomma. Infektioner med fiskbinnikemask var tidigare vanliga i norra Europa, och en sammanställning av antal fall mellan 1980 och 2004 har 10 till 50 fall per år uppgetts från Sverige (Dupouy-Camet and Peduzzi, 2004). Numera uppges att antalet fall har minskat och det är ovanligt att man påvisar masken hos människa i Sverige (Anonym, 2016a; Scholz et al., 2009).

Pseudoterranova decipiens – torskmask

Pseudoterranova decipiens, orsakar, liksom *Anisakis simplex*, anisakiasis och det kan räcka med en levande larv för att orsaka infektion (FDA, 2012). Symptomen är illamående och i vissa fall också kräkningar eller magsmärtor, ofta snabbt övergående.

Toxoplasma gondii

Toxoplasma gondii orsakar oftast milda eller inga symptom hos infekterade. Vissa grupper kan dock drabbas av allvarliga sjukdomstillstånd (Flegr et al., 2014). Hos gravida kan parasiten överföras till fostret, vilket kan leda till missfall eller att fostret får allvarliga skador på ögon och/eller hjärnan (Mie et al., 2008). Immunsvaga personer kan också drabbas av allvarlig sjukdom om de blir infekterade, eller får ett återfall av en toxoplasmainfektion som gått obemärkt förbi tidigare i livet (Jones and Dubey, 2012). Symptom som kan uppstå är ögonskador, så kallad okulär toxoplasmos, eller skador på centrala nervsystemet och hjärnan (Montoya and Lisenfeld, 2004).

Virus

Norovirus

Norovirus är det virus som orsakar så kallad vinterkräksjuka. Symptomen är illamående, kräkningar, diarré, buksmärta, huvudvärk och feber. Viruset är mycket smittsamt och det kan räcka med ett fåtal viruspartiklar för att man ska bli sjuk. I ett gram avföring från en smittad person kan innehålla hundra miljarder virus och vid en kräkning kan tio miljoner virus spridas.

Exponeringsuppskattning

Upphettning

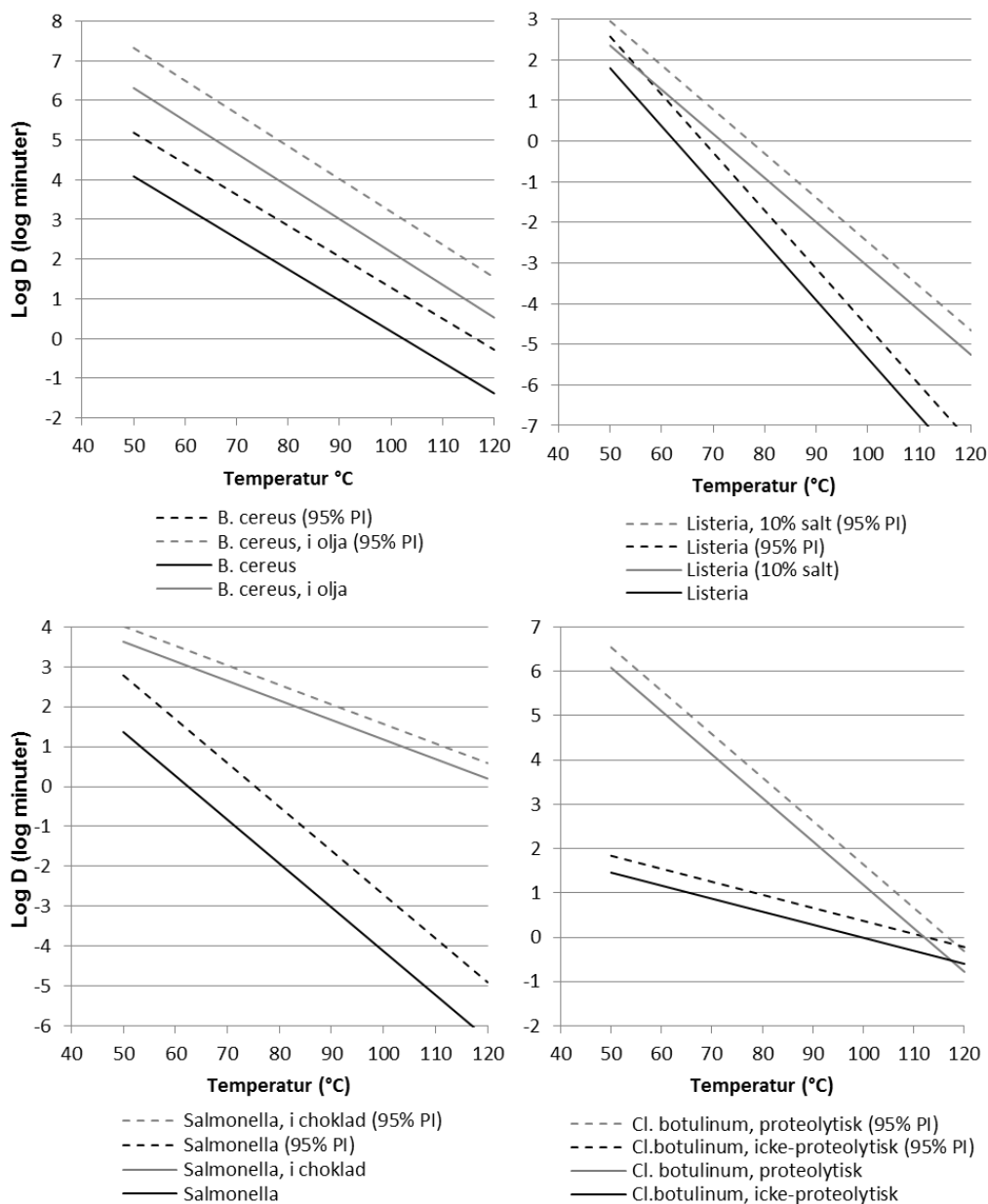
Värmeinaktivering är en effektiv metod för inaktivering av flertalet sjukdomsframkallande mikroorganismer i livsmedel (Aryani et al., 2015). Effekten av värmeinaktivering brukar uttryckas i D-värde eller D_t , där t indikerar den temperatur som D-värdet gäller för. D-värdet motsvarar den tid som krävs för att minska antalet överlevande celler 10 gånger, d v s en logenhet ($1 \log_{10}$), och beräknas från en regressionskurva där logaritmerat antal överlevande organismer plottas mot tid. En förutsättning för beräkning av D-värde är antagandet att inaktiveringen följer en första ordningens reaktion, det vill säga att minskningen av antalet celler per tidsenhet vid en given temperatur är konstant (Adams and Moss, 2008). Det betyder att minskningen av antalet celler över tid antas vara linjär. Det är dock viktigt att vara medveten om att antagandet att en inaktivering är linjär är en förenkling och att det ofta observeras avvikelser i inaktiveringskurvan i början (shoulders) eller slutet (tails) av försöken.

Inaktivering av bakterier genom upphettning

Det finns många studier där D-värden tagits fram för att beskriva inaktivering av bakterier efter upphettning, och ett urval av dessa finns beskrivna i tabell 2-5. Olika bakterier, liksom stammar och isolat av samma bakterie, har visats sig skilja i förmåga att motstå höga temperaturer. Skillnaden i motståndskraft har bland annat förklarats genom hur väl organismen kan upprätthålla en låg vattenhalt i området runt sitt DNA (Adams and Moss, 2008). Vissa bakterier har också utvecklat motståndskraft genom sin förmåga att övergå till sporform (van Asselt and Zwietering, 2006). Ytterligare faktorer som i olika studier visats påverka värmetåligheten hos bakterier, såsom vilken tillväxtfas organismen befinner sig i (Aryani et al., 2015; Gaze et al., 1989) och typ och sammansättning av livsmedel (Aryani et al., 2015; Barrile and Cone, 1970; van Asselt and Zwietering, 2006). Det har också visats att olika stammar av samma bakterie kan skilja sig i värmetålighet (Aryani et al., 2015; van Asselt and Zwietering, 2006). Det kan dock vara svårt att jämföra D-värden från olika studier, dels eftersom de flesta studier endast testat enstaka stammar, ett fåtal påverkansparametrar och använt olika experimentella metoder, och dels för att faktorer såsom bakteriens tillväxtfas ofta inte anges.

En systematisk studie (så kallad metaanalys) där parametrar för värmeinaktivering av ett flertal bakterier har tagits fram utifrån mer än 4000 publicerade D-värden (van Asselt and Zwietering, 2006). Denna studie har visat att variationen av D-värden för enskilda bakterier som rapporterats från olika studier är så pass hög att den överskuggar eventuella effekter av experimentella faktorer (till exempel livsmedlets pH, fetthalt, vattenaktivitet) eller organismerna inre egenskaper (till exempel stam, tillväxtfas). De enda påverkansfaktorer med signifikant samband till ökad motståndskraft hos bakterier mot upphettning som van Asselt och Zwietering (2006) påvisat visas i figur 1. Dessa samband är tillsats av 10 procent salt för *Listeria monocytogenes*, förekomst i choklad för *Salmonella* spp., förekomst i olja för *Bacillus cereus* och en skillnad mellan olika stammar av *Clostridium botulinum* där sporer av proteolytiska stammar är mer värmeresistenta än sporer av icke-proteolytiska stammar. En uppföljande studie där *Listeria monocytogenes* använts som modell har dock visat att det finns stor variation mellan

värmetolerans hos olika stammar (Aryani et al., 2015). Det är troligt att betydelsen av stamvariation är liknande även för andra bakterier.



Figur 1. Exempel där bakterier och/eller betingelser har en signifikant skild inaktivering (grå linje) jämfört med medelvärdet för samma bakterie (svart linje) baserad på en systematisk sammanställning av publicerade värden för alla kombinationer/faktorer (van Asselt and Zwietering, 2006). Streckad linje motsvarar den övre 95-procentilen (PI).

Tabell 2. Ett urval av publicerade D-värden (D_t) för *Campylobacter jejuni* i olika livsmedel eller i odlingsmedium.

Stam	Matris	Temp (°C)	D_t (min)	z (°C)	Referens
H-840	Kycklingfärs	57	0,79		(Blankenship and Craven, 1982)
Mix ^a	Kycklingfärs	57	0,98		(Blankenship and Craven, 1982)
AR6	Medium	60	0,7	5,8	(Nguyen et al., 2006)
L51	Medium	60	0,8	5,9	(Nguyen et al., 2006)
ST-45 (kyckling)	Medium, BHI	60	1,5	4,1	(Al Sakkaf and Jones, 2012)
ST-45 (human)	Medium, BHI	60	1,8	4,1	(Al Sakkaf and Jones, 2012)
ST-190 (kyckling)	Medium, BHI	60	2,8	4,4	(Al Sakkaf and Jones, 2012)
ST-190 (human)	Medium, BHI	60	4,2	4,7	(Al Sakkaf and Jones, 2012)
Mix ^b	Medium, Bolton	60	0,40		(Lahou et al., 2015)
ST-257	Medium	60	1,1		(Close et al., 2015)
ST-21	Medium	60	1,3		(Close et al., 2015)
ST-45	Medium	60	1,0		(Close et al., 2015)
ST-257	Kycklingfilé	60 ^g	0,4		(Close et al., 2015)
ST-257	Kycklingfilé ^f	60 ^g	0,2		(Close et al., 2015)
ST-21	Kycklingfilé	60 ^g	0,2		(Close et al., 2015)
ST-21	Kycklingfilé ^f	60 ^g	0,3		(Close et al., 2015)
ST-45	Kycklingfilé	60 ^g	0,02		(Close et al., 2015)
ST-45	Kycklingfilé ^f	60 ^g	0,44		(Close et al., 2015)
ATCC 33291	Kycklinghud	60	0,5		(Yang et al., 2001)
ATCC 33291	Kycklinghud	60	18,3 ^j		(Yang et al., 2001)
Mix ^c	Kycklingslurry	65	0,30		(Lori et al., 2007)
ST-257	Kycklingfilé	68 ^g	0,05		(Close et al., 2015)
ST-257	Kycklingfilé ^f	68 ^g	0,13		(Close et al., 2015)
ST-21	Kycklingfilé	68 ^g	0,0		(Close et al., 2015)
ST-21	Kycklingfilé ^f	68 ^g	0,09		(Close et al., 2015)
ST-45	Kycklingfilé	68 ^g	0,10		(Close et al., 2015)
ST-45	Kycklingfilé ^f	68 ^g	0,15		(Close et al., 2015)
ST-257	Kycklingfilé	70 ^g	0,10		(Close et al., 2015)
ST-257	Kycklingfilé ^f	70 ^g	0,10		(Close et al., 2015)
ST-21	Kycklingfilé	70 ^g	0,07		(Close et al., 2015)
ST-21	Kycklingfilé ^f	70 ^g	0,12		(Close et al., 2015)
ST-45	Kycklingfilé	70 ^g	0,12		(Close et al., 2015)
ST-45	Kycklingfilé ^f	70 ^g	0,08		(Close et al., 2015)
Mix ^c	Kycklingslurry	70	0,10		(Lori et al., 2007)
Mix ^d	Kycklingfilé	85 ^h	1,9		(de Jong et al., 2012)
Mix ^e	Kycklingfilé	127 ⁱ	1,95		(Bergsma et al., 2007)
Mix ^e	Kycklingbitar	127 ⁱ	0,59		(Bergsma et al., 2007)

^a E5054, B8788, A7455, E2567, C3292

^b 595, 866, 867

^c B02180/03, EB1410/02

^d NCTC 11168, NCTC 11828, B258, B258, LB99hu, 82/69

^e Ej angivna

^f Kyckling spikats, förvaras i 4°C över natt sen upphettning till de olika temperaturerna.

^g Prov spikats på ytan, värmts i vattenbad och vortexats i medium. Överlevande bakterier har uppmätts i mediet.

^h Prov spikats på ytan, värmts i en stor volym kokande vatten och mixats före analys. Temperatur avser ytan och är uppskattad till mellan 85-95°C utifrån temperaturstudier och beräkningar.

ⁱ Prov spikats på ytan, stekts i panna och mixats före analys. Temperatur uppmätt på ytan

^j D-värde på den värmetåliga subpopulation som upptäcktes i studien

Tabell 3. Ett urval av publicerade D-värden (D_t) för *Salmonella* spp. i olika livsmedel.

Stam	Matris	Temp (°C)	D_t (min)	Referens
Mix	Malet fläskkött	58	6,7	(Juneja et al., 2001)
Mix	Malet kycklingkött	58	7,1	(Juneja et al., 2001)
Typhimurium	Kycklingfilé	60	0,5	(Osaili et al., 2013)
Typhimurium	Kycklingfärs	60	0,5	(Osaili et al., 2013)
Mix ^a	Malet fläskkött	60	15,2	(Osaili et al., 2007)
Typhimurium	Kycklinghud	60	1,9	(Yang et al., 2001)
Enterica	Spenat	60	0,5	(Monu et al., 2015)
Enteritidis	Rå ägg	60	0,4	(Humphrey et al., 1990)
Senftenberg 775W	Rå ägg	60	5,6	(Humphrey et al., 1990)
Enteritidis	Rå ägg	64	0,2	(Humphrey et al., 1990)
Senftenberg 775W	Rå ägg	64	2,8	(Humphrey et al., 1990)
Mix	Malet fläskkött	65	0,9	(Juneja et al., 2001)
Mix	Malet kycklingkött	65	0,6	(Juneja et al., 2001)
Mix ^a	Malet fläskkött	65	2,6	(Osaili et al., 2007)
Mix ^a	Malet fläskkött	70	0,3	(Osaili et al., 2007)
Anatum	Smält choklad 0 % fukt	71	1200	(Barrile and Cone, 1970)
Anatum	Smält choklad 1 % fukt	71	510	(Barrile and Cone, 1970)
Anatum	Smält choklad 2 % fukt	71	240	(Barrile and Cone, 1970)
Anatum	Smält choklad 4 % fukt	71	210	(Barrile and Cone, 1970)
Typhimurium	Kycklingfilé	85 ^b	2,2	(de Jong et al., 2012)

^a Senftenberg ATCC 43845, Typhimurium, Heidelberg ATCC 8326, Mission, Montevideo ATCC 8387, California ATCC 23201

^b Proven har spikats med *Salmonella* på ytan, doppats i en stor volym kokande vatten och mixats före analys. Temperaturen avser ytan på kycklingen och är uppskattad till mellan 85-95°C utifrån temperaturstudier och beräkningar.

Tabell 4. Ett urval av publicerade D-värden (D_t) för STEC i olika livsmedel.

Stam	Matris	Temp (°C)	D_t (min)	Referens
O157:H7	Malet nötkött (7% fett)	55	33	(Luchansky et al., 2013)
O157:H7	Malet nötkött (10% fett)	55	21	(Juneja et al., 1997)
O157:H7	Malet nötkött (30% fett)	55	24	(Luchansky et al., 2013)
O157:H7	Spenat	60	1	(Monu et al., 2015)
O157:H7	Odlingsmedium, BHI	60	0,9	(Lahou et al., 2015)
O157:H7	Malet nötkött (7% fett)	60	1,1	(Luchansky et al., 2013)
O157:H7	Malet nötkött (10% fett)	60	3,2	(Juneja et al., 1997)
O157:H7	Malet nötkött (30% fett)	60	1,1	(Luchansky et al., 2013)
O157:H7	Malet nötkött (3% fett)	60	1,7	(Huang and Juneja, 2003)
O157:H7	Malet fläskkött	60	3,0	(Osaili et al., 2007)
O157:H7	Malet nötkött (3% fett)	62,5	1,0	(Huang and Juneja, 2003)
O157:H7	Malet fläskkött	62,5	1,1	(Osaili et al., 2007)
O157:H7	Malet nötkött (10% fett)	65	0,4	(Juneja et al., 1997)
O157:H7	Malet nötkött (3% fett)	65	0,8	(Huang and Juneja, 2003)
O157:H7	Malet fläskkött	65	0,4	(Osaili et al., 2007)
O157:H7	Malet nötkött (7% fett)	65,6	0,06	(Luchansky et al., 2013)
O157:H7	Malet nötkött (30% fett)	65,6	0,2	(Luchansky et al., 2013)
O157:H7	Malet fläskkött	67,5	0,1	(Osaili et al., 2007)
O157:H7	Malet fläskkött	70	0,1	(Osaili et al., 2007)

Tabell 5. Ett urval av publicerade D-värden (D_t) för *Listeria monocytogenes* i olika livsmedel.

Stam	Matris	Temp (°C)	D_t (min)	Referens
Mix ^a	Spenat	60	1,2	(Monu et al., 2015)
4B	Skinka	60	1,82	(Carlier et al., 1996)
	Fläskkorv	60	7,3	(Quintavalla and Campanini, 1991)
L. innocua	Laxrom	60	3,0	(Al-Holy et al., 2004)
O57	Laxfilé	60	4,2	(Embarek and Huss, 1993)
O62	Laxfilé	60	4,5	(Embarek and Huss, 1993)
Scott A	Kycklingfilé	60	5,3	(Gaze et al., 1989)
11994	Kycklingfilé	60	5,0	(Gaze et al., 1989)
Scott A	Morot	60	5,0	(Gaze et al., 1989)
11994	Morot	60	7,8	(Gaze et al., 1989)
Scott A	Nötkött	60	8,3	(Gaze et al., 1989)
11994	Nötkött	60	6,3	(Gaze et al., 1989)
Mix ^b	Malet fläskkött	60	20,6	(Osaili et al., 2007)
O57	Laxfilé	62	3,0	(Embarek and Huss, 1993)
O62	Laxfilé	62	2,1	(Embarek and Huss, 1993)
Mix ^b	Malet fläskkött	62,5	10,6	(Osaili et al., 2007)
L. innocua	Laxrom	63	0,8	(Al-Holy et al., 2004)
L. innocua	Laxrom	65	0,4	(Al-Holy et al., 2004)
Mix ^c	Malet nötkött	65	0,6 – 1,7	(Friedly et al., 2008)
Mix ^b	Malet fläskkött	65	3,1	(Osaili et al., 2007)
O57	Laxfilé	66	1,2	(Embarek and Huss, 1993)
O62	Laxfilé	66	0,9	(Embarek and Huss, 1993)
	Fläskkorv	66	1,0	(Quintavalla and Campanini, 1991)
Scott A	Kycklingfilé	70	0,2	(Gaze et al., 1989)
11994	Kycklingfilé	70	0,2	(Gaze et al., 1989)
Mix ^c	Malet nötkött	67,5	0,2 – 0,8	(Friedly et al., 2008)
Mix ^b	Malet fläskkött	67,5	1,2	(Osaili et al., 2007)
Scott A	Morot	70	0,2	(Gaze et al., 1989)
11994	Morot	70	0,3	(Gaze et al., 1989)
Scott A	Nötkött	70	0,2	(Gaze et al., 1989)
11994	Nötkött	70	0,1	(Gaze et al., 1989)
Mix ^c	Malet nötkött	70	0,1 – 0,3	(Friedly et al., 2008)
Mix ^b	Malet fläskkött	70	0,4	(Osaili et al., 2007)

^a ATCC 19115, Scott A, ATCC 19115, LM1, F5067

^b Stammar: ARS V67, ARS V72, ARS V113, ARS V125, ARS 105, LCDC 81-861

^c SLCC 5639, SLCC 5640, SLCC 2745, SLCC M1, CDC F4243

Värmeinaktivering av *Campylobacter jejuni*

Liksom för övriga bakterier visar resultat från olika inaktiveringsstudier på *campylobacter* en stor variation i D-värden (tabell 2). Exempelvis finns det vid 60 °C fyra studier utförda i odlingsmedium, en studie på kycklingfilé och en studie på kycklingskinn. För odlingsmedium varierar de publicerade D-värdena mellan 0,7-0,8 minuter (Nguyen et al., 2006), 1,5-4,2 minuter (Al Sakkaf and Jones, 2012), 0,4 minuter (Lahou et al., 2015) samt 1,0-1,3 (Close et al., 2015). Studien på kycklingskinn visar ett D-värde på 0,5 minuter (Yang et al., 2001) och studien på kycklingfilé på D-värden mellan 0,2-0,44 minuter (Close et al., 2015). Av dessa studier är det endast Close et al. (2015) som jämfört avdödning i medium med avdödning på kyckling, och sett att motståndskraften är högre i medium jämfört med på kyckling. Detta resultat står i kontrast mot en metaanalys (841 D-värden), som visserligen utförts inom temperaturintervallet

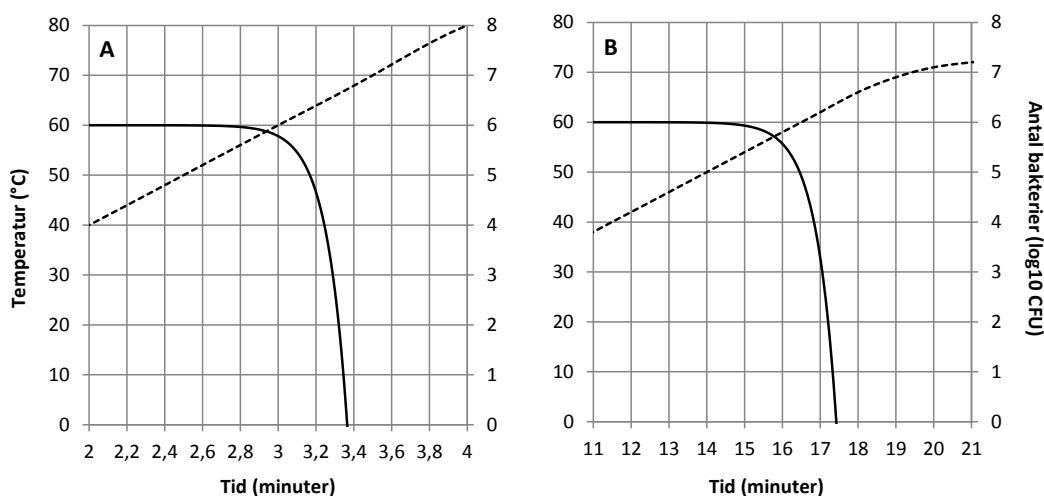
0-42 °C, men som visat att inaktiveringhastigheten för campylobacter var signifikant lägre i kött jämfört med i flytande odlingsmedium (Membré et al., 2013). Close et al. (2015) har också undersökt om toleransen mot värme påverkas av att kycklingfilé med campylobacter först förvaras vid 4 °C. Inget signifikant samband kunde dock påverkas av kylförvaring (Close et al., 2015). Detta stämmer överens med andra studier som undersökt effekten av kylförvaring på värmetolerans hos campylobacter (Hughes et al., 2010).

Det finns ett par studier som har påvisat höga D-värden vid temperaturer över 70 °C för *Campylobacter jejuni* (Bergsma et al., 2007; de Jong et al., 2012). Även om det finns osäkerheter i dessa studier, bland annat med temperaturuppskattningen, så visar de att campylobacter kan vara motståndskraftigare mot värme än tidigare rapporterats. Det finns flera inaktiveringsstudier som påvisat värmetåliga subpopulationer av *Campylobacter jejuni* (Close et al., 2015; Lahou et al., 2015; Yang et al., 2001). Förekomst av en hög mängd värmetåliga campylobacter kan vara problematiskt för livsmedelssäkerheten. I studien av Yang et al (2001) rapporteras att avdödningen inte kan beskrivas av en linje utan av två linjer med olika lutning. Den initiala avdödningen, första linjen, resulterade i ett generellt D-värde på 0,5 minuter vid 60 °C, medan en knapp procent av den initiala mängden campylobacter var värmetåliga, och uppvisade en långsammare linjär avdödning som resulterade i ett D-värde på 18,3 minuter eller högre. Det är inte ovanligt att avdödningen uppvisar olika linjära faser eller har en inledande axel eller en avslutande tail (Close et al., 2015).

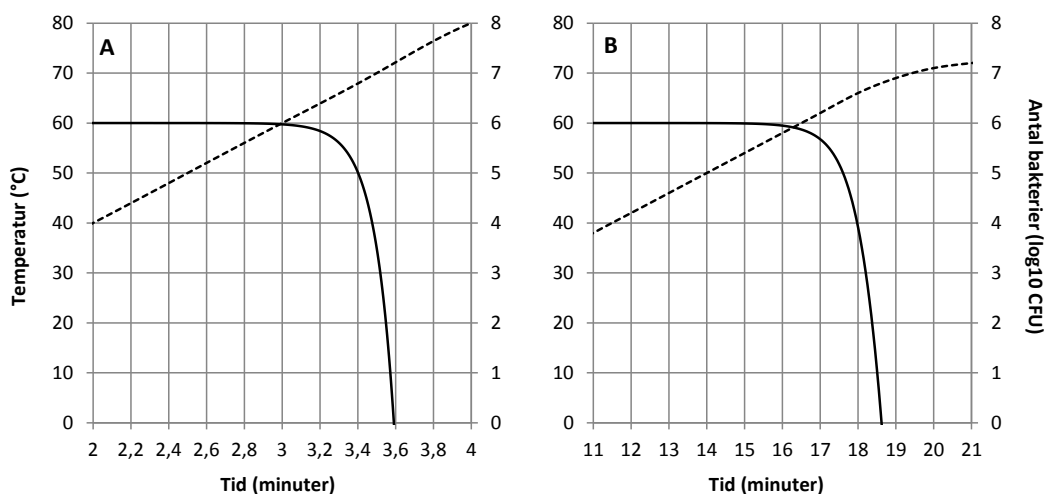
D-värden tas fram vid konstanta temperaturer, vilket inte efterliknar tillagning då temperaturen varierar dynamiskt med upphettningstiden. Det finns dock några studier som undersökt inaktivering av campylobacter vid dynamiska temperaturer genom upphettning som ska simulera tillagning. Close et al. (2015) har visat på en reduktion på 2,7-4,2 logenheter för olika stammar av *Campylobacter jejuni* i små bitar kycklingfilé (0,1-0,2 gram) som gradvis upphettats i vattenbad från 25 till 70 °C under 22 minuter. Sampers et al. (2010) har visat på en snabb avdödning i kycklingfärs-biffar efter 3 minuters stekning när temperaturen i mitten av burgaren nått över 50 °C. En snabb avdödning vid stekning har också rapporterats av Lahou et al. (2015). I två av dessa studier rapporteras dock att campylobacter kunnat detekteras från kycklingkött efter tillagning (Close et al., 2015; Lahou et al., 2015). Förklaringen till detta är antingen att temperaturerna inte stigit till önskad temperatur under tillagningen eller att det har funnits en subpopulation av värmetåliga campylobacter bland de som testats.

Effekten av gradvis upphettning kan också studeras genom modellering. För att kunna modellera en inaktivering behövs ett D-värde vid en referenstemperatur och ett z-värde, vilket är en angivelse av hur många graders temperaturhöjning det krävs för att åstadkomma en logenhets förändring av D-värdet. Det behövs också en temperaturkurva. För detta underlag har en modell skapats i verktyget R Studio. Två temperaturkurvor har inkluderats; en snabb uppvärmning som ska illustrera temperaturökningen på ytan eller i mindre bitar av kycklingkött och en långsam uppvärmning som ska illustrera kärntemperaturen i större bitar av kyckling (Lahou et al., 2015). Ett z-värde på 5 °C har använts, vilket ligger inom det intervall som angetts för såväl campylobacter som och andra vegetativa bakterier (Al Sakkaf and Jones, 2012; Mossel and Struijk, 1995; Nguyen et al., 2006). För att illustrera skillnad i inaktivering har tre olika D-värden använts, och en temperatur på 60 °C valts som referenstemperatur (Yang et al., 2001). I figur 2 har ett D-värde på 0,5 minuter använts, vilket representerar en snabb inaktivering av campylobacter på kyckling (Close et al., 2015; Yang et al., 2001). I figur 3 har ett D-värde på 4,2 minuter använts, vilket representerar den långsammaste inaktivering som visats av Al Sakkaf och Jones (2012). Figur 4 visar en mycket långsam inaktivering, med ett D-värde på

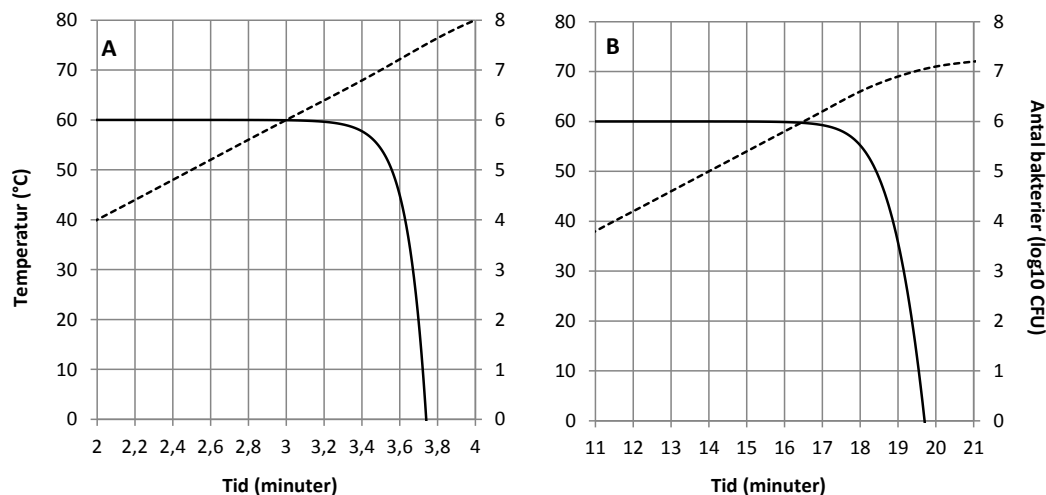
18,3 minuter, vilket är det värde som Yang et al. (2001) uppmätte för en delpopulation av värmetåligena campylobacter.



Figur 2. Modellerad inaktivering av *Campylobacter jejuni* vid snabb (A) och långsam (B) uppvärmning. En snabb uppvärmning ska illustrera temperaturökningen på ytan eller i mindre bitar av kycklingkött och en långsam uppvärmning illustrerar kärntemperaturen i större bitar av kyckling. D-värde 0,5 minuter vid temperaturen 60 °C och z-värde 5 °C har använts i modelleringen. Temperaturen är streckad linje och överlevande campylobacter är heldragen linje.



Figur 3. Modellerad inaktivering av *Campylobacter jejuni* vid snabb (A) och långsam (B) uppvärmning. En snabb uppvärmning ska illustrera temperaturökningen på ytan eller i mindre bitar av kycklingkött och en långsam uppvärmning illustrerar kärntemperaturen i större bitar av kyckling. D-värde 4,2 minuter vid temperaturen 60 °C och z-värde 5 °C har använts i modelleringen. Temperaturen är streckad linje och överlevande campylobacter är heldragen linje.



Figur 4. Modellerad inaktivering av *Campylobacter jejuni* vid snabb (A) och långsam (B) uppvärmning. En snabb uppvärmning ska illustrera temperaturökningen på ytan eller i mindre bitar av kycklingkött och en långsam uppvärmning illustrerar kärntemperaturen i större bitar av kyckling. D-värde 18,3 minuter vid temperaturen 60 °C och z-värde 5 °C har använts i modelleringen. Temperaturen är streckad linje och överlevande campylobacter är heldragen linje.

Ur figur 2-4 kan utläsas att upphettningstiden har stor påverkan på inaktiveringen av campylobacter. När temperaturen nått upp till 70 °C vid snabb upphettning reduceras campylobacter med mer än 10 logenheter när D-värdet är 0,5 minuter (figur 2A), 2,5 logenheter när D-värdet är 4,2 minuter (figur 3A) och 0,6 logenheter när D-värdet är 18,3 minuter (figur 4A). Efter en långsam upphettning till 70 °C reduceras campylobacter med mer än 10 logenheter både när D-värdet är 0,5 minuter (figur 2B) och 4,2 minuter (figur 3B), och 4,2 logenheter när D-värdet är 18,3 (figur 4B). Hur mycket ytterligare inaktivering som skulle kunna ske genom att hålla livsmedlet vid 70 °C i olika lång tid visas i tabell 6. Denna reduktion ska läggas till den inaktivering som skett under uppvärmningstiden som visats i figurer 2-4 ovan liksom i parenteserna i tabell 6. Tabell 6 visar också den inaktivering som sker upp till (inom parantes) samt vid 71 eller 72 °C.

Tabell 6. Beräknad log10-reduktion av campylobacter med tre olika D-värden (0,5, 4,2 och 18,3 minuter) efter varmhållning i 0,25, 0,5, 1 eller 2 minuter vid 70, 71 och 72 °C. Inom parentes visas den reduktion som beräknats ske vid snabb/långsam uppvärmning upp till den givna temperaturen.

D-värde	Tid (minuter)	Log10-reduktion vid temperaturena:		
		70 °C	71 °C	72 °C
0,5	0,25	>10 (>10/>10)	>10 (>10/>10)	>10 (>10/>10)
0,5	0,5	>10	>10	>10
0,5	1	>10	>10	>10
0,5	2	>10	>10	>10
4,2	0,25	6,0 (2,5/>10)	9,4 (4,1/>10)	>10 (6,0/>10)
4,2	0,5	>10	>10	>10
4,2	1	>10	>10	>10
4,2	2	>10	>10	>10
18,3	0,25	1,4 (0,6/4,2)	2,2 (0,9/8,3)	3,4 (1,4/>10)
18,3	0,5	2,7	4,3	6,9
18,3	1	5,5	8,7	>10
18,3	2	>10	>10	>10

De Jong et al. (2012) rapporterade förekomst av extremt värmetåliga campylobacter med ett D-värde på 1,9 minuter vid 85 °C. När dessa värden används i ovanstående beräkningar ske inte någon inaktivering alls i under uppvärmning till 72 °C. Vidare inaktiveras dessa campylobacter inte ens efter 10 minuter vid 72 °C.

Inaktivering av fiskparasiter genom upphettning

Tabell 7 visar resultat från olika inaktiveringsförsök på fiskparasiter vid temperaturer mellan 40-60 °C. Faktorer som påverkar inaktivering är tjocklek på fisken, vilket påverkar tiden att uppnå önskad kärntemperatur. Vid 50 °C rapporteras tider från 10 sekunder upp till 10 minuter och vid 55 och 60 °C rapporteras tider från 10 sekunder till 1 minut för inaktivering i fisk (tabell 7). Vid temperaturer på 45 °C och lägre krävs betydligt längre tid för inaktivering, vilka inte är praktiskt tillämpbara ur tillagningssynpunkt. Att tiderna varierar mellan studier kan bero på skillnad i tolerans hos individuella larver (Vidacek et al., 2010). Detta har visats av Vidacek et al (2010) där ett försök med *Anisakis* larver som upphettats i vatten fortfarande hade 20 procent rörlighet efter 10 minuter vid 60 °C, jämfört med ett andra försök där endast 10 procent rörlighet sågs efter 2 minuter vid 60 grader och ingen rörlighet från 3 minuter.

Tabell 7. Inaktivering av fiskparasiter vid upphettning.

Parasit	Matris	Temperatur (°C)	Överlevnadstid max	Referens
Pseudoterranova	Fisk	40	57 timmar	(Bier, 1976)
Pseudoterranova	Fisk	45	30 min	(Bier, 1976)
Pseudoterranova	Fisk	50	10 min	(Bier, 1976)
Pseudoterranova	Fisk	60	1 min	(Bier, 1976)
Anisakis	Fisk	45	78 min	(Bier, 1976)
Anisakis	Fisk	50	10 sek	(Bier, 1976)
Anisakis	Fisk	50 ^a	>10 min	(Vidacek et al., 2011)
Anisakis	Fisk	50	5 min	(Baltic et al., 1998)
Anisakis	Fisk	55	1 min	(Baltic et al., 1998)
Anisakis	Fisk	55	10 sek	(Bier, 1976)
Anisakis	Fisk	60 ^b	< 1 min	(Vidacek et al., 2011)
Anisakis	Fisk	60	10 sek	(Bier, 1976)
Anisakis	Buljong	60	1sek	(Bier, 1976)
Anisakis ^c	Vatten	60	>10 min	(Vidacek et al., 2010)
Anisakis ^d	Vatten	60	2 min	(Vidacek et al., 2010)
Diphyllobothrium spp.	Fisk	>56 ^e		(Salminen, 1970b)

^a Upphettning utförd i mikrovågsugn med temperaturkontroll. Vid 10 minuter var 10% av larverna mobila.

^b Upphettning utförd i mikrovågsugn med temperaturkontroll.

^c Batch nummer 1

^d Batch nummer 2

^e Försöket avslutades vid 56 °C

Inaktivering av *Toxoplasma gondii* genom upphettning

Tabell 8 innehåller en sammanställning av data över inaktivering av *Toxoplasma gondii* som finns i litteraturen. Testen är utförda genom mustest där möss matas med infekterat (naturligt eller spikat) kött som behandlats på olika sätt. Om mössen infekteras antas *Toxoplasma gondii* fortfarande vara levande efter behandlingen och om mössen inte infekteras antas att *Toxoplasma gondii* har dött (inaktiverats).

Inaktivering av *Toxoplasma gondii* rapporteras från 60 °C, men det förutsätter att tiden är tillräcklig. Enligt El-Nawawi et al. (2008) behöll *Toxoplasma gondii* sin infektivitet även efter upphettning vid 100 °C i fem minuter, men i detta försök uppmättes inte kärntemperatur på köttet utan endast temperaturen i vattenbadet.

Tabell 8. Sammanställning av data beskriven i litteraturen för inaktivering av *Toxoplasma* vävnadscystor avseende värmebehandling.

Temperatur (°C)	Tid (minuter)	Påverkan	Referens	Kommentar
49	25-48	Inaktiverad	(Dubey et al., 1990)	a
52	25-48	Inaktiverad	(Dubey et al., 1990)	a
55	0-3	Inaktiverad	(Dubey et al., 1990)	a
58	3-6	Inaktiverad	(Dubey et al., 1990)	a
60	5	Viabel	(El-Nawawi et al., 2008)	b
60	5-10	Inaktiverad	(El-Nawawi et al., 2008)	b
61	0.01	Inaktiverad	(Dubey et al., 1990)	a
64	3-6	Inaktiverad	(Dubey et al., 1990)	a
>65 ^d		Viabel	(Lundén and Uggla, 1992)	c
67	0.01	Inaktiverad	(Dubey et al., 1990)	a
100	5	Viabel	(El-Nawawi et al., 2008)	b
100	5-10	Inaktiverad	(El-Nawawi et al., 2008)	b

^a Mixat griskött, i 2 mm tjocklek exponerat för given temperatur under given tid i vattenbad

^b 5x5x5 cm organdelar från infekterat får, exponerat för given temperatur under given tid i vattenbad

^c Delat ben av lamm tillagad i mikrovågsugn till en innertemperatur på upp till 65 °C.

^d Försöket avslutades vid 65 °C

Inaktivering av virus genom upphettning

För virus beror motståndskraften mot värme på om viruset har ett lipidmembran runt den kapsel som skyddar dess DNA eller RNA, där de som saknar lipidmembran har högre motståndskraft (Bozkurt et al., 2015).

Humana norovirus går inte att odla i cellkulturer vilket gör att studier på överlevnad, inaktivering och spridning inte kan genomföras (Cannon et al., 2006). Istället har andra virus, som bedöms ha liknande karaktärsdrag som norovirus, använts som indikatororganismer. (Lindblad and Simonsson, 2013). Ett vanligt virus som används som indikator är Hepatit A virus (HAV), som är ett virus med en hög överlevnadsförmåga. Även murint norovirus (MNV), har använts i flera studier (Baert et al., 2008; Cannon et al., 2006). Att använda PCR för att detektera humant norovirus är missvisande, eftersom det inte ger ett mått på om viruset är infektiöst eller inte (Wang and Tian, 2014). Nyligen har en studie publicerats där en ny metod för att analysera humant norovirus presenteras som även kan fungera för att studera inaktivering (Wang and Tian, 2014). Enligt denna studie visades humant norovirus ha en högre motståndskraft för värme än de virus som normalt används som indikatorer. Då metoden endast beskrivits i en artikel bör framtida studier inom området följas för att se om resultaten kan konfirmeras av andra.

De flesta studier om värmeinaktivering av virus har använt flytande buffert eller odlingsmedium, och i de fall bär har undersökts så har dessa varit i formen puré (Baert et al., 2008; Deboosere et al., 2004; Deboosere et al., 2010). Det finns inga studier på värmeinaktivering av virus i hela bär. En sammanställning av befintlig data ges i tabell 9.

Tabell 9. D-värden för indikatororganismer för humant norovirus i hallon- och jordgubbspuré som värmebehandlats, sammanställt från litteraturen.

Produkt	Organism	Temperatur (°C)	D-värde (D _t)	Referens
Hallonpuré, osockrad, pH 3.3	HAV	75 °C	1 min	(Deboosere et al., 2010)
	HAV	70 °C	2 min	(Deboosere et al., 2010)
	HAV	65 °C	4 min	(Deboosere et al., 2010)
Hallonpuré, osockrad, pH 3.1	MNV	65 °C	16 sek	(Baert et al., 2008)
	MNV	75 °C	5 sek	(Baert et al., 2008)
Jordgubbspuré, 28% socker, pH 3.8	HAV	90 °C	20 sek	(Deboosere et al., 2004)
	HAV	85 °C	1 min	(Deboosere et al., 2004)
Jordgubbspuré, 52% socker, pH 3.8	HAV	85 °C	5 min	(Deboosere et al., 2004)

Frysning

Att frysa livsmedel är en mycket användbar metod för att förlänga hållbarheten, då all mikrobiell aktivitet i princip avstannar (Adams and Moss, 2008). Men även om mikroorganismer inte kan växa vid frystemperaturer innebär det inte att de dör, vilket kan bli ett problem när livsmedlet senare tinas inför konsumtion.

Olika mikroorganismer skiljer sig i motståndskraft för nedkylning och frysning, men hur själva infrysningen går till påverkar också liksom i vilket livsmedel organismen befinner sig i. Den första fasen består av en nedkylning, vilket kan leda till en köldchock. Hur väl en organism klarar av en köldchock beror på sammansättningen av deras cellmembran och vid vilken temperatur membranet övergår till en stel och ogenomtränglig form. Vid nedkylning påverkas också vattenaktiviteten och pH i livsmedlet, eftersom volymen flytande vatten som innehåller lösliga ämnen minskar (Adams and Moss, 2008). Detta kan förstöra cellstrukturer och leda till att mikroorganismer dör.

När frystemperatur uppnås börjar det bildas iskristaller av vattnet utanför och inuti organismerna, vilket kan förstöra cellerna. Ju längre tid det tar för ett livsmedel, och en organism, att frysas in desto värre blir påverkan på organismerna. Det beror på att cellens strukturer skadas mer av de stora iskristaller som bildas vid långsam infrysning jämfört med de små som bildas vid snabb infrysning. Inaktiveringen fortsätter sedan under frysningen som en funktion av tid och ju längre tid mikroorganismerna är frysta desto fler hinner dö.

Inaktivering av bakterier genom frysning

Bakterier i sporform påverkas i princip inte alls av frystemperaturer och de flesta övriga bakterier kan klara frysning under långa perioder, även om det sker en minskning av bakteriemängd (Adams and Moss, 2008). När det gäller *Campylobacter* finns det studier som visat att *campylobacter* är känsligare mot frysning och överlever sämre än andra tarmbakterier såsom koliformer och salmonella (EFSA, 2011; Maziero and de Oliveira, 2010; Sampers et al., 2010). Men det finns andra som rapporterat att *campylobacter* tål frystemperaturer bättre när de analyserats på kött (Membré et al., 2013). Dessutom har Gram-positiva bakterier rapporteras vara tåligare än Gram-negativa bakterier (Adams and Moss, 2008).

Inaktivering av fiskparasiter genom frysning

Högre organismer, såsom maskar och protozoer, är mer känsliga mot frystemperaturer jämfört med bakterier (Adams and Moss, 2008). Därför är frysning en relativt pålitlig metod för att avdöda parasiter, även om det kan finnas mer toleranta varianter (Forbes et al., 2009).

Liksom för upphettning sker inaktivering genom frysning som en funktion av tid och temperatur. Tabell 10 sammanfattar de studier på effekten av frysning på överlevnad av fiskparasiter som finns i litteraturen. Enligt Adams et al (2005) krävs 4 dygn (96 timmar) i minus 15 °C alternativt 2,5 dygn (60 timmar) i minus 20 °C för fullständig inaktivering av *Anisakis simplex* i fisk. Efter 2 dygn (48 timmar) i minus 20 °C påvisades fortfarande cirka 10 procent levande larver (Adams et al., 2005).

Tabell 10. Inaktivering av fiskparasiter i fisk vid frysning.

Parasit	Temperatur (°C)	Överlevnadstid max (timmar)	Referens
Pseudoterranova	-5	96	(Bier, 1976)
Pseudoterranova	-10	70	(Bier, 1976)
Pseudoterranova	-20	16,5	(Bier, 1976)
Anisakis	-5	144	(Bier, 1976)
Anisakis	-10	288	(Bier, 1976)
Anisakis	-15	96	(Adams et al., 2005)
Anisakis	-20	60	(Adams et al., 2005)
Anisakis	-30	12	(Adams et al., 2005)
Anisakis	-40	9	(Adams et al., 2005)
Diphyllobothrium spp.	-18	24	(Salminen, 1970a)

Även vid frysning måste hänsyn tas till volymen fisk som ska frysas ner, eftersom det tar längre tid för större volymer att nå önskad kärntemperatur (Adams et al., 2005; Wharton and Aalders, 2002). Tabell 11 visar resultat från experimentellt försök på frysning av fiskfiléer, och tiden till uppnådd temperatur i fisken. I ett annat försök med infrysning i en behållare med 20 kg fisk tog det 28 timmar innan temperaturen var nere på minus 35 °C (Wharton and Aalders, 2002).

Tabell 11. Temperatur i fiskfilé vid frysning. Tabell återskapad från Adams et al. (2005).

Temperatur i frys (°C)	Antal filéer (st)	Tjocklek på filéer (mm)	Medeltid att uppnå lägsta temperatur (timmar)	Medelhastighet för frysning (°C/timme)
-15	4	14,9 ± 2,6	7,9 ± 0,4	11,2 ± 4,8
-20	16	17,1 ± 1,7	9,5 ± 1,8	11,4 ± 4,9
-30	7	15,9 ± 5,5	7,4 ± 3,4	31,1 ± 12,1

Inaktivering av Toxoplasma genom frysning

Tabell 12 visar inaktiveringsdata från litteraturen för parasiten *Toxoplasma gondii* avseende frysning. Resultaten i tabell 12 visar på att tiden är viktig, i kombination med temperaturen. Ju lägre temperatur desto kortare tid krävs för inaktivering av *Toxoplasma gondii*. Vid minus 20 °C räcker det med två dagar för att *Toxoplasma gondii* ska förlora sin förmåga att orsaka infektion.

Tabell 12. Sammanställning av data beskriven i litteraturen för inaktivering av *Toxoplasma vävnadscystor* avseende frysning.

Temperatur (°C)	Tid (dagar)	Påverkan	Referens	Kommentar
-1	23-34	Inaktiverad	(Kotula et al., 1991)	a
-3,9	23-34	Inaktiverad	(Kotula et al., 1991)	a
-6,7	12-17	Inaktiverad	(Kotula et al., 1991)	a
-8	2-3	Inaktiverad	(Kotula et al., 1991)	a
-10	1	Viabel	(El-Nawawi et al., 2008)	b
-10	2	Viabel	(El-Nawawi et al., 2008)	b
-10	3	Inaktiverad	(El-Nawawi et al., 2008)	b
-20	1	Viabel	(El-Nawawi et al., 2008)	b
-20	2	Inaktiverad	(El-Nawawi et al., 2008)	b
-20	2.2	Inaktiverad	(Lundén and Uggla, 1992)	c

^a Mixat griskött i 2 kg portioner

^b 5x5x5 cm organdelar från infekterat får, exponerat för given temperatur under given tid i vattenbad

^c Delat ben av lamm.

Sänkning av vattenaktiviteten

Allt liv är beroende av tillgängligt vatten. Således har sänkning av vattenaktivitet varit, och är, ett effektivt sätt att konservera livsmedel. Generellt sett så kan inga mikroorganismer växa om vattenaktiviteten är lägre än 0,6, men för de flesta organismer är gränsen för tillväxt högre (Adams and Moss, 2008). Vattenaktiviteten i ett livsmedel kan sänkas genom att ta bort vattnet, såsom genom torkning eller frysning, eller genom att tillsätta vattenlösliga ämnen såsom salt och socker. Exempel på produkter med vattenaktivitet lägre än 0,6 är torkade kryddor, pulversoppor och mjölkpulver.

Inaktivering av fiskparasiter genom saltning

Saltning kan ha en avdödande effekt på fiskparasiter, men det krävs att fisken förvaras i tillräckligt hög saltkoncentration under tillräckligt lång tid (tabell 13).

Tabell 13. Inaktivering av *Anisakis simplex* i fisk vid saltning.

NaCl (%)	Ättiksyra (%)	Överlevnadstid max	Referens
5	0	>17 veckor ^a	(Karl et al., 1997)
6-7	0	10-12 veckor	(Karl et al., 1997)
8-9	0	6 veckor	(EFSA, 2010)
3	6	>10 dagar ^a	(Sánchez-Monsalvez et al., 2005)
3	8	< 6 dagar	(Sánchez-Monsalvez et al., 2005)
3	10	< 4 dagar	(Sánchez-Monsalvez et al., 2005)
6	6	>10 dagar ^a	(Sánchez-Monsalvez et al., 2005)
6	8	< 4 dagar	(Sánchez-Monsalvez et al., 2005)
6	10	< 1 dagar	(Sánchez-Monsalvez et al., 2005)

^aFörsöket avbröts vid givna temperaturen

Enligt EFSA (2010) krävs 6 veckor i 8-9 procent natriumkloridlösning för att avdöda *Anisakis simplex*. Vid lägre salthalt måste lagringstiden öka, och vid 5 procents salthalt fanns fortfarande levande parasiter efter 17 veckor (Karl et al., 1997). Om surgörande medel såsom ättika eller vinäger tillsätts tillsammans med salt kan tiden för inaktivering minskas (Karl et al., 1997; Sánchez-Monsalvez et al., 2005).

Inaktivering av *Toxoplasma* genom saltning

I tabell 14 redovisas de siffror som hittats i litteraturen gällande inaktivering av *Toxoplasma gondii* genom saltning och gravning. Endast en studie har tittat på effekten av gravning (Lundén and Ugglå, 1992).

Tabell 14. Sammanställning av data beskriven i litteraturen för inaktivering av *Toxoplasma vävnadscystor* avseende saltning och gravning.

Temperatur (°C)	NaCl (%)	Tid (dagar)	Påverkan	Referens	Kommentar
4	0,85	56	Viabel	(Dubey, 1997)	a
10	0,85	35	Viabel	(Dubey, 1997)	a
15	0,85	21-28	Inaktiverad	(Dubey, 1997)	a
20	0,85	14-21	Inaktiverad	(Dubey, 1997)	a
4	1	45	Viabel	(Hill et al., 2004)	b
4	2	0-7	Inaktiverad	(Hill et al., 2004)	b
4	2	49-56	Inaktiverad	(Dubey, 1997)	a
10	2	28-35	Inaktiverad	(Dubey, 1997)	a
15	2	14-21	Inaktiverad	(Dubey, 1997)	a
20	2	7-14	Inaktiverad	(Dubey, 1997)	a
4	2	8	Viabel	(Pott et al., 2013)	b
4	2,5	0-1	Inaktiverad	(Pott et al., 2013)	b
4	3	0-1	Inaktiverad	(Pott et al., 2013)	b
4	3,3	21-28	Inaktiverad	(Dubey, 1997)	a
10	3,3	21-28	Inaktiverad	(Dubey, 1997)	a
15	3,3	14-21	Inaktiverad	(Dubey, 1997)	a
20	3,3	3-7	Inaktiverad	(Dubey, 1997)	a
10	6	0-3	Inaktiverad	(Dubey, 1997)	a
15	6	0	Inaktiverad	(Dubey, 1997)	a
20	6	0	Inaktiverad	(Dubey, 1997)	a
4	15	64 ^d	Inaktiverad	(Lundén and Uggla, 1992)	c

^a Vävnadscystor placerades i olika saltlösningar och inkuberades i olika temperaturer

^b Dissekerad hjärna från infekterade möss injicerade med olika saltlösningar placerade i 4 °C

^c Gravad lammfilé med 10% socker

^d Tid anges i timmar

Inaktivering av *Toxoplasma* genom rökning

Det finns inte många studier på inaktivering av *Toxoplasma gondii* genom rökning. Endast en studie har hittats, och i denna undersöktes effekten av kallrökning av delat ben av lamm vid 50 °C i 24-28 timmar (Lundén and Uggla, 1992). Efter rökningen påvisades ingen viabel *Toxoplasma gondii* från det rökta köttet.

Riskkaraktärisering

Fråga 1. Värmeinaktivering av bakterier

Sammanställ aktuella tid-temperaturdata (D-värden) för värmeinaktivering av olika sjukdomsframkallande bakterier i ett fettrikt, ett halv- eller helflytande samt ett magert livsmedel, t. ex majonnäs, köttsocka/kött gryta och spenat. Det går bra att ange ett ”worst case” scenario. Ange, om möjligt svaret i diagramform. Samt:

- a. Hur kan inaktiveringen skilja sig för samma bakterie i olika livsmedel (se exempel ovan) vid en och samma temperatur? Vilka faktorer, till exempel skillnad mellan stammar, egenskaper hos olika livsmedel och i vilken miljö bakterien tidigare befunnit sig i, kan påverka värmetåligheten hos campylobacter och eventuella andra sjukdomsframkallande bakterier?
- b. Finns det risk att konsumenter blir sjuka av campylobacter i kycklingkött som värmts upp till en kärntemperatur av 70 °C? I så fall hur stor är den risken? Utgå från aktuell föroreningsgrad av campylobacter på svensk kyckling och en tillagningstid på 15 sekunder samt 1, 2 och 5 minuter. Räkna med att det sker en viss avdödning även under uppvärmningstiden. Hur stor skillnad i avdödningstid är det för samma föroreningsgrad om kärntemperaturen är 71 °C respektive 72 °C istället för 70 °C?
- c. EHEC: De flesta konsumenter använder inte termometer vid tillagning av hamburgare, köttfärsbiffar eller köttbullar. Hur ska konsumenten då kunna avgöra när till exempel en hamburgare är säker? Är det befintliga rådet att genomsteka och eller att undvika rosa köttfärs tillräckligt för att avdöda EHEC? Hur vet konsumenten att hamburgaren är genomstekt? Kan EHEC överleva i en hamburgare som är ljusbrun i kärnan och kan det vara så att EHEC har dött även om köttfärsen är rosa?

Svar om värmeinaktivering av bakterier

Aktuella tid-temperaturdata (D-värden) för värmeinaktivering av olika sjukdomsframkallande bakterier visas i tabellerna 2-5 ovan. Det finns inte så många studier som jämför inaktivering av samma bakterie i olika livsmedelstyper. De flesta studier tittar på ett eller ett par livsmedel och jämför överlevnaden vid olika temperaturer, mellan olika bakterier alternativt mot försök i buljong.

Inaktivering av bakterier sker inte momentant, utan som en funktion av avdödande parameter och tid. För inaktivering genom upphettning är således en förutsättning att tillräckligt höga temperaturer uppnås i hela livsmedlet som behandlas, och att denna temperatur upprätthålls under tillräcklig tid. Det sker även en inaktivering under upphettningstiden.

- a. Livsmedlets egenskaper kan påverka hur effektiv en inaktivering är men det är svårt att dra slutsatser på grund av stora variationer mellan olika studier. En

systematisk studie (så kallad metaanalys) där parametrar som kan påverka värmeinaktiveringen hos ett flertal bakterier studerats utifrån mer än 4000 D-värden visade endast ett fåtal tydliga samband (van Asselt and Zwietering, 2006). Dessa var tillsats av 10 procent salt för *Listeria monocytogenes*, förekomst i choklad för *Salmonella* spp. och förekomst i olja för *Bacillus cereus*. Hos *Clostridium botulinum* finns en skillnad mellan olika stammar, där sporer av proteolytiska stammar är mer värmeresistenta än sporer av icke-proteolytiska stammar. Övriga parametrar överskuggas av den stora variationen mellan olika studier eller har inte studerats i tillräckligt hög grad. En uppföljande studie där *Listeria monocytogenes* använts som modell har dock visat att det finns stor variation mellan värmetolerans hos olika stammar (Aryani et al., 2015). Det är troligt att liknande resultat skulle kunna visas om denna studie upprepades för andra bakterier.

- b. Det finns flera studier som visat att det finns värmetåliga stammar eller delpopulationer av campylobacter. Det har visats bland annat genom att de inaktiveringskurvor som erhållits i olika värmeinaktiveringsförsök planar ut i en så kallad tail på slutet. I en studie uppskattades den värmetoleranta delpopulationen till mellan 0,7-0,9 procent av den initiala mängden campylobacter efter upphettning till 60 °C. Om kycklingkött är kraftigt förorenat med campylobacter och det är en såpass hög andel av dessa som är värmetåliga finns således en risk att det kan finnas sjukdomsframkallande nivåer av campylobacter även efter upphettning till 70 °C. Framförallt om uppvärmningstiden är kort, då högre inaktivering sker vid långsam uppvärmning.

Om temperaturen 70 °C hålls en viss tid kommer ytterligare inaktivering att ske (tabell 6). För campylobacter med ett mycket högt D-värde (18,3 minuter vid 60 °C) sker en inaktivering på 1,4 logenheter efter 15 sekunder och 2,7 logenheter efter 30 sekunder vid 70 °C. Ökas tiden till 1 minut inaktiveras dessa campylobacter med 5,5 logenheter. Om temperaturen istället höjs till 71 eller 72 °C sker en inaktivering på 2,2 respektive 3,4 logenheter efter 15 sekunder, 4,3 respektive 6,9 logenheter efter 30 sekunder och 8,7 respektive 13,7 logenheter efter 1 minut. Det kan dock inte uteslutas att det finns delpopulationer som är ännu mer värmetåliga och således har ett D-värde som är högre än 18,3. Om det till exempel finns en delpopulation som är lika värmetåliga som de som rapporterats av de Jong et al. (2012) kommer det inte ske någon reduktion alls i temperaturintervallet upp till 72 °C.

- c. Att enbart se till färgen för att avgöra om till exempel en köttfärsbiff är tillräckligt tillagad är inte ett tillförlitligt tillvägagångssätt. Framförallt om köttfärsen förvarats i modifierad atmosfär, såsom 80/20 eller 70/30 procent syre per procent koldioxid, då det finns ett flertal rapporter om att sådan köttfärs kan få så kallat förtidigt mörknande ("premature browning") (Boqvist et al., 2015; Hague et al., 1994; Hunt et al., 2008; John et al., 2004; Seyfert et al., 2006; Sørheim and Høy, 2013). Förtidigt mörknande får till följd att färsprodukten ser färdiglagad ut vid lägre temperaturer, cirka 60 °C istället för vid cirka 80 °C som gäller för köttfärs som inte packats i modifierad atmosfär (Boqvist et al., 2015; Hunt et al., 2008; Røssvoll et al., 2014). Det har till och med rapporterats att en så pass låg temperatur som 49 °C gett upphov till färdiglagad utseende

(John et al., 2004). Att också se till färgen på köttsaften och strukturen på färsen har rapporterats som ett mer tillförlitligt sätt att bedöma om rätten är färdiglagad, även om en termometer är att föredra (Boqvist et al., 2015).

- d. De D-värden som finns angivna för STEC i nötfärs vid 60 °C varierar mellan 1 till 3 minuter (tabell 4). Det betyder att det tar mellan 1 till 3 minuter vid en kärntemperatur av 60 °C att minska mängden STEC i en hamburgare med tio gånger. Vid 65,6 °C räcker det med mellan 0,1 till 0,4 minuter för att uppnå samma effekt. Boqvist et al. (2015) har studerat reduktionen av antalet STEC som satts till i hamburgare (100 g) och stekts till olika temperaturer. Vid 70 °C visade denna studie en 95 procents chans att få en reduktion mellan 2 till 6 logenheter. Det bör dock nämnas att Boqvist et al. (2015) inte hade fokus på överlevnad av STEC, utan på färgförändringar orsakade av förpackning i modifierad atmosfär, och därför endast studerat en STEC-stam i sitt försök (Boqvist et al., 2015).

Fråga 2. Inaktivering av fiskparasiter

I många recept anges betydligt lägre temperaturer än 60 °C vid tillagning av fisk, till exempel 47 – 56 °C beroende på fiskart. Varmare temperaturer anses göra fisken torr.

- a. Hur påverkas inaktivering av parasiter i färsk ofrusen fisk vid tillagning vid olika tillagningstemperaturer, till exempel 47 – 65 °C. Ta hänsyn till typ av parasit.
- b. Inaktivering genom saltning: Vid vilka saltkoncentrationer dör fiskparasiter?
- c. Inaktivering genom frysning: Är det befintliga rådet att frysa fisk i tre dygn lagom eller onödigt länge för fisk som ska ätas rå, gravas, lättmarineras eller kallrökas? Ta fram och sammanställ data på inaktivering av olika parasiter vid frysning, gärna i tabellform.

Svar om inaktivering av fiskparasiter

När det gäller studier på hur fysikalisk påverkan, såsom upphettning och frysning, påverkar inaktivering av fiskparasiter är det främst parasiten *Anisakis simplex* som har studerats (EFSA, 2010). Endast enstaka studier finns som studerar parasiterna *Pseudoterranova decipiens* och *Diphyllobothrium* spp. På samma vis som för bakterier gäller för parasiter att inaktivering via upphettning alternativt frysning är en funktion av temperatur och tid. Således är förutsättningen att tillräckliga temperaturer bör uppnås i hela livsmedlet samt att temperaturen upprätthålls under tillräcklig tid. Dessutom sker även viss inaktivering under upphettning- alternativt infrysningstiden.

- a. Resultat från studier om värmeinaktivering av fiskparasiter visas i tabell 7. Majoriteten av de fåtal studier som finns att tillgå är utförda på rundmaskar som

ger upphov till anisakiasis, det vill säga *Anisakis simplex* och *Pseudoterranova decipiens*.

När det gäller inaktivering genom upphettning så varierar resultaten mellan olika studier, vilket gör det svårt att dra entydiga slutsatser. De studier som utförts i fisk visar på tider på mellan 10 sekunder till 1 minut vid såväl 55 som 60 °C. Det finns dock en studie, där inaktivering undersökts i vatten, som visat på mer än 10 minuter för fullständig inaktivering vid 60 °C. Anledningen till detta resultat är svårt att förklara, mer än att det kan förekomma skillnad i tolerans hos individuella larver och att det i detta försök ingått värmetoleranta larver.

- b. Resultat från studier om inaktivering av *Anisakis simplex* genom saltning visas i tabell 13. Till detta underlag har endast en studie hittats där den avdödande effekten av enbart salt undersökts, och den visade på 10-12 respektive 6 veckors maximal överlevnadstid vid 6-7 respektive 8-9 procent salttillsats. Överlevnadstiden kortas ner dramatiskt genom att andra avdödande tillsatser, såsom ättiksyra, tillsätts tillsammans med salt. Men det har endast hittats en studie som undersöker kombinationen av salt och ättika och dess avdödande effekt på fiskparasiter.
- c. Resultat från studier om inaktivering av fiskparasiter genom frysning visas i tabell 10. Majoriteten av de fåtal studier som finns att tillgå är, liksom för inaktivering genom upphettning, utförda på rundmaskar som ger upphov till anisakiasis, det vill säga *Anisakis simplex* och *Pseudoterranova decipiens*.

De resultat som finns pekar mot att befintligt råd om infrysning av fisk till minus 18 °C i tre dygn ger en fullgod inaktivering av *Anisakis simplex*. Andra tid- och temperaturkombinationer bör också fungera, såsom EFSA:s rekommendation om frysning vid minus 15 °C i minst 96 timmar (fyra dygn) alternativt vid minus 35 °C i 15 timmar (EFSA, 2010). Enligt hygienförordningen för livsmedel av animaliskt ursprung (EG 853/2004) fastslås frysning till åtminstone minus 20 °C i minst 24 timmar (1 dygn), vilket

Fråga 3. Inaktivering av *Toxoplasma*

Ta fram och sammanställ förekomst-data av *Toxoplasma* i olika livsmedel samt data för inaktivering av *Toxoplasma*s vävnadscystor avseende:

- a. Värmebehandling vid tillagning (temperatur– tid).
- b. Frysning (temperatur– tid)
- c. Gravning
- d. Torkning
- e. Kall- och varmrökning

Svar om inaktivering av *Toxoplasma*

Resultat från vetenskapliga studier som undersökt förekomst av *Toxoplasma gondii* i livsmedelsproducerande djur finns samlade i tabell 1. Inga studier om förekomst av *Toxoplasma gondii* i vegetabilier har hittats.

- a. Tre vetenskapliga studier har hittats där effekten av värmebehandling på *Toxoplasma gondii* i kött studerats (tabell 8). En tolkning av resultaten är att det tycks gå en gräns mellan upphettning till 52 och 55 °C. Från 52 °C och nedåt tar det minst 25 minuter att inaktivera *Toxoplasma gondii* medan det från 55 °C och uppåt rapporteras tider på under 10 minuter.

I en av studierna behöll *Toxoplasma gondii* sin förmåga att orsaka infektion även efter upphettning vid 100 °C i fem minuter (El-Nawawi et al., 2008). Anledningen till detta resultat kan vara att temperaturen inte mättes som kärntemperatur på köttet utan endast i vattenbadet.

- b. Resultat från litteraturen avseende inaktivering av *Toxoplasma gondii* genom frysning presenteras i tabell 12. När det gäller frysning blir det tydligt att såväl tid som temperatur är av vikt för effektiv inaktivering. Ju lägre temperatur desto kortare tid krävs för inaktivering av *Toxoplasma gondii*. Vid minus 20 °C räcker det med två dagar för att *Toxoplasma gondii* ska förlora sin förmåga att infektera. Vid minus 8-10 °C visar försök att det krävs tre dagar för att uppnå samma effekt. Vid minus 4 °C måste dock köttet frysas i 23-34 dagar innan all *Toxoplasma gondii* inaktiveras.
- c. Endast en studie har hittats där effekten av gravning på *Toxoplasma gondii* har studerats (Lundén and Uggla, 1992). I detta försök inaktiverades *Toxoplasma gondii* efter drygt 2,5 dygns gravning vid 4 °C med 15 procent salt och 10 procent socker.

Det finns dock ett antal studier som undersökt den avdödande effekten av enbart salt på *Toxoplasma gondii* (tabell 14). Det kan skilja sig rätt så mycket mellan olika studier vid samma salthalt och temperatur. Men generellt så tycks den avdödande effekten av saltning gynnas av en högre temperatur.

- d. Inga studier har hittats som tar upp torkning som metod för inaktivering av *Toxoplasma gondii*.
- e. Inga studier har hittats som tar upp varmrökning som metod för inaktivering av *Toxoplasma gondii*. Endast en studie har hittats där kallrökning och inaktivering av *Toxoplasma gondii* studerats (Lundén and Ugglå, 1992). I detta försök, där infekterat lammkött röks vid 50 °C, påvisades ingen levande *Toxoplasma gondii* efter 1-2 dagar.

Fråga 4. Inaktivering av norovirus i hallon

Se över och uppdatera temperaturdata för värmeinaktivering av norovirus i hallon. Är det fortfarande enbart vid tid-temperaturkombinationen 1 minut vid 100 °C som med säkerhet inaktiverar viruset eller kan längre tider vid lägre temperaturer ge en tillfredställande inaktivering?

Svar om inaktivering av norovirus i hallon

Humana norovirus går inte att odla i cellkulturer vilket gör att studier på överlevnad, inaktivering och spridning inte kan genomföras. Därför används andra virus, exempelvis Hepatit A virus (HAV) eller murint norovirus, som indikatororganismer i överlevnadsförsök. En sammanställning av befintlig överlevnadsdata avseende värmeinaktivering av indikatororganismer för norovirus visas i tabell 9.

Fødevarainstitutet på Danmarks Tekniske Universitet (DTU) har gjort en sammanställning om värmeinaktivering av virus i bär (DTU, 2012). De konstaterar att det saknas studier på inaktivering av norovirus i hela bär alternativt bärprodukter vid kokning (100 °C) i 1 minut. Genom extrapolering av data från i litteraturen (samma som i tabell 9) uppskattas att kokning i 1 minut ger en reduktion på minst 4 log av HAV, vilket bör säkerställa en tillräcklig reduktion av norovirus avseende de nivåer av virus som kan finnas på bär (Baert et al., 2011; Brassard et al., 2012; Stals et al., 2011). De konstaterar även att en längre tid kan kompensera för en lägre temperatur (DTU, 2012). Genom de D-värden som visas i tabell 8 erhålls en 4-logreduktion för HAV i hallonpuré efter 4 minuter vid 75 °C, 8 minuter vid 70 °C och 16 minuter vid 65 °C (Deboosere et al., 2010).

Det finns en studie, som använt sig av en nyutvecklade metod att kvantifiera norovirus, som visat en högre motståndskraft för värme hos humant norovirus jämfört med de virus som normalt används som indikatorer, med ett D-värde på 0.57 minuter vid 100 °C (Wang and Tian, 2014). Detta ger en 1-logreduktion på en knapp minut, vilket skulle innebära att kokning av bär i 1 minut inte ger en tillräcklig minskning av mängden norovirus. Då denna studie använt ny metodik, som endast beskrivits i en artikel, bör framtida studier inom området följas för att se om resultaten kan konfirmeras av andra.

Referenser

- Adams, A. M., Ton, M. N., Wekell, M. M., MacKenzie, A. P., Dong, F. M., 2005. Survival of *Anisakis simplex* in Arrowtooth flounder (*Atheresthes stomia*) during frozen storage. *Journal of Food Protection*. 68, 1441-1446.
- Adams, M., Moss, M., 2008. *Food microbiology*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Al-Holy, M., Quinde, Z., Guan, D., Tang, J., Rasco, B., 2004. Thermal inactivation of *Listeria innocua* in salmon (*Oncorhynchus keta*) caviar using conventional glass and novel aluminum thermal-death-time tubes. *Journal of Food Protection*. 67, 383-386.
- Al Sakkaf, A., Jones, G., 2012. Thermal inactivation of *Campylobacter* in broth. *Journal of Food Protection*. 6, 1029-1035.
- Anonym, 2016a. Fiskbinnikemask. <https://www.folkhalsomyndigheten.se/smittskydd-beredskap/smittsamma-sjukdomar/bandmask/>. 2016-08-31.
- Anonym, 2016b. Statens veterinärmedicinska anstalt. <http://www.sva.se/djurhalsa/fisk/sjukdomar-hos-fisk> 2016-06-27.
- Anonym, 2016c. Statens veterinärmedicinska anstalt. <http://www.sva.se/djurhalsa/vilda-djur/viltssjukdomar/toxoplasma-vilda-djur> 2016-06-27.
- Aryani, D. C., den Besten, H. M. W., Hazeleger, W. C., Zweitering, M. H., 2015. Quantifying variability on thermal resistance of *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*. 193, 130-138.
- Audicana, M. T., Kennedy, M. W., 2008. *Anisakis simplex*: from obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity. *Clinical Microbiology Reviews*. 21, 360-379.
- Baert, L., Mattison, K., Loisy-Hamon, F., Harlow, J., Martyres, A., Lebeau, B., Stals, A., Van Coillie, E., Herman, L., Uyttendaele, M., 2011. Review: Norovirus prevalence in Belgian, Canadian and French fresh produce: A threat to human health? *International Journal of Food Microbiology*. 151, 261-269.
- Baert, L., Uyttendaele, M., Van Coillie, E., Debevere, J., 2008. The reduction of murine norovirus 1, B. fragilis HSP40 infecting phage B40-8 and *E. coli* after a mild thermal pasteurization process of raspberry puree. *Food Microbiology*. 25, 871-874.
- Baltic, M. Z., Markovic, M., Teodorovic, V., Karabasil, N., 1998. The influence of cooling and heating temperatures on the survival of *Anisakis* spp. larvae in fish meat. *FAO*. 2016-08-22.
- Barrile, J. C., Cone, J. F., 1970. Effect of added moisture on the heat resistance of *Salmonella anatum* in milk chocolate. *Applied Microbiology*. 19, 177-178.
- Berger-Schoch, A. E., Bernet, D., Doherr, M. G., Gottstein, B., Frey, C. F., 2011. *Toxoplasma gondii* in Switzerland: a serosurvey based on meat juice analysis of slaughtered pigs, wild boar, sheep and cattle. *Zoonoses Public Health*. 58, 472-478.
- Bergsma, N. J., Fisher, A. R. H., Van Asselt, E. D., Zweitering, M. H., De Jong, A. E. I., 2007. Consumer food preparation and its implication for survival of *Campylobacter jejuni* on chicken. *British Food Journal*. 109, 548-561.
- Bier, J. W., 1976. Experimental anisakiasis: cultivation and temperature tolerance determinations. *Journal of Milk and Food Technology*. 39, 132-137.
- Blankenship, L. C., Craven, S. E., 1982. *Campylobacter jejuni* survival in chicken meat as a function of temperature. *Applied and Environmental Microbiology*. 44, 88-92.
- Boqvist, S., Fernström, L.-L., Alsanus, B., Lindqvist, R., 2015. *Escherichia coli* O157:H7 reduction in hamburgers with regard to premature browning of minced beef, colour score and method for determining doneness. *International Journal of Food Microbiology*. 215, 109-116.
- Bozkurt, H., D'Souza, D. H., Davidson, P. M., 2015. Thermal inactivation of foodborne enteric viruses and their viral surrogates in food. *Journal of Food Protection*. 78, 1597-1617.
- Brassard, J., Gagné, M.-J., Généreux, M., Côté, C., 2012. Detection of human food-borne and zoonotic viruses on irrigated, field-grown strawberries. *Applied and Environmental Microbiology*. 78, 3763-3766.

- Cannon, J. L., Papafragkou, E., Park, G. W., Osborne, J., Jaykus, L.-A., Vinjé, J., 2006. Surrogates for the study of norovirus stability and inactivation in the environment: a comparison of murine norovirus and feline calicivirus. *Journal of Food Protection*. 69, 2761-2765.
- Carlier, V., Augustine, J. C., Rozier, J., 1996. Destruction of *Listeria monocytogenes* during a ham cooling process. *Journal of Food Protection*. 59, 592-595.
- Close, A. J., Jones, T., Williams, N. J., Rushton, S. P., Humphrey, T. J., 2015. Development of accurate predictive models for the assessment of the survival of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* under food-relevant conditions. Food Standards Agency, UK
<https://www.food.gov.uk/science/research/foodborneillness/b15programme/b15projects/fs241040>.
- de Jong, A. E. I., van Asselt, E. D., Zweitering, M. H., Nauta, M. J., de Jong, R., 2012. Extreme heat resistance of food borne pathogens *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, and *Salmonella typhimurium* on chicken breast fillet during cooking. *International Journal of Microbiology*. 1-10.
- Deboosere, N., Legeay, O., Caudrelier, Y., Lange, M., 2004. Modelling effect of physical and chemical parameters on heat inactivation kinetics of hepatitis A virus in a fruit model system. *International Journal of Food Microbiology*. 93, 73-85.
- Deboosere, N., Pinon, A., Delobel, A., Temmam, S., Morin, T., Merle, G., Blaise-Boisseau, S., Perelle, S., Vialette, M., 2010. A predictive microbiology approach for thermal inactivation of Hepatitis A virus in acidified berries. *Food Microbiology*. 27, 962-967.
- Deksne, G., Kirjušina, M., 2013. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in domestic pigs (*Sus scrofa domestica*) and wild boars (*Sus scrofa*) in Latvia. *Journal of Parasitology*. 99, 44-47.
- DTU, 2012. Varmeinaktivering af virus i bærprodukter. Vurdering fra DTU Fødevareinstituttet.
- Dubey, J. P., 1997. Survival of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in 0.85-6% NaCl solutions at 4-24 °C. *Journal of Parasitology*. 85, 946-949.
- Dubey, J. P., Kotula, A. W., Sharar, A., Andrews, C. D., Lidsay, D. S., 1990. Effect of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue in pork. *Journal of Parasitology*. 76, 201-204.
- Dubey, J. P., Thulliez, P., Powell, E. C., 1995. *Toxoplasma gondii* in Iowa sows: comparison of antibody titers to isolation of *T. gondii* by bioassays in mice and cats. *Journal of Parasitology*. 81, 48-53.
- Dupouy-Camet, J., Peduzzi, R., 2004. Current situation of human diphyllbothriasis in Europe. *Eurosurveillance*. 9.
- EFSA, 2010. Scientific opinion on risk assessment of parasites in fishery products. *EFSA Journal*. 8, 1543-.
- EFSA, 2011. Scientific Opinion on *Campylobacter* in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain. *EFSA Journal*. 9, 2105.
- EFSA, ECDC, 2015. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. *EFSA Journal*. doi:1013, 4329.
- El-Nawawi, F. A., Tawfik, M. A., Shaapan, R. M., 2008. Methods for inactivation of *Toxoplasma gondii* cysts in meat and tissues of experimentally infected sheep. *Foodborne pathogens and disease*. 5, 687-690.
- Embarek, P., Huss, H. H., 1993. Heat resistance of *Listeria monocytogenes* in vacuum packaged pasteurized fish fillets. *International Journal of Food Microbiology*. 20, 85-95.
- FDA, Bad bug book, foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins, 2nd ed. 2012.
- Flegr, J., Prandota, J., Sovi?ková, M., Israili, Z. H., 2014. Toxoplasmosis - a global threat. Correlation of latent toxoplasmosis with specific disease burden in a set of 88 countries. *PLoS ONE*. 9, e90203.
- Forbes, L. B., Measures, L., Gajadhar, A., 2009. Infectivity of *Toxoplasma gondii* in northern traditional (country) foods prepared with meat from experimentally infected seals. *Journal of Food Protection*. 72, 1756-1760.
- Friedly, E. C., Crandall, P. G., Ricke, S., O'Bryan, C. A., Martin, E. M., Boyd, L. M., 2008. Identification of listeria innocua surrogates for *Listeria monocytogenes* in hamburger patties. *Journal of Food Science*. 73, M174-M178.
- Gaze, J. E., Brown, G. D., Gaskell, D. E., Banks, J. G., 1989. Heat resistance of *Listeria monocytogenes* in homogenates of chicken, beef steak and carrot. *Food Microbiology*. 6, 251-259.

- Hague, M. A., Warren, K. E., Hunt, M. C., Kropf, D. H., Kastner, C. L., Stroda, S. L., Johnson, D. E., 1994. Endpoint temperature, internal cooked color, and expressible juice color relationships in ground beef patties. *Journal of Food Science*. 59, 465-470.
- Halová, D., Mulcahy, G., Rafter, P., Turčeková, L., Grant, T., de Waal, T., 2013. *Toxoplasma gondii* in Ireland: seroprevalence and novel molecular detection method in sheep, pigs, deer and chickens. *Zoonoses Public Health*. 60, 168-173.
- Hill, D. E., Sreekumar, C., Gamble, H. R., Dubey, J. P., 2004. Effect of commonly used enhancement solutions on the viability of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork loin. *Journal of Food Protection*. 67, 2230-2233.
- Hirvelä-Koski, V., 1992. The prevalence of toxoplasma antibodies in swine sera in Finland. *Acta Vet Scand*. 33, 21-25.
- Huang, L., Juneja, V. K., 2003. Thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef supplemented with sodium lactate. *Journal of Food Protection*. 66, 664-667.
- Hughes, R.-A., Cogan, T., Humphrey, T. J., 2010. Exposure of *Campylobacter jejuni* to 6 degrees C: Effects on heat resistance and electron transport activity *Journal of Food Protection*. 73, 729-733.
- Humphrey, T. J., Chapman, P. A., Rowe, B., Gilbert, R. J., 1990. A comparative study of the heat resistance of salmonellas in homogenized whole egg, egg yolk or albumen. *Epidemiology and Infection*. 104, 237-241.
- Hunt, M. C., Sorheim, O., Slinde, E., 2008. Color and heat denaturation of myoglobin forms in ground beef. *Journal of Food Science*. 64, 847-851.
- ICMSF, *Microorganisms in food 5 - Microbiological specifications of food pathogens*. In: T. A. Roberts, A. C. Baird-Parker, R. B. Tompking, (Eds.). Blackie Academic & Professional, London, UK, 1996.
- John, L., Cornforth, D., Carpenter, C. E., Sorheim, O., Pettee, B. C., Whittier, D. R., 2004. Comparison of color and thiobarbituric acid values of cooked hamburger patties after storage of fresh beef chubs in modified atmospheres. *Journal of Food Science*. 69, C608-C614.
- Jones, J. L., Dubey, J. P., 2012. Foodborne toxoplasmosis. *Food Safety*. 55, 845-851.
- Juneja, V. K., Eblen, B. S., Ransom, G. M., 2001. Thermal inactivation of *Salmonella* spp. in chicken broth, beef, pork, turkey, and chicken: determination of D- and Z-values. *Journal of Food Science*. 66, 146-152.
- Juneja, V. K., Snyder Jr, O. P., Marmer, B. S., 1997. Thermal destruction of *Escherichia coli* O157:H7 in beef and chicken: determination of D- and Z-values. *International Journal of Food Microbiology*. 35, 231-237.
- Karl, H., Roepstorff, A., Huss, H. H., Bloemasma, B., 1997. Survival of *Anisakis* larvae in marinated herring fillets. *International Journal of Food Science and Technology*. 29, 661-670.
- Kotula, A. W., Dubey, J. P., Sharar, A., Andrews, C. D., Shen, S. K., Lidsay, D. S., 1991. Effect of freezing on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. *Journal of Food Protection*. 54, 687-690.
- Lahou, E., Wang, X., De Boeck, E., Verguldt, E., Geeraerd, A., Devlieghere, F., Uyttendaele, M., 2015. Effectiveness of inactivation of foodborne pathogens during simulated home pan frying of steak, hamburger or meat strips *International Journal of Food Microbiology*. 206, 118-129.
- Lindblad, M., Simonsson, M., 2013. Norovirus i hallon. Riskvärdering. RN053:2012.
- Lori, S., Buckow, R., Knorr, D., Heinz, V., Lehmacher, A., 2007. Predictive model for inactivation of *Campylobacter* spp. by heat and high hydrostatic pressure. *Journal of Food Protection*. 70, 2020-2029.
- Luchansky, J. B., Porto-Fett, A. C. S., Shoyer, B. A., Phillips, J., Eblen, D., Evans, P., Bauer, N., 2013. Thermal inactivation of a single strain each of serotype O26:H11, O45:H2, O103:H2, O104:H4, O111:H:8211; O121:H19, O145:NM, and O157:H7 cells of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in wafers of ground beef. *Journal of Food Protection*. 76, 1434-1437.
- Lundén, A., Lind, P., Engvall, E., Gustavsson, K., Uggla, A., Vågsholm, I., 2002. Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in pigs slaughtered in Sweden. *Scand Journal of Infectious Disease*. 34, 362-365.

- Lundén, A., Uggla, A., 1992. Infectivity of *Toxoplasma gondii* in mutton following curing, smoking, freezing or microwave cooking. *International Journal of Food Microbiology*. 15, 357-363.
- Maziero, M. T., de Oliveira, T. C. R. M., 2010. Effect of refrigeration and frozen storage on the *Campylobacter jejuni* recovery from naturally contaminated broiler carcasses. *Brazilian Journal of Microbiology*. 41, 501-505.
- Mead, P. S., Griffin, P. M., 1998. *Escherichia coli* O157:H7. *The Lancet*. 352, 1207-1212.
- Membré, J.-M., Laroche, M., Magras, C., 2013. Meta-analysis of *Campylobacter* spp. survival data within a temperature range of 0 to 42 °C. *Journal of Food Protection*. 76, 1726-1732.
- Mie, T., Pointon, A. M., Hamilton, D. R., Kiermeier, A., 2008. A qualitative assessment of *Toxoplasma gondii* risk in ready-to-eat smallgoods processing. *Journal of Food Protection*. 71, 1442-1452.
- Montoya, J., Lisenfeld, O., 2004. Toxoplasmosis. *Lancet*. 363, 1965.
- Monu, E. A., Valladares, M., D'Souza, D. H., Davidson, P. M., 2015. Determination of the thermal inactivation kinetics of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, and *Escherichia coli* O157:H7 and non-O157 in buffer and a spinach homogenate. *Journal of Food Protection*. 78, 1467-1471.
- Mossel, D. A., Struijk, C. B., 1995. Public health implication of refrigerated *à*asteiroxed (sous-vide) foods. *International Journal of Food Microbiology*. 13, 187-206.
- Nguyen, H. T. T., Corry, J. E. L., Miles, C. A., 2006. Heat resistance and mechanism of heat inactivation in thermophilic campylobacters. *Applied and Environmental Microbiology*. 72, 908-913.
- Opsteegh, M., Schares, G., Blaga, R., van der Giessen, J., 2016. Experimental studies on *Toxoplasma gondii* in the main livestock species (GP/EFSA/BIOHAZ/2013/01) Final report. EFSA supporting publication:EN-995, 161 pp.
- Opsteegh, M., Swart, A., Fonville, M., Dekkers, L., van der Giessen, J., 2011. Age-related *Toxoplasma gondii* seroprevalence in Dutch wild boar inconsistent with lifelong persistence of antibodies. *PLoS ONE*. 6, e16240.
- Osaili, T. M., Al-Nabulsi, A. A., Shaker, R. R., Olaimat, A. N., Jaradat, Z. W., Holley, R. A., 2013. Thermal inactivation of *Salmonella* Typhimurium in chicken shawirma (gyro). *International Journal of Food Microbiology*. 166, 15-20.
- Osaili, T. M., Griffis, C. L., Martin, E. M., Beard, B. L., Keener, A. E., Marcy, J. A., 2007. Thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* in breaded pork patties. *Journal of Food Science*. 72, M56-M61.
- Pott, S., Koethe, M., Bangoura, B., Zöller, B., Dausgies, A., Straubinger, R. K., Fehlhaber, K., Ludewig, M., 2013. Effects of pH, sodium chloride, and curing salt on the infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts. *Journal of Food Protection*. 76, 1056-1061.
- Quintavalla, S., Campanini, M., 1991. Effect of rising temperature on the heat resistance of *Listeria monocytogenes* in meat emulsion. *Letters in Applied Microbiology*. 12, 184-187.
- Røssvoll, E., Sørheim, O., Heir, E., Mørtrø, T., Olsen, N. V., Langsrud, S., 2014. Consumer preferences, internal color and reduction of shigatoxinogenic *Escherichia coli* in cooked hamburgers. *Meat Science*. 96, 695-703.
- Salminen, K., 1970a. The effect of low temperatures on the motility of *Diphyllobothrium latum* plerocercoids. *Acta Vet Scand*. 11, 236-246.
- Salminen, K., 1970b. The infestiveness of heat and cold exposed *Diphyllobothrium latum* plerocercoids on golden hamster. *Acta Vet Scand*. 11, 247-253.
- Sampers, I., Habib, I., De Zutter, L., Dumoulin, A., Uyttendaele, M., 2010. Survival of *Campylobacter* spp. in poultry meat preparations subjected to freezing, refrigeration, minor salt concentration, and heat treatment. *International Journal of Food Microbiology*. 137, 147-153.
- Sánchez-Monsalvez, I., de Armas-Serra, C., Martínez, J., Dorado, M., Sánchez, A., Rodríguez-Caabeiro, F., 2005. A new procedure for marinating fresh anchovies and ensuring the rapid destruction of *Anisakis* larvae. *Journal of Food Protection*. 68, 1066-1072.
- Scholz, T., Garcia, H. H., Kuchta, R., Wicht, B., 2009. Update on the Human Broad Tapeworm (Genus *Diphyllobothrium*), Including Clinical Relevance. *Clinical Microbiology Reviews*. 22, 146-160.
- Seyfert, M., Mancini, R., Hunt, M. C., 2006. Internal premature browning in cooked ground beef patties from high-oxygen modified-atmosphere packaging. *Journal of Food Science*. 69, 721-725.

- Stals, A., Baert, L., Jasson, V., Van Coillie, E., Uyttendaele, M., 2011. Screening of fruit products for norovirus and the difficulty of interpreting positive PCR results. *Journal of Food Protection*. 74, 425-431.
- Sørheim, O., Høy, M., 2013. Effects of food ingredients and oxygen exposure on premature browning in cooked beef. *Meat Science*. 93, 105-110.
- Tenter, A. M., Heckerth, A. R., Weiss, L. M., 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Journal for Parasitology*. 30, 1217-1258.
- Uggla, A., Hjort, M., 1984. A serological study on the prevalence of *Toxoplasma gondii* in meat-producing animals in Sweden. *Acta Vet Scand.* . 25, 567-576.
- Wallander, C., Frössling, J., Dórea, F. C., Uggla, A., Vågsholm, I., Lundén, A., 2016. Pasture is a risk factor for *Toxoplasma gondii* seroprevalence in fattening pigs. *Veterinary Parasitology*. 224, 27-32.
- Wallander, C., Frössling, J., Vågsholm, I., Uggla, A., Lundén, A., 2015. *Toxoplasma gondii* seroprevalence in wild boars (*Sus scrofa*) in Sweden and evaluation of ELISA test performance. *Epidemiology and Infection*. 143, 1913-1921.
- van Asselt, E. D., Zwietering, M. H., 2006. A systematic approach to determine global thermal inactivation parameters for various food pathogens. *International Journal of Food Microbiology*. 107, 73-82.
- Wang, D., Tian, P., 2014. Inactivation conditions for human norovirus measured by an in situ capture-qRT-PCR method. *International Journal of Food Microbiology*. 172, 76-82.
- Wharton, D. A., Aalders, O., 2002. The response of *Anisakis* larvae to freezing. *Journal of Helminthology*. 76, 363-368.
- Vidacek, S., De las Heras, C., Solas, M. T., García, M. L., Mendizábal, A., Tejada, M., 2011. Viability and antigenicity of *Anisakis simplex* after conventional and microwave heating at fixed temperatures. *Journal of Food Protection*. 74, 2119-2126.
- Vidacek, S., de las Heras, C., Solas, M. T., Mendizábal, A., Rodríguez-Mahillo, A. I., Tejada, M., 2010. Antigenicity and viability of *Anisakis* larvae infesting hake heated at different time-temperature conditions. *Journal of Food Protection*. 73, 62-68.
- Yang, H., Li, Y. B., Johnson, M. G., 2001. Survival and death of *Salmonella typhimurium* and *Campylobacter jejuni* in processing water and on chicken skin during poultry scalding and chilling. *Journal of Food Protection*. 64, 770-776.



Livsmedelsverket

Uppsala Hamnesplanaden 5, SE-751 26

www.livsmedelsverket.se