

Kartläggning av bakterier på lammkött från butik

Kartläggning



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

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

© Livsmedelsverket, 2019.

Författare:
Catarina Flink.

Rekommenderad citering:
Livsmedelsverket. Flink, C. 2019. L 2019 nr 04: Kartläggning av bakterier på lammkött från butik. Livsmedelsverkets rapportserie. Livsmedelsverket, Uppsala.

L 2019 nr 04
ISSN 1104-7089

Omslag: Livsmedelsverket

Förord

Matförgiftningar orsakade av bakterier fortsätter att vara ett stort problem i Sverige. Den svenska samhällskostnaden för matförgiftningar orsakade av de fem viktigaste matförgiftningsbakterierna har beräknats till en miljard kronor per år. Detta enligt en studie av Agrifood - ett samarbete mellan Sveriges lantbruksuniversitet och Lunds universitet.

Fyra av dessa fem bakterier är zoonotiska, vilket betyder att de finns naturligt hos djur och kan därifrån föras över till människor, bl.a. via kött. Förekomst av sjukdomsframkallande bakterier på kött från nöt, gris och kyckling är relativt väl känd men för lammkött är kunskapen bristfällig.

Kopplat till infektionssjukdomar finns ett stort och ökande problem med antibiotikaresistens. Sverige har en restriktiv användning av antibiotika till livsmedelsproducerande djur men globalt används det mer antibiotika till djur än till människor. De begränsade studier som hittills har gjorts tyder på att livsmedel utgör en begränsad källa till antibiotikaresistensproblematiken hos människor. Dock behövs mer data för att säkerställa detta antagande.

Framtagandet av kostnadseffektiva och verkningsfulla hanteringsåtgärder med syftet att minska antalet matförgiftningar kräver gedigna riskvärderingar. Dessa är i sin tur beroende av aktuella data på förekomst av sjukdomsframkallande mikroorganismer.

Denna rapport ger en grov översikts- och ögonblicksbild över förekomsten av de viktigaste zoonotiska bakterierna i lammkött. Dessa data förbättrar möjligheterna till värdering av lammköttets betydelse som smittkälla för de viktigaste zoonoserna i Sverige. Den gjorda undersökningen av resistens mot den viktiga antibiotikagruppen nyare cefalosporiner bidrar till minskad osäkerhet om livsmedels betydelse för antibiotikaresistensproblematik hos människor. Rapporten vänder sig också till lammköttensbranschen som genom studien får bättre underlag i arbetet med att producera säker mat.

Provtagning och mikrobiologisk analys av lammköttensproverna har gjorts av Livsmedelsverket och arbetet har letts av mikrobiolog Catarina Flink, som också har skrivit rapporten.

Livsmedelsverket

Hans Lindmark

Avdelningschef biologiavdelningen

Innehåll

Förord.....	3
Ordlista och förkortningar.....	6
Sammanfattning.....	8
Summary	9
Bacteria on lamb meat from retail stores in Sweden.....	9
Bakgrund	10
Varför en kartläggning?.....	10
Sjukdomsframkallande bakterier	10
Shigatoxinproducerande <i>E. coli</i> (STEC).....	10
Termotoleranta campylobacter	11
Salmonella	11
Antibiotikaresistenta bakterier	11
Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-bildande <i>E. coli</i>	11
Syfte.....	13
Utförande	14
Provtagning	14
Analys	14
Provberedning.....	14
STEC.....	14
Termotoleranta campylobacter	16
Salmonella	16
ESBL-bildande <i>E. coli</i>	16
<i>E. coli</i>	17
Statistik.....	17
Resultat.....	18
Provtagning	18
STEC.....	18
Kvalitetssäkring vid analys av rådata från helgenomsekvensering.....	22
Termotoleranta campylobacter	22
Salmonella	23
ESBL-bildande <i>E. coli</i>	23

<i>E. coli</i>	23
Förekomst av flera bakterier i samma prov	24
Diskussion.....	25
STEC.....	25
Termotoleranta campylobacter	26
Salmonella	27
ESBL-bildande <i>E. coli</i>	27
<i>E. coli</i>	28
Slutsats	29
Tack	30
Referenser	31
Bilaga 1	36

Ordlista och förkortningar

<i>aggR</i>	Genen <i>aggR</i> kodar för ett protein (aggregative adherence fimbria I) som gör att STEC-bakterien kan vidhäfta till tarmen.
CFU	Kolonibildande enhet (colony forming unit), ett mått på antalet levande bakterier i ett prov.
<i>eae</i>	Genen för <i>eae</i> kodar för ett protein (intimin) som gör att STEC-bakterien kan vidhäfta till tarmen.
EHEC	Enterohemorragisk <i>E. coli</i> , shigatoxinproducerande <i>E. coli</i> som har potential att orsaka blodig diarré hos människa. Enligt Socialstyrelsens falldefinition används dock begreppet EHEC vid alla fynd av shigatoxinproducerande <i>E. coli</i> hos människa, oavsett vilka symtom infektionen gav upphov till.
ESBL	”Extended spectrum beta-lactamase” är ett samlingsnamn för en grupp enzymer som inaktiverar betalaktam-antibiotika såsom penicilliner och cefalosporiner. Enzymen produceras främst av tarmbakterier som tillhör familjen <i>Enterobacteriaceae</i> .
ESBL _A	ESBL _A är den så kallade klassiska benämningen (klass A) och vars aktivitet hämmas av klavulansyra. A härrör från strukturell klassifikation enligt Ambler.
ESBL _M	ESBL _M innehåller plasmidmedierade Ampicillinase C-betalaktamaser (pAmpC) som inte hämmas av klavulansyra och Oxacillinase-type betalaktamaser (OXA) vars aktivitet svagt hämmas av klavulansyra men hämmas däremot av kloxacillin. För att särskilja pAmpC från hyperproduktion av kromosomala varianter av AmpC måste fenotypiska tester dessutom kompletteras med genetisk verifiering av pAmpC.
ESBL _{CARBA}	ESBL _{CARBA} kan bryta ner karbapenemer som ofta är den enda tillgängliga behandlingsmöjligheten vid infektioner med ESBL-producerande bakterier. Det finns många olika ESBL _{CARBA} enzymer. De flesta ESBL _{CARBA} tillhör någon av de tre huvudklasserna KPC (Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase), MBL (metallobetalactamases) eller OXA).
Helgenomsekvensering	Metod för att identifiera sekvensen för all arvs massa hos en organism.
Isolat	Enskild typ av bakterie som odlats fram och isolerats från en blandad bakteriepopulation, i detta fall lammkött.
Sekvensering	Bestämning av ordningsföljden av nukleotider (byggstenarna) i DNA (arvs massan).
Serogrupp	Bakteriens ytstrukturer i cellmembranet, så kallat O-antigen t.ex. O157

Serotyp	Bakteriens ytstrukturer i cellmembranet, så kallat O-antigen, samt flagellantigenet (H-antigen) t. ex. O157:H7
SNP-analys	Analys av enbaspolymorfi (Single Nucleotide Polymorphism) där man utifrån jämförelser av arvs massa identifierar skillnader i enskilda byggstenar (nukleotider) mellan bakterieisolat.
ST	Sekvenstyp, klassning av olika bakterier utifrån DNA-sekvens hos ett begränsat antal gener med basala funktioner i cellen. Bestämning av sekvenstyp hos <i>E. coli</i> baseras på DNA-sekvensen hos sju gener.
STEC	Shigatoxinproducerande <i>E. coli</i> , stammar av <i>E. coli</i> som producerar shigatoxin. Förkortning VTEC (verocytotoxinbildande <i>E. coli</i>) används i olika sammanhang synonymt med STEC. För att undvika missförstånd används STEC i hela det här dokumentet.
Stx	Shigatoxin, varav toxinet skrivs med stor första bokstav och generna med små bokstäver samt kursiverat (ex. Stx1, <i>stx1</i>).
Subtyp	Genetisk variant av art eller genotyp.
Typning	Metodik för noggrannare karaktärisering av isolat. I denna rapport identifiering av stam, serotyp, subtyp och vissa virulensgener.
Virulensgener	Gener som kodar för sjukdomsframkallande egenskaper hos bakterier.

Sammanfattning

Den svenska konsumtionen av lammkött har ökat under de senaste decennierna och för att tillgodose den inhemska efterfrågan behöver Sverige ta in lammkött från andra länder. För att värdera och hantera riskerna med konsumtion av lammkött behövs kunskap om förekomst av sjukdomsframkallande bakterier i lammkött, något som idag saknas. Livsmedelsverket har som ett led att få ökad kunskap därför undersökt förekomsten av shigatoxinproducerande *E. coli* (STEC), termotoleranta campylobacter, Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-bildande *E. coli*, salmonella och *E. coli* i lammkött från livsmedelsbutiker. Proverna togs under hösten 2017 och våren 2018.

I 303 analyserade prov av lammkött, med både inhemskt och utländskt ursprung, hittades STEC i en tredjedel av proven (35 procent). Av de tre vanligaste ursprungsländerna var STEC vanligast i lammkött från Irland (64 procent), följt av Sverige (43 procent) och sist Nya Zeeland (19 procent). Resultaten visade att ett STEC-isolat var den variant som associerats med allvarlig sjukdom (gener för *stx2a* + *eae*), men även andra varianter av STEC har möjlighet att orsaka allvarlig sjukdom. Enligt FAO och WHO:s riskklassningsmodell tillhörde dock alla utom tre STEC-isolat den lägsta riskklassningsnivån som associeras till mildare symptom såsom diarré och magkramp hos människa. Serotypning visade att ett isolat var O157:H7 vilket tillhörde en av de fem vanligaste serotyperna (O157:H7, O26:H11, O103:H2, O121:H19 och O145:H28) som förekom hos svenska patienter 2017. De vanligaste förekommande serotyperna i lammkött var O91:H14, O146:H21 och O128ab/ac:H2 vilka även förekom bland de sex till tio vanligaste serotyperna hos personer smittade i Sverige under 2017.

Termotoleranta campylobacter hittades i 2 procent av de analyserade proven, varav största delen av isolaten var *Campylobacter coli*. Alla fynd av termotoleranta campylobacter gjordes på lammkött som importerats från andra länder, varav huvuddelen av fynden gjordes i produkter från Irland. Det var en lägre förekomst jämfört med kartläggningar som har gjorts i andra länder. Någon salmonella hittades inte i de analyserade proven. Inga ESBL-bildande *E. coli* påvisades i svenskt lammkött och förekomsten av ESBL-bildande *E. coli* i alla analyserade prov var låg (mindre än 1 procent). Detta återspeglar möjligen den generellt lägre användningen av antibiotika hos får i förhållande till andra livsmedelsproducerande djur. Två fynd gjordes på lammkött av irländskt ursprung, varav ett av isolaten var av fenotypen ESBL_A och det andra ESBL_M. *E. coli* påvisades i 7 procent av proven och lägst andel var det i prov från Nya Zeeland (drygt 1 procent) följt av Sverige (9 procent) och Irland (20 procent). Det var generellt låga halter av *E. coli*, där den högsta halten som hittades var 500 CFU/g. Halter lika med eller över 100 CFU/g hittades i 4 av de 303 analyserade proven.

Sammanfattningsvis visar resultaten att förekomsten av salmonella, termotoleranta campylobacter och ESBL-bildande *E. coli* på lammkött från livsmedelsbutiker var låg. Förekomsten av STEC-bakterien var högre och kunde isoleras från var tredje prov av lammkött. Resultaten visade att det var få av de varianter av STEC som associerats med allvarlig sjukdom. Resultaten tyder på att lammkött inte är en betydande källa för STEC-smitta som kan ge allvarlig sjukdom, men att lammkött kan utgöra en källa för STEC som företrädesvis ger symptom som diarré och magkramp.

Summary

Bacteria on lamb meat from retail stores in Sweden

The consumption of lamb meat has increased in Sweden in recent decades, and in order to meet domestic demand Sweden is importing more products from other countries. In order to assess and manage the risks linked to lamb meat consumption, knowledge regarding the presence of pathogenic bacteria is required, something that is currently lacking. The National Food Agency has examined the occurrence of shigatoxin-producing *E. coli* (STEC), thermotolerant campylobacter, Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-producing *E. coli*, salmonella and *E. coli* in retail lamb meat sampled during autumn 2017 and spring 2018.

In 303 analyzed samples of both domestic and foreign origin, STEC was found in one third of the samples (35 percent). Of the three most common countries of origin, STEC was most common in lamb meat from Ireland (64 percent), followed by Sweden (43 percent), and lastly New Zealand (19 percent). The results showed that one positive isolate belonged to the variants associated with severe disease (genes for *stx2a* + *eae*). However, other STEC also have the potential to cause serious illness, but according to the FAO and WHO's risk classification model, all but three STEC isolates belonged to the lowest risk classification level associated with milder symptoms such as diarrhea and stomach cramps in humans. Compared with the isolates detected in Swedish patients in 2017, serotyping showed that one of the lamb meat isolates was O157:H7, which belonged to the five most common clinical serotypes (O157:H7, O26:H11, O103:H2, O121:H19, and O145:H28). The most common serotypes in lamb meat were O91:H14, O146:H21, and O128ab/ac:H2, and they were among the six to ten most common serotypes in people infected with STEC in Sweden in 2017.

Thermotolerant campylobacter was found in 2 percent of the analyzed samples, with most of the isolates identified as *Campylobacter coli*. All findings of thermotolerant campylobacter were made from imported lamb meat, with most of the positive samples found in products from Ireland. There was a lower occurrence of campylobacter from lamb meat compared to surveys that have been made in other countries. No salmonella was found in the samples that were analyzed. ESBL-producing *E. coli* were absent in Swedish lamb meat, and the overall occurrence was low (less than 1 percent), possibly reflecting the generally lower usage of antibiotics in sheep in relation to other animals raised for consumption. Two findings were made in lambs of Irish origin, one of the two ESBL isolates being of the ESBL_A phenotype and the other ESBL_M. Of the total prevalence of *E. coli* in lamb meat (7 percent), the lowest prevalence was found in samples from New Zealand (just over 1 percent), in contrast to the higher levels from Sweden (9 percent) and Ireland (20 percent). There were low levels of *E. coli*, and the highest level found was 500 CFU/g. Levels equal to or above 100 CFU/g were found in four of the 303 analyzed samples.

In summary, the results show that the occurrence of salmonella, thermotolerant campylobacter, and ESBL-forming *E. coli* in lamb meat from Swedish retailers was low. The occurrence of STEC was higher and was isolated from every third sample of lamb meat. The results showed that there were few isolates with the variants of STEC that have been associated with severe disease. This suggests that lamb meat is not a significant source of STEC infection that can cause severe disease, but lamb meat can be a source of STEC that lead to milder symptoms such as diarrhea and stomach cramps.

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

Bakgrund

Varför en kartläggning?

De senaste decennierna har den svenska konsumtionen av lammkött ökat och för att tillgodose den inhemska efterfrågan behöver Sverige ta in lammkött från andra länder. Införseln från annat land har ökat med 60 procent sedan 2008 och under 2017 ökade konsumtionen ett hektogram per person jämfört med 2016. I relation till andra köttslag äter svenskarna dock lite lammkött och 2017 var andelen bara 2,2 procent av den totala köttkonsumtionen. Under 2016 kom det utländska lammköttet framför allt ifrån Irland (38 procent), Nya Zeeland (25 procent) och Nederländerna (19 procent) (Jordbruksverket, 2018a).

Under 2014 fastställdes ett myndighetsgemensamt strategidokument om shigatoxinproducerande *E. coli* (STEC), där åtgärder som är särskilt angelägna för att minska antalet sjuka människor med infektion med STEC pekades ut. En av de utpekade åtgärderna är att öka kunskapen om förekomst och halter av STEC i olika livsmedel som finns på den svenska marknaden (både inhemskt producerade och införda/importerade livsmedel). Det är väl känt att STEC inte bara förekommer hos nötkreatur utan även hos får och getter (Söderlund et al. 2012). Data om förekomst av STEC i både inhemskt och infört/importerat lammkött på den svenska marknaden saknas i dagsläget och antalet kartläggningar av lammkött som gjorts i andra länder är också begränsat och oftast enbart inriktade på förekomst av serogruppen O157 (EFSA, 2017, EFSA, 2016, Jaros et al. 2018, Lenahan et al. 2007).

Data om förekomst av andra sjukdomsframkallande bakterier såsom salmonella och campylobacter i lammkött på den svenska marknaden är också bristfälliga. Kunskapen om förekomsten av antibiotikaresistenta bakterier såsom ESBL-bildande *Escherichia coli* i livsmedel är ojämn. Idag finns relativt god kunskap om hur stor andel av köttet från nöt, gris och kyckling som är förorenat med resistent bakterier, men motsvarande data om lammkött saknas (Egervärn och Ottosson, 2016). Sådana förekomstdata behövs som underlag för riskvärdering och riskhantering.

Sjukdomsframkallande bakterier

Shigatoxinproducerande *E. coli* (STEC)

Infektion med shigatoxinproducerande *Escherichia coli* (STEC) kan orsaka allvarlig sjukdom hos människa med stort lidande för individen och även höga kostnader för samhället. Infektionen kan ha dödlig utgång (Socialstyrelsen, 2014). Bakterien producerar toxinerna shigatoxin 1 (Stx1) och shigatoxin 2 (Stx2) och motsvarande gener benämns *stx1* respektive *stx2*. STEC binder till tarmväggens celler, varifrån den förökar sig. Bakterien kan orsaka blodiga diarréer och i vissa fall kan det leda till organskador, oftast njurarna. Små barn och äldre personer drabbas förhållandevis oftare av komplikationer. Alla STEC orsakar inte allvarlig sjukdom hos människa. De två huvudgrupper av toxin (Stx1 och Stx2) delas in i undergrupperna Stx1a, c och d, samt Stx2a, b, c, d, e, f och g. Vissa undergrupper, särskilt Stx2a tillsammans med ett protein (intimin) som gör att bakterien kan fästa till tarmväggen har visat sig förekomma oftare vid allvarligare sjukdom, såsom blodig diarré och komplikationer. Andra undergrupper ger oftare mildare symtom, där exempelvis Stx2e klassas som mindre allvarlig för människa (FAO and WHO, 2018).

Vissa idisslare kan vara bärare av STEC, men de visar inga symtom på sjukdom. I Sverige har bakterien hittats framför allt hos nötkreatur men även får och getter kan fungera som reservoarer av bakterien (Socialstyrelsen, 2014). Smittan finns över hela världen och kan spridas via kontakt med smittade djur och deras avföring eller via förorenade livsmedel och förorenat vatten.

Termotoleranta campylobacter

Campylobacter är den vanligast inrapporterade bakteriella orsaken till magsjuka i Sverige och kyckling, i synnerhet färskt kycklingkött, är en viktig smittkälla. Smittan är zoonotisk och sprids främst via kontaminerade livsmedel, men det förekommer även person-till-personsmitta, smitta via kontakt med djur och smitta från miljön och dricksvatten (Dryselius och Jernberg, 2018).

Campylobacter kan finnas i tarmen hos livsmedelsproducerande djur, till exempel fågel, gris, nöt och får och kan därför finnas på kött av olika slag men är vanligast förekommande på fågelkött.

Campylobacter kan också finnas i opastöriserad mjölk (Socialstyrelsen, 2013). De arter av campylobacter som orsakar sjukdom hos människa kan alla tillväxa vid 42 °C och kallas därför termotoleranta campylobacter. Både *Campylobacter jejuni* och *Campylobacter coli* har hittats hos får men inte i den omfattning som för till exempel nötkreatur och kyckling (Hansson, 2007).

Salmonella

Salmonella kan finnas i tarmen hos djur och råvaror av animaliskt ursprung kan förorenas med salmonella från infekterade djur. Salmonella sprids främst via livsmedel som äts utan att ha hettats upp ordentligt. Det svenska kontrollprogrammet för salmonella visar att det är mycket ovanligt med salmonella i svenska ägg och i svenskt kött från nöt, gris och kyckling. Kontrollprogrammet omfattar dock inte får. Slaktkroppar av får provtas i enlighet med EU:s förordning om mikrobiologiska kriterier (EG) nr 2073/2005, men det finns ingen aktiv övervakning avseende salmonella hos får och lammkött och inga införselgarantier (Jordbruksverket, 2018b; (EG) nr 2073/2005). Svenska får har en mycket låg förekomst av allvarlig salmonella men däremot förekommer en särskild typ av salmonella, *Salmonella enterica* subsp *Diarizonae* 61:(k):1,5, (7) (SVA, 2012). Denna salmonellatyp finns nästan enbart på får. Trots att typen är relativt vanlig hos får är det mycket ovanligt att den gör människor sjuka. I Sverige finns endast ett sjukdomsfall för människa rapporterat under de senaste 25 åren, och då rörde det sig om en person som uppgavs ha blivit smittad utomlands (SVA, 2012). Jordbruksverket har därför beslutat att göra ett undantag och bekämpar inte rutinmässigt *S. Diarizonae* serotyp 61:(k):1,5(7) hos får (SVA, 2012). Även Livsmedelsverket har gjort undantag för påvisad förekomst av *S. Diarizonae* serotyp 61:(k):1,5(7) på slaktkroppar av lamm i den nationella lagstiftningen för livsmedelshygien (LIVSFS 2005:20). Detta innebär att det inte finns krav på att kött från slaktkroppar med påvisad förekomst av *S. Diarizonae* serotyp 61:(k):1,5(7) enbart får släppas ut på marknaden till en köttproduktanläggning som är fallet vid påvisad förekomst av andra typer av salmonella.

Antibiotikaresistenta bakterier

Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-bildande *E. coli*

Antibiotikaresistenta bakterier kan finnas i mag-tarmkanalen hos livsmedelsproducerande djur och vid slakt kan bakterierna föras över till köttet. Vid vidare hantering av köttet kan sedan bakterierna spridas till människor. Kunskapen är idag ofullständig om hur mycket av resistensproblematiken inom sjukvården och i samhället i Sverige som beror på spridning av antibiotikaresistens via livsmedel. Med

nuvarande data så bedömer Livsmedelsverket att spridning via livsmedel till människor inte är omfattande (Egervärn och Ottosson, 2016).

ESBL-bildande *E. coli* kan orsaka svårbehandlade infektioner och problemet ökar snabbt i både Sverige och i andra länder. Bakterierna är resistenta mot tredje/fjärde generationens cefalosporiner och förekommer på nötkött och griskött, och är vanligt förekommande på kycklingkött av både svenskt och utländskt ursprung. Det gör att vi sannolikt exponeras för *E. coli* och andra tarmbakterier med ESBL via animaliska livsmedel, men att vi sällan blir sjuka av dessa. De bakterier som hittats på kött har dock oftast inte varit av samma typ som de som hittats hos människa (Egervärn och Ottosson, 2016). Förekomsten av ESBL-bildande *E. coli* hos svenska livsmedelsproducerande djur är mycket låg, med undantag för slaktkycklingar (SWEDRES/SVARM, 2017). Ett särskilt allvarligt hot är utvecklingen av en variant av ESBL som kallas ESBL_{CARBA} som förutom penicilliner och cefalosporiner också bryter ner karbapenemer, som är ett av de sista behandlingsalternativen. Tarmbakterier med ESBL_{CARBA} har isolerats från djur och i livsmedel inom och utanför EU, men dessa har inte påvisats i livsmedel på den svenska marknaden eller hos livsmedelsproducerande djur i Sverige. Det finns i dagsläget inga direkta bevis för att ESBL_{CARBA}-bildande bakterier sprids till människor via förtäring av förorenade livsmedel, men det är en potentiell risk. (Egervärn och Ottosson, 2016, SWEDRES/SVARM, 2017).

Syfte

Syftet med kartläggningen är att ge ökad kunskap om förekomst av STEC, termotoleranta campylobacter, salmonella, ESBL-bildande *E. coli* samt haltdata för *E. coli* på lammkött från livsmedelsbutiker i Sverige.

Resultaten bidrar till att Livsmedelsverket kan göra riskvärderingar och vidta relevanta hanteringsåtgärder för att förhindra att svenska konsumenter blir sjuka av att äta lammkött.

Utförande

Provtagning

Provtagningen utfördes mellan slutet på september 2017 och till slutet på maj 2018. Målet var att samla in 300 prov, varav 100 prov av kött från Sverige och de resterande av infört och importerat kött. Prov av kött från andra länder skulle om möjligt fördelas i förhållande till respektive andel av det införda/importerade köttet; 38 procent från Irland, 25 procent från Nya Zeeland och 19 procent från Nederländerna (Jordbruksverket, 2018a). Lammkött som förts in från Nederländerna exkluderades, då detta kött företrädesvis levereras till storkök och restauranger.

Provtagningen utfördes i butiker från de större livsmedelskedjorna Axfood (Willys och Hemköp), Bergendahls (City Gross), Coop och ICA. Dessa livsmedelskedjor har tillsammans 94 procent av marknadsandelen i Sverige (Dagligvarukartan™, 2017). Provtagningen utfördes enbart inom Uppsala området. Både fryst och färskt kött samt både helt och malet kött ingick i provtagningen. Provtagningen utfördes så att ungefär 10-15 prov togs och analyserades per vecka.

Vid provtagningen mättes temperaturen på köttet och transporten till laboratoriet skedde under kylförvaring. Vid ankomst till Livsmedelsverkets mikrobiologiska laboratorium registrerades ankomsttemperaturen. Proven förvarades i kyl (3 ± 2 °C) respektive frys (-20 °C) i väntan på analys som utfördes senast sista förbrukningsdag eller senast en dag före bäst-före-dag. Frysta prov tinades i kyl (3 ± 2 °C) i ett dygn innan analysstart.

Analys

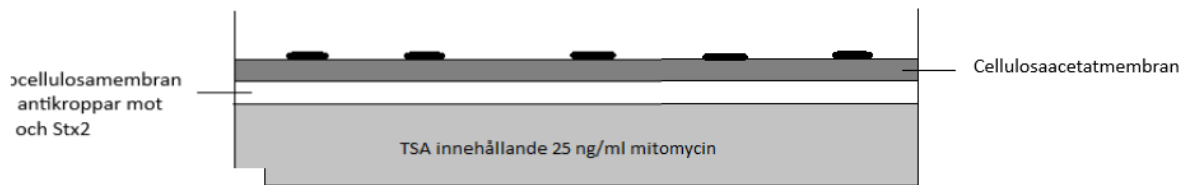
Provberedning

Det provtagna köttet vägdes upp i portioner om 25 g för alla analyser utom för *E. coli* där 50 g analyserades. För hela köttbitar analyserades ytan av köttet genom att tunna bitar av yta från olika ställen på köttbiten skars loss med skalpell. Köttfärs bedömdes homogent och 25 g togs ut direkt. I övrigt hanterades proven enligt Livsmedelsverkets instruktion för provhantering av mikrobiologiska prov, SLV-i144.2.

STEC

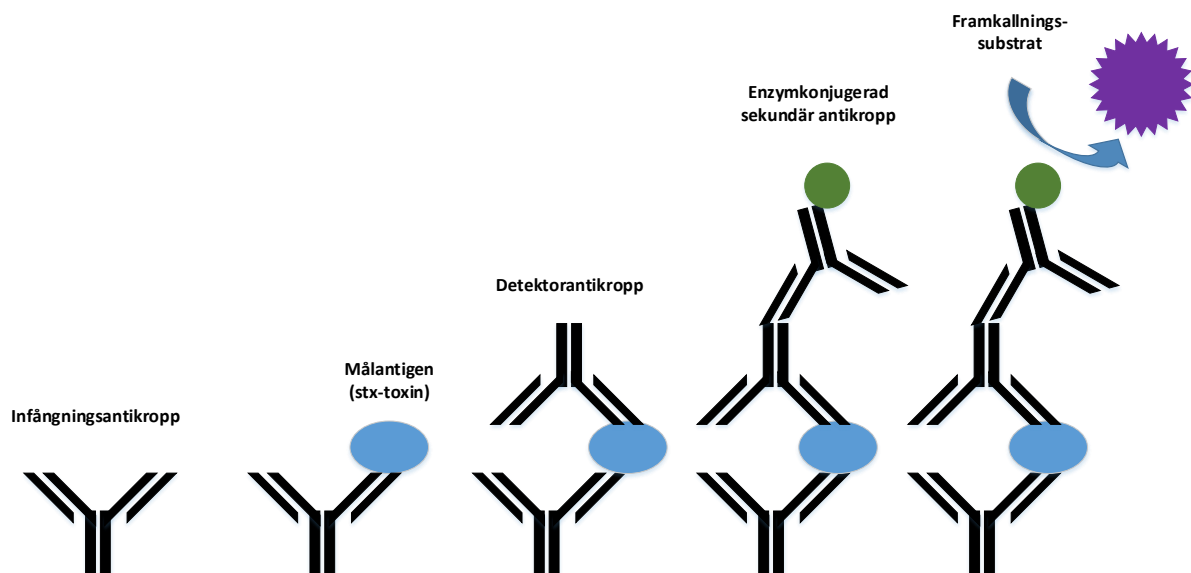
Detektion av STEC utfördes enligt Livsmedelsverkets metod, SLV-m243.5, som baseras på en teknisk specifikation från ISO, ISO/TS 13136:2012. Prov om 25 g homogeniserades med 225 ml buffrat peptonvatten (BPV) och inkuberades vid 37 °C i 18-24 timmar. Extraktion av genomiskt DNA utfördes genom att 200 µl från anrikningsbuljong extraherades med BioRobot EZ1. Detektion av generna för shigatoxinerna, *stx1* och *stx2*, utfördes med Realtids-PCR (ISO/TS, 13136:2012). Vid detektion av en eller båda *stx*-gener gjordes försök till isolering med en immunoblotbaserad metod (Atalla and Johnson, 2000). Isolering av STEC med immunoblot innebär att bakterier som producerar Stx-toxiner fångas upp och detekteras med antikroppar. Analys med immunoblot utfördes på infrysad anrikningsbuljong som tinades genom att snabbt värma upp buljongen vid 50 °C och sedan låta den stå cirka en timme i rumstemperatur. Ett nitrocellulosamembran (82 mm; 0,2 µm), som behandlats med antikroppar riktade mot Stx1 och Stx2 (infångningsantikropp), placerades på Trypton Soja Agar

(TSA)-plattor innehållande 25 ng/ml mitomycin. Över nitrocellulosamembranet placerades ett cellulosaacetatmembran (82 mm; 0,45 µm). Anrikningsbuljongen späddes till lämplig spädning och spreds på cellulosaacetatmembranet (Figur 1). Plattorna inkuberades vid 37 °C i 18-24 timmar.



Figur 1. Schematisk bild på hur de olika membranerna placerades på odlingsplattan.

Efter inkubering avlägsnades nitrocellulosamembranet och behandlades först med en blandning av monoklonala antikroppar mot Stx1, Stx2a/c, Stx2e och Stx2d-varianter (detektorantikropp). Efter tvättning lades nitrocellulosamembranet i en lösning innehållande en enzymkonjugerad sekundär antikropp (enzymkonjugat Alkaline Phosphatas-konjugerad Affinipure kanin-antimus-IgG). Därefter användes framkallningssubstratet BCIP/NBT (5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate/nitro blue tetrazolium) för att få färgomslag på membranet där shigatoxin diffunderat från kolonier på cellulosaacetatmembranet i form av lila prickar. Se en förenklad figur på hur antikroppar, toxinet, enzymkonjugerad antikropp och framkallningssubstrat kopplas samman (figur 2). De lila prickarna indikerar att shigatoxinproducerande bakterier finns på motsvarande plats på cellulosaacetatmembranet. Med hjälp av strategiskt placerade jack i båda membranerna kunde de lila prickarna på nitrocellulosamembranet kopplas till rätt bakteriekoloni på cellulosaacetatmembranet. Misstänkt positiva kolonier från cellulosaacetatmembranet renströks och verifierades som STEC genom påvisning av *stx*-gener med realtids-PCR såsom beskrivits ovan.



Figur 2. Schematisk bild på hur antikropparna, toxinet (antigen), enzymkonjugerad sekundär antikropp och framkallningssubstratet kopplas samman.

Isolat av STEC skickades till SciLifeLab för helgenomsekvensering. Helgenomsekvenseringen utfördes med en plattform från Illumina (HiSeq). Den bioinformatiska analysen av sekvensrådata från STEC isolaten utfördes av Livsmedelsverket genom att använda ARIES, (publik Galaxy server som bistås av det Europeiska referens laboratoriet för *E. coli*). För verifiering av Livsmedelsverkets bioinformatiska analys genomförde Folkhälsomyndigheten en bioinformatisk analys av sekvensrådata från tio STEC isolat. Folkhälsomyndigheten utförde den bioinformatiska analysen med ett egenutveckalt system. Sekvenseringsinformationen användes för artkonfirmering, serotypning, subtypning, karaktärisering av virulensgener och sekvenstyp (ST).

Termotoleranta campylobacter

Proven analyserades enligt NMKL-metod nr. 119, 3:e utg., 2007. Kortfattat innebar detta att 25 g prov blandades med 225 ml Bolton buljong, homogeniserades med stomacher och inkuberades vid 41,5 °C i 44-52 timmar vid modifierad atmosfär (cirka 5 procent syre, 10 procent koldioxid och 85 procent kväve). Efter inkubering spreds 10 µl av anrikningsbuljongen på modified Charcoal cephoperazone desoxycolate agar (mCCDA) och agarplattorna inkuberades vid 41,5 °C i 44-52 timmar vid modifierad atmosfär. Misstänkta termotoleranta campylobacter konfirmerades enligt NMKL-metod nr. 119.

Isolat av termotoleranta campylobacter skickades till SciLifeLab för helgenomsekvensering. Helgenomsekvenseringen utfördes med en plattform från Illumina (HiSeq). Den bioinformatiska analysen av sekvensrådata från termotoleranta campylobacter utfördes av Folkhälsomyndigheten. Sekvensinformationen användes för artkonfirmering och karaktärisering av sekvenstyp.

Salmonella

25 g prov blandades med 225 ml BPV och homogeniserades med stomacher. Efter anrikning vid 37 °C i 16-20 timmar utfördes en extraktion av genomiskt DNA följt av detektion med realtids-PCR för *Salmonella* spp. med hjälp av IQ-check Salmonella II kit enligt tillverkarens instruktion av standard protokoll I. Vid positiv PCR-detektion för *Salmonella* spp. utfördes försök med isolering enligt NMKL-metod nr. 71, 5:e utg. 1999. Kortfattat innebar det att anrikningsbuljongen ympades till Rappaport-Vassiliadis Salmonella (RVS) buljong som inkuberades vid 42±0,2 °C vid 21-27 timmar. Efter inkubering i RVS ströks den sekundära anrikningsbuljongen ut på Brilliance salmonella (Bris) agar och Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agar och inkuberades vid 37 °C i 21-27 timmar.

ESBL-bildande *E. coli*

Analysen utfördes genom att 25 g prov homogeniserades tillsammans med 225 ml BPV och inkuberades vid 37 °C i 18-22 timmar. Anrikningsbuljongen ströks sedan på tre olika odlingsplattor; MacConkey (MAC) agar innehållande 1 mg/L cefotaxim, ChromID Carba och ChromID OXA-48. Plattorna inkuberades vid 44 °C (MAC) respektive 37 °C i 18-24 timmar (ChromID Carba och ChromID OXA-48) (EURL-AR, 2017). Misstänkta *E. coli* konfirmerades genom att undersöka bakteriens indolproduktion. *E. coli* med ESBL_A-produktion verifierades fenotypiskt med Etest®ESBL (CT/CTL) och Etest®ESBL (TZ/TZL) och *E. coli* med ESBL_M-produktion verifierades med Etest®AmpC (CN/CNI). För att undersöka om *E. coli* producerar karbapenemas utfördes Etest®ESBL (MP/MPI) och Etest®meropenem. Alla Etest utfördes enligt tillverkarens instruktioner. Isolat av ESBL-bildande *E. coli* verifierades vidare fenotypisk och helgenomsekvenserades av Statens veterinärmedicinska anstalt (SVA). Den fenotypiska verifieringen utfördes med och utan klavulansyra

i mikrodilutionspaneler (EUVSEC2) och tolkades enligt EUCAST riktlinjer (SWEDRES/SVARM, 2017). Sekvenseringen utfördes med plattform från Illumina.

E. coli

För att analysera *E. coli* användes Chromocult® Coliform Agar ES (Enhanced Selectivity) med kvantifieringsnivån 10 CFU/g. Kortfattat innebar det att 50 g prov homogeniserades i 450 ml peptonvatten (PV). Från lämpliga spädningar tillsattes 1 ml homogenat till en tom petriskål och därefter tillsattes ca 15 ml tempererad agar (45-50 °C). Plattorna inkuberades vid 35-37 °C i 23-25 timmar. De flesta *E. coli* producerar både β -D-galaktosidas och β -D-glukoronidas och de avlästes som mörkblå till mörkt lila kolonier. Det finns undantag, då 3-4 procent av *E. coli* (t.ex. *E. coli* O157) är β -D-glukuronidas negativa och växer som lax-färgade till röda kolonier på Chromocult, dessa exkluderades vid analysen.

Statistik

Chi2-test utfördes för att undersöka förekomst av signifikanta skillnader i fynd med avseende på färskt och fryst lammkött, mellan färs och helt kött samt mellan olika länder. För korrelation mellan förekomst av *E. coli* och förekomst av STEC användes Fisher's exact test.

Resultat

Provtagning

Sammanlagt samlades 303 prov av lammkött in, varav 64 prov var färs och resterande 239 prov var hela köttbitar. De flesta prov var färskt kött och de vanligaste ursprungsländerna var Nya Zeeland, Sverige och Irland (tabell 1).

Tabell 1. Fördelning av antalet prov av lammkött i kartläggningen.

Ursprung	Antal prov (procent)	Färsk färs	Fryst färs	Färskt helt kött	Fryst helt kött
Sverige	95 (31)	45	2	47	1
Nya Zeeland	144 (48)	0	5	102	37
Irland	50 (17)	3	4	43	0
Övriga länder ¹	14 (5)	4	1	0	9
Totalt	303	52	12	192	47

¹ Övriga länder består av Island, Spanien och Chile.

STEC

I 144 (48 procent) av 303 analyserade prov kunde STEC detekteras med hjälp av PCR-analys för generna *stx1* och/eller *stx2*. Totalt isolerades STEC från 107 (35 procent) av 303 analyserade prov (tabell 2). Eftersom STEC isolerades från totalt 107 av de 144 prov som var positiva i PCR-analysen genererar det en isoleringsfrekvens på 74 procent. Som STEC-positivt prov räknas prov varifrån STEC isolerats. Sammanlagt hittades 123 isolat av STEC vilket betyder att i 16 prov gjordes fynd av två olika STEC isolat.

Tabell 2. Fynd av termotoleranta campylobacter, Salmonella, STEC, *E. coli* och ESBL-bildande *E. coli* i de 303 analyserade proven av lammkött.

	Antal fynd/antal prov (procent)				
	Totalt	Sverige	Nya Zeeland	Irland	Övriga länder ¹
Termotoleranta campylobacter	6/303 (2)	0/95 (-)	1/144 (0,1)	5/50 (10)	0/14 (-)
Salmonella	0/303 (-)	0/95 (-)	0/144 (-)	0/50 (-)	0/14 (-)
STEC	107/303 (35)	41/95 (43)	27/144 (19)	32/50 (64)	7/14 (50)
<i>E. coli</i>	20/303 (7)	8/95 (8)	2/144 (1)	10/50 (20)	0/14 (-)
ESBL-bildande <i>E. coli</i>	2/303 (<1)	0/95 (-)	0/144 (-)	2/50 (4)	0/14 (-)

¹ Övriga länder utgörs av Spanien, Island och Chile.

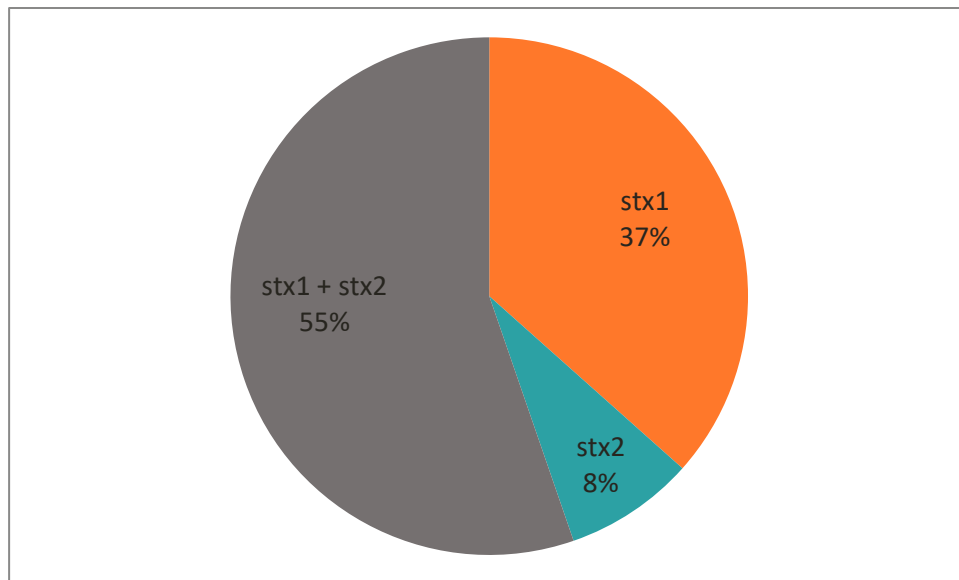
I mer än 60 procent av prov från Irland kunde STEC påvisas vilket var en signifikant högre andel jämfört med prov från Sverige och Nya Zeeland (Chi2-test, P-värde 0,017 och <0,001) (tabell 2). Förekomst av STEC i prov från Sverige var signifikant högre jämfört med prov från Nya Zeeland (Chi2-test, P-värde <0,001). Ingen signifikant skillnad för förekomst av STEC fanns mellan färskt och fryst kött (Chi2-test, P-värde 0,207) eller mellan färs och helt lammkött (Chi2-test, P-värde 0,204) (tabell 3). Tabeller med förekomst av STEC uppdelat per anläggning och land finns i bilaga 1.

Tabell 3. Antal positiva prov för STEC uppdelat på olika länder, färskt, fryst, färs och helt lammkött.

	Antal positiva prov/totalt antal prov (procent)				
	Totalt	Färskt kött	Fryst kött	Färs	Helt kött
Sverige	41/95 (43)	39/92 (42)	2/3 (67)	24/47 (51)	17/48 (35)
Irland	32/50 (64)	30/46 (65)	2/4 (50)	3/7 (43)	29/43 (67)
Nya Zeeland	27/144 (19)	22/102 (22)	5/42 (12)	0/5 (-)	27/139 (19)
Övriga länder	7/14 (50)	1/4 (25)	6/10 (60)	2/5 (40)	5/9 (33)
Totalt	107/303 (35)	92/244 (38)	15/59 (25)	29/64 (45)	78/239 (33)

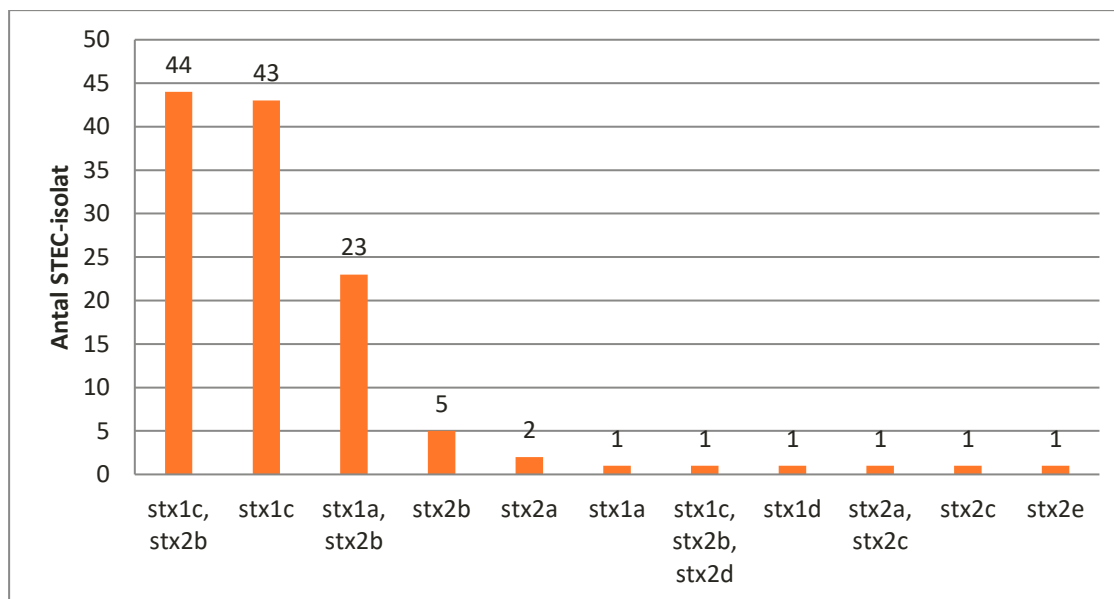
¹ Övriga länder utgörs av Spanien, Island och Chile.

Helgenomsekvensering av de 123 isolaten visade att 45 stycken innehöll *stx1*-genen, 10 stycken *stx2*-genen och 68 både *stx1*- och *stx2*-generna (figur 3). Genen *eae* påvisades i 3 av de 123 isolaten och i ett fall var det i kombination med *stx2*.



Figur 3. Förekomst av *stx*-gener hos de 123 STEC-isolaten.

Den vanligaste kombination *stx*-subtyp var *stx1c* + *stx2b*, men även *stx1c* respektive *stx1a* tillsammans med *stx2b* var vanligt förekommande. Genen för *stx2a* detekterades enbart i tre isolat varav ett också innehöll *stx2c* (figur 4). Genkombinationen *stx2a* och *eae* hittades i enbart ett isolat.

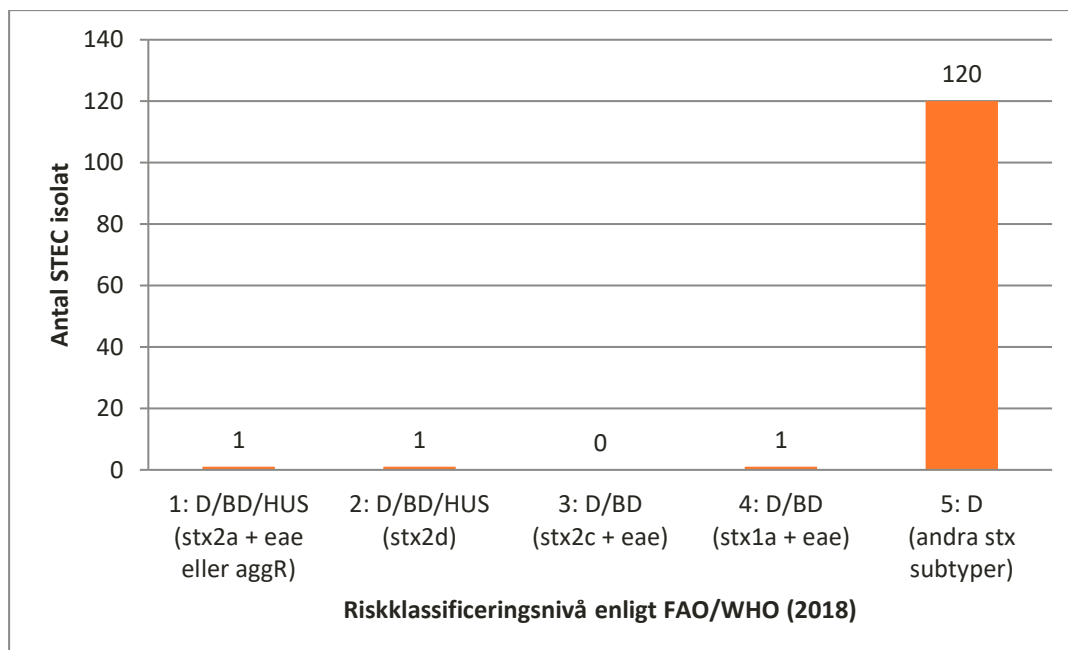


Figur 4. Förekomst av stx-subtyper i de 123 insamlade STEC-isolaten.

STEC-isolaten tillhörde 28 olika serotyper och den vanligaste serotypen var O91:H14 (tabell 4). Ett isolat klassades som STEC O157:H7, korresponderande prov kom från Irland. STEC O157-isolatet hade generna *stx2a*, *stx2c*, *eae* och *ehxA*, men var ej av undertypen klad 8 (som har en stark koppling till allvarlig sjukdom hos människa). Majoriteten av STEC-isolaten tillhörde den lägsta riskklassificeringsnivå (nivå 5) som enligt FAO/WHO (2018) är minst associerad till allvarlig sjukdom (figur 5).

Tabell 4. Serotyperna av STEC som hittades i kartläggningen samt information om sekvenstyp, toxinprofil och ursprung.

Serotyp	Antal	Sekvenstyp (Antal)	Toxinprofil (Antal)	Ursprung
O91:H14	23	33 (23)	<i>stx1a</i> + <i>stx2b</i> (23)	IE, NZ, SE
O174:H8	13	13 (12); okänd (1)	<i>stx1c</i> (4); <i>stx1c</i> + <i>stx2b</i> (9)	IE, NZ, SE
O128ab/ac:H2	13	25 (7); 811 (2); 4748 (1); 8381 (1); okänd (2)	<i>stx1</i> (1); <i>stx1c</i> + <i>stx2b</i> (12)	CL, IE, NZ, SE
O146:H21	10	442 (10)	<i>stx1c</i> (4); <i>stx1c</i> + <i>stx2b</i> (6)	CL IE, NZ, SE
O76:H19	9	675 (9)	<i>stx1c</i> (8); <i>stx1c</i> + <i>stx2b</i> (1)	IE, NZ, SE
O123/O186:H10	5	3695 (5)	<i>stx1c</i> + <i>stx2b</i> (5)	IE, NZ, SE
O15:H27	5	2388 (5)	<i>stx1c</i> (1); <i>stx1c</i> + <i>stx2b</i> (4)	IE, SE
O6:H10	5	43 (5)	<i>stx1c</i> (5)	SE
O153/O178:H7	5	278 (5)	<i>stx1c</i> (5)	IE
O104:H7	4	1817 (4)	<i>stx1c</i> (4)	NZ, SE
O166:H28	4	1819 (3); 6251 (1)	<i>stx1c</i> (3); <i>stx1c</i> + <i>stx2b</i> (1)	IS, ES, SE
O38:H26	4	10 (4)	<i>stx1c</i> (2); <i>stx1c</i> + <i>stx2b</i> (2)	IE, NZ, SE
O87:H16	3	2101(3)	<i>stx2b</i> (3)	IE, NZ, SE
O136:H20	2	398 (2)	<i>stx1c</i> (2)	SE
O145:H28	2	137 (2)	<i>stx1a</i> (1); <i>stx1c</i> (1)	NZ, SE
O5:H19	2	447 (2)	<i>stx1c</i> + <i>stx2b</i> (2)	IR, NZ
ONT:H14	2	7010 (2)	<i>stx2b</i> (2)	IR, NZ
ONT:H16	2	336 (2)	<i>stx1c</i> (2)	NZ
O113:H21	1	223 (1)	<i>stx2a</i> (1)	IE
O113:H4	1	10 (1)	<i>sStx1c</i> + <i>stx2b</i> (1)	IE
O130:H11	1	297 (1)	<i>sStx2a</i> (1)	IE
O157:H7	1	11 (1)	<i>sStx2c</i> + <i>stx2a</i> (1)	IE
O174:H21	1	677 (1)	<i>sStx2c</i> (1)	SE
O176:H4	1	57 (1)	<i>sStx1c</i> + <i>stx2b</i> + <i>stx2d</i> (1)	NZ
O75:H8	1	okänd (1)	<i>stx1c</i> + <i>stx2b</i> (1)	CL
O78:H4	1	3101 (1)	<i>stx1c</i> (1)	IE
O8:H19	1	201 (1)	<i>stx2e</i> (1)	SE
O149:H1	1	132 (1)	<i>stx1d</i> (1)	IE



Figur 5. STEC isolaten från lammkött graderade av förmåga att orsaka sjukdom efter kombinationer av STEC virulensgener enligt FAO/WHO (2018). Graderingen består av fem nivåer varav nivå 1 klassas till störst risk att orsaka allvarlig sjukdom (diarré (D), blodiga diarré (BD) och hemolytiskt uremiskt syndrom (HUS)).

Kvalitetssäkring vid analys av rådata från helgenomsekvensering

Livsmedelsverkets och Folkhälsomyndighetens separata analyser av rådata från helgenomsekvensering av STEC-isolat genererade samma resultat hos alla de tio analyserade STEC-isolaten för bestämning av art, serotypning, subtypning, karakterisering av virulensgener och sekvenstyp (ST).

Termotoleranta campylobacter

Termotoleranta campylobacter hittades i sex (2 procent) av 303 prov varav fem prov härstammade från Irland och ett från Nya Zeeland (tabell 2). De sex positiva proven var färskt helt kött (tabell 5).

Av de sex isolaten av termotoleranta campylobacter, var fem *Campylobacter coli* och ett *C. jejuni*. Alla prov med fynd av *C. coli* var från Irland och provet med fynd av *C. jejuni* härstammade från Nya Zeeland (tabell 5). Tre av de fem prov med fynd av *C. coli* var från samma anläggning både i Irland (slakterianläggning) och i Sverige (förpackningsanläggning). Två av de tre *C. coli* isolat som kommer från samma anläggning (IR364/SE507) har samma ST (ST827) samt är ganska lika varandra (64 SNPs + 22 rekombinationsevent).

Tabell 5. Resultat för de termotoleranta campylobacter som hittades i kartläggningen.

Isolat	Provtyp	Färskt/fryst	Ursprung	ST	Anläggning
<i>C. jejuni</i>	stek	Färskt	Nya Zeeland	61	ME77/BE KF 226 EG
<i>C. coli</i>	racks	Färskt	Irland	1773	IR313
<i>C. coli</i>	entrecote	Färskt	Irland	827	IR364/SE507
<i>C. coli</i>	hjärta	Färskt	Irland	1681	Styckad i livsmedelsbutik
<i>C. coli</i>	entrecote	Färskt	Irland	827	IR364/SE507
<i>C. coli</i>	ytterfilé	Färskt	Irland	685	IR364/SE507

Salmonella

Ett av de 303 prov var positiva vid PCR-analys av *Salmonella* spp. Ingen salmonella kunde dock isoleras från den PCR-positiva anrikningsbuljongen.

ESBL-bildande *E. coli*

I två av 303 analyserade prov påvisades ESBL-bildande *E. coli* (tabell 2). Båda proven var ursprungligen från Irland och var av typen färsk ytterfilé. Fenotypen var ESBL_M (*bla*_{CMY-2}) respektive ESBL_A (*bla*_{CTX-M-1}) (tabell 6). De tillhörde två olika sekvenstyper, ST1485 och ST58. Båda *E. coli*-isolaten var känsliga mot karbapenemen meropenem, men bar på en mängd olika antibiotikaresistensgener (tabell 6).

Tabell 6. Karakterisering av ESBL-bildande *E. coli* påvisade i lammkött: provtyp, ursprung, fenotyp, sekvenstyp, ESBL-gener, plasmidreplikontyp och resistensgener.

Provtyp	Ursprung	Fenotyp	ST	ESBL-gen	Plasmidreplikontyp	Resistensgener
Ytterfilé	Irland	ESBL _M	1485	<i>bla</i> _{CMY-2}	incQ1	ant(3'')-Ia, aph(3'')-Ib, aph(6)-Id, dfrA,mdt, sul1, sul2, tetA
Ytterfilé	Irland	ESBL _A	58	<i>bla</i> _{CTX-M-1}	incQ1, incFIB, incFII, incI1	aac(3'')-IV,aadA1, aph(3'')-Ib, aph(6)-Id, dfrA, mdFA, sul1, sul2, tetA

E. coli

Totalt påvisades *E. coli* med kvantifieringsnivå över 10 CFU/g i 20 (6,6 procent) av 303 analyserade prov (tabell 7). Var femte prov från Irland innehöll *E. coli* vilket var en signifikant högre andel jämfört med prover från Sverige och Nya Zeeland (Chi2-test, P-värde <0,001 och 0,044) (tabell 7). Det var även en signifikant högre förekomst av *E. coli* i prov från Sverige jämfört med prov från Nya Zeeland (Chi2-test, P-värde 0,008). Det största antalet *E. coli* som påvisades var 500 CFU/g i en färsk filé från Irland. Fyra prov hade antal lika med eller över 100 CFU/g och de kom från Irland (n=3) och Nya Zeeland (n=1). Det var ingen signifikant skillnad mellan färskt eller fryst lammkött (Chi2-test, P-värde 0,623) och inte heller mellan färs eller helt lammkött (Chi2-test, P-värde 0,147) (tabell 7).

Tabell 7. Förekomst av *E. coli* i det analyserade lammköttet. ¹ Övriga länder består av Spanien, Island och Chile.

	Antal positiva prov/totalt antal prov (procent)				
	Totalt	Färskt	Fryst	Färs	Helt kött
Sverige	8/95 (8,4)	7/92 (7,6)	1/3 (33)	5/47 (11)	3/48 (6,3)
Irland	10/50 (20)	9/46 (20)	1/4 (25)	1/7 (14)	9/43 (21)
Nya Zeeland	2/144 (1,4)	1/102 (1)	1/42 (2,4)	1/5 (20)	1/139 (0,7)
Övriga	0/14 (-)	0/4 (-)	0/10 (-)	0/5 (-)	0/9 (-)
Totalt	20/303 (6,6)	17/244 (7)	3/59 (5,1)	7/64 (11)	13/239 (5,4)

¹ Övriga länder utgör av Spanien, Island och Chile.

Förekomst av flera bakterier i samma prov

I fyra prov gjordes fynd av både termotoleranta campylobacter och STEC. I 11 av de 20 prov som innehöll *E. coli* påvisades även STEC, vilket är en signifikant korrelation mellan förekomst av *E. coli* och förekomst av STEC ($p < 0,041$, Fisher's exact test). I ett av proven med fynd av ESBL-bildande *E. coli* kunde även termotoleranta campylobacter påvisas och i det andra provet med fynd av ESBL-bildande *E. coli* kunde även STEC påvisas.

Diskussion

STEC

Förekomsten av STEC i lammkött var sju gånger högre än vad som redovisades för 2017 inom EU, 35 mot 5,3 procent (EFSA, 2018a). Totalt rapporterade fem medlemsländer in 513 prov. Resultaten är dock inte direkt jämförbara eftersom olika analysmetodik troligtvis har använts samt att förekomsten inkluderar både får- och getkött i EFSA:s zoonosrapportering. I föreliggande kartläggning isolerades STEC med immunoblot (isolering av STEC som uttrycker toxinet/toxiner) och det är en bidragande orsak till den höga isoleringsfrekvensen (74 procent) av STEC från *stx*-positiva anrikningsbuljonger. I en liknande studie av lammkött i Australien erhöles en snarlik förekomst av STEC (40 procent) som i denna kartläggning (Barlow et al., 2006).

Inga svenska studier av förekomst av STEC i lammkött finns rapporterade. Däremot visar en studie på träck från får provtagna vid slakterier (2007–2008) att 1,8 procent av djuren var positiva för STEC O157 (Socialstyrelsen, 2014). I föreliggande kartläggning hittades STEC O157 enbart i ett av de analyserade proven, vilket kom från Irland. Även andra studier har fått liknande resultat, en kartläggning i Storbritannien hittade STEC O157 i knappt en procent av lammköttproven. (Chapman et al., 2001). I annan en studie från Irland isolerades STEC O157 i knappt tre procent av slaktkroppar av lamm samt i ett av 14 prov av lammfärs (Prendergast et al., 2011). Förekomsten av STEC skiljde sig även beroende på vilket ursprung köttet hade, högst förekomst var det på lammkött från Irland (64 procent), medan förekomsten i svenskt och nya zeeländskt lammkött var 43 respektive 19 procent. I en studie från Nya Zeeland var förekomsten liknande (17,1 procent) av STEC i inhemskt lammkött (Brooks et al., 2001).

Enligt flera studier är *stx2*-genen starkare kopplad till allvarlig sjukdom hos människa och framför allt tillsammans med genen *eae* (Socialstyrelsen, 2014; EFSA, 2013; FAO and WHO, 2018). Från tre prov isolerades isolat med både *stx2*- och *eae*-genen. Under 2018 publicerades en rapport av FAO och WHO där isolat med subtypen av *stx2a* tillsammans med genen *eae* eller *aggR* anses vara de STEC typer som oftast orsakar allvarlig sjukdom hos människa (FAO and WHO, 2018). Även tidigare studier har rapporterat att *stx2a* har starkare koppling till allvarlig sjukdom hos människa (Byrne et al. 2018; Dallman et al. 2015; Persson et al. 2007). I kartläggningen var förekomsten av genen för *stx2a* i kombination med *eae* mycket låg, i enbart ett prov hittades den kombinationen hos de isolerade bakterierna. Även andra STEC har möjlighet att orsaka allvarlig sjukdom men enligt FAO och WHO's riskklassningsmodell tillhörde alla utom tre STEC-isolat den lägsta riskklassningsnivån som associeras till mildare symtom såsom diarré och magkramp hos människa.

Tidigare baserades riskklassificering av STEC på serotyp och det finns mer än 400 olika serotyper som har kopplats samman med sjukdom hos människa (Tozzoli and Scheutz, 2014). De vanligast förekommande serotyperna i kartläggningen var i fallande ordning O91:H14, O174:H8, O146:H21, O76:H19 och O128ab/ac:H2. Alla dessa serotyper har kopplats till humanfall (Buvens et al., 2013; EFSA, 2013; Beutin et al. 2004; FOHM, 2008). Serotyperna O91:H14, O146:H21 och O128ab/ac:H2 fanns bland de tio vanligaste serotyperna hos personer smittade i Sverige under 2017 (FOHM, 2018). Omvänt så tillhörde endast ett isolat (O157:H7) från lammkött någon av de fem vanligaste serotyperna från sjuka människor: O157:H7, O26:H11, O103:H2, O121:H19 och O145:H28 (FOHM, 2018). I en kartläggning av australiensiskt lammkött var de vanligaste serogrupperna O91 och O128 vilket liknar

resultaten från denna kartläggning (Barlow et al., 2006). I en studie från Tyskland var serotypen O128:H2 statistiskt mer vanlig på lammkött än på andra köttslag (kött från gris, nöt, vildsvin, kronhjort och hare). Även serotyperna O146:H21 och O76:H19 associerades med STEC från lammkött men inte lika starkt som O128:H2 (Martin et al., 2011). I samma studie påvisades en koppling mellan förekomst av *stx1c* tillsammans med *stx2b* med livsmedelsprodukter från får (kött, opastöriserad mjölk och ost). Även i föreliggande kartläggning var närvaron av *stx1* tillsammans med *stx2b* (36 procent) den vanligaste kombinationen i de hittade STEC-isolaten.

Förekomsten av STEC i svenskt helt lammkött (43 procent) var högre än i en tidigare studie av svenskt helt nötkött där sex procent av proven var positiva för STEC (Flink, 2016). Kombinationen av gener som är kopplade till ökad risk för allvarlig sjukdom (*stx2* och *eae*) påvisades varken bland isolaten från svenskt helt lammkött eller i den tidigare studien av helt svenskt nötkött. Andelen STEC i utländskt lammkött var drygt dubbelt så hög som i utländskt nötkött (32 respektive 13 procent) och andelen STEC i lammkött från Irland var drygt 20 gånger högre jämfört med nötkött från Irland (64 respektive 3 procent) (Egervärn och Flink, 2014). I utländskt nötkött var förekomsten av STEC-isolat innehållande generna *stx2* och *eae* låg (sex av 177 prov) vilken även var låg i utländskt lammkött (tre av 303 prov). Av de totalt 28 olika serotyper som påvisades i lammkött var det enbart fyra som även påvisades nötkött; O157:H7, O91:H14, O113:H21 och O8:H19.

Isoleringsfrekvensen av STEC från de positiva anrikningsbuljongerna var hög (74 procent) jämfört med andra studier där en isoleringsfrekvens på 9-12,5 procent rapporterats (Giacometti et al., 2013; Giacometti et al., 2012; Marozzi et al., 2016; Vernozy-Rozand et al., 2005). Men jämfört med studien från Australien som använde en hybridiseringsteknik för att isolera STEC var isoleringsfrekvensen liknande den som vi erhöll i denna kartläggning (ca 60 procent) (Barlow et al., 2006).

Termotoleranta campylobacter

I denna kartläggning isolerades termotoleranta campylobacter från två procent av de analyserade proven, varav största delen av fynden var *Campylobacter coli* (fem av sex prov). Alla fynd av termotoleranta campylobacter gjordes i lammkött som importerats från andra länder, varav huvuddelen av fynden gjordes i produkter från Irland (fem av sex prov). I jämförelse med kartläggningar av lammkött utförda i andra länder så är de erhållna resultaten generellt lägre. Förekomsten var fem gånger högre (12 procent) i en undersökning utförd på Irland där de flesta fynden karaktäriserades till *C. jejuni* (Whyte et al, 2004) och tre gånger högre förekomst (7 procent) i kartläggningar från Storbritannien och Nya Zeeland (Little et al., 2008; Wong et al., 2007b). En betydligt högre andel campylobacter-positiva prov (43 procent) rapporterades från en kartläggning av slaktkroppar av får i Grekland (Lazou et al, 2014). Även i den kartläggningen var *C. coli* vanligare än *C. jejuni*.

Den låga förekomsten av campylobacter är i paritet med tidigare undersökningar av nöt- och griskött samt slaktkroppar av nötkreatur och gris (Westöö & Lindberg 2002; Lindblad, 2006; Lindblad, 2008). Förekomsten av termotoleranta campylobacter är mycket högre i fågelkött, framför allt i färskt kycklingkött, som är den vanligaste smittkällan till att drabbas av campylobacterinfektion (EFSA, 2011; Dryselius och Jernberg, 2018). Att campylobacter är vanligare och förekommer i högre halter i färskt kycklingkött beror på att bakterien är känslig för frysning och uttorkning (EFSA, 2011). I denna kartläggning hittades termotoleranta campylobacter enbart i färskt lammkött.

Typning med helgenomsekvensering av de isolat som hittades i kartläggningen visade att de tillhörde 5 olika sekvenstyper (ST). Dessa ST hittas vanligtvis inte hos sjuka människor (Dryselius och

Jernberg, 2018) och med mer detaljerad genetisk karaktärisering (SNP-analys) med de humanisolat som Folkhälsomyndigheten har samlat in under åren fanns inga isolat från lammkött och människor som var genetiskt lika. En mer detaljerad genetisk karaktärisering mellan de isolat som hittats i lammkött visade att två *C. coli* isolat som kom från samma anläggning var ganska lika varandra (64 SNPs + 22 rekombinationsevent) och skulle därför kunna ha samma härkomst.

Salmonella

En låg förekomst av salmonella i lammkött var förväntad med tanke på att denna bakterie under lång tid övervakats och bekämpats i produktion av foder, djur och livsmedel i Sverige. Det innebär att i stort sett allt inhemskt producerat rött och vitt kött samt ägg är fritt från Salmonella (Lindblad, 2006; Lindblad, 2008; Livsmedelsverket, 2004). Dock hade det inte varit helt oväntat att hitta en speciell typ av Salmonella, *Salmonella enterica* subsp *Diarizonae* 61:(k):1,5, (7) eftersom den genomsnittliga förekomsten av *S. Diarizonae* 61:(k):1,5, (7) hos fårbesättningar i Sverige är 17 procent. Denna speciella salmonellatyp återfinns nästan enbart på får men trots detta är det mycket ovanligt att den orsakar sjukdom hos människor (SVA, 2012). I en kartläggning av Salmonella i lammkött i Nya Zeeland var förekomsten av salmonella också låg (1,3 procent) (Wong et al. 2007a).

ESBL-bildande *E. coli*

Inga ESBL-bildande *E. coli* påvisades på svenskt lammkött och förekomsten av ESBL-bildande *E. coli* i alla analyserade prov var låg (mindre än 1 procent). Detta återspeglar möjligen den generellt lägre användningen av antibiotika till får i förhållande till andra livsmedelsproducerande djur (Davies et al. 2017; Santman-Berends et al. 2014).

ESBL-bildande *E. coli* är ovanliga på svenskproducerat kött från gris och nöt (SWEDRES/SVARM, 2017). Däremot innehöll 44 procent av proven från svenskt kycklingkött ESBL-bildande *E. coli* i en tidigare studie (SWEDRES/SVARM, 2016). ESBL-bildande *E. coli* har hittats i prov från europeiskt kött av nöt och gris, men i mycket lägre omfattning än på kycklingkött (EFSA, 2018b). Enligt en exponeringsuppskattning som Evers et al. (2017) har utfört av ESBL-bildande *E. coli* från olika köttslag har lammkött väldigt låg sannolikhet (0 procent) att exponera den nederländska populationen med ESBL-bildande *E. coli* medan nötkött hade den absolut högsta sannolikheten (78 procent), följt av kycklingkött (18 procent), griskött (4,5 procent) och kalvkött (0,1 procent) (Evers et al. 2017). Exponeringsmodellen bedömde att konsumtionen av nötkött, som i Nederländerna ofta kan vara otillagat, ledde till en högre exponering för ESBL-bildande *E. coli* än kycklingkött, även om förekomsten av ESBL-bildande *E. coli* på kycklingkött var mycket högre än på nötkött.

Två fynd gjordes på lammkött av irländskt ursprung, varav ett av de två ESBL-isolaten var av fenotypen ESBL_A och det andra ESBL_M. Förekomsten ligger något lägre än i två andra studier av lammkött där ESBL-bildande *E. coli* hittade i 5-7 procent av proven (Lavilla et al., 2008; Ye et al., 2018). Dock bör tilläggas att det var ganska få prov analyserade i dessa studier (14-20 prov) vilket gör det svårt att jämföra resultaten. I en annan studie av Ben Slama et al. (2010) hittades ett isolat av fenotypen ESBL_A och ett av fenotypen ESBL_M, men även här var antalet analyserade prov få (14 st). Vissa genotyper, särskilt av CTX-M-typ, som har påvisats hos människor, djur och livsmedel hittas mer frekvent i vissa geografiska områden (Smet et al. 2010). De vanligast rapporterade genvarianterna i *E. coli* från olika livsmedel på den svenska marknaden, *cmv-2* och *ctx-m-1*, hittades också i denna kartläggning (Egervärn et al., 2011; Egervärn et al. 2014).

Inga ESBL_{CARBA}-bildande *E. coli* hittades i prov från lammkött och bakterierna är fortfarande ovanliga hos djur och i livsmedel inom och utanför EU (Egervärn och Ottosson, 2016). Dock hittades 14 misstänkta ESBL_{CARBA}-bildande *E. coli* i prov från både kyckling och kycklingkött i två medlemsländer i EU under 2016 (EFSA, 2018b).

E. coli

Förekomsten av *E. coli* i lammkött var 6,6 procent med lägst förekomst av *E. coli* i prov från Nya Zeeland (1,4 procent) jämfört med både prov från Sverige (8,8 procent) och prov från Irland (20 procent). Detta stämmer överens med en liknande studie av australiensiskt benlöst fryst lammkött där *E. coli* hittades i 8,2 procent av proven (Phillips et al., 2006). Den studien använde *E. coli* Petrifilm (3M) för att kvantifiera *E. coli*, precis som analysmetoden i denna kartläggning detekterar bakteriens förmåga att producera β -D-glukoronidas. De såg inte någon korrelation mellan halter av *E. coli* och närvaro av *E. coli* O157. Kartläggningen av Chapman et al. 2001 använde en membranbaserad odlingsmetodik för att haltbestämma *E. coli*. Metoden är baserad på bakteriens förmåga att fermentera glutaminsyra vilket är en annan metodik än vad som användes i denna studie (Chromocult® Coliform ES-agar). Chromocult® Coliform ES-agar detekterar *E. coli* som producerar β -D-galaktosidas och β -D-glukoronidas vilket är egenskaper som används för att skilja *E. coli* från andra koliforma bakterier. Det finns dock undantag, då 3-4 procent av *E. coli* inte producerar β -D-glukoronidas och kunde därför inte urskiljas med denna analysmetod. Eftersom STEC O157 och vissa andra STEC-stammar inte producerar β -D-glukoronidas så har de inte detekterats som *E. coli* i vår kartläggning. En svag signifikant korrelation mellan förekomst av *E. coli* och förekomst av STEC hittades vilket innebär att om ett prov var positivt för *E. coli* så var sannolikheten större att provet även skulle vara positivt för STEC än om inga *E. coli* påvisades i provet. Dock var 90 procent av proven med förekomst av STEC negativa för *E. coli*, vilket kan bero på att olika analysmetoder används.

Slutsats

Resultaten visar att förekomsten av salmonella, termotoleranta campylobacter, ESBL-bildande *E. coli* lammkött från livsmedelsbutiker var låg. Förekomsten av STEC-bakterien var högre och kunde isoleras från var tredje prov av lammkött. Av de tre vanligaste ursprungsländerna så var STEC vanligast i lammkött från Irland, följt av Sverige och Nya Zeeland. Karakterisering av STEC med helgenomsekvensering och klassning enligt FAO och WHO's riskklassificeringsmodell visade att de flesta av isolaten tillhörde den lägsta av fem riskklasser. Serotypning visade att få isolat var bland de fem vanligaste serotyperna som förekommer hos svenska patienter. Dock tillhörde många isolat de 6 till 10 vanligaste serotyperna som förekommer hos svenska patienter. Sammanfattningsvis tyder resultaten på att lammkött inte är en betydande källa för STEC-smitta som kan ge allvarlig sjukdom, men att lammkött kan utgöra en källa för STEC som företrädesvis ger symtom som diarré och magkramp.

Tack

Ett stort tack till Ivar och Elsa Sandbergs stipendiefond som har bidragit med medel för genomförandet av denna kartläggning. Ett tack riktas också till SVA som har hjälpt till med de fenotypiska och genotypiska verifieringarna av ESBL-bildande *E. coli* och till Folkhälsomyndigheten för den bioinformatiska analysen av helgenomsekvenseringsdata av termotoleranta campylobacter samt till verifiering av den bioinformatiska analysen av STEC isolat.

Ett stort tack riktas också till Paula Ågren, Monica Ricão Canelhas, Ramia Molin, Maria Blomqvist, Gabriella Appelthun, Marianne Törnqvist, Caroline Kaipe Jimmy Sahlin och Celeste D Lind som genom mycket arbete har bidragit till provtagning, substratberedning och mikrobiologiska analyser.

Tack även till Mats Lindblad, Hans Lindmark, Karin Nyberg och Mia Egervärn som bidragit med kunskaper om provtagning, ESBL-bildande *E. coli* samt gett viktig återkoppling vid skrivande av rapporten.

Referenser

- Atalla H and Johnson R. 2000. Use of shiga toxin (Stx) enzyme-linked immunosorbent assay and immunoblot for detection and isolation of Stx-producing *Escherichia coli* from naturally contaminated beef. *Journal of Food Protection* 63 (9):1167-1172.
- Barlow R. S, Gobius K. S and Desmarchelier P.M. 2006. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in ground beef and lamb cuts: Results of a one-year study. *International Journal of Food Microbiology* 111 (1):15:1-5 doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2006.04.039
- Ben Slama K, Jouini A, Ben Sallem R, Somalo S, Sáenz Y, Estepa V, Boudabous A and Torres C. 2010. Prevalence of broad-spectrum cephalosporin-resistant *Escherichia coli* isolates in food samples in Tunisia, and characterization of integrons and antimicrobial resistance mechanisms implicated. *International Journal of Food Microbiology* 137 (2-3):281-6. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.12.003
- Beutin L, Krause G, Zimmermann S, Kaulfuss S and Gleier K. 2004. Characterization of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Strains Isolated from Human Patients in Germany over a 3-Year Period. *Journal of Clinical Microbiology* 42 (3):1099–1108. doi: 10.1128/JCM.42.3.1099–1108.2004
- Brooks H. J, Mollison B. D, Bettelheim K. A, Matejka K, Paterson K. A and Ward V.K. 2001. Occurrence and virulence factors of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in retail meat in Dunedin, New Zealand. *The Society for Applied Microbiology, Letters in Applied Microbiology* 32(2):118-22. doi:10.1046/j.1472-765x.2001.00868
- Buvens G, De Rauw K, Roisin S, Vanfraechem G, Denis O, Jacobs F, Scheutz F and Pierard D. 2013. Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O128ab:H2 bacteremia in a 27-year-old male with hemolytic uremic syndrome. *Journal of Clinical Microbiology*. 51(5):1633-1635 doi:10.1128/JCM.03025-12
- Chapman P. A, Cerd A. T, Malo Ñn, Ellin M, Ashton R, and Harkin M. A. 2001. *Escherichia coli* O157 in cattle and sheep at slaughter, on beef and lamb carcasses and in raw beef and lamb products in South Yorkshire, UK. *International Journal of Food Microbiology* 64 (12):139-150. doi:10.1016/S0168-1605(00)00453-0
- Dallman T. J, Ashton P. M, Byrne L, Perry N. T, Petrovska L, Ellis R, Allison L, Hanson M, Holmes A, Gunn G.J, ChaseTopping M. E, Woolhouse M. E. J, Grant K. A, Gally D. L, Wain J and Jenkins, C. 2015. Applying phylogenomics to understand the emergence of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 strains causing severe human disease in the UK. *Microbial Genomics*, doi:10.1099/mgen.0.000029.
- Dagligvarukartan™ .2017. DLF, Delfi och HUI Research. (Hämtad 2019-01-16)
- Davies P, Remnant J. G, Green M. J, Gascoigne E, Gibbon N, Hyde R, Porteous J. R, Schubert K, Lovatt F and Corbishley A. 2017. Quantitative analysis of antibiotic usage in British sheep flocks. *Veterinary Record* (2017) doi:10.1136/vr.104501
- Dryselius R och Jernberg C. 2018. *Campylobacter* från butik och klinik – jämförelser under och efter utbrottet 2016–2017. Livsmedelsverkets rapportserie nr. 10, 2018.

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

EFSA (European Food Safety Authority). 2011. Scientific Opinion on *Campylobacter* in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). EFSA Journal 2011 9 (4):2105. doi: 10.2903/j.efsa.2011.2105

EFSA (European Food Safety Authority). 2013. Scientific Opinion on VTEC seropathotype and scientific criteria regarding pathogenicity assessment. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). EFSA Journal 11(4):3138. doi:10.2903/j.efsa.2013.3138

EFSA (European Food Safety Authority). 2017. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. EFSA Journal 2017;15 (12):5077. doi: 10.2903/j.efsa.2017.5077

EFSA (European Food Safety Authority). 2018a. EU summary report on zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks 2017. EFSA Journal 2018;16 (12):5500. doi.org/10.5281/zenodo.1475841

EFSA (European Food Safety Authority). 2018b. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2016. EFSA Journal 2018;16 (2):5182. doi: 10.2903/j.efsa.2018.5182

Egervärn M, Englund S, Börjesson S och Lindblad M. 2011. Antibiotikaresistens – Kartläggning av ESBL-bildande *E. coli* och salmonella på kött på den svenska marknaden.

<https://www.livsmedelsverket.se/>

Egervärn M och Flink C. 2014. Kartläggning av shigatoxinproducerande *E. coli* (STEC) på nötkött och bladgrönsaker. Livsmedelsverkets rapportserie nr. 24, 2014.

Egervärn M, Rosengren Å, Englund S, Börjesson S, Löfmark S, Ny S och Byfors S. 2014. ESBL-bildande *E. coli* i vår omgivning – livsmedel som spridningsväg till människa. Slutrapport från ett myndighetsgemensamt projekt – Antibiotikaresistens. <https://www.livsmedelsverket.se/>

Egervärn M och Ottosson J. 2016. Riskprofil - Livsmedel som spridningsväg för antibiotikaresistens – andra upplagan. Livsmedelsverkets rapportserie nr. 6, 2016.

EURL-AR, 2017. (EU Reference Laboratory for antimicrobial resistance) and DTU Food – National Food Institute. Laboratory Protocol - Isolation of ESBL- AmpC- and carbapenemase-producing *E. coli* from fresh meat. January 2017. Version 4.

Evers E. G, Pielaat A, Smid J. H, van Dujkeren E, Vennermann F. B. C, Wijnands L.M and Chardon, J. E. 2017. Comparative Exposure Assessment of ESBL-Producing *Escherichia coli* through Meat Consumption. PLOS ONE January 5;12(1). doi:10.1371/journal.pone.0169589.

FAO and WHO, 2018. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and food: attribution, characterization, and monitoring. ISSN 1726-5274

Flink C. 2016. Förekomst av shigatoxinproducerande *Escherichia coli* (STEC) i svenskt nötkött. Livsmedelsverket. 2016. <https://www.livsmedelsverket.se/>

Folkhälsomyndigheten (FOHM), 2018. <https://www.folkhalsomyndigheten.se>, se fördjupad mikrobiologisk information 2017 (Hämtad 2019-01-08)

Giacometti F, Bonilauri P, Serraino A, Peli A, Amatiste S, Arrigoni N, Bianchi M, Bilei S, Cascone G, Comin D, Daminelli P, Decastelli L, Fustini M, Mion R, Petruzzelli A, Rosmini R, Rugna G, Tamba M, Tonucci F and Bolzoni G. 2013. Four year monitoring of foodborne pathogens in raw milk sold by vending machines in Italy. *Journal of Food Protection*. 76 (11):1902-7. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-13-213.

Giacometti F, Serraino A, Finazzi G, Daminelli P, Losio M. N, Bonilauri P, Arrigoni N, Garigliani A, Mattioli R, Alonso S, Piva S, Florio D, Riu R and Zanoni R. G. 2012. Foodborne pathogens in in-line milk filters and associated on-farm risk factors in dairy farms authorized to produce and sell raw milk in northern Italy. *Journal of Food Protection*. 75 (7):1263-9. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-12-028.

Hansson, I. 2007. Bacteriological and Epidemiological Studies of *Campylobacter* spp. in Swedish Broilers. Diss., Sveriges Lantbruksuniversitet.

ISO/TS 13136:2012. Microbiology of food and animal feed — Real-time polymerase chain reaction (PCR)-based method for the detection of food-borne pathogens — Horizontal method for the detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the determination of O157, O111, O26, O103 and O145 serogroups.

Jaros P, Cookson A. L, Reynolds A, Withers H, Clemens R, Brightwell G, Mills J, Marshall J, Prattley D. J, Campbell D. M, Hathaway S and French N.P. 2018. The effect of transportation and lairage on faecal shedding and carcass contamination with *Escherichia coli* O157 and O26 in very young calves in New Zealand. *Epidemiology and Infection* 146 (9):1089-1100. doi:10.1017/S0950268818000973

Jordbruksverket, 2018a. <http://www.jordbruksverket.se/> se Marknaden för får- och lamm kött. (Hämtad 2018-12-18)

Jordbruksverket, 2018b. <http://www.jordbruksverket.se/> se Så bekämpas salmonella hos djur i Sverige. (Hämtad 2018-12-19)

Lazou T, Dovas C, Houf K, Soutos N and Iossifidou E. 2014. Diversity of *Campylobacter* in Retail Meat and Liver of Lambs and Goat Kids. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11 (4):320-328 doi:10.1089/fpd.2013.1678.

Lavilla S, Gonza´lez-Lo´pez J. J, Miro´ E, Domı´nguez A, Llagostera M, Bartolome´ R. M, Mirelis B, Navarro F. and Prats G. 2008. Dissemination of extended-spectrum b-lactamase-producing bacteria: the food-borne outbreak lesson. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 61(6):1244-51 doi:10.1093/jac/dkn093

Lenahan M, O´Brien S, Kinsella K, Sweeney T and Sheridan J. J. 2007. Prevalence and molecular characterization of *Escherichia coli* O157:H7 on Irish lamb carcasses, fleece and in faeces samples. *Journal of Applied Microbiology*, 103 (6):2401-9. doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03476.x

Lindblad M. 2006. Mikroprofil Gris: Kartläggning av mikroorganismer på slaktkroppar. Livsmedelsverkets rapportserie nr. 1. 2006.

Lindblad M. 2008. Mikroprofil nötkreatur: Kartläggning av mikroorganismer på slaktkroppar. Livsmedelsverkets rapportserie nr. 1. 2008.

Little C. L, Richardson J. F, Owen R. J, de Pinna E and Threlfall E. J. 2008. Campylobacter and Salmonella in raw red meats in the United Kingdom: Prevalence, characterization and antimicrobial resistance pattern, 2003-2005. Food Microbiology 25 (3):538-43. Doi:10.1016/j.fm.2008.01.001.

Livsmedelsverkets föreskrift LIVSFS 2005:20. Föreskrifter om livsmedelshygien.

Livsmedelsverkets föreskrift LIVSFS 2005:22. Kontroll vid handel med animaliska livsmedel inom den Europeiska Unionen.

Livsmedelsverket. 2004. Riksprojekt 2002 - Salmonella i frukt och grönsaker. Livsmedelsverkets rapportserie nr.6, 2004.

Martin A and Beutin L. 2011. Characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from meat and milk products of different origins and association with food producing animals as main contamination sources. International Journal of Food Microbiology, 146 (1):99-104 doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.041.

Marozzi S, Santis P. D, Lovari S, Condoleo R, Bilei S, Marcianò R and Mezher Z. 2016. Prevalence and molecular characterisation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in raw milk cheeses from Lazio region, Italy. Italian Journal of Food Safety. 5, 4-6.

NMKL-metod nr. 71, utg5, 1999. Salmonella. Påvisning i livsmedel

NMKL-metod nr. 119, 3. utg., 2007. Termotolerante Campylobacter. Påvisning, semi-kvantitativ og kvantitativ bestemmelse i levnedsmidler og drikkevand.

Persson S, Olsen K. E, Ethelberg S and Scheutz F. 2007. Subtyping Method for *Escherichia coli* Shiga Toxin (Verocytotoxin) 2 Variants and Correlations to Clinical Manifestation. Journal of Clinical Microbiology, June 2007, p. 2020–202. doi:10.1128/JCM.02591-06

Prendergast D. M, Lendrum L, Pearce R, Ball C, McLernon J, O'Grady D, Scott L, Fanning S, Egan J and Gutierrez M. 2011. Verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157 in beef and sheep abattoirs in Ireland and characterisation of isolates by Pulsed-Field Gel Electrophoresis and Multi-Locus Variable Number of Tandem Repeat Analysis. International Journal of Food Microbiology, 144 (3):519-527. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.11.012

Phillips D, Sumner J, Alexander J and Dutton K. 2001. Microbiological Quality of Australian Sheep Meat. Journal of Food Protection, 64 (5):697– 700. Doi: 10.4315/0362-028X-64.5.697

Santman-Berends I, Luttikholt S, Van den Brom R, Van Schaik G, Gonggrijp M, Hage H and Vellema P. 2014. Estimation of the Use of Antibiotics in the Small Ruminant Industry in the Netherlands in 2011 and 2012. PLoS ONE 9 (8):e105052 doi:10.1371/journal.pone.0105052

Smet A, Martel A, Persoons D, Dewulf J, Heyndrickx M, Herman L, Haesebrouck F and Butaye P. Broad-spectrum β -lactamases among *Enterobacteriaceae* of animal origin: molecular aspects, mobility and impact on public health. FEMS Microbiology Reviews, 34 (3):295-316. doi:10.1111/j.1574-6976.2009.00198.x

Socialstyrelsen, 2013. Campylobacterinfektion – ett nationellt strategidokument.

Socialstyrelsen, 2014. Infektion med EHEC/VTEC - ett nationellt strategidokument.

- SVA (Sveriges Veterinärmedicinska Anstalt), Enhet för sjukdomskontroll och smittskydd. 2012. Redovisning av resultat av genomförd prevalensstudie avseende *Salmonella diarizonae* 61:(k):1,5, (7) i svenska fårbesättningar. 2012-06-07
- SVARM 2008, Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring. The National Veterinary Institute (SVA), Uppsala, Sweden, 2009. www.sva.se, ISSN 1650-6332.
- SWEDRES/SVARM. 2016. Consumption of antibiotics and occurrence of resistance in Sweden. Solna/Uppsala ISSN1650-6332
- SWEDRES/SVARM. 2017. Consumption of antibiotics and occurrence of resistance in Sweden. Solna/Uppsala ISSN1650-6332
- Söderlund R, Hedenström I Nilsson A, Eriksson E, Aspán A. 2012. Genetically similar strains of *Escherichia coli* O157:H7 isolated from sheep, cattle and human patients. BMC Veterinary Research 8:200. doi: 10.1186/1746-6148-8-200
- Tozzoli R and Scheutz F. 2014. Diarrhoeagenic *Escherichia coli* Infections in Humans. Patogenic *Escherichia coli* – Molecular and Cellular Microbiology:1-19.
- Vernozy-Rozand C, Montet M. P, Berardin M, Bavai Cand Beutin L. 2005. Isolation and characterization of Shiga toxinproducing *Escherichia coli* strains from raw milk cheeses in France. Letters in Applied Microbiolgy, 41 (3):235-41. doi: 10.1111/j.1472-765X.2005.01756.x
- Westöö, A. and T. Lindberg. 2002. Riksprojekt- Campylobacter i kött och vatten. Livsmedelsverkets rapport 10, 2002.
- Whyte P, McGill K, Cowley D, Madden R. H, Moran L, Scates P, Carroll C, O'Leary A, Fanning S, Collins J. D, McNamara E, Moore J.E and Cormican M. 2004. Occurrence of Campylobacter in retail foods in Ireland. International Journal of Food Microbiology 95 (2):111-8. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2003.10.018
- Wong T. L, Nicol C, Cook R and MacDiarmid S. 2007a. Salmonella in uncooked retail meats in New Zealand. Journal of Food Protection, 70 (6):1360-5.
- Wong T, Hollis L, Cornelius A, Nicol C, Cook R and Hudson J. A. 2007b. Prevalence, numbers and subtype of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in uncooked retail meat samples. Journal of Food Protection. 70(3):566-73.
- Ye Q, Wu Q, Zhang S, Zhang J, Yang G, Wang J, Xue L and Chen M. 2018. Characterization of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* From Retail Food in China. Front. Microbiology. 9:1709.doi: 10.3389/fmicb.2018.01709

Bilaga 1

Tabell 8. Antal prov med svenskt ursprung och förekomst av STEC i lammkött per anläggning.

Ursprung	Anläggning	Antal prov	Antal prov positiva för STEC
Sverige	SE53	9	7
Sverige	SE78	30	13
Sverige	SE347	1	-
Sverige	SE366	1	1
Sverige	SE504	16	6
Sverige	SE507	5	4
Sverige	SE580	13	2
Sverige	SE689	7	3
Sverige	Styckat i butik	2	-
Sverige	SE53/SE78	1	-
Sverige	SE53/SE507	1	1
Sverige	SE78/SE504	5	2
Sverige	SE51	2	1
Sverige	SE53/SE580	1	-
Sverige	Styckat i butik/SE51	1	1
Sverige	Totalt	95	41

Tabell 9. Antal prov med irländskt ursprung och förekomst av STEC i lammkött per anläggning.

Ursprung	Anläggning	Antal prov	Antal prov positiva för STEC
Irland	IE313	4	2
Irland	IE313/SE507	20	16
Irland	IE364/SE507	7	2
Irland	IR367	1	-
Irland	SE257	2	1
Irland	SE507	6	4
Irland	SE567	6	3
Irland	Butiksstyckad	1	1
Irland	Okänt	3	3
Irland	Totalt	50	32

Tabell 10. Antal prov med nya zeeländskt ursprung och förekomst av STEC i lammkött per anläggning.

Ursprung	Anläggning	Antal prov	Antal prov positiva för STEC
Nya Zeeland	ME51	2	-
Nya Zeeland	ME78	2	-
Nya Zeeland	ME128	31	2
Nya Zeeland	ME130	13	3
Nya Zeeland	ME130/SE689	1	-
Nya Zeeland	ME132	1	-
Nya Zeeland	ME188	2	1
Nya Zeeland	ME39	6	-
Nya Zeeland	ME42	2	-
Nya Zeeland	ME47	1	-
Nya Zeeland	ME56	5	1
Nya Zeeland	ME77/BE KF 226	2	2
Nya Zeeland	ME78	13	2
Nya Zeeland	ME86	9	3
Nya Zeeland	SE257	15	5
Nya Zeeland	SE258	1	1
Nya Zeeland	SE264	2	-
Nya Zeeland	SE5101	10	-
Nya Zeeland	SE5102	1	-
Nya Zeeland	SE567	3	-
Nya Zeeland	SE609	1	-
Nya Zeeland	SE689	15	4
Nya Zeeland	SPM135	3	3
Nya Zeeland	SPM51	1	-
Nya Zeeland	Okänt	2	-
Nya Zeeland	Totalt	144	27

Tabell 11. Antal prov med ursprung från övriga länder och förekomst av STEC i lammkött per anläggning.

Ursprung	Anläggning	Antal prov	Antal prov positiva för STEC
Chile	CL12-01	2	2
	CL12-05	1	-
	Okänt	2	1
Island	ISA032	3	1
	Okänt	1	1
Spanien	SE567	5	2
Övriga länder	Totalt	14	7

