

# Mikrobiologiska och kemiska risker med musslor och ostron

## Riskvärderingsrapport

av Ulla Beckman Sundh och Jonas Toljander

# Innehåll

Sammanfattning .....	4
Summary.....	5
Förkortningar.....	6
Förord .....	7
Inledning .....	8
Metod .....	9
Avgränsningar .....	9
Söksträngar och databaser .....	9
Avdödning av bakterier och virus genom upphettning.....	9
Risker med döda musslor .....	10
Hälsorisker med algtoxiner.....	10
Personlig kommunikation.....	11
Korrespondens med australisk expert.....	11
Information från Livsmedelsverkets virusexperter .....	11
Intervju av fiskhandlare .....	12
Faroidentifiering .....	13
Sjukdomsframkallande mikroorganismer .....	14
Marina algtoxiner .....	15
Farokarakterisering.....	20
Norovirus .....	20
Hepatit A-virus (HAV) .....	20
Marina algtoxiner .....	20
Okadasyra och dess analoger – diarrhetic shellfish toxin (DST) .....	21
Pectenotoxiner (PTX).....	21
Saxitoxiner samt analoger – paralytic shellfish toxins (PST) .....	22
Domorinsyra – amnesic shellfish toxin (AST) .....	22
Brevetoxiner (BTX).....	23
Azaspiracider (AZT).....	23
Yessotoxiner (YTX) .....	24
Ett toxin på väg att vandra in i Europa? Tetrodotoxiner och dess analoger (TTX).....	24
Exponeringsuppskattning .....	25
Konsumtion av musslor och ostron i Sverige .....	25
Hur ofta och hur mycket äter svenskar färska musslor och ostron? .....	25
Konsumtion av svenska respektive utländska musslor och ostron.....	26

Prevalens och halter i tvåskaliga blötdjur .....	26
Norovirus och hepatit A .....	26
Marina algtoxiner .....	27
Inaktivering av bakterier och virus genom tillagning .....	29
Marina algtoxiner och påverkan av tillagning .....	30
Fettlösliga toxiner .....	31
Vattenlösliga toxiner .....	32
Riskkaraktärisering .....	35
Innebär ett trasigt skal alltid att musslan är död? .....	35
Varför ska musslor med slutna skal efter kokning slängas?.....	35
Är det fortfarande så att det enda sättet att kontrollera om musslan lever är att knacka på öppna musslor, eller kan musslorna vara levande även om de inte stängs? I så fall, hur vanligt är det?.....	35
Vad finns det för vetenskaplig grund för tid-temperaturkombinationen 1,5 minut vid 90 °C för att med säkerhet inaktivera bakterier och mikrobiologiska faror i musslor? .....	36
Vad innebär "lättkokt"?.....	36
Finns det i litteraturen beskrivningar på hur det i praktiken går till att mäta temperaturen inuti musslor? I så fall, hur?.....	36
Hur påverkas marina algtoxiner av upphettning?.....	37
Finns det i den vetenskapliga litteraturen data som kan ge konsumenten information om det går att minska risken att bli förgiftad av marina algtoxiner eller livsmedelsburna virus i ostron och musslor? I så fall, hur? .....	37
Finns det även andra livsmedel som kan innehålla marina algtoxiner, till exempel olika algprodukter samt fisk och skaldjur?.....	38
Finns det några riskgrupper i befolkningen som är särskilt känsliga för marina biotoxiner och de mikrobiologiska faror som kan finnas i musslor och ostron? .....	38
Referenser .....	42

# Sammanfattning

Musslor och ostron är tvåskaliga blötdjur som lever på växtplankton och andra organismer genom att filtrera stora mängder vatten. Om vattnet innehåller sjukdomsframkallande virus, bakterier eller marina algtoxiner kan människor som äter blötdjuren bli sjuka.

Sjukdomsframkallande virus och bakterier i tvåskaliga blötdjur kan smitta människor som konsumerar dem. Globalt sett är de vanligaste utbrotten av sådan matförgiftning orsakade av norovirus eller hepatit A-virus (HAV). I Sverige är norovirus, som ger symptom som diarré och kräkningar, feber och huvudvärk, den vanligaste matförgiftningen orsakad av tvåskaliga blötdjur. Hepatit A orsakar framförallt leverinflammation med gulsot (hepatit) som följd. Både HAV och norovirus smittar vid låga doser och de kan orsaka sekundär smittspridning (person till person). Virus och bakterier dör av upphettning vid tillagning och innebär ingen risk om musslor och ostron tillagas väl. Ostron som konsumeras råa är den vanligaste orsaken till smitta. Otillräckligt upphettade musslor kan utgöra en smittorisk.

Marina algtoxiner bildas av växtplankton, eller alger i dagligt tal. Växtplankton orsakar inte smitta och fortlever inte i blötdjuret, men de toxiner som de innehåller kan ackumuleras i musslor eller ostron och orsaka förgiftning hos människor som äter dem. Globalt sett är okadasyra det toxin som oftast orsakat sjukdom hos människa. Även i Sverige finns förgiftningsfall rapporterade. Symtomen är diarré och kräkningar, sjukdomen kallas DSP (diarrhetic shellfish poisoning). Okadatoxin förekommer i svenska vatten, ibland i nivåer som medför att området stängs för skörd av blötdjur till försäljning. En ovanligare men allvarligare typ av förgiftning orsakas av saxitoxiner och varianter av dessa. En svår förgiftning ger förlamning som kan vara dödlig genom påverkan på andnings-muskulaturen. Förgiftning med saxitoxin har inte rapporterats i Sverige. Ytterligare typer av marina algtoxiner finns, men är mindre vanligt förekommande i Sverige, såvitt vi känner till idag. Marina algtoxiner bryts inte ned av konventionella tillagningsmetoder, utan är giftiga även efter tillagning.

Alla tvåskaliga blötdjur som säljs inom EU skördas inom havsområden som är kontrollerade med avseende på vattenkvalitet vad gäller förekomst av marina algtoxiner och bakterier som indikerar fekal förorening. På Livsmedelsverkets hemsida finns aktuell information om havsområden som kontrolleras, och om de är öppna eller stängda för skörd av musslor eller ostron till försäljning. Musslor och ostron får försälas i butik endast om de kommer från godkända havsområden, och förpackningar med musslor eller ostron som säljs ska ha en tydlig märkning på förpackningen som anger att de är kontrollerade.

Om musslor eller ostron plockas direkt från hav eller strand går det inte att se, lukta eller smaka sig till om de innehåller farliga mikroorganismer eller marina algtoxiner. Därför är det viktigt att endast konsumera musslor och ostron från områden som är kontrollerade och som visats vara fria från fekal påverkan och toxinproducerande växtplankton.

# Summary

Mussels and oysters are bivalve molluscs that feed by filtering seawater. Pathogenic bacteria, viruses and marine algal toxins occurring in the water may accumulate in the bivalves and cause disease in humans when consumed.

Globally, norovirus and hepatitis A virus (HAV) are the most common pathogens causing food poisoning due to consumption of contaminated bivalves, and in Sweden norovirus is by far the most commonly reported microbial pathogen in such disease outbreaks. Infection by norovirus is characterised by diarrhoea, vomiting, fever and headache. Hepatitis A infection results in hepatitis and jaundice, which is presented as yellowing of the skin and whites of the eyes due to high bilirubin levels. Both norovirus and HAV exhibit low infectious doses and may also cause secondary cases of disease, via person- to-person infection. Viruses and bacteria die during heating and only constitute a risk if the bivalves are eaten raw or under-cooked. Consumption of raw oysters is the most common cause of disease.

Marine algal toxins are produced by phytoplankton, colloquially known as algae. Phytoplanktons do not cause disease per se, and they do not survive in bivalves. However toxins produced by phytoplankton are accumulated by mussels and oysters and may result in poisoning when consumed. Okadaic acid is the toxin that most frequently causes illness in humans, also in Sweden. Illness is termed diarrhetic shellfish poisoning (DSP) and is characterised by diarrhoea and vomiting. Okadatoxin sometimes occurs in high levels in Swedish waters resulting in closing of production areas. A less common, but more severe type of poisoning is caused by saxitoxins and their analogues. Such poisoning may result in paralysis and death. Saxitoxin poisoning due to consumption of bivalves has so far not been reported in Sweden. Other types of marine algal toxins also occur in bivalves but currently constitute a very limited risk in Sweden as far as is known today. Marine algal toxins are very persistent and are not degraded by conventional cooking.

All bivalve molluscs in the EU market are harvested in production areas which are controlled with regard to occurrence of marine algal toxins and faecal indicator bacteria. Mussels and oysters in retail should always be clearly labelled that they originate from controlled and authorised production areas.

It is not possible to use the appearance, smell or taste of mussels or oysters to determine whether they are safe to eat. It is therefore important to only consume mussels and oysters from controlled production areas.

# Förkortningar

ARfD	acute reference dose, uppskattad mängd av ett ämne per kilo kroppsvikt som kan intas under kort tid, vanligen under en dag, utan risk för akuta hälsoeffekter med hänsyn även tagen till känsliga befolkningsgrupper
ASP	amnesic shellfish poisoning
AST	amnesic shellfish toxin
AZT	azaspiroid toxiner
BTX	Brevetoxins
DSP	diarrhetic shellfish poisoning
DST	diarrhetic shellfish toxin
NSP	neurotoxic shellfish poisoning
PSP	paralytic shellfish poisoning
PST	paralytic shellfish toxin
PTX	pectenotoxin
STX	saxitoxin
YTX	yessotoxin

# 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 20 – 2017 om Mikrobiologiska och kemiska risker med musslor och ostron består av två delar, där del 1 är en riskhanteringsrapport och del 2 är en oberoende kunskapsöversikt.

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

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. Den ger ett detaljerat faktaunderlag om ämnet och innefattar även en del där de specifika frågeställningarna besvaras. I kunskapsunderlaget ingår inte åtgärdsförslag till hur eventuella risker ska hanteras. Det redovisas i motsvarande riskhanteringsrapport.

Följande personer har arbetat med att ta fram denna rapport: Jonas Toljander (mikrobiolog, främst avsnitten om mikrobiologiska faror) och Ulla Beckman Sundh (toxikolog, främst avsnitten om marina algtoxiner). Rapporten har kvalitetsgranskats av Karin Nyberg (mikrobiolog) och Helena Hallström (toxikolog).

Livsmedelverket oktober 2017

# Inledning

Syftet med denna rapport är att sammanställa vetenskapligt underlag för Livsmedelsverkets råd om risker med musslor och ostron. I underlaget ingår en riskbedömning av de viktigaste marina algtoxiner och mikrobiologiska faror som kan finnas i tvåskaliga blötdjur som konsumeras i Sverige samt hur mycket musslor och ostron som konsumeras i Sverige.

Riskvärderingen ska användas för att bland annat besvara följande specifika frågor:

- Vilka risker finns det med att äta musslor som är döda innan de kokas?
- Innebär ett trasigt skal alltid att musslan är död?
- Varför ska musslor med slutna skal efter kokning slängas?
- Är det fortfarande så att det enda sättet att kontrollera om musslan lever är att knacka på öppna musslor, eller kan musslorna vara levande även om de inte stängs? I så fall, hur vanligt är det?
- Gäller detta förfarande även för ostron?
- Vad finns det för vetenskaplig grund för tid-temperaturkombinationen 1,5 minut vid 90 °C för att med säkerhet inaktivera bakterier och mikrobiologiska faror i musslor?
- Vad innebär ”lättkokt”?
- Finns det i litteraturen beskrivningar på hur det i praktiken går till att mäta temperaturen inuti musslor? I så fall, hur?
- Hur påverkas marina biotoxiner av upphettning?
- Finns det i den vetenskapliga litteraturen data som kan ge konsumenten information om det går att minska risken att bli förgiftad av marina algtoxiner eller livsmedelsburna virus i ostron och musslor? I så fall, hur?
- Finns det även andra livsmedel som kan innehålla marina algtoxiner, till exempel olika algprodukter samt fisk och skaldjur?
- Finns det några riskgrupper i befolkningen som är särskilt känsliga för marina biotoxiner och de mikrobiologiska faror som kan finnas i musslor och ostron?

Svaren på frågorna ovan sammanfattas i slutet av rapporten i avsnittet Riskkaraktärisering.



# Metod

## Avgränsningar

Rapporten behandlar risker med konsumtion av hela (med skal) och färska kokta musslor och levande ostron och är avgränsad till förekomst av patogena mikroorganismer och marina algtoxiner. Andra eventuella faror, såsom miljögifter, ingår inte. Inte heller eventuella risker kopplade till konsumtion av konserverade, rökta eller på annat sätt behandlade musslor eller ostron. Kammusslor tillagas inte hela med skal utan det är endast slutarmuskeln som tillagas, och kan därför jämföras med fiskkött. Eventuella risker vid konsumtion av sådana musslor har därför inte heller beaktats.

## Söksträngar och databaser

### Avdödning av bakterier och virus genom upphettning

#### ***Sökning i FSTA 2016-11-15***

Sökning gjordes i ”all fields”, det vill säga sökning i titel, abstract och tillgängliga metadata:

(bacteria OR pathogen OR protozoa OR viral OR virus OR HAV or hepatitis A OR norovirus OR norwalk OR calicivirus) **AND** (mussels OR clams OR oysters OR bivalves OR shellfish) **AND** (thermal inactivation OR cooking OR steaming)

Resultat: 60 träffar

#### ***Sökning i PubMed 2016-11-15***

Söksträng:

(bacteria[Title/Abstract] OR pathogen[Title/Abstract] OR protozoa[Title/Abstract] OR viral[Title/Abstract] OR virus[Title/Abstract] OR HAV[Title/Abstract] OR hepatitis A[Title/Abstract] OR norovirus[Title/Abstract] OR norwalk[Title/Abstract] OR calicivirus[Title/Abstract]) **AND** (mussels[Title/Abstract] OR clams[Title/Abstract] OR oysters[Title/Abstract] OR bivalves[Title/Abstract] OR shellfish[Title/Abstract]) **AND** (thermal inactivation[Title/Abstract] OR cooking[Title/Abstract] OR steaming[Title/Abstract])

Resultat: 24 träffar

## **Genomgång av sökträffar om avdödning genom upphettning**

Sökträffarna från FSTA och Pubmed kombinerades och resulterade i 84 artiklar. 12 av dessa var dubletter, det vill säga fanns med i båda databaserna. Dubletter togs bort, återstod 72 artiklar. Genomgång av titel och abstract av dessa 72 artiklar, i några fall i fulltext. Inklusionskriterierna var att artikeln skulle presentera resultat från antingen en experimentell studie eller riskvärdering som utvärderar inaktivering av mikroorganismer i hela levande färska musslor eller ostron vid i olika temperaturer eller tillagningsmetoder (domestic cooking). Artiklar där tillagning efterföljdes av ytterligare beredning t.ex. konservering eller frysning exkluderades, liksom artiklar där tillagningen inte liknade ”domestic cooking”, t.ex. värmebehandling av homogeniserade musslor. 56 artiklar uppfyllde inte inklusionskriterierna, 16 relevanta återstod och sammanfattas i **Tabell 7**.

## **Risker med döda musslor**

### **Sökning i FSTA 2016-11-25**

Sökning gjordes i ”all fields”, det vill säga sökning i titel, abstract och tillgängliga metadata:

(dead OR viable OR viability OR vital OR vitality OR spoiled OR spoilage) **AND** (mussels OR oysters OR clams OR bivalves OR shellfish) **AND** (risk OR health OR illness)

Resultat: 69 träffar

### **Sökning i Pubmed 2017-03-07**

Söksträng:

(dead[Title/Abstract] OR viable[Title/Abstract] OR viability[Title/Abstract] OR vital[Title/Abstract] OR vitality[Title/Abstract] OR spoiled[Title/Abstract] OR spoilage[Title/Abstract]) **AND** (mussels[Title/Abstract] OR oysters[Title/Abstract] OR clams[Title/Abstract] OR bivalves[Title/Abstract] OR shellfish[Title/Abstract]) **AND** (risk[Title/Abstract] OR health[Title/Abstract] OR illness[Title/Abstract])

Resultat: 90 träffar

## **Genomgång av sökträffar om risker med döda musslor**

Vid genomgång av artiklarnas titlar och abstract och, i några fall, fulltexter så konstaterades att ingen av artiklarna handlade om risker med döda musslor.

## **Hälsorisker med algtoxiner**

Efsa har publicerat riskvärderingar för toxinerna okadasyra och dess analoger (Efsa 2008b), azaspiracidgruppen (Efsa 2008a), domorinsyra (Efsa 2009a), yessotoxingruppen (Efsa 2008c), och för saxitoxiner (Efsa 2009b). Motsvarande sammanställningar för brevetoxiner, cykliska iminer och pectenotoxiner har publicerats av WHO (2004). Litteratursökningar i den öppna vetenskapliga litteraturen har därför koncentrerats till åren efter att dessa riskvärderingar publicerats.

### **Sökning i PubMed 2016-11 samt 2017-03**

Sökningar i PubMed gjordes genom att använda namnen på de olika toxinerna eller toxingrupperna. Sökningar begränsades till de senaste 10 åren (2007-2017). Om en sökning gav många irrelevanta träffar så begränsades sökningen genom att lägga till ”toxic” eller ”marin” med trunkering. I första hand har reviewartiklar använts som utgångspunkt för datainsamling, och från dessa har ytterligare referenser hittats.

Okadasyra. Sökord: okadaic **AND** toxic\* gav 326 sökträffar, varav 10 innehöll data som refererats i denna sammanställning.

Brevetoxiner. Sökord: brevetox\* gav 203 träffar, varav 5 refererats i denna rapport.

Saxitoxiner. Sökord: saxitox\* **AND** toxic\* **AND** marin\* gav 183 träffar, varav 4 refererats.

Azaspirazider. Sökord: azaspira\* gav 2 träffar, ingen har refererats.

Domorinsyra. Sökord: domoic acid **AND** toxic\* gav 198 träffar, varav 8 refererats.

Yessotoxiner. Sökord: yessotox\* gav 142 träffar, ingen har refererats.

Pectenotoxiner. Sökord: pectenotox\* **AND** toxic\* gav 67 träffar, ingen har refererats.

Cykliska iminer. Sökord: cyclic imine\* **AND** toxic\* gav 67 träffar, ingen har refererats.

Artiklar valdes utifrån titel och/eller abstract. Artiklar som enbart behandlat analysmetodik eller enbart ackumulering i blötdjur exkluderades. Artiklar om human hälsa, toxicitetsstudier *in vivo*, bioackumulering i andra organismer än blötdjur, inverkning av tillredningsmetoder samt nya aspekter av mekanismer för toxicitet lästes som fulltext.

## **Personlig kommunikation**

### **Korrespondens med australisk expert**

Korrespondens per e-post med författaren till en australisk rapport (Ruello 2004) gjordes för att ställa kompletterande frågor om studien, framförallt hur man fastställt musslornas viabilitet före kokning.

### **Information från Livsmedelsverkets virusexperter**

Vi har också vid upprepade tillfällen fått värdefull information från Livsmedelsverkets virusexperter: Magnus Simonsson, Sofia Persson och Ronnie Eriksson.

## Intervju av fiskhandlare

Vi intervjuade en anställd på restaurangen och butiken Hambergs fisk i Uppsala den 7 november 2016. Frågor som vi ställde var:

- Hur vet ni att era musslor och ostron är kontrollerade?
- Hur vet ni att era musslor och ostron är färska/levande?
- Är döda musslor/ostron alltid öppna?
- Hur tillagar ni musslor så att de är tillräckligt tillagade?
- Hur vet ni om musslorna är tillräckligt tillagade? Går ni på känn eller kontrolleras det på något sätt?
- Varför kokas musslor medan ostron äts råa?
- Hur bör man förvara musslor som man köpt?
- Var kommer era musslor ifrån? / Vilket ursprung efterfrågas av konsumenter?

Svaren på dessa frågor finns i den löpande texten, med referens till muntlig kommunikation med fiskhandlare (Hambergs fisk 2016), i den mån svaren är relevanta för rapporten.

# Faroidentifiering

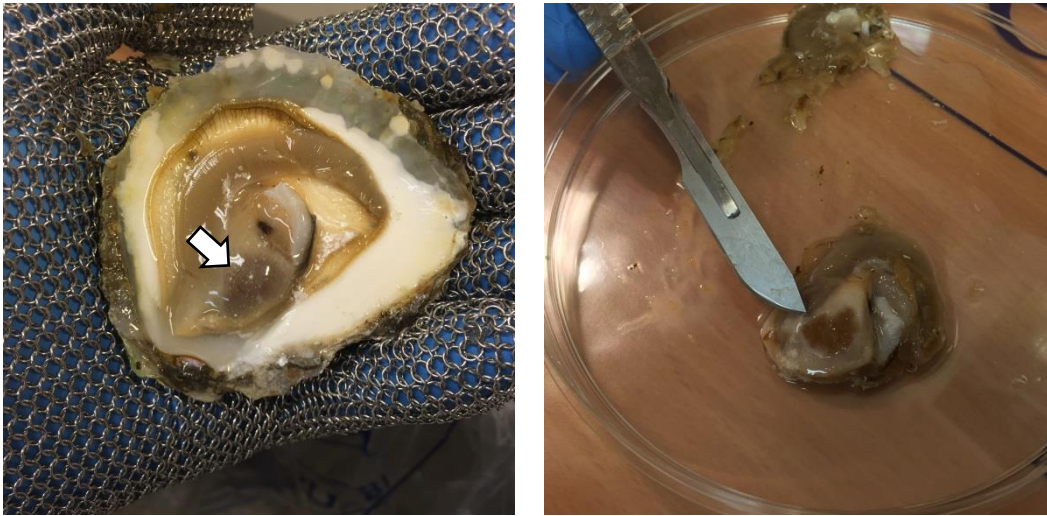
Musslor och ostron är tvåskaliga blötdjur (bivalver) som livnär sig på växtplankton och andra partiklar genom att filtrera vatten. Bivalver har gälar som dels fungerar som andningsorgan, dels filtrerar organiskt material ur vattnet. Det organiska materialet förs från gälarna till munnen, och vidare i matsmältningssystemet.

Musslor växer i marina vatten och i brack- och sötvatten, men storleken minskar mycket i brack- och sötvatten. Det är i princip bara musslor från marina vatten som används som livsmedel till människa, i och med att det är de som har tillräcklig storlek för konsumenternas krav. Ostron behöver en högre salthalt och återfinns i Sverige endast i Västerhavet.

Flera arter av musslor och ostron äts av människan, i Norden främst blåmussla (*Mytilus edulis*), europeiska ostron (*Ostrea edulis*) samt importerade japanska ostron, (*Crassostrea gigas*) och hjärtmussla (*Cerastoderma edule*). Japanska ostron är en invasiv art som förekommer i svenska vatten och blir vanligare. Musslor kan också användas som proteinkälla vid fodertillverkning. Musslor för humankonsumtion är ofta odlade ute till havs, men det förekommer att de plockas vid stranden.

Om musslor plockas direkt från hav eller strand finns det inte möjlighet att avgöra om de innehåller toxiner eller ej. Det går inte att se på en vattenyta om det finns toxinbildande alger eller toxiner i vattenmassan, och det går inte att se eller känna på smaken om en mussla eller annat skaldjur innehåller toxiner eller sjukdomsframkallande mikroorganismer. Algtoxiner bryts generellt sett inte ned, eller minskar i halt, i samband med tillredning. Odlade musslor och ostron ska alltid kontrolleras med avseende på alggifter och fekala bakterier och det är Livsmedelsverket som ansvarar för och utför kontrollen av svenska odlingar (Livsmedelsverket 2014).

Eftersom musslor och ostron kan filtrera flera liter vatten per timme så kan djuren ackumulera stora mängder mikroorganismer (virus, alger, cyanobakterier, bakterier och protozoer), eller toxiner som bildats av mikroorganismerna, (**Tabell 1**). Dessa mikroorganismer eller toxiner anrikas i hepatopankreas, som är djurets kombinerade lever och bukspottkörtel (**Figur 1**). Förekomst av mikroorganismer eller toxiner i musslor kan vara skadliga för människor. En del av mikroorganismerna orsakar sjukdom när de koloniserar tarmen, framför allt magsjuka (gastroenterit). Vissa algtoxiner ger också magsjukesymptom, medan andra ger neurologiska skador.



**Figur 1.** Öppnat ostron. Vänster bild visar skalhalvan med själva djuret som konsumeras. Höger bild visar urtaget ostron med djuret avlägsnat från skalet. Det mörka området som pilen respektive skalpellen pekar på är djurets hepatopankreas (kombinerad lever och matsmältningsorgan) där virus och marina algtoxiner anrikas.

## Sjukdomsframkallande mikroorganismer

Sjukdomsframkallande mikroorganismer kan antingen vara naturligt förekommande i vatten eller så har de hamnat i vattnet som föroreningar från mänsklig aktivitet, såsom via avloppsvatten. Virus är generellt mer värmetåliga än bakterier men alla mikroorganismer dör av upphettning vid tillagning och utgör ingen risk om musslorna eller ostronen tillagas väl. Konsumtion av råa ostron eller otillräckligt upphettade musslor kan utgöra en smittorisk.

En publicerad systematisk litteraturoversikt om virussmitta via tvåskaliga blötdjur visade att majoriteten av de rapporterade utbrotten inträffar i Ostasien, följt av Europa, Amerika, Oceanien och Afrika (Bellou et al. 2013). Mer än hälften (63,6 procent) av alla rapporterade utbrott inträffade i Japan. Ostron var den vanligaste orsaken till utbrott (58,4 procent) (Bellou et al. 2013), sannolikt eftersom de oftast konsumeras råa.

Globalt så är den vanligaste patogenen norovirus, som står för nära 84 procent av alla virusutbrott med tvåskaliga blötdjur. Hepatit A-virus (HAV) är näst vanligast och står för 13 procent av utbrotten (Bellou et al. 2013). Även i Europa är dessa virus av störst betydelse, av alla sjukdomsframkallande mikroorganismer (Efsa 2015). Bland de matförgiftningar orsakade av virus eller bakterier som rapporterats till Livsmedelsverket under perioden 2003-2016 så förekommer färskas musslor eller ostron som misstänkt livsmedel i omkring 30 utbrott, varav cirka 20 tros ha varit kopplade till ostron (Livsmedelsverket 2016). Under samma period rapporterades olika länder, inklusive Sverige, sammanlagt 36 utbrott i Europa kopplade till tvåskaliga blötdjur i RASFF (2017). Hälften av dessa rörde franska ostron och norovirus var den i särklass vanligast förekommande patogenen. Norovirus är den dominerande patogenen vid utbrott i Sverige, medan livsmedelsburna utbrott orsakade av HAV är ovanliga.

Att norovirus är det virus som i Sverige orsakar de flesta livsmedelsburna utbrotten, inklusive smitta via konsumtion av tvåskaliga blötdjur, beror på att norovirus är mycket vanligt förekommande i samhället. Smittan har en starkt säsongbunden variation med en tydlig återkommande ökning av smitta under höst och vinter (vinterkräksjuka). Norovirus förekommer i fekalt påverkat vatten kan därmed anrikas i de bivalver som filtrerar vattnet.

Hepatit A-virus sprids också via avloppsförorenat vatten, kan överleva länge i vatten och kan anrikas i ostron och musslor. Eftersom hepatit A är en relativt ovanlig smitta i Sverige så är HAV också ovanligt förekommande i svenska musslor och ostron.

Andra sjukdomsframkallande virus och bakterier, såsom rotavirus, campylobakter, salmonella, shigella och patogena *Escherichia coli* kan smitta via konsumtion av musslor och ostron men det är ovanligt att det inträffar i Sverige eller andra utvecklade länder (Efsa 2015). Internationellt sett så orsakar bakterierna *Vibrio parahaemolyticus* och *Vibrio vulnificus* många utbrott i samband med konsumtion av musslor, ostron, fisk och skaldjur (Percival & Williams 2014; Efsa 2015). Dessa bakterier förekommer naturligt i varmare hav och utgör i nuläget inget större hot vid konsumtion av musslor och ostron som producerats i Europa. Uppvärmning av haven i Europa kan emellertid ändra denna situation och vibrio-bakterier bör betraktas som en högst relevant fara vid konsumtion av fisk och skaldjur i varmare länder. Att just vibrio kan vara ett framväxande problem exemplifieras av ett matförgiftningsfall orsakat av *Vibrio parahaemolyticus* i ostron i västra Kanada under 2016, där det även var ett stort ostronrelaterat utbrott i augusti 2015 (Public Health Agency of Canada 2015). Ostronen hade fiskats utanför Vancouver där vattentemperaturerna liknar dem vid svenska kuster. **Tabell 1** ger en översikt av mikrobiologiska faror som kan förekomma i musslor och ostron.

## Marina algtoxiner

Marina algtoxiner är ett generellt begrepp för toxiner som kan bildas av olika typer av fytoplankton som till exempel dinoflagellater och kiselalger. Flera av dessa toxiner kan innebära problem för människor, i och med att de anrikas i tvåskaliga blötdjur, till exempel musslor och ostron som livnär sig på fytoplankton som innehåller toxiner. De organismer som bildar toxinerna kan inte överleva i blötdjur, så de kan inte fortsätta bilda toxiner efter det att de blivit föda, men toxinerna anrikas i blötdjuret. Blötdjuren påverkas inte negativt av toxinerna men människor kan bli förgiftade av musslor eller ostron om de innehåller höga toxinhalter. Vissa toxiner har återfunnits i kräftdjur som livnär sig på musslor. Vissa toxiner har även påträffats i fisk. Det finns också undersökningar som visar att toxiner som anrikats i musslor återfunnits i sjöfågel som lever på musslor, samt i ägg från sådana fåglar.

Toxinerna produceras inte hela tiden utan är så kallade sekundära metaboliter. Sekundära metaboliter är ämnen som produceras av levande organismer, men som inte ingår i den primära metabolismen. Detta betyder att de inte är nödvändiga för livet hos organismen, men de kan vara värdefulla för till exempel växelspelet med andra organismer (kemisk kommunikation, kemiskt försvar, etc.). Sekundära metaboliter produceras inte kontinuerligt, utan produktionen är beroende av organismens behov. Det innebär att arter med förmåga till toxinproduktion och som kan förekomma i så kallade algblomningar (massförekomst) kan ha mycket varierande toxicitet. Samma art kan ha olika toxicitet vid olika tillfällen och vid olika geografiska lokaler, och toxiciteten hos en blomning kan variera över tid.

I tvåskaliga blötdjur lagras vissa typer av toxiner framförallt i hepatopankreas (Figur 1), som är det organ hos skaldjur och fiskar som har motsvarande funktion som de två organen lever och pankreas har hos däggdjur. När människor äter blåmusslor och ostron äts hela djuret, inklusive hepatopankreas. Även när man äter kräftdjur så konsumeras ofta hepatopankreas, medan det organet nästan alltid rensas bort hos fisk, innan fisken konsumeras. Toxinerna tål höga temperaturer. Marina algtoxiner är värmeresistenta och utgör därför en risk även när skaldjuren tillagats.

De algtoxiner som gett de svåraste förgiftningarna hos människa är saxitoxiner och dess analoger (gonyautoxiner m.fl.) (PST) och domorinsyra (AST) (Tabell 1). Saxitoxiner kan ge en akut dödlig förgiftning med förlamning av andningsmuskulatur som kräver respiratorvård för överlevnad. Inga fall är kända från Sverige, men det finns fall rapporterade från Norge (Langeland et al. 1984). Det finns endast någon enstaka väldefinierad förgiftning med domorinsyra rapporterad världen över, men effekterna är allvarliga. Förgiftningen kan vara akut dödlig, och vissa personer som överlevt har fått bestående skador inklusive minnesproblem.

Okadasyra (DST) ger mindre allvarliga akuta symtom, såsom diarré och kräkningar etc., men det finns i gengäld ett stort antal rapporter om förgiftningar hos människa, världen över är rapporterna om förgiftning med okadasyra (DSP) avsevärt fler än vad som rapporterats för saxitoxiner (PST) och domorinsyra (AST). Vad gäller okadasyra finns förgiftningar rapporterade även från Sverige. I regel behövs ingen medicinsk behandling av förgiftning med okadasyra.

Azaspiracider (AZT) och brevetoxiner (NST) upptäcktes relativt nyligen, på 1990- respektive 1980-talet. Symtombilden vid azaspiracidförgiftning (AZP) liknar den för DSP. Brevetoxiner ger både magsjuka och neurologiska symtom. Inga dödsfall är kända. Ett fåtal förgiftningar är rapporterade världen över, dock inga från Sverige.

Tetrodotoxin (TTX) är ett toxin vars ursprung är oklart, troligen bildas det av bakterier och inte av alger. Tetrodotoxin ackumuleras i marina organismer. Toxinet kan ge en dödlig förgiftning med förlamning av andningsmuskulatur. Den mest kända källan till förgiftning är fugu, japansk blåsfisk, i vilken toxinet koncentreras till levern och gallan, som ska rensas bort. Toxinet har dock orsakat en förgiftning i Portugal, vilken orsakades av konsumtion av en snäcka (enskaligt blötdjur). Låga halter av toxinet har sedan dess detekterats i olika organismer i Europeiska vatten. Tetrodotoxin kan vara en fara som kan få betydelse i framtiden på grund av migration till Europeiska vatten av sådana marina organismer som producerar och ackumulerar toxinet. Rapporterade förgiftningar med marina algtoxiner i världen presenteras i **Tabell 2** och **Tabell 3**.



**Tabell 1. Sjukdomsframkallande mikroorganismer och algtoxiner som kan förekomma i färska musslor eller ostron.**

Organism	Mekanism	Inkubationstid /latenstid	Akuta symtom	Duration
<b>Virus</b>				
Norovirus	Infektion av tarmen	1-4 dagar	Magsjuka: illamående, kräkningar, magsmärtor, diarré, feber	12-48 timmar
Hepatit A-virus (HAV)	Inflammation av levern	2-6 veckor	Hepatit: feber, huvudvärk, illamående, kräkningar, diarré, magsmärtor, gulsot	2-6 veckor
<b>Bakterier</b>				
Salmonella typhi	Blodförgiftning	1-2 veckor	Tyfoid feber: feber, huvudvärk, förstoppning, diarré, muskelsmärtor, blodförgiftning	1-2 veckor
Salmonella spp.	Infektion av tarmen	12-36 timmar	Magsjuka: diarré, illamående, kräkningar, magsmärtor, feber	2-7 dagar
Campylobacter spp.	Infektion av tarmen	2-5 dagar	Magsjuka: diarré (ibland blodig), illamående, magsmärtor	3-5 dagar
Patogena Escherichia coli	Infektion av tarmen	12-72 timmar	Magsjuka: diarré (ibland blodig), magsmärtor, illamående	2-3 dagar
Vibrio parahaemolyticus	Infektion av tarmen	4-48 timmar	Magsjuka: kraftig diarré, magsmärtor, illamående, feber, kräkningar	2-5 dagar
Vibrio vulnificus	Infektion av tarmen (hudinfektioner vid hudkontakt)	12- 24 timmar	Magsjuka: feber, magsmärtor, diarré, blodförgiftning	2-8 dagar
<b>Toxinbildande fytoplankton</b>				
Dinophysis spp. (Dinoflagellat)	Förgiftning med DST/okadasyra, dinofysistoxin	Någon/några timmar	DSP: Magsjuka med diarré och kräkningar	Några dagar
Alexandrium spp. (Dinoflagellat)	Förgiftning med PST/saxitoxiner och analoger, gonyatoxiner m fl	Minuter - timmar	PSP: Nervpåverkan med muskelsvaghet. Förlamning vid allvarlig förgiftning.	Ett halvt dygn – flera dygn
Pseudo-nitzschia spp. (Diatom/kiselalg)	Förgiftning med AST /domorinsyra	Mindre än en timme till 1-2 dagar	ASP: Hjärnskada, minnesförlust som kan bli permanent hos redan försvagade individer.	Varierande, i några fall permanent skada
Karenia brevis, Karenia spp. (Dinoflagellat)	Förgiftning med NST/brevetoxiner,	Halvtimme till några timmar	Magsjuka samt NSP: neurologiska symtom.	Några dagar
Azadinium spinosum (Dinoflagellat)	Förgiftning med azaspirazider	Ej säkerställt	Magsjuka, liknande DSP	2-5 dagar

*DST = diarrhetic shellfish toxin, PST = paralytic shellfish toxin, AST = amnesic shellfish toxin, NST= neurotoxic shellfish toxin*

**Tabell 2.** Sammanställning av rapporterade förgiftningar med marina algtoxiner i världen under åren 1970-2010. Antal fall i tabellen är uppskattat från stapeldiagram i Visciano et al. (2016).

Land/stat	Antal fall			
	Okadasyra (DSP)	Saxitoxiner (PSP)	Domorinsyra (ASP)	Brevetoxin (NSP)
Belgien	420			
Canada, ospecificerat	20	80		
Canada, Calgary			10	
Canada, Prince Edwards Island			150	
Chile	120			
Frankrike	430			
Grekland	110			
Guatemala		180		
Irland	10			
Italien	100			
Japan	160			
Nederländerna	30			
Norge	300	30		
Nya Zeeland				200
Portugal				
Sverige	300			
Sydafrika		20		
United Kingdom, ospecificerat	150	70		
UK, England	10			
USA, ospecificerat)			20	
USA, Alaska		110		
USA, Florida				20
USA, North Carolina				50

**Tabell 3. Konfirmerade humana förgiftningsfall av tvåskaliga skaldjur enligt James et al. (2010).**

Land/stat	Antal fall (tidsperiod)			
	Okadasyra (DSP)	Saxitoxiner (PSP)	Domorinsyra (ASP)	Brevetoxin (NSP)
Argentina	40 (2000)			
Canada	16 (1990)	187 (1880-1970)	107* (1987)	
Chile	>100 (1970-1991)	21 dödsfall (1991-2002)		
Danmark	800-900 (1990-2002)			
Filippinerna		877** (1988-1998)		
Frankrike	7600 (1980-1987)			
Japan	>1000 (1976-1984)			
Nederländerna				
Norge	>400 (1984-1985)	32*** (1984-1985)		
Nya Zeeland	13 (?)			186 (1993)
Portugal	58 (2002)	9 (1994)		
Spanien	>5000 (1978-1981)	120 (?)		
UK	49 (1997)	78 (1968)		
USA - ospecificerat		43 (1998-2002)		
USA - Alaska		117 (1973-1992)		
USA - Californien		>100**** (1927-1936)		
USA - North Carolina				48 (1987)
USA - Florida				23 (1996-2006)
USA – Washington State			24 (1991)	

\* 3 dödsfall, \*\* 44 dödsfall, \*\*\* 2 dödsfall, \*\*\*\* 6 dödsfall

# Farokarakterisering

## Norovirus

Dosen av norovirus som krävs för att orsaka sjukdom anses vara mycket låg, 10-100 viruspartiklar eller lägre (Teunis et al. 2008). Inkubationstiden är vanligen 12-48 timmar och symtomen varar i 12 till 60 timmar. Symtomen varierar mellan smittade personer, alltifrån inga symptom alls till diarré med kräkningar, feber, huvudvärk och magsmärtor. Infektionen är självläkande och den insjuknade brukar tillfriskna efter 1-3 dygn. Personer som blir smittade vid konsumtion av musslor eller ostron kan i sin tur smitta ytterligare personer, så kallad sekundära sjukdomsfall. En person infekterad med norovirus kan utsöndra stor mängd virus både i avföring och i kräkningar. Sjukdomsförloppet, mängden utsöndrade viruspartiklar och den låga infektionsdosen gör att risken för sekundär smitta är hög. Särskild riskgrupp för smitta av norovirus (och annan smitta som orsakar magsjuka) är personer med outvecklat eller nedsatt immunförsvar, det vill säga barn, äldre personer eller personer med underliggande sjukdom.

## Hepatit A-virus (HAV)

Infektionsdosen för hepatit A-virus (HAV) är låg, troligen i storleksordningen 10-100 viruspartiklar. Inkubationstiden är 2-7 veckor och infektionen leder i ett första skede till nedsatt allmäntillstånd och ofta även mag- tarmsymtom i flera dagar. Sjukdomen övergår ofta, men inte alltid, i gulsot som varar 1-2 veckor. Gulsot orsakas av leverinflammation som gör att levern inte klarar av att rensa bort ett gulfärgat ämne, bilirubin, ur kroppen. Det gör att den drabbade får gulaktig hud, gula ögonvitor och mörk urin. I sällsynta fall leder detta vidare akut leversvikt, för vilken dödligheten är hög. Smittade personer utsöndrar virus i 2 till 4 veckor, eller i vissa fall upp till 12 veckor efter att symptom har inträtt (Yates 2014). Personer infekterade med HAV är smittsamma 1-2 veckor innan symptom utvecklas. Den latent sjukdomsperioden kan innebära att sekundär smitta kan ske under en lång tid innan den infekterade personen vet om att hen är sjuk (Yates 2014). Personer med nedsatt leverfunktion är utsatt för ökad risk att insjukna av HAV. Barn upp till sju års ålder blir sällan nämnvärt sjuka av HAV trots att de smittats. De kan ändå utsöndra virus och utgöra en betydande smittrisk för sin omgivning.

## Marina algtoxiner

Eftersom toxinerna är sekundära metaboliter produceras de inte kontinuerligt, utan en blomning kan relativt snabbt förändras från att inte vara toxisk till att vara toxisk. Ofta återkommer toxiska blomningar i samma vatten, men tidpunkterna kan variera. Oftast försvinner toxinerna på någon/några veckor, men variationerna är stora. Det går inte att se på en vattenyta om de alger/fytoplankton som finns där producerar toxiner eller ej, och det går inte att se om vattnet innehåller toxiner. Det går heller inte att se på en mussla eller ett ostron om de innehåller marina algtoxiner, och heller inte att känna det på smaken.

Generellt sett saknas det data över eventuell subkronisk och kronisk toxicitet av marina algtoxiner. För flera toxiner finns data beträffande akut toxicitet, men för vissa toxiner saknas i stor utsträckning även denna typ av data.

Det finns inga specifika riskgrupper vad gäller förgiftningar med algtoxiner. Personer som är försvagade av sjukdom eller andra orsaker kan vid en förgiftning råka ut för allvarigare symtom och effekter än friska personer.

### **Okadasyra och dess analoger – diarrhetic shellfish toxin (DST)**

DST produceras av dinoflagellater av släktet *Dinophysis* och består av okadasyra samt de analoga substanserna, dinofysistoxin 1 och 2 (DTX1, DTX2). När dessa toxiner metaboliserats i blötdjur (musslor, ostron) så kan ytterligare toxiska derivat bildas i blötdjuret (Rehnstam-Holm et al. 2004).

Toxinerna lagras i musslor och ostron, och kan ge förgiftning med DSP (diarrhetic shellfish poisoning) hos människor. Akuta symtom på förgiftning är illamående och diarré, kräkningar och magsmärtor, ibland också feber och huvudvärk. Symtomen uppträder en kort tid, från någon halvtimme till några timmar, efter exponering för toxinerna. Tillfrisknande sker normalt efter ett par dagar.

Okadasyra och analoger inhiberar proteinfosfataser i celler, vilket anses vara mekanismen bakom toxiciteten av substanserna. Toxinerna har akuta toxiska effekter, och det finns mycket lite kunskap om eventuella långtidseffekter.

Ämnen som är tumörpromotorer kan inte orsaka cancer, men kan stimulera en cancer att tillväxa. I en cancerstudie på råttor gavs en grupp djur (1) enbart okadasyra i dricksvattnet, en grupp (2) enbart en carcinogen substans och en tredje grupp (3) en carcinogen substans tillsammans med okadasyra. Incidensen av tumörer (hyperplastiska adenom och adenocarcinom) var för grupp (1) noll procent, (2) 46,4 procent respektive (3) 75 procent. För enbart adenocarcinom var incidensen 0 procent, 14,3 procent respektive 18,8 procent (Suganuma et al. 1992; Fujiki & Suganuma 1993). Detta tyder på att okadasyra inte orsakar cancer, men kan ha tumörpromoverande effekt på en redan befintlig cancer. Okadasyra och DTX1 verkade som tumörpromotorer när de applicerades på mushud där cancer orsakats av en carcinogen substans (Fujiki et al. 1988; Suganuma et al. 1988). Även om okadasyra har visat sig verka som tumörpromotor hos råttor, behöver detta inte ha relevans för människa vid de doser av toxin människor kan utsättas för. Det finns inte tillräckligt underlag för att uttala sig om detta.

Efsa anger att motsvarande 0,8 µg okadasyraekvivalenter per kg kroppsvikt är den lägsta dos som ger DSP hos människa (Efsa 2008b). Utifrån detta beräknades en akut referensdos, ARfD<sup>1</sup>, till 0,3 µg okadasyraekvivalenter per kg kroppsvikt motsvarande 18 µg okadasyraekvivalenter för en person som väger 60 kg.

Fall av DSP finns rapporterade världen över och är den vanligaste formen av algtoxinförgiftning i Sverige (**Tabell 2**).

### **Pectenotoxiner (PTX)**

Dessa toxiner förekommer alltid tillsammans med okadasyra (DST). Det kan vara svårt att skilja pectenotoxiner och okadasyra (DST) åt i analyser, men med nyare analysmetoder går detta att göra. På grund av analysvårigheterna har det varit svårt att skilja effekter av okadasyra (DST)

---

<sup>1</sup> ARfD är akut referensdos, det vill säga uppskattad mängd av ett ämne per kilo kroppsvikt som kan intas under kort tid, vanligen under en dag, utan risk för akuta hälsoeffekter med hänsyn även tagen till känsliga befolkningsgrupper.

från pectenotoxiner, men det är inte visat att pectenotoxiner har någon toxisk effekt hos människa. (WHO 2004) Pectenotoxiner har inte orsakat diarré i djurförsök. Pectenotoxiner har hittats vid analys av svenska musslor (Livsmedelsverket 2011; Livsmedelsverket 2014).

Pectenotoxiner omfattas av det gränsvärde som gäller okadasyra (DST), på grund av detta tas pectenotoxiner upp i detta underlag, trots att de inte visats ge förgiftningar hos människa.

### **Saxitoxiner samt analoger – paralytic shellfish toxins (PST)**

I marina vatten bildas saxitoxiner och dess analoger (PST) framför allt av dinoflagellater av släktet *Alexandrium*. Förgiftningar med PST finns beskrivna redan från 1700-talet. PST är en grupp nervtoxiska alkaloider. Det första PST som upptäcktes 1957 kallades saxitoxin i och med att det först isolerades från musslan *Saxidomus giganteus*. Sedan dess har bortåt 60 analoger beskrivits. Saxitoxin kan alltså dels beteckna själva 'ursprungstoxinet', men används ibland för hela gruppen av strukturellt närbesläktade toxiner. Det finns många strukturvarianter av PST. Bland de mest studerade, och sannolikt de vanligaste toxinerna, finns saxitoxin och neosaxitoxin. Det finns även sulfaterade varianter av PST, gonyautoxiner (GTX) och C-toxiner. Även andra strukturvarianter förekommer. Saxitoxin är mest toxiskt av analogerna, såvitt känt idag, därför brukar analysdata anges i saxitoxinekvivalenter. (EFSA, 2009) Musslor som växer i vatten där toxiska dinoflagellater finns kan innehålla höga halter PST. Förtäring av sådana musslor kan ge förgiftning, paralytic shellfish poisoning (PSP).

Mekanismen bakom den toxiska effekten är att toxinerna blockerar jonkanaler i cellmembran, vilket hindrar impulser till muskel- eller nervceller från att överföras, vilket leder till förlamning av muskelceller. Stickningar och känselbortfall kan uppträda i läppar, munhåla och tunga redan minuter efter det att livsmedel som innehåller toxiner ätits, sannolikt beroende på att det, förutom absorption i mag-tarmkanalen, kan ske en lokal absorption av toxiner genom läppar och munslemhinna. Symtom på förgiftning av PST kan variera i svårighetsgrad. Mildare fall av förgiftning kan begränsa sig till stickningar kring mun, läppar och tunga. Vid allvarigare förgiftning sprider sig detta till ansikte och hals, muskelsvaghet och känselbortfall i armar och ben kan följa. Psykologiskt kan det föreligga en känsla av lätthet och av att flyta. Mag-tarm besvär kan förekomma liksom problem med att koordinera rörelser. Ytterligare symtom är känsla av frånvaro, slöhet och förvirring. Vid svår förgiftning följer andningssvårigheter, och muskelförlamning som kan vara total. Om förlamningen även påverkar andningsmuskulaturen, leder detta till döden om inte respiratorvård kan ges.

Det finns idag inget motgift för förgiftningar med PST utan den behandling som ges är respiratorbehandling för att hålla andningen igång och allmän livsuppehållande vård. Vid förgiftningsfall med dödlig utgång brukar andningsstillestånd uppträda 2-12 timmar efter konsumtion av musslor innehållande toxiner. För personer som överlever PSP i 24 timmar, med eller utan medicinsk hjälp, är sannolikheten stor att de blir helt återställda. Det kan vara svårt att få en uppfattning om vilka doser personer som blivit förgiftade har fått i sig, men dödlig totaldos av saxitoxin har utgående från fallbeskrivningar beräknats vara cirka 1-4 mg för en vuxen person. (Efsa 2009b). Det har inte rapporterats fall av PST-förgiftning i Sverige, men vid en förgiftning i Norge insjuknade 8 av 10 personer som ätit musslor (Langeland et al. 1984). Symtomen började uppträda mellan 5 minuter och 4 timmar efter måltiden, och varade mellan 12 timmar och 4 dagar.

### **Domorinsyra – amnesic shellfish toxin (AST)**

AST bildas av kiselalger av släktet *Pseudo-Nitzschia*. Förgiftning med domorinsyra kallas ASP, Amnesic Shellfish Poisoning. Symtom på förgiftning hos människa är magproblem inklusive

kräkning, diarré och magkramper samt neurologiska symtom som förvirring, generella kramper eller koma och förlust av korttidsminne som hos några personer blivit permanent. Dödsfall har förekommit vid allvarlig förgiftning hos äldre personer eller personer med bakomliggande sjukdom. Den första rapporten om förgiftning med domorinsyra kom från Kanada 1987. Symtom kan uppstå allt i från 15 minuter till 38 timmar efter intag av skaldjur som innehåller toxiner. Av 250 rapporterade fall uppfyllde 107 definitionen för domorinsyraförgiftning, det vill säga kräkning, diarré eller magkramper inom 24 timmar efter intag eller minst ett neurologiskt symtom som förvirring, minnesförlust eller andra allvarliga symtom inom 48 timmar. (Perl et al. 1990; Todd 1993; Efsa 2009a)

År 1991 rapporterades några fall av domorinsyraförgiftning efter intag av skaldjur från USAs västkust. Symtomen tycks ha varit av mindre allvarligt slag. Det har inte rapporterats några fall i Europa, men det utesluter inte att det förekommit fall med milda symtom (Efsa 2009a).

EFSA har i sin genomgång av de beskrivna förgiftningsfallen kommit fram till att det finns indikationer på att allvarliga och irreversibla effekter kan uppkomma vid intag kring 4 mg toxin per kg kroppsvikt, medan milda symtom har uppkommit vid intag på 0,9-2,0 mg per kg kroppsvikt.

Mekanismen bakom den toxiska effekten är att AST binder till och verkar som agonist för vissa typer av glutamatreceptorer i hjärnan, speciellt i hippocampus. Olika djurslag tycks vara olika känsliga för förgiftning av domorinsyra, människan tycks vara mycket mer känslig än gnagare och fiskar.

## **Brevetoxiner (BTX)**

Brevetoxiner bildas av en dinoflagellat av släktet *Karenia*. Brevetoxiner är en stor grupp polycykliska etrar och metaboliter av dessa. De är neurotoxiner som kan ge både mag-tarmsymtom (kräkning, diarré och magsmärter), och neurologiska symtom (parestesier dvs. stickningar och domningar, yrsel, felaktig temperaturförnimmelse och muskelryckningar). Syndromet kallas NSP (neurologic shellfish poisoning). Symtomen har uppträtt mellan en halv till 30 timmar efter konsumtion av skaldjur och kan bestå i flera dagar. Det finns inte rapporter om dödsfall eller kvarstående besvär efter NSP. (Turner et al. 2015) Det finns otillräckliga data för att ange vilken dos som kan orsaka förgiftning, en expertgrupp beräknade utgående från humana förgiftningsfall att 2-3 µg brevetoxin-3 per kg kroppsvikt kan ha orsakat förgiftning, men beräkningen innehåller många osäkerheter. (WHO 2004)

Cellförsök tyder på att toxinerna binder starkt till receptorer som påverkar nervsynapser och koppling mellan nervceller och muskelceller.

Efter en toxisk blomning av de organismer som bildar toxinerna kan brevetoxiner återfinnas i skaldjur under långa perioder, i några fall i flera månader upp till när ett år. Det verkar som om olika typer av skaldjur metaboliserar olika typer av brevetoxiner i olika grad, och även att olika brevetoxiner skiljer mycket i polaritet och vattenlöslighet.

Det saknas information om effekt av tillagning på brevetoxiner, men eftersom förgiftningar förekommit efter intag av tillagade tvåskaliga blötdjur så bör toxinerna vara värmestabila. (WHO 2004; Turner et al. 2015)

## **Azaspiracider (AZT)**

Azaspiracider (AZT) bildas av dinoflagellater av släktet *Azadinium*. Azaspiracider är relativt nyidentifierade toxiner, den första rapporten om förgiftning med azaspiracider (AZP,

azaspiracid poisoning) kom från Nederländerna 1995, då 8 personer blev sjuka efter att ha ätit musslor som skördats utanför Irland. Vid det tillfället kunde toxinet inte identifieras. En liknande incident inträffade 1997 och ett toxin kunde då identifieras. (McMahon & Silke 1996; McMahon & Silke 1998)

Azaspiracider ackumuleras i blötdjur. Azaspiracider ger förgiftningssymtom liknande dem av okadasyra (DST), diarré, kräkning och magkramper. Symtomen är övergående och tillfrisknande har skett efter 2-5 dagar.

Det finns cirka 20 olika analoger av azaspiracider identifierade. Det finns endast en begränsad databas vad gäller toxicitet av azaspiracider, och de studier som finns rör framförallt akut toxicitet. Eftersom toxinerna är så pass nyupptäckta finns det inte mycket data över vilka mängder som behöver intas för att ge förgiftning. EFSA beräknade att troligt intag vid en förgiftningsincident var mellan 6,7 och 24,9 µg per person, med ett medianintag på 14,5 µg per person, men beräkningen innehåller osäkerheter. (Efsa 2008a)

### **Yessotoxiner (YTX)**

Yessotoxiner (YTX) produceras av *Protoceratium reticulatum*. Toxinerna är polycykliska etrar, och det finns en stor mängd analoger. Toxinerna grupperades tidigare tillsammans med DST på grund av att de detekterades med samma analysmetoder som DST, men de har inte samma verkningsmekanism och yessotoxiner klassificeras nu som en egen grupp.

Det finns till dags dato inte några rapporter om att människor har förgiftats eller råkat ut för hälsoproblem på grund av yessotoxiner, men kunskapsunderlaget är mycket litet. Mekanismen för den toxicitet som setts i djurförsök är okänd, men kan ha att göra med påverkan på kalciumhomeostasen enligt senare tids publikationer. (Efsa 2008c; Tubaro et al. 2010)

### **Ett toxin på väg att vandra in i Europa? Tetrodotoxiner och dess analoger (TTX)**

Det är inte helt klarlagt vilka organismer som producerar tetrodotoxin (TTX), troligen produceras det av bakterier. Toxinet ackumuleras i marina organismer. Tetrodotoxin ger en allvarlig förgiftning med snabbt insättande förlamning, och om andningsmuskulaturen förlamas är förgiftningen akut dödlig. Den mest kända källan till förgiftning med tetrodotoxin är fugu, japansk blåsfisk. I blåsfisken koncentreras toxinet till levern och gallan, vilka ska rensas bort när fisken bereds som livsmedel. (Efsa 2017)

Den första förgiftningen av tetrodotoxin från ett blötdjur i Europa rapporterades 2008 (Rodrigues et al. 2008), detta var ett enstaka allvarligt förgiftningsfall i Portugal, efter konsumtion av en ätlig snäcka (enskalig mollusk, *Charonia lampas*) som sålts på fiskmarknaden. Efter denna händelse har tre länder i Europa gjort analyser för att undersöka eventuell förekomst av tetrodotoxin i tvåskaliga blötdjur i Europa och lämnat resultaten till Efsa, tetrodotoxin kunde detekteras i 8 procent av de prover som togs. Övre median respektive 95:e percentilen rapporterades vara 5,9 respektive 28 µg per kg skaldjurskött. Av olika typer av tvåskaliga blötdjur återfanns de högsta halterna i ostron, högsta medianvärde 10,8 µg per kg ostronkött och högsta 95:e percentilen för ostron var 79 µg per kg kött. Ett grupp-ARfD på 0,25 µg beräknades för tetrodotoxin och dess analoger utgående från en djurstudie. En koncentration under 44 µg tetrodotoxinekvivalenter/kg skaldjurskött ansågs inte utgöra någon risk för människa. (Efsa 2017)

Tetrodotoxin kan vara en fara som kan få betydelse i framtiden på grund av migration av marina arter och förändringar i utbredningen av marina organismer.



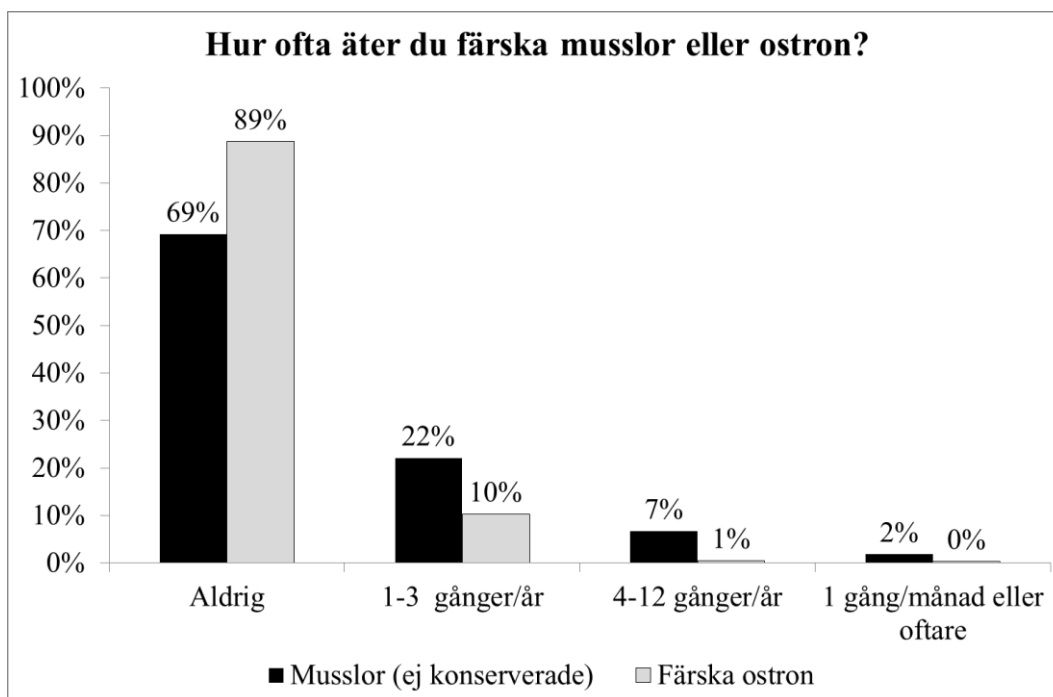
# Exponeringsuppskattning

## Konsumtion av musslor och ostron i Sverige

### Hur ofta och hur mycket äter svenskar färska musslor och ostron?

Det finns flera studier där konsumtion av musslor och ostron bland svenskar undersökts. I Livsmedelsverkets undersökning Riksmaten 2010 så fick 1 797 individer registrera sin kost under fyra dagar (Livsmedelsverket 2012). Nio personer (0,5 procent) åt kokta musslor under fyradagarsperioden och 2 personer (0,1 procent) åt ostron. Utslaget på hela befolkningen motsvarar det 0,45 portioner kokta musslor respektive 0,09 portioner ostron per person och år. Genomsnittliga portionsstorlekar var 67 gram för musslor (utan skal, tillagade) och 66 gram för ostron (utan skal).

Under hösten 2015 genomförde Livsmedelsverket en telefonundersökning inom en epidemiologisk studie om magsjuka i befolkningen (ej publicerat, kontaktperson: Jonas Toljander). Ett representativt urval av 1 001 personer i den vuxna befolkningen fick besvara frågor bland annat om hur ofta de konsumerar musslor (ej konserverade) eller färska ostron. De flesta sade sig aldrig konsumera musslor (69 procent) eller ostron (89 procent). Trettioen procent konsumerar musslor minst en gång per år medan 11 procent konsumerar ostron (Figur 2).



**Figur 2.** Resultat från en telefonundersökning utförd av Livsmedelsverket under hösten 2015. Ett representativt urval (n=1 001) i den vuxna befolkningen i hela landet svarade på frågorna.

I en undersökning av Jordbruksverket (2014) uppgav 51 procent av de tillfrågade att de inte äter musslor eller ostron alls. Tjugotre procent äter musslor eller ostron någon gång per år, 16

procent någon gång i halvåret, medan 9 procent äter det så ofta som varje månad. Dessa konsumtionsskattningar gör emellertid ingen skillnad mellan musslor och ostron och inte heller om de är färska, frysta eller konserverade.

Undersökningarna har alltså gjorts på lite olika sätt så de går inte helt jämföra med varandra, men en summering är att mer än halva befolkningen är icke-konsumenter av musslor och ostron, ungefär var tionde person äter ostron åtminstone en gång per år och ungefär var tredje person äter kokta musslor minst en gång per år.

## Konsumtion av svenska respektive utländska musslor och ostron

Förekomst av patogener eller algtoxiner i musslor eller ostron påverkas av var de växer. Livsmedelsverket (2016) och Jordbruksverket (2014) har uppgifter om hur mycket musslor och ostron som produceras i Sverige och hur mycket som är införsel eller import (**Tabell 4**). All import av tvåskaliga blötdjur till Sverige är från andra EU-länder. Vi gör antagandet att konsumtionen av svenska musslor och ostron står proportion till den svenska produktionen. Den inhemska produktionen och införsel från andra EU-länder varierar något från år till år men totalt sett är den merparten av musslor och ostron som konsumeras i Sverige från andra EU-länder. Under 2015 så utgjorde införda musslor och ostron nästan 95 procent av alla tvåskaliga blötdjur som användes. Mindre än en tiondel av alla blåmusslor och nära hälften av alla ostron var odlade i Sverige (**Tabell 4**). Sammanfattningsvis så är den stora merparten av de musslor och ostron som konsumeras i Sverige införda från andra EU-länder.

*Tabell 4. Svensk produktion av musslor och ostron respektive införsel från andra EU-länder av levande, färska eller kylda musslor och ostron, med eller utan skal. Siffror anger vikt i ton och är medelvärden per år beräknade för perioden 2013-2015.*

	Svensk produktion	Införsel från andra EU-länder
Blåmusslor <sup>1</sup>	1715	299
Ostron <sup>2</sup>	72	167
Övriga musslor <sup>3</sup>	7	417

<sup>1</sup> Svenska blåmusslor är av släktet *Mytilus*, utländska är av släktena *Mytilus* och *Perna*; <sup>2</sup> Svenska ostron är av släktena *Crassostrea* och *Ostrea*, utländska är av släktet *Crassostrea*; <sup>3</sup> Svenska övriga musslor utgörs endast av hjärtmusslor, utländska är hjärtmusslor, kammusslor, venusmusslor m.fl. Källor: Livsmedelsverket (2016) och Jordbruksverket (2016).

## Prevalens och halter i tvåskaliga blötdjur

### Norovirus och hepatit A

I en riskvärdering från Efsa gjordes en litteraturgenomgång av tillgängliga data över prevalens och halter av norovirus och HAV i musslor och ostron (Efsa 2015). Både norovirus och HAV påträffas ofta i tvåskaliga blötdjur från kommersiella produktionsområden i EU. Prevalensen av norovirus i EU-länder är ofta i storleksordningen 30-60 procent, men kan ibland överstiga 70 procent. Livsmedelsverket deltar i skrivande stund i en kartlägningsstudie av virus i ostron från kontrollerade produktionsområden och preliminära resultat visar att prevalensen av norovirus i svenska ostron är på liknande nivå som i övriga EU (Simonsson 2017). En tidigare svensk studie visade på 50-60 procent prevalens av enteriska virus i blåmusslor (Hernroth et al. 2002).

Prevalensen av norovirus har i Danmark rapporterats vara 10 procent för ostron och drygt 40 procent i blåmusslor (Efsa 2015). En studie av blåmusslor på svenska västkusten i ett område som inte var ett kontrollerat produktionsområde, visade att prevalensen av norovirus var nära 100 procent (Schultz et al. 2013). Prevalensen av virus kan förväntas vara lägre vid odling eftersom odlingarna är kontrollerade med avseende på fekal påverkan. Halterna i blåmusslorna var under året i genomsnitt  $10^2$ - $10^3$  viruspartiklar<sup>2</sup> per gram, men under vintersäsongen kan halterna bli så höga som  $10^5$  virus per gram. Studier i andra länder har visat att halterna i odlade musslor generellt är lägre, färre än  $10^2$  viruspartiklar per gram hepatopankreas (Efsa 2015). De högsta halterna för odlade musslor kan emellertid ibland uppgå till  $10^4$  till  $10^5$  viruspartiklar per gram. Halter över  $10^4$  viruspartiklar per gram påträffas i mindre än 15 procent av proverna. Det är viktigt att notera att det finns flera begränsningar i metodiken för viruskvantifiering som gör att de reella nivåerna av virus i musslor eller ostron ofta är mycket högre än det som uppmäts (Persson 2017). Hur stor andel av de anrikade virusen som är infektiösa är också okänt.

Prevalensen av HAV varierar geografiskt i Europa mycket mer än norovirus. Prevalensen kan då vara mellan 0 och 43 procent. Publicerade kvantitativa data för HAV i musslor och ostron är sparsamt förekommande men halterna som rapporteras är oftast låga och halter som överstiger  $10^4$  viruspartiklar per gram rapporteras för mindre än 3 procent av alla prover. De högsta halterna är oftast  $10^3$  till  $10^4$  viruspartiklar per gram (Efsa 2015). Högre prevalens av HAV i tvåskaliga blötdjur från vissa kommersiella produktionsområden reflekterar högre endemiska nivåer i dessa länder, framförallt södra Europa (Gossner et al. 2015). I Sverige är endemisk HAV i befolkningen mycket låg och därför är prevalensen i svenskproducerade musslor och ostron också mycket låg. I en undersökning av musslor och ostron odlade i Grekland, Spanien, Sverige och Storbritannien påträffades HAV i musslor och ostron från alla länder utom Sverige (Formiga-Cruz et al. 2002).

## Marina algtoxiner

Förekomst och halter av marina algtoxiner kan variera mycket med snabba växlingar mellan veckor och månader och mellan år.

Brevetoxiner tycks ha en begränsad geografisk utbredning, och har återfunnits vid USAs ostkust, Mexikanska golfen och vid Nya Zeeland. Det finns inga rapporter om att organismer som producerar brevetoxiner återfunnits i Europa. (WHO 2004; Turner et al. 2015)

Azspiracider (AZT) har återfunnits i tvåskaliga blötdjur i Storbritannien och Norge i signifikanta nivåer, samt i spår mängder i tvåskaliga blötdjur i Frankrike, Spanien, Marocko och Portugal.

Yessotoxiner (YTX) har återfunnits i mikroalger och/eller i blötdjur världen över, även i Europa.

Tetrodotoxin (TTX) återfinns i varmare vatten, förekomst i Stilla havet och Indiska oceanen är känd sedan länge. Den mest kända källan till förgiftning med TTX är fugu, japansk blåsfisk. Under senare år har en migrerande blåsfisk hittats i östra Medelhavet, vilken kommit från Röda

---

<sup>2</sup> Med viruspartiklar avses egentligen antal genomkopior som kvantifierats med PCR-baserade metoder. Skillnaderna i kvantifiering är väldigt stora mellan olika laboratorier och metoder. Extraktions-effektiviteten är ofta låg (1-10%) och den räknas inte med i kvantifieringen. Det finns flera ytterligare begränsningar i metodiken som gör att de reella nivåerna av virus i musslor eller ostron ofta är mycket högre än det som uppmäts. Metoderna säger heller inte något om virusen är infektiösa eller inte. (Sofia Persson, Livsmedelsverket, personlig kommunikation)

Havet via Suezkanalen. Dess migration tycks fortsätta västerut. Sedan det första förgiftningsfallet i Europa skedde har analyser av TTX gjorts i olika Europeiska länder och låga halter av toxinet har detekterats i några organismer i Europeiska vatten, i snäckdjur vid Portugals kust (Silva et al. 2012) och i musslor i Grekland (Vamis et al. 2015) samt i mycket låga halter i tvåskaliga blötdjur från Englands sydkust (Turner et al. 2015).

### **Kontroll av tvåskaliga blötdjur**

Sverige följer EU-lagstiftningen för kontroll av tvåskaliga blötdjur och förekomst av marina algtoxiner. EU-lagstiftning anger frekvens av prov för toxiner i musslor och andra tvåskaliga blötdjur (EG 854/2004).

För prevalens av algförekomst respektive toxinförekomst i musslor odlade i Sverige, se Livsmedelsverkets årsrapporter för kontrollprogrammet för tvåskaliga blötdjur (t.ex. Livsmedelsverket 2009; Livsmedelsverket 2011; Livsmedelsverket 2014). I **Tabell 5** anges gränsvärden för marina algtoxiner i EU.

**Tabell 5.** Gränsvärden som gäller för marina algtoxiner i tvåskaliga blötdjur inom EU.

<b>Toxin</b>	<b>Gränsvärde</b>
PST	800 µg/kg
AST	20 mg/kg
DST*	160 µg/kg
Yessotoxiner	3,75 mg/kg
Azaspiracider	160 µg/kg

\*Inklusive pectenotoxiner

Musslor och ostron som säljs i nät i handeln ska vara märkta med leveranscentra, vilket innebär att de är kontrollerade enligt befintliga regelverk (**Figur 3**).

Under åren 2009-2010 detekterades låga halter, under gränsvärdet (**Tabell 5**), av azaspiracider (AZA) och okadasyra (DST) i några prover från blåmussla. Halter av yessotoxiner (YTX) överskred gränsvärdet i flera produktionsområden vid olika tillfällen, och dessa produktionsområden stängdes. Under en månad 2010 konstaterades saxitoxiner (PST) i blåmussla i låga halter vid två tillfällen, vilket medförde att produktionsområdet stängdes (Livsmedelsverket 2011). Områden som stängs på grund av förekomst av algtoxiner öppnas när halterna återigen sjunkit under de gränsvärden som finns inom EU. Halten algtoxiner i musslor minskar när musslorna kan filtrera vatten som är fritt från toxiner, men vid mätningar och i kontrollerade försök har det visat sig att hastigheten med vilket detta sker kan variera avsevärt beroende på toxintyp och även på omgivningsfaktorer som exempelvis vattentemperatur. (**Tabell 5**)

Under åren 2011-2013 har potentiellt toxinproducerande alger funnits i vattnen vid svenska västkusten. Åren 2011-2012 förekom höga halter av okadasyra (DST) i blåmusslor och av 12 produktionsområden stängdes 8 under längre tid än 15 veckor år 2011. Året därpå var situationen bättre, även om flera områden stängdes under kortare tider, var det bara ett område med så lång avstängningsperiod. År 2013 var toxinhaltarna låga, och inga avstängningar behövde ske. (Livsmedelsverket 2014)

I de vattenprover som tas för att undersöka förekomst av skadliga mikroalger i Sverige ingår sedan 2013 undersökning av förekomst av släktet Pseudo-nitzschia, det släkte som potentiellt

kan bilda domorinsyra (AST). Flera arter förekommer i Skagerrak. Antal potentiellt toxinproducerande organismer har vid några tillfällen varit högt. Domorinsyra har dock inte påvisats i den svenska musselkontrollen. (Livsmedelsverket 2014) Vid enstaka tillfällen har låga halter av domorinsyra hittats i musslor i Norge och i Danmark.

### **Förekomst av marina algtoxiner i andra marina organismer än tvåskaliga blötdjur**

Saxitoxiner (PST) – År 1987 dog 14 valar vid USAs ostkust, Cape Cod Bay, som förgiftats med PST, makrill var då misstänkt som den troliga vektorn för toxinet (Anderson, 1994).

Domorinsyra (AST) – Förutom i tvåskaliga blötdjur har AST även detekterats i havslevande däggdjur, fåglar, fisk samt i det mindre kräftdjuret *Emerita analoga* (Powell et al. 2002; James et al. 2010; Lefebvre & Robertson 2010).

Brevetoxiner (BTX) – Dessa toxiner har även detekterats i fisk, men i mycket lägre koncentrationer än i tvåskaliga blötdjur. I fisk har toxiner främst återfunnits i lever och matsmältningsorgan, vilka vanligen inte äts. Det finns dock fiskar där det är vanligt att hela fisken inklusive inälvorna äts, exempelvis sardiner, och det finns länder där det är vanligt att äta hel fisk. Det är dock inte klart om eller i vilken utsträckning BTX i fisk kan vara ett hälsoproblem för människor (Naar et al. 2007; Watkins 2008).

Azaspiracider (AZT) – Förutom att AZT ackumuleras i blötdjur, har toxinet även återfunnits i krabba (Efsa 2008a).

## **Inaktivering av bakterier och virus genom tillagning**

Livsmedelsverkets nuvarande råd till konsumenter är att musslor ska tillagas tills de uppnår en intern temperatur av 90°C i 90 sekunder. En avdödning som är likvärdig med den som uppnås vid 90°C i 90 sekunder kan också uppnås med antingen högre temperatur under kortare tid eller med en längre tillagningstid vid lägre temperatur. Efsas riskvärdering (Efsa 2015), som baseras på modellering med bland annat data från flera av studierna som sammanfattas i **Tabell 7**, exemplifierar några tillagningsprocesser som är ekvivalenta med 90°C i 90 sekunder (

**Tabell 6).**

*Tabell 6. Exempel på tillagningsprocesser som ger en avdödning av virus i musslor som är ekvivalent med 90°C i 90 s (Efsa 2015).*

<b>Intern temperatur</b>	<b>Tid (95 % konfidensintervall)</b>
72 °C	407 (246–1 879) sekunder
76 °C	291 (197–956) sekunder
80 °C	208 (157–487) sekunder
86 °C	126 (113–177) sekunder
94 °C	64 (46–72) sekunder
98 °C	46 (23–58) sekunder

I det egna köket är det svårt att ha kontroll över temperaturen i musslorna men flera vetenskapliga studier har med hjälp av temperaturprober undersökt hur olika tillagningsmetoder påverkar den interna temperaturen i musslor och hur temperaturen i sin tur påverkar inaktiveringen av mikroorganismer. Exempelvis undersökte Hewitt & Greening (2006) inaktivering av HAV vid kokning respektive ångkokning. Vid den ena tillagningsmetoden, kokning, uppnåddes medeltemperaturen 90°C efter 170 sekunder men först efter 210 sekunder hade alla musslor öppnat sig. Ångkokning å andra sidan resulterade i en långsammare uppvärmning och efter 300 sekunder var den interna temperaturen endast 83°C och då hade också alla musslor öppnat sig. Musslor som ångkokades i 180 sekunder uppnådde en intern medeltemperatur av endast 63°C och det resulterade i en 1,5-log inaktivering. Nedsänkning av musslor i kokande vatten lika lång tid resulterade i en intern medeltemperatur av 92°C och ledde till total avdödning av HAV. Hewitt & Greening (2006) drog slutsatsen att enbart tillaga musslor tills de öppnar sig inte leder till fullständig inaktivering av HAV. För att minska risken för virusmitta rekommenderar författarna att nedsänka musslor i kokande vatten i minst 3 minuter är att föredra framför ångkokning.

Pascoli et al. (2016) studerade inaktivering av HAV vid tillagning av musslor vid olika tid. Efter 10 minuters ångkokning hade alla musslor öppnat sig men innehöll fortfarande aktiva virus. Ytterligare 2 minuters kokning vid 100°C (med tillsatt vätska) krävdes för fullständig inaktivering. I en studie av Flannery et al. (2014) undersöktes hur sjudning och kokning påverkar avdödning av norovirus och bakteriofager. Sjudning i en minut i cirka 70-gradigt vatten inaktiverade inte virusen nämnvärt, medan tillagning vid temperatur över 90°C ledde till fullständig inaktivering inom 3 minuter. Tiden för 1-log inaktivering av bakteriofager vid 90°C beräknades till 42 sekunder. Därmed skulle en >3-log inaktivering uppnås först efter 126 sekunder i 90°C. Inte heller Flannery et al. (2014) anser att musslor är säkra med avseende på virus bara för att de öppnat sig. Författarna rekommenderar tillagning vid höga temperaturer för att minska risken för virusmitta.

Studierna ovan visar att musslor kan behöva tillagas i upp till 12 minuter innan alla har öppnat sig och innan de uppnått en tillräckligt hög intern temperatur för fullständig inaktivering av virus. Anledningen att musslor inte öppnar sig kan vara antingen att temperaturen inte är tillräckligt hög eller att musslorna inte tillagats tillräckligt länge. Om det är stor volym som tillagas så krävs längre tid för att uppnå rätt temperatur. Om det är trångt i grytan så kan en del musslor också ha svårt att öppna sig (Hambergs fisk 2016). Att musslorna har öppnat sig är ingen garanti för att temperaturen inne i musslorna har uppnått 90°C, utan ytterligare tillagning kan vara nödvändig för att inaktivera alla virus. Temperaturen i musslorna och inaktiveringen av virus ökar sannolikt om musslor kokas en stund till efter att de öppnat sig, eftersom ånga eller kokande vätska då lättare kan tränga in i musslorna.

## **Marina algtoxiner och påverkan av tillagning**

Generellt sett så är de marina algtoxiner värme stabila och bryts inte ned i någon större utsträckning av konventionella tillagningsmetoder som ångkokning och kokning. Fettlösliga (lipofila) toxiner beter sig annorlunda än vattenlösliga toxiner. För de fettlösliga toxinerna kan det bli en högre halt toxin (mängd toxin per viktenhet) i tillagade skaldjur jämfört med färsk på grund av vattenavgång från skaldjuren. För de vattenlösliga toxinerna kan halten toxin minska i skaldjur på grund av att toxiner kan lösas ut i kokvattnet, men om kokvattnet används i maträtten så påverkas inte den totala toxinmängden.

## **Fettlösliga toxiner**

### ***Okadasyra och analoger (DST)***

Efsa publicerade 2009 en genomgång av vilken effekt tillagning har på lipofila marina biotoxiner i musslor (Efsa 2009d). Okadasyra och dess analoger, DTX-toxiner är fettlösliga substanser som är värmestabila. Vid tillagning, ångkokning och kokning, av musslor förlorar musslan en del vätska, vilket kan leda till en ökning av toxinhalten i musslan med 25-80 procent (Efsa 2009d). Detta bekräftades av McCarron et al. (2008) som konstaterade att ångkokning i 10 minuter gav 30-70 procent ökning av toxinhalten i musslor. Enligt Efsa (2009d) bryts okadasyra ned i märkbar grad vid temperaturer över 120°C, medan DTX2 börjar brytas ned vid 100°C. McCarron et al. (2008) konstaterade att vid 150°C hade cirka 40 procent av okadasyran degraderats efter 10 minuter. Nedbrytning av DTX2 började vid 100°C efter 10 minuter vid 150°C var 60 procent nedbrutet. Rebores et al. (2010) publicerade effekter av olika metoder för att detoxifiera blötdjur som innehöll olika typer av toxiner. Frysning i -20°C i en månad påverkade inte halten av okadasyra och analoger i musslor. Att hålla toxiska musslor levande i ozonifierat havsvatten medförde inte någon signifikant förändring i halten av toxiner. Värmebehandling enligt en metod som omfattade sköljning i 20-gradigt vatten, förkokning i 95°C i 3 minuter, separering av mussla från skalet, sköljning i 20°C, kokning i 98°C i 9 minuter, avkylning i rinnande kallt vatten och slutligen sterilisering i autoklav vid 116°C i 54 minuter gjorde ingen skillnad på den totala toxinhalten i musslor. När enbart hepatopankreas analyserades sågs en ökning av den totala toxinhalten jämfört med obehandlad kontroll, vilket främst berodde på en ökning av DTX3. Värmebehandling tycktes kunna omfördela okadasyra till DTX-analoger.

### ***Azaspirazider (AZT)***

Azaspiracider i musslor tycks inte brytas ned av temperaturer upp till 100°C (Efsa 2008a). Liksom för okadasyra (DST) och analoger så kan halten av toxin i musslor dubblas vid konventionella tillagningstemperaturer, på grund av att musslan förlorar vätska vid tillagningen (Hess et al. 2005). McCarron et al. (2008) upphettade homogeniserade musslor till 90°C under 10 minuter i tillslutna behållare, som inte tillät vätska att försvinna. Detta resulterade i en bibehållen toxinnivå för flera av azaspiracidanalogerna, däremot ökade halten av en analogen AZA3, vilket berodde på att AZA17 omvandlades till AZA3 under de förhållanden som rådde.

### ***Yessotoxiner (YTX) och pectenotoxiner (PTX)***

Efsa (2009c) hade ingen information om effekt av tillagning på yessotoxiner och pectenotoxiner i musslor, men drog slutsatsen att dessa toxiner sannolikt beter sig på likartat sätt som de övriga fettlösliga marina algtoxinerna, det vill säga att tillagning kan leda till ökad toxinhalt i musslor på grund av vattenavgång.

## Vattenlösliga toxiner

### ***Saxitoxiner och analoger (PST)***

I och med att PST är vattenlösliga kan de till viss del lakas ut ur skaldjursköttet vid kokning i vatten. Det finns studier som visar att kokning av musslor i vissa fall kan minska toxinmängderna i musslorna med så mycket som 70 procent, men att minskningen i musslorna främst beror på att toxinerna går ut i kokvattnet (Efsa 2009b). Kokning kan alltså inte användas som en metod för att förstöra toxinerna. Om kokvattnet används i den maträtt som bereds, så minskar alltså inte den totala toxinmängden i rätten. Cirka hälften av den totala mängden PST övergick från musselkött till kokspad vid ångkokning i 6 minuter enligt Wong et al. (2008). Högre temperaturer än 100°C tycks kunna ge viss nedbrytning av PST (Efsa 2009b). Reboreda et al. (2010) använde sig av samma metod för värmebehandling av PST-kontaminerade musslor som för okadasyra (se ovan) och fann att detta reducerade toxinhalterna från 700±60 µg saxitoxinekvivalenter per kg respektive från 873±17,6 µg per kg till under detektionsgränsen som var 350 µg saxitoxinekvivalenter per kg i bägge fallen.

### ***Domorinsyra (AST)***

Reboreda et al. (2010) använde tre olika metoder för att undersöka förändring i halter av ASP i musslor. De tre metoderna var: frysbehandling (-20°C i en månad), bortrensning av matsmältningskanalen inklusive hepatopankreas eller värmebehandling (samma behandlingar som för okadasyra, se ovan). Bortrensning av hepatopankreas gav störst reduktion av toxiner, från 112,5±5,77 till 1,98±0,13 µg domorinsyra per gram mussla. Även värmebehandling och frysning gav en signifikant reduktion, dock inte i lika hög grad (från 112,5±5,77 µg per gram till 35,33±0,33 respektive 50,0±4,94 µg per gram). Det framgår inte klart vilka mängder/antal prov som analyserats, men det anges i artikeln av Reboreda et al. (2010) att statistik har räknats på 3-6 prov, vilket gäller samtliga testade toxiner; okadasyra (DST), saxitoxiner (PST) och domorinsyra (AST).



**Tabell 7. (Forts. på nästa sida) Sammanställning av studier om avdödning av mikroorganismer vid tillagning av tvåskaliga blötdjur.**

Referens	Bivalv*	Mikroorganism	Tillagningsmetod	Författarens slutsats
<b>DiGirolamo et al. (1970)</b>	Ostron (Crassostrea gigas, Ostrea lurida)	Poliiovirus	Stuvning, stekning, ugnsbakning, ångkokning	7-10% av virus överlevde.
<b>Anonym (1979a)</b>	Ostron	Odlingsbara bakterier	Ångkokning till intern temperatur 60°C	Totala antalet bakterier minskade. Bacillus dominerade bland kvarvarande bakterier.
<b>Anonym (1979b)</b>	Ostron	Koliforma bakterier	Ångkokning till intern temperatur 60°C	”virtually free of coliform bacteria”
<b>Goldmintz et al. (1983)</b>	Ostron (Crassostrea virginica)	Gram-negativa och Clostridium botulinum typ E	Ångkokning olika temperaturbehandlingar 45-70°C, intern temperatur	Upphetning till 62°C minskade avsevärt antalet gramnegativa bakterier, men C. botulinum-sporer överlevde och kunde bilda toxiner.
<b>Govorin &amp; Shatsillo (1989)</b>	Black sea mussels	Koliforma bakterier	Nedsänkning i kokande vatten 1-2 minuter	Upphetningen var inte tillräcklig för att avdöda alla bakterier.
<b>Croci et al. (2005)</b>	Musslor	Hepatit A	Olika recept: mussel hors-d'oeuvre, mussel au gratin, mussels with tomato sauce	Endast receptet där musslor kokades i tomatås gav fullständig inaktivering.
<b>Hewitt &amp; Greening (2006)</b>	Grönläppad mussla (Perna canaliculus)	Hepatit A och norovirus	Kokning och ångkokning, kontroll av intern temperatur (90°C i 90 sekunder) och öppningstid	Fullständig avdödning av HAV efter 3 minuters kokning och en uppnådd intern temperatur av 92 °C. En del musslor hade inte öppnat sig ännu. Ej fullständig avdödning av HAV efter 3 minuters ångkokning och en uppnådd intern medeltemperatur av 63 °C. En del musslor hade inte öppnat sig ännu.
<b>Harlow et al. (2011)</b>	Musslor	Hepatit A	Ångkokning under olika tid	Fullständig avdödning av HAV efter 6 min ångkokning och en uppnådd intern medeltemperatur av 100 °C. Musslorna kunde inte öppna sig eftersom de var ihoplimmade i försöket.
<b>Cappellozza et al. (2012)</b>	Venusmusslor (Ruditapes philippinarum)	Hepatit A	Upphetning till 90°C intern temperatur under olika tid	Fullständig avdödning av HAV först efter att den interna medeltemperaturen varit 90 °C under 10 min.
<b>Flannery et al. (2014)</b>	Blåmusslor (Mytilus edulis)	Norovirus och F-spezifisk RNA bakteriofag	Sjudning vid 70°C respektive över 90°C tills musslorna öppnade sig	Sjudning 70 °C gav endast liten inaktivering och var otillräckligt för att helt avdöda norovirus och bakteriofager. Kokning i 3 minuter (eller 2 minuter efter att musslorna öppnat sig) inaktiverade virus.

Referens	Bivalv*	Mikroorganism	Tillagningsmetod	Författarens slutsats
<b>Toffan et al. (2014)</b>	Venusmusslor (Ruditapes philippinarum)	Murint norovirus	Ångkokning olika lång tid och kontroll av intern temperatur	Fullständig avdödning av murint norovirus vid ångkokning efter att 50% av musslorna hade öppnat sig. Detta inträffade efter nästan 8 minuters tillagning och den uppnådda interna medeltemperaturen var då 95 °C.
<b>Efsa (2015)</b>	Bivalver	Hepatit A och norovirus-surrogat	Studien utgår från att 90°C i 90 sekunder tid är tillräckligt och använder modellering för att komma fram till andra ekvivalenta tid- och temperaturkombinationer	1 log avdödning av HAV beräknades ta 54 sekunder (d-värdet). Nödvändig temperaturökning för att öka avdödning med 1 log beräknades till 27.5°C (z-värde). Tid- och temperaturkombinationer som ger likvärdig avdödning som att 90°C i 90 sekunder identifierades: 72°C i 407 sekunder, 76°C i 291 sekunder, 80°C i 208 sekunder, 86°C i 126 sekunder, 94°C i 64 sekunder, 98°C i 46 sekunder.
<b>Souza et al. (2015)</b>	Musslor	Rotavirus	Tillagning enligt recept för Moules marinieres, olika tid	1 log inaktivering kunde påvisas efter 1 min. Infektiva virus fanns kvar efter 3 minuter, men efter 5 minuter kunde inga infektiva virus påvisas.
<b>Pascoli et al. (2016)</b>	Venusmusslor (Ruditapes philippinarum)	Hepatit A	Tillagning vid nära 100°C under olika lång tid	Fullständig avdödning av HAV efter att ha ångkokat musslor 2 minuter ytterligare efter att de öppnat sig. OBS i vissa fall tog det upp till 10 minuter för en mussla att öppna sig.

\**Vetenskapliga namn så som angivet i publikationen, Taxonomin för bivalver har i några fall ändrats.*

# Riskkaraktärisering

## ***Vilka risker finns det med att äta musslor som är döda innan de kokas?***

**I våra litteratursökningar hittades inga studier som visar på särskilda hälsorisker med att konsumera döda musslor.** Eventuella risker med döda musslor och ostron diskuteras överhuvudtaget inte i studierna som vi hittat, utom i en australisk rapport där författaren drar slutsatsen att det inte finns några särskilda risker med att äta döda musslor, utan att sannolikheten att döda musslor innehåller algtoxiner eller virus är troligen lika stor som för levande (Ruello 2004). Eventuell bakteriell tillväxt vid felaktig förvaring skulle kunna medföra en ökad risk. Men denna risk finns även för levande musslor och dessutom dör bakterierna vid tillräcklig upphettning. Däremot kan döda musslor och ostron, liksom andra animaliska livsmedel, få en dålig lukt eller smak när de dör och ruttnar eller blir förskämda, vilket kan vara anledning nog för att kasta.

## **Innebär ett trasigt skal alltid att musslan är död?**

Musslor eller ostron med trasiga skal är inte nödvändigtvis döda utan dessa brukar främst inte användas av utseendemässiga skäl. Musslor och ostron är tåliga djur och viabilitet kan testas på samma sätt som för oskadade djur, det vill säga genom att knacka på dem etcetera (Hambergs fisk 2016).

## **Varför ska musslor med slutna skal efter kokning slängas?**

Vissa studier som använder traditionell ångkokning av musslor pekar på att en mindre andel av musslorna förblir stängda vid tillagning, men de flesta studierna rapporterade att i princip alla musslor öppnar sig till slut vid tillräcklig upphettning, men att detta kan ta uppemot 10 minuter, beroende på tillagningsmetod och volymen som tillagas. Möjligen kan trånga kokkärl utgöra ett fysiskt hinder för musslor att öppna sig. Musslor som öppnar sig blir mer upphettade eftersom ånga eller het vätska kommer in i musslan och ökar inaktiveringen av mikroorganismer. Därmed finns risk att stängda musslor inte har upphettats tillräckligt. Närvaro av vätska, omrörning i kokkärlet samt tillagning av mindre antal musslor åt gången ökar sannolikheten att musslorna öppnar sig och att de blir tillräckligt upphettade.

## **Är det fortfarande så att det enda sättet att kontrollera om musslan lever är att knacka på öppna musslor, eller kan musslorna vara levande även om de inte stängs? I så fall, hur vanligt är det?**

Musslor och ostron som är döda är oftast, men inte alltid, öppna. Om något på mekanisk väg (exempelvis en trång nätpåse eller gryta) hindrar skalhalvorna från att dela sig, så kan musslorna eller ostronen förbli stängda. Musslor och ostron som inte stänger sig, eller försöker stänga sig när man knackar (hårt) på dem är sannolikt döda (Doré 1991; Hambergs fisk 2016; Ruello

2016). Halvöppna musslor, eller musslor där skalhalvorna gapar lite, kan manipuleras genom att trycka ihop skalhalvorna (Ruello 2016). Om de inte stänger sig då så är musslan troligen död.

Det finns också andra sätt att kontrollera om musslorna eller ostron är levande eller vid god vigör. Om man släpper ner musslorna i (salt)vatten så kan man se om de öppnar sig och börjar filtrera. Levande musslor kan enligt Ruello (2016) också ge ifrån sig ljud. Musslor och ostron som luktar illa, är slemmiga eller är fyllda med dy är troligen döda (Doré 1991; Hambergs fisk 2016; Ruello 2016).

### **Vad finns det för vetenskaplig grund för tid-temperaturkombinationen 1,5 minut vid 90 °C för att med säkerhet inaktivera bakterier och mikrobiologiska faror i musslor?**

Litteratursökningarna visar att upphettning till temperaturer lägre än 90°C i praktiken ofta leder till att fler bakterier och virus överlever eller att betydligt längre tid krävs för att fullständigt inaktivera bakterier och virus (**Tabell 7**). Tid-temperaturkombinationen 90 sekunder vid 90°C är teoretisk och avser den interna temperaturen i musslan. Kombinationen bör ge en hög grad av avdödning och avspeglar förhållanden vid tillagning under nära optimala förhållanden. Verkligheten ser emellertid annorlunda ut. **För att uppnå 90°C inuti musslan krävs att musslan först värms upp, ibland i flera minuter, beroende på volym, typ av mussla och tillagningsmetod.** Under vissa förhållanden kan 90°C vid kortare tid än 90 sekunder ge en tillräcklig inaktivering eftersom även uppvärmnings- och nedkylningsperioden bidrar till inaktiveringen (Efsa 2015).

Studierna som presenteras i **Tabell 7** visar att temperaturer nära 100°C ger bäst avdödning av mikroorganismer och att kokning verkar vara effektivare (snabbare) än ångkokning för att uppnå fullständig avdödning.

### **Vad innebär "lättkokt"?**

Det finns ingen särskild definition av lättkokt, men om musslor endast tillagas tills de öppnar sig (vilket är vanligt förekommande), eller ännu kortare tid, så finns en risk att de inte är tillräckligt upphettade för att avdöda mikroorganismer (DiGirolamo et al. 1970; Hewitt & Greening 2006; Flannery et al. 2014). Sådana musslor kan fortfarande innehålla mikroorganismer som kan orsaka sjukdom och kan därmed betraktas som lättkokta.

### **Finns det i litteraturen beskrivningar på hur det i praktiken går till att mäta temperaturen inuti musslor? I så fall, hur?**

I vetenskapliga försök används temperaturprober (se till exempel Hewitt & Greening 2006; Flannery et al. 2014; Pascoli et al. 2016). Dessa kan användas i kontrollerade vetenskapliga studier men är knappast praktiska att använda vid vanlig matlagning i egna köket. **Vid vanlig matlagning uppnås en hög temperatur genom att tillaga under lock. Om musslan har öppnat sig och om dess kött har koagulerat så har den sannolikt uppnått en hög temperatur men ytterligare upphettning kan krävas för att inaktivera alla virus.**

## Hur påverkas marina algtoxiner av upphettning?

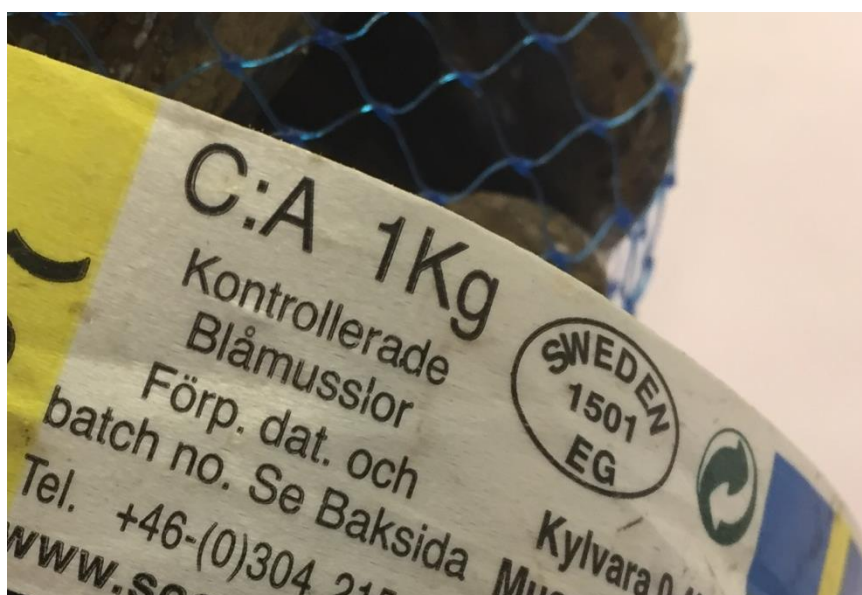
Generellt sett så är de marina algtoxiner värme stabila och bryts inte ned i någon större utsträckning av konventionella tillagningsmetoder som ångkokning och kokning. Fettlösliga toxiner beter sig annorlunda än vattenlösliga toxiner, i och med att det för de fettlösliga toxiner kan bli en högre halt toxin (mängd toxin per viktenhet) i tillagade skaldjur jämfört med färska på grund av vattenavgång från skaldjuret. För de vattenlösliga toxiner kan halten toxin minska i skaldjur på grund av att toxiner kan lösas ut i kokvattnet, men om kokvattnet används i maträtten så blir dock den totala toxinmängden som äts den samma. Fettlösliga toxiner är okadasyra och dess analoger, azaspirazider, yessotoxiner och pectenotoxiner. Vattenlösliga är saxitoxiner och dess analoger samt domorinsyra.

## Finns det i den vetenskapliga litteraturen data som kan ge konsumenten information om det går att minska risken att bli förgiftad av marina algtoxiner eller livsmedelsburna virus i ostron och musslor? I så fall, hur?

Risken för smitta är störst vid konsumtion av de arter som vanligen äts hela och råa (till exempel ostron) medan arter som äts hela men tillagade (till exempel blåmusslor) utgör en lägre risk. Det främsta sättet för konsumenter själva att minska risken för sjukdom är alltså att upphetta musslor tillräckligt vid tillagning. Risken att bli smittad av virus eller andra mikroorganismer minskar vid tillagning med upphettning av musslor och ostron. **Ju högre temperatur och längre tid som de hettas upp, desto mindre risk att bli smittad. Att koka musslorna i vatten eller tillsätta vätska vid tillagningen ökar också avdödningen**, eftersom vatten har en hög värmeledande förmåga (Croci et al. 2005; Hewitt & Greening 2006; Flannery et al. 2014; Toffan et al. 2014; Pascoli et al. 2016).

Tillagning påverkar emellertid inte halten eller toxiciteten av algtoxiner nämnvärt. **Om musslor plockas direkt från hav eller strand finns det inte möjlighet att avgöra om de innehåller toxiner eller ej. Det går inte att se på en vattenyta om det finns toxinbildande alger eller toxiner i vattenmassan, och det går inte att se eller känna på smaken om en mussla eller annat skaldjur innehåller marina algtoxiner.** Marina algtoxiner bryts generellt sett inte ned, eller minskar i halt, i samband med tillredning. För den skull är det därför viktigt att endast konsumera ostron eller musslor från kontrollerade produktionsområden och inte plocka musslor på stränder eller i områden som inte är kontrollerade.

Alla tvåskaliga blötdjur som säljs inom EU skördas från produktionsområden med kontrollerad vattenkvalitet med avseende på förekomst av algtoxiner och fekala bakterier (Efsa 2015). På [Livsmedelsverkets hemsida](#) finns uppdaterad information om vilka havsområden som kontrolleras och vilka som är öppna eller stängda för upptagning av musslor eller ostron. Endast ostron eller musslor från godkända områden får försälas och dessa ska alltid vara tydligt märkta i butik med en etikett på förpackningen eller nätpåsen (**Figur 3**).



Figur 3. Exempel på märkning vid försäljning av musslor i butik.

### **Finns det även andra livsmedel som kan innehålla marina algtoxiner, till exempel olika algprodukter samt fisk och skaldjur?**

Vissa av de marina toxinerna som återfinns i musslor har även återfunnits i andra marina organismer.

AST har hittats i fisk liksom i ett litet kräftdjur, men de enda förgiftningar av människa som rapporterats har skett via tvåskaliga blötdjur. I fiskar återfinns merparten av toxinet i lever och inälvor.

Brevetoxiner har detekterats i fisk, framförallt i lever och matsmältningsorgan, men i mycket lägre koncentrationer än de som återfinns i tvåskaliga blötdjur. Det är inte klarlagt om brevetoxin i fisk kan vara ett problem för människa, de koncentrationer av toxin som återfunnits i fisk har varit låga.

Havsvatten som används som livsmedel eller som används vid tillagning av livsmedel kan potentiellt innehålla toxiska fytoplankton/alger eller toxiner som släppts ut i vattnet när toxinproducerande fytoplankton/alger skadats eller dött. Toxiska alger kan filtreras bort med konventionella vattenreningsmetoder. Efsa har publicerat en riskvärdering om havsvatten i livsmedel (Efsa 2012) och nämner att halterna som skulle kunna återfinnas bör vara avsevärt lägre än de som kan ackumuleras skaldjur och fisk.

Det saknas data över eventuell förekomst av marina algtoxiner i de marina makroalger som används som livsmedel.

### **Finns det några riskgrupper i befolkningen som är särskilt känsliga för marina biotoxiner och de mikrobiologiska faror som kan finnas i musslor och ostron?**

För de sjukdomsframkallande mikroorganismerna som orsakar magsjuka gäller generellt att de mest känsliga grupperna är barn, äldre samt personer med nedsatt immunförsvar eller som har

underliggande sjukdomar. Vad gäller hepatit A så ökar allvarligheten med åldern. HAV-infekterade barn under 6 års ålder är ofta asymtomatiska men smittsamma.

Riskgrupper för förgiftning med marina algtoxiner kan vara personer som har underliggande sjukdom, eller är försvagade av annan anledning. Det finns inte underlag för att uttala sig om ifall marina algtoxiner innebär någon specifik risk för barn gravida eller ammande.

# Referenser

- Anonym (1979a). Low-cost steam-heating of oysters reduces spoilage, improves shelf life. *Food Industries of South Africa* **Nov.**: 31-31.
- Anonym (1979b). Steam pasteurized oysters - in some aspects more acceptable than the raw product. *Commerce News, National Oceanic and Atmospheric Administration* **SEN 85**: 4.
- Bellou, M., Kokkinos, P. & Vantarakis, A. (2013). Shellfish-borne viral outbreaks: a systematic review. *Food Environmental Virology* **5**(1): 13-23.
- Cappellozza, E., Arcangeli, G., Rosteghin, M., Kapllan, S., Magnabosco, C., Bertoli, E. & Terregino, C. (2012). Survival of hepatitis A virus in pasteurized manila clams. *Italian Journal of Food Science* **24**(3): 247-253.
- Croci, L., Medici, D.d., Pasquale, S.d. & Toti, L. (2005). Resistance of hepatitis A virus in mussels subjected to different domestic cookings. *International Journal of Food Microbiology* **105**(2): 139-144.
- DiGirolamo, R., Liston, J. & Matches, J.R. (1970). Survival of virus in chilled, frozen, and processed oysters. *Journal of Applied Microbiology* **20**(1): 58-63.
- Doré, I. (1991). *Fish and shellfish quality assessment. A guide for retailers and restaurateurs.* New York, Osprey.
- Efsa (2008a). Marine biotoxins in shellfish – Azaspiracid group. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain *The EFSA Journal* **723**: 1-52.
- Efsa (2008b). Marine biotoxins in shellfish – okadaic acid and analogues. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. *The EFSA Journal* **589**: 1-62.
- Efsa (2008c). Marine biotoxins in shellfish – Yessotoxin group. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. *The EFSA Journal* **907**: 1-62.
- Efsa (2009a). Marine biotoxins in shellfish – Domoic acid. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *The EFSA Journal* **1181**: 1-61.
- Efsa (2009b). Marine biotoxins in shellfish – Saxitoxin group. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *The EFSA Journal* **1019**: 1-76.
- Efsa (2009c). Marine biotoxins in shellfish – Summary on regulated marine biotoxins. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *The EFSA Journal* **1306**: 1-23.
- Efsa (2009d). Statement of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on the Influence of processing on the levels of lipophilic marine biotoxins in bivalve molluscs. *The EFSA Journal* **1016**: 1-10.
- Efsa (2012). Scientific opinion on the minimum hygiene criteria to be applied to clean seawater and on the public health risks and hygiene criteria for bottled seawater intended for domestic use. *EFSA Journal* **10**(3): 2613.
- Efsa (2015). Scientific opinion on the heat treatments of live bivalve molluscs to eliminate pathogenic microorganisms. *The EFSA Journal* **13**(12): 4332.



- Efsa (2017). Risks for public health related to the presence of tetrodotoxin (TTX) and TTX analogues in marine bivalves and gastropods. Efsa Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). The EFSA Journal **15**(4): 4752.
- Flannery, J., Rajko-Nenow, P., Winterbourn, J.B., Malham, S.K. & Jones, D.L. (2014). Effectiveness of cooking to reduce norovirus and infectious F-specific RNA bacteriophage concentrations in *Mytilus edulis*. Journal of Applied Microbiology **117**(2): 564-571.
- Formiga-Cruz, M., Tofino-Quesada, G., Bofill-Mas, S., Lees, D.N., Henshilwood, K., Allard, A.K., Conden-Hansson, A.C., Hernroth, B.E., Vantarakis, A., Tsibouxi, A., Papapetropoulou, M., Furones, M.D. & Girones, R. (2002). Distribution of human virus contamination in shellfish from different growing areas in Greece, Spain, Sweden, and the United Kingdom. Appl Environ Microbiol **68**(12): 5990-5998.
- Fujiki, H. & Suganuma, M. (1993). Tumor promotion by inhibitors of protein phosphatases 1 and 2A: The okadaic class of compounds. Advances in Cancer Research **61**: 143-194.
- Fujiki, H., Suganuma, M., Suguri, H., Yoshiwawa, S., Tagaki, K., Uda, N., Wakamatsu, K., Yamada, K. & Murata, M. (1988). Diarrheic shellfish toxin, dinophysistoxin-1, is a tumor promoter in mouse skin. Japanese Journal of Cancer Research **79**: 1089-1093.
- Goldmintz, D., Babinchak, J.A., Richards, G.P. & Graikoski, J.T. (1983). Bacteriological evaluation of steam pasteurized oysters, *Crassostrea virginica*. Developments in Industrial Microbiology **24**: 457-465.
- Gossner, C.M., Severi, E., Danielsson, N., Hutin, Y. & Coulombier, D. (2015). Changing hepatitis A epidemiology in the European Union: new challenges and opportunities. Eurosurveillance **20**(16).
- Govorin, I.A. & Shatsillo, E.I. (1989). Sanitary and bacteriological evaluation of Black Sea mussels. Gigiena i Sanitariya **4**: 81-83.
- Hambergs fisk, U. (2016). Hambergs fisk, Uppsala. Personlig kommunikation.
- Harlow, J., Oudit, D., Hughes, A. & Mattison, K. (2011). Heat inactivation of hepatitis A virus in shellfish using steam. Food and Environmental Virology **3**(1): 31-34.
- Hernroth, B.E., Conden-Hansson, A.C., Rehnstam-Holm, A.S., Girones, R. & Allard, A.K. (2002). Environmental factors influencing human viral pathogens and their potential indicator organisms in the blue mussel, *Mytilus edulis*: the first Scandinavian report. Applied Environmental Microbiology **68**(9): 4523-4533.
- Hess, P., Nguyen, L., Aasen, J., Keogh, M., Kilcoyne, J., McCarron, P. & Aune, T. (2005). Tissue distribution, effects of cooking and parameters affecting the extraction of azaspiracids from mussels, *Mytilus edulis*, prior to analysis by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. Toxicon **46**: 62-71.
- Hewitt, J. & Greening, G.E. (2006). Effect of heat treatment on hepatitis A virus and norovirus in New Zealand greenshell mussels (*Perna canaliculus*) by quantitative real-time reverse transcription PCR and cell culture. Journal of Food Protection **69**(9): 2217-2223.
- James, K.J., Carey, B., O'Halloran, J., van Pelt, F.N. & Skrabakova, Z. (2010). Shellfish toxicity: human health implications of marine algal toxins. Epidemiology and Infection **138**: 927-940.
- Jordbruksverket (2014). Svenskt vattenbruk och vattenbruksprodukter 2014. Rapport 2015:20.

- Langeland, G., Hasselgard, T., Tangen, K., Skulberg, O. & Hjelle, A. (1984). An outbreak of paralytic shellfish poisoning in western Norway. *Sarsia* **69**(3-4): 185-193.
- Lefebvre, K.A. & Robertson, A. (2010). Domoic acid and human exposure risks: A review. *Toxicon* **56**(2): 218-230.
- Livsmedelsverket (2009). Kontrollprogrammet för tvåskaliga blötdjur, Årsrapport 2008. Livsmedelsverkets rapportserie nr 6 – 2009. Uppsala, Livsmedelsverket.
- Livsmedelsverket (2011). Kontrollprogrammet för tvåskaliga blötdjur, Årsrapport 2009-2010. Livsmedelsverkets rapportserie nr 14 – 2011. Uppsala, Livsmedelsverket.
- Livsmedelsverket (2012). Riksmaten – vuxna 2010–11. Livsmedels- och näringsintag bland vuxna i Sverige. Uppsala, Livsmedelsverket.
- Livsmedelsverket (2014). Kontrollprogrammet för tvåskaliga blötdjur, Årsrapport 2011-2013. Livsmedelsverkets rapportserie nr 11 – 2014. Uppsala, Livsmedelsverket.
- Livsmedelsverket (2016). Livsteck.net. <https://www.livsmedelsverket.se/livstecknet/>.
- McCarron, P., Kilcoyne, J. & Hess, P. (2008). Effects of cooking and heat treatment on concentration and tissue distribution of okadaic acid and dinophysistoxin-2 in mussels (*Mytilus edulis*). *Toxicon* **51**: 1081-1089.
- McMahon, T. & Silke, J. (1996). Winter toxicity of unknown aetiology in mussels. *Harmful Algae News* **14**.
- McMahon, T. & Silke, J. (1998). Re-occurrence of winter. *Harmful Algae News* **17**.
- Naar, J.P., Flewelling, L.J., Lenzi, A., Abbott, J.P., Granholm, A., Jacocks, H.M., Gannon, D., Henry, M., Pierce, R., Baden, D.G., Wolny, J. & Landsberg, J.H. (2007). Brevetoxins, like ciguatoxins, are potent ichthyotoxic neurotoxins that accumulate in fish. *Toxicon* **50**(5): 707-723.
- Pascoli, F., Pezzuto, A., Buratin, A., Piovesana, A., Fortin, A., Arcangeli, G. & Toffan, A. (2016). Efficacy of domestic cooking inactivation of human hepatitis A virus in experimentally infected manila clams (*Ruditapes philippinarum*). *Journal of Applied Microbiology* **121**(4): 1163-1171.
- Percival, S.L. & Williams, D.W. (2014). *Vibrio*. Microbiology of waterborne diseases. S.L. Percival, Yates, M.V., Williams, D.W., Chalmers, R.M. and Gray, N.F. London, Academic Press: 505-514.
- Perl, T., Bedard, L., Kosatsky, T., Todd, E. & Remis, R. (1990). An outbreak of toxic encephalopathy caused by eating mussels contaminated with domoic acid. *New England Journal of Medicine* **322**(25): 1775-1780.
- Persson, S. (2017). Livsmedelsverket, Uppsala. Personlig kommunikation.
- Powell, C.L., Ferdin, M.E., Busman, M., Kvitek, R.G. & Doucette, G.J. (2002). Development of a protocol for determination of domoic acid in the sand crab (*Emerita analoga*): a possible new indicator species. *Toxicon* **40**: 485-492.
- Public Health Agency of Canada (2015). Public Health Notice - Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* linked to raw shellfish.
- RASFF (2017). RASFF Portal (The Rapid Alert System for Food and Feed). from <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/>.

- Reboreda, A., Lago, J., Chapela, M.-J., Vieites, J.M., Botana, L.M., Alfonso, A. & Cabado, A.G. (2010). Decrease of marine toxin content in bivalves by industrial processes. *Toxicon* **55**(2-3): 235-243.
- Rehnstam-Holm, A., Karlson, B. & Loo, L. (2004). Temporal and sparial distribution of diarrheic shellfish toxins in blue mussels, *mytilus edulis*, along the Swedish Skagerrak coast. 5th International Conference on Molluscan Shellfish Safety, Harmful Algal Bloom Events and Biotoxin Contamination, Galway, Irland, Marine Institute.
- Rodrigues, P., Alfonso, A., Vale, C., Tellez, A. & Botana, L. (2008). First toxicity report of tetrodotoxin and 5,6,11-trideoxyTTX in the trumpet shell *Charonia lampas* in Europe. *Analytical Chemistry*(80): 5622-5629.
- Ruello, N. (2004). Improving post harvest handling to add value to farmed mussels. FRDC Project 2002/418. ISBN 0 9577695 12. Ruello & Associates Pty Ltd på uppdrag för Seafood Services Australia.
- Ruello, N.V. (2016). Ruello & Associates, Clifron Beach, Queensland; Australien. Personlig kommunikation.
- Schultz, A.-C., Myrmel, M., Sørensen, A.M.H., Ottoson, J., Toljander, J., Eriksson, R. & Simonsson, M. (2013). Mussels as indicators for viral risk in raw water. Med-Vet-Net Association International Scientific Conference. DTU, Lyngby, Denmark.
- Silva, M., Azevedo, J., Rodrigues, P., Alfonso, A., Botana, L. & Vasconcelos, V. (2012). New gastropod vectors and tetrodotoxin potential expansion in temperate waters of the Atlantic Ocean. *Marine Drugs* **10**: 712-726.
- Simonsson, M. (2017). Livsmedelsverket, Uppsala. Personlig kommunikation.
- Souza, D.S.M., Miura, T., Mennec, C.I., Barardi, C.R.M. & Guyader, F.S.I. (2015). Retention of rotavirus infectivity in mussels heated by using the French recipe Moules marinières. *Journal of Food Protection* **78**(11): 2064-2069.
- Suganuma, M., Fujiki, H., Suguri, H., Yoshizawa, S., Hiroti, M., Nakayusa, M., Ijika, M., Wakamatsu, K., Yamada, K. & Sugimura, T. (1988). Okadaic acid: an additional non-phorbol-12-tetradecanoate-13-acetate-type tumor promoter. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **85**: 1768-1771.
- Suganuma, M., Tatematsu, M., Yatsunami, J., Yoshizawa, S., Okabe, S., Uemura, D. & Fujiki, H. (1992). An alternative theory of tissue specificity by tumour promotion of okadaic acid in glandular stomach of SD rats. *Carcinogenesis* **13**: 1841-1845.
- Teunis, P.F.M., Moe, C.L., Liu, P., E. Miller, S., Lindesmith, L., Baric, R.S., Le Pendu, J. & Calderon, R.L. (2008). Norwalk virus: How infectious is it? *Journal of Medical Virology* **80**(8): 1468-1476.
- Todd, E.C.D. (1993). Domoic acid and amnesic shellfish poisoning. *Journal of Food Protection* **56**(1): 69-83.
- Toffan, A., Brutti, A., Pasquale, A.d., Cappelozza, E., Pascoli, F., Cigarini, M., Rocco, M.d., Terregino, C. & Arcangeli, G. (2014). The effectiveness of domestic cook on inactivation of murine norovirus in experimentally infected Manila clams (*Ruditapes philippinarum*). *Journal of Applied Microbiology* **116**(1): 191-198.
- Tubaro, A., Dell'Ovo, V., Sosa, S. & Florio, C. (2010). Yessotoxins: A toxicological overview. *Toxicon* **56**(2): 163-172.

- Turner, A., Higgins, C., Davidson, K., Veszelszki, A., Payne, D., Hungerford, J. & Higman, W. (2015). Potential Threats Posed by New or Emerging Marine Biotoxins in UK Waters and Examination of Detection Methodology Used in Their Control: Brevetoxins. *Marine Drugs* **13**(3): 1224-1254.
- Vamis, A., Katikou, P., Rodrigues, I., Rey, V., Alfonso, A., Papazachariou, A., Zacharaki, T., Botana, A. & Botana, L. (2015). First detection of tetrodotoxin in Greek shellfish by UPLC-MS/MS potentially linked to the presence of the Dinoflagellate *Prorocentrum minimum*. *Toxins* **7**: 1779-1807.
- Watkins, S.M. (2008). Neurotoxic Shellfish Poisoning. *Marine Drugs* **6**(3): 430-455.
- WHO (2004). Report of the Joint FAO/IOC/WHO ad hoc Expert Consultation on Biotoxins in Bivalve Molluscs. Oslo, Norway, FAO/IOC/WHO.
- Visciano, P., Schirone, M., Berti, M., Milandri, A., Tofalo, R. & Suzzi, G. (2016). Marine Biotoxins: Occurrence, Toxicity, Regulatory Limits and Reference Methods. *Frontiers in Microbiology* **7**.
- Wong, C., Hung, P., Lee, K., Mok, T. & Kam, K. (2008). Effect of steam cooking on distribution of paralytic shellfish toxins in different tissue compartments of scallops *Ptinopecten yessoensis*. *Food Chemistry* **114**: 72-80.
- Yates, M.V. (2014). Hepatitis A Virus (HAV). *Microbiology of waterborne diseases*. S.L. Percival, Yates, M.V., Williams, D.W., Chalmers, R.M. and Gray, N.F. London, Academic Press: 505-514.



**Uppsala** Hamnesplanaden 5, SE-751 26

[www.livsmedelsverket.se](http://www.livsmedelsverket.se)