

# Campylobacter från butik och klinik

— jämförelser i augusti 2018



Folkhälsomyndigheten



Livsmedelsverket

---

Denna titel kan laddas ner från: [www.livsmedelsverket.se/publicerat-material/](http://www.livsmedelsverket.se/publicerat-material/).

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

© Livsmedelsverket, 2019

Författare:

Rikard Dryselius & Cecilia Jernberg.

Rekommenderad citering:

Livsmedelsverket, Folkhälsomyndigheten. Dryselius, R. & Jernberg, C. 2019. S 2019 nr 01: Campylobakter från butik och klinik. Livsmedelsverkets samarbetsrapport. Uppsala.

S 2019 nr 01

ISSN 1104-7089

Omslag: Livsmedelsverket

# Innehåll

Ordlista och förkortningar.....	5
Sammanfattning.....	7
Summary .....	8
Campylobacter from retail and clinics in Sweden – comparisons in August 2018 .....	8
Inledning.....	9
Metoder.....	10
Resultat.....	12
Campylobacter i färskt kycklingkött.....	12
Klassificering av isolat från människa och kycklingkött utifrån sekvenstyp.....	15
Identifiering av genetiska kluster .....	17
Diskussion.....	19
Slutsatser .....	22
Referenser .....	23



# Ordlista och förkortningar

CFU	Kolonibildande enhet (colony forming unit), ett mått på antalet levande bakterier i ett prov.
Delad slakt	Med syftet att främja djurhälsa har det i Sverige satts en gräns på 36 kg kyckling per kvadratmeter hos uppfödarna. För att öka mängden producerat kött utan att överstiga denna gräns kan delad slakt tillämpas där ett deluttag av slaktkyckling görs cirka 7-10 dagar före huvudslakten.
Helgenomsekvensering	Metod för att identifiera sekvensen för hela arvsmassan hos en organism.
Isolat	Enskild bakterie som odlats fram och isolerats från en blandad bakteriepopulation, i detta fall från kyckling eller människa.
Kluster	Samling av två eller fler genetiskt mycket lika eller identiska isolat som indikerar ett i tiden gemensamt ursprung.
Klusteranalys	Metod för att gruppera isolat med avseende på likheter i arvsmassan.
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time-Of-Flight, en teknik som använder laser för att skapa joner av stora molekyler som sedan identifieras med hjälp av en spektrometer. Tekniken är väl etablerad för artidentifiering av en lång rad mikroorganismer.
MLST	Multilocus Sequence Typing, teknik som utifrån DNA-sekvens hos ett begränsat antal gener bestämmer sekvenstyp (ST).
ST	Sekvenstyp, klassning utifrån DNA-sekvens hos ett begränsat antal gener med basala funktioner i cellen. Bestämning av sekvenstyp hos campylobacter baseras på DNA-sekvensen hos sju gener.
Sekvensering	Åsyftar i denna rapport DNA-sekvensering och innebär bestämning av ordningsföljden hos byggstenarna i arvsmassan.
SNP-analys	Analys av enbaspolymorfi (Single Nucleotide Polymorphism) där man utifrån jämförelser av arvs massa identifierar skillnader i enskilda byggstenar (nukleotider) mellan bakterieisolat.
Stam	Genetiskt väl karaktäriserat isolat, eller grupp av isolat som sinsemellan är lika, som kan särskiljas från andra väl karaktäriserade isolat
Typning	Metodik för noggrannare karaktärisering av isolat. I denna rapport identifiering av stam/subtyp.
WGS	Helgenomsekvensering (Whole Genome Sequencing).



# Sammanfattning

Färskt kycklingkött utgör en viktig smittkälla för campylobacter - en bakterie som beräknas orsaka 100 000 fall per år av magsjuka i Sverige. I denna rapport har förekomst och halter av campylobacter i färsk kyckling från butik undersökts. Vidare har betydelsen av kyckling som smittkälla undersökts genom att studera den genetiska likheten mellan campylobacter från kycklingkött och campylobacter från smittade människor.

Resultaten visade att 30 % av de campylobacter som under en vecka samlats in från personer smittade i Sverige var genetiskt mycket nära besläktade med isolat från färskt kycklingkött. Kyckling utgör troligtvis en större smittkälla än så eftersom jämförelsen gjordes mot en begränsad del av det totala utbudet av färsk kyckling. Den absoluta merparten av sjukdomsfallen med anknytning till kyckling förknippades med svensk konventionellt uppfödd kyckling och särskilt till produkter från Sveriges största slakteri. Utländsk kyckling kunde sammankopplas med ett fåtal sjukdomsfall medan ekologisk kyckling inte var förknippat med ett enda sjukdomsfall. Denna fördelning stämmer väl med marknaden som domineras kraftigt av svenskt konventionellt uppfödd kyckling samtidigt som marknadsandelen för ekologiskt uppfödd kyckling bara utgör en knapp procent.

Jämfört med motsvarande studie föregående år har det skett en ökning av positiva kycklingprov och även av prov med högre halter av campylobacter. Denna ökning syntes exempelvis hos landets största slakteri och utländskt producerad kyckling men inte generellt hos övrig svensk konventionellt uppfödd eller ekologisk kyckling.

Resultaten belyser vikten av ett förstärkt arbete mot campylobactersmitta i kycklingproduktionen, framför allt hos stora producenter, då detta skulle minska antalet fall med campylobacterinfektion hos människa.

Med anledning av Sveriges stora campylobacterutbrott mellan augusti 2016 och juni 2017 påbörjade Livsmedelsverket en kartläggning under våren 2017 för att undersöka förekomst av campylobacter i färskt kycklingkött från butik. Samma år startade Folkhälsomyndigheten sitt mikrobiella övervakningsprogram för campylobacter med insamling av isolat från personer anmälda som smittade i Sverige under lågsäsong (v 11) respektive högsäsong (v 34).

Årets kartläggning (2018) av färskt kycklingkött från butik har genomförts under augusti och omfattar 100 prover inköpta i Stockholm och Uppsala uppdelade i fyra kategorier. Campylobacter kunde påvisas i sammanlagt 61 % av proven. Under v 34 analyserades isolat från 98 personer som insjuknat i campylobacterinfektion vilket motsvarar 65 % av antalet inrapporterade fall. Sjukdomsfallen var spridda över i stort hela Sverige med 17 län/regioner representerade.

# Summary

## Campylobacter from retail and clinics in Sweden – comparisons in August 2018

Fresh chicken meat is a significant source of infection for campylobacter - a bacterium that is estimated to cause around 100,000 cases of gastrointestinal illnesses per year in Sweden. In this report, the prevalence and quantity of campylobacter in fresh chicken from retail has been examined. Furthermore, the importance of chicken as a source of infection has been investigated by studying the genetic similarity between campylobacter from chicken meat and campylobacter from patients.

The results showed that 30 % of the campylobacter collected from domestically infected persons during one week (n=98) were genetically very closely related or indistinguishable to isolates from fresh chicken meat (n=64). This figure is probably an underestimate since the comparison was made against a fraction of all fresh chicken meat on the market. The vast majority of the disease cases related to chicken was linked to conventionally bred Swedish chicken and especially to products from Sweden's largest slaughterhouse. Imported chicken was associated with a few clinical cases, while organic chicken was not linked to any infections. This distribution corresponds well with the market, which is heavily dominated by conventionally bred domestic chicken, while the market share for organically bred chicken accounts for less than one percent.

Compared to a corresponding study from last year, there had been an increase in the proportion of positive samples from 50 to 61 % and also the percentage of samples with high levels of campylobacter (>10 CFU/g) had increased. This increase was seen, for example, in products from the largest domestic slaughterhouse for conventionally bred chicken and also in foreign-produced chicken, but not generally in other conventionally bred domestic or organic chicken.

The results highlight the importance of strengthening the efforts to reduce campylobacter contamination in chicken production, especially for large producers, as this would reduce the number of campylobacter infections in humans.

---

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



# Inledning

Årligen beräknas cirka 100 000 svenskar bli sjuka av campylobacter (Sundström 2018) och en dominerande smittkälla antas vara färskt kycklingkött (EFSA 2010). Campylobactersmitta hos människa och andelen campylobacterpositiva kycklingflockar visar en tydlig samvariation med en ökning under sensommar och en minskning under vinter och vårmånader (Folkhälsomyndigheten 2019a; Statens Veterinärmedicinska Anstalt 2019). Historiskt har flest personer blivit smittade utomlands men under de senaste åren har fallen av inhemsk smitta varit i majoritet (Folkhälsomyndigheten 2019). En viktig orsak till detta trendbrott är att det under vintersäsongerna 2014/15 och 2015/16 samt från sommaren 2016 och fram till sommaren 2017 inträffat tre stora utbrott med koppling till svensk konventionellt uppförd kyckling (Skarin 2017; Dryselius och Jernberg 2018).

Campylobacterinfektion räknas som en allmänfarlig sjukdom och ingår sedan 2017 i Folkhälsomyndighetens nationella mikrobiella övervakningsprogram (Folkhälsomyndigheten 2019b). Inom ramen för detta program samlas isolat in från landets kliniska mikrobiologiska laboratorier två gånger per år, under vecka 11 och under vecka 34, med syftet att följa den molekylära epidemiologin och att utvärdera insatser för att minska antalet inhemska fall av campylobacterinfektion. I samband med utbrottet 2016/17 valde Livsmedelsverket att göra en kartläggning av förekomsten av campylobacter i färskt kycklingkött från butik (Livsmedelsverket 2017). Ett syfte var att undersöka om det fanns en ökad förekomst och/eller förhöjda halter av campylobacter på köttet samt ifall en eventuell ökning i så fall var generell eller kopplad till specifika svenska producenter, utländsk kyckling och/eller ekologisk kyckling. Ett annat syfte var att jämföra arvsmassan hos fynd av campylobacter i kycklingkött mot campylobacterisolat från människor för att därigenom få en bättre uppfattning om de genetiska sambanden och därmed förståelse för spridningsvägar. Sedan denna initiala kartläggning har Livsmedelsverket genomfört uppföljande undersökningar under både augusti 2017 och augusti 2018.

Denna rapport fokuserar på Livsmedelsverkets kartläggning av campylobacter i färskt kycklingkött från butik i augusti 2018 och Folkhälsomyndighetens insamling av campylobacterisolat från kliniska laboratorier under vecka 34, 2018 och inkluderar jämförelser mellan isolaten för att utröna genetiska samband.

# Metoder

Under vecka 31-33 (2 till 19 augusti) 2018 införskaffades 100 prover av färskt kycklingkött från 25 olika butiker i Stockholm och Uppsala för analys av campylobacter. Inköpen resulterade i 25 prover vardera inom kategorierna (i) kyckling från Sveriges största slakteri för konventionellt uppfödd kyckling (F38), (ii) övrig svensk konventionellt uppfödd kyckling, (iii) ekologiskt uppfödd svensk kyckling samt (iv) utländsk kyckling. I första hand inköptes hel kyckling, men då sådan inte fanns i tillräcklig mängd kompletterades det med styckdetaljer (Tabell 1). I möjligaste mån undveks dubblettprover avseende uppfödare och produktionsdatum.

**Tabell 1.** Fördelning av antalet införskaffade kycklingprover som analyserats med avseende på kategori och om det rör sig om hel kyckling eller styckdetaljer.

	<b>F38</b>	<b>Övrig svensk konv.</b>	<b>Ekologisk</b>	<b>Utländsk</b>	<b>Totalt</b>
<b>Hel kyckling</b>	19	20	20	3	62
<b>Styckdetaljer</b>	6	5	5	22	38
<b>Totalt</b>	25	25	25	25	100

Både kvalitativ och kvantitativ analys utfördes. Vid provberedning tillsattes 400 ml tvättlösning (buffrat peptonvatten) per 1000 g kycklingprov varpå proverna skakades 3x30 s med 30 s vila mellan skakningarna. Kvalitativ bedömning gjordes på 10 ml tvättlösning, motsvarande 25 g kycklingkött, medan den kvantitativa bedömningen gjordes på portioner om 1 ml samt 100, 10 och 1 µl tvättlösning. Den fortsatta analysgången följde metodiken beskriven i (NMKL 2007) och kompletterande artbestämningar utfördes med MALDI-TOF.

Campylobacterisolat från personer som rapporterats smittade i Sverige samlades in via landets kliniska mikrobiologiska laboratorier. Insamlingen var förlagd till vecka 34 (20-26 augusti) 2018, det vill säga under en period på året då det normalt rapporteras in flest inhemska fall. Detta var även en till tre veckor efter det att proverna av färskt kycklingkött från butik införskaffats. Med tanke på tiden mellan inköp till konsumtion (0-5 dagar), inkubationstiden för campylobacter (1-10 dagar) samt tiden mellan insjuknande och analys på kliniskt laboratorium (1-7 dagar) sammanfaller insamlingen av isolat från sjukdomsfall också med att eventuella campylobacter i det provtagna kycklingköttet uppvisar epidemiologisk relevans.

Både isolat från människa och campylobacter som isolerats från kycklingkött typades med helgenomsekvensering (WGS), vilket är den metod som ger den mest detaljerade upplösningen av alla tillgängliga typningstekniker. I ett första steg användes sekvenseringsinformationen för bestämning respektive konfirmering av art. Därpå delades isolaten in i så kallade sekvenstyper (ST), vilket är en uppdelning enligt en sedan tidigare etablerad teknik kallad multi locus sequence typing (MLST). MLST-analysen baseras på DNA-sekvensen hos sju olika gener som återfinns hos samtliga stammar

av campylobacter. Sekvensvariationer i dessa gener möjliggör gruppering av isolat i olika ST vilket ger en överblick avseende eventuella släktskap mellan isolat. För en mer förfinad och djupare analys av släktskap mellan isolaten utfördes single nucleotide polymorphism-analys (SNP-analys). I denna analys jämförs isolat med gemensam ST i detalj där skillnader mellan enskilda byggstenar i isolatens hela gemensamma arvsmassa identifieras. Utifrån resultaten från SNP-analysen grupperades isolat med identisk eller nära identisk arvsmassa i genetiska kluster där gränsen för inkludering i ett kluster sattes till maximalt fyra SNP-skillnader.

# Resultat

## Campylobacter i färskt kycklingkött

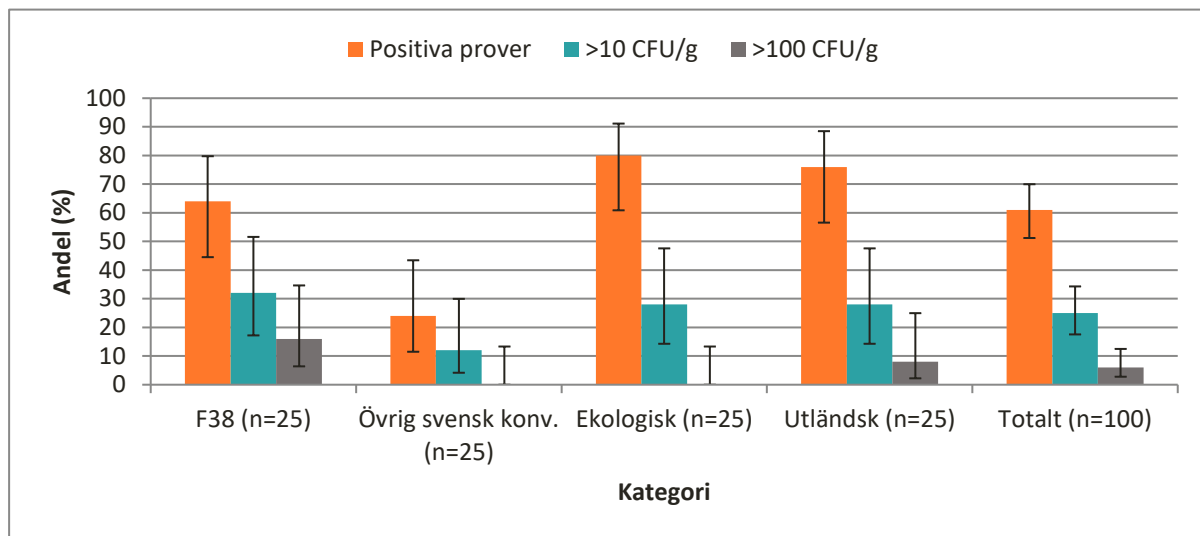
Sammanlagt analyserades förekomst och halter av campylobacter på 62 hela kycklingar och 38 styckdetaljer fördelat på 25 prover var inom fyra olika kategorier (Tabell 2). Av dessa 100 kycklingprover var 61 % positiva för campylobacter vid kvalitativ analys där anrikning från motsvarande 25 g kyckling undersöktes. Bakterien återfanns oftast hos ekologiskt uppfödd och utländsk kyckling som hade 80 respektive 76 % positiva prover. Bland den svenska konventionellt uppfödda kycklingen påvisades campylobacter i 64 % av proverna från slakteri F38 medan övrig svensk konventionellt uppfödd kyckling hade 24 % positiva prover. Vid jämförelser där en specifik kategori ställdes mot övriga var förekomsten av campylobacter signifikant lägre i kategorin övrig svensk konventionell kyckling än i samtliga övriga kategorier var för sig och tillsammans ( $p < 0,01$ , Fisher's exact test). Därtill var förekomsten signifikant högre i ekologisk kyckling jämfört med de övriga kategorierna sammanslaget ( $p < 0,05$ , Fisher's exact test). Det fanns ingen signifikant skillnad mellan hel kyckling (60 % positiva prover) och styckdetaljer (63 % positiva prover) och inte heller halterna skilde sig signifikant mellan dessa båda provtyper (ej visat).

**Tabell 2.** Förekomst av campylobacter i färskt kycklingkött från butik. I tabellen visas antalet analyserade prover, antal och andel positiva prover totalt och uppdelat efter kategori samt det 95-procentiga konfidensintervallet för respektive andel. Värdena avser fynd i motsvarande 25 g kycklingkött.

	F38	Övrig svensk konv.	Ekologisk	Utländsk	Totalt
<b>Antal prover</b>	25	25	25	25	100
<b>Antal/(%) positiva</b>	16/(64)	6/(24)	20/(80)	19/(76)	61/(61)
<b>Konfidensintervall (%)</b>	44,5-79,8	11,5-43,4	60,9-91,1	56,6-88,5	51,2-70,0

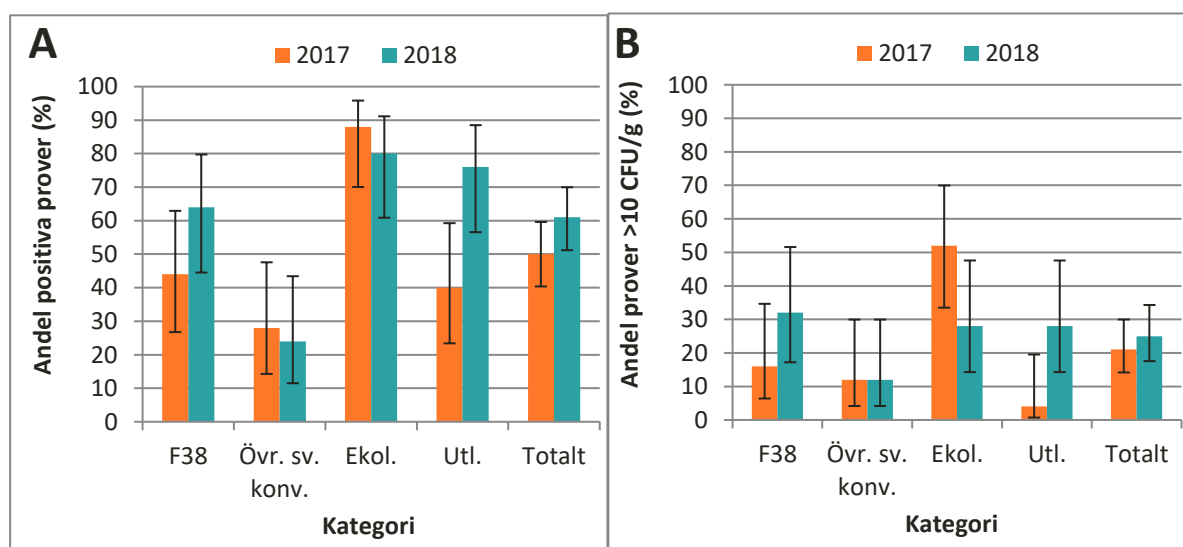
De kvantitativa analyserna visade att halterna av campylobacter översteg motsvarande 10 CFU per gram kycklingkött i 25 % av proverna medan de i 6 % av proverna var högre än 100 CFU/g (Figur 1). Störst andel prover med  $>10$  CFU/g återfanns i kategorin F38 med 32 % och i denna kategori påträffades även fyra av totalt sex prover med  $>100$  CFU/g. Kategorierna Ekologisk och Utländsk kyckling hade en nästan lika stor andel prover med  $>10$  CFU/g som F38 med 28 % vardera medan andelen för Övrig svensk konventionell kyckling var betydligt lägre med 12 %. De två återstående proverna med  $>100$  CFU/g återfanns bland den utländska kycklingen. Vid jämförelse av andelen prover med högre halter campylobacter mellan kategorier visade F38 en signifikant överrepresentation gentemot övriga kategorier tillsammans, och detta avseende prover med  $>100$  CFU/g ( $p < 0,05$ , Fisher's exact test). Samtidigt nådde den lägre andelen prover med  $>10$  CFU i kategorin övrig svensk

konventionell kyckling inte riktigt statistisk signifikans i jämförelse mot övriga kategorier tillsammans ( $p=0,066$ , Fisher's exact test).



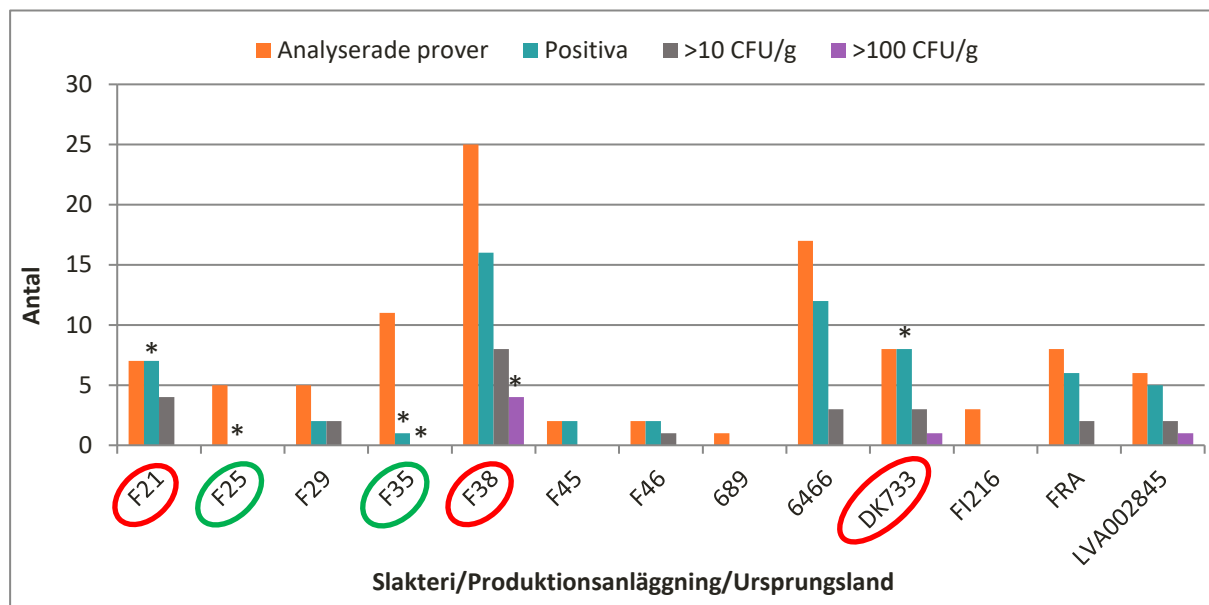
Figur 1. Andel campylobacterpositiva kycklingprover totalt samt med halter överstigande 10 eller 100 CFU per gram uppdelat efter olika kategorier. För positiva prover är detektionsgränsen fynd i motsvarande 25 g kycklingkött. Felstaplarna anger ett 95-procentigt konfidensintervall.

För att undersöka eventuella förändringar i campylobacterförekomst över tid gjordes en jämförelse av förekomst och halter mot 100 prover som analyserades under motsvarande period 2017. Totalt sett var både andelen positiva prov och prov med halter över 10 CFU/g högre 2018 (Figur 2A respektive 2B). Sett till enskilda kategorier var andelen positiva prov något lägre för Ekologisk och Övrig svensk konventionellt uppförd kyckling under 2018 medan den var högre för kyckling från slakteri F38 och Utländsk kyckling. Samma mönster syntes även för andelen prov med halter över 10 CFU/g med undantaget att kategorin Övrig svensk konventionellt uppförd kyckling var oförändrad mellan åren. Bara för kategorin Utländsk kyckling syntes en statistiskt signifikant skillnad mellan åren med en ökning både avseende förekomst och halter över 10 CFU/g ( $p<0,05$ , Fisher's exact test).



**Figur 2.** Andel campylobacterpositiva kycklingprover (A) och prover med halter över 10 CFU/g (B) uppdelade efter kategori och år. Resultat för prover undersökta i augusti 2018 representeras i blått medan resultat från augusti 2017 representeras i rött. Felstaplarna anger ett 95-procentigt konfidensintervall. Positiva prover avser fynd i motsvarande 25 g kycklingkött.

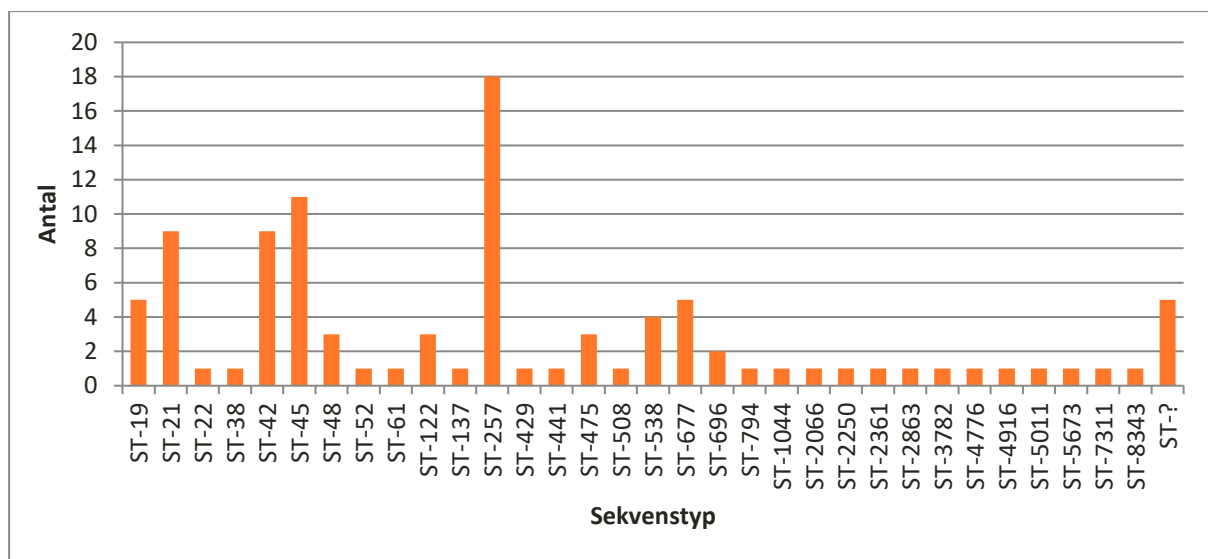
De 100 analyserade kycklingproven härrörde från sammanlagt 13 olika slakterier/produktionsanläggningar/ursprungsländer (Figur 3). Antalet prover inom dessa 13 grupper varierade stort från ett enda och upp till 25 stycken vilket berodde dels på upplägget av undersökningen och dels på utbudet i butik. Avseende andelen campylobacterpositiva prover fanns en signifikant överrepresentation hos F21 och den danska kycklingen (DK733) ( $p < 0,05$ , Fisher's exact test). På motsvarande sätt var F25 och F35 signifikant underrepresenterade i jämförelse mot resterande kycklingprover ( $p < 0,05$ , Fisher's exact test). För övriga slakterier, produktionsanläggningar och ursprungsländer (F29, F45, F46, 689, 6466, FI216, FRA och LVA002845) kunde varken en över- eller underrepresentation av andelen positiva prov styrkas vilket kan bero på att det inte fanns någon skillnad och/eller att antalet prover var för lågt för att påvisa någon. Bland proverna med högre halter campylobacter var det utöver den ovan nämnda överrepresentationen för F38 bland prover med  $>100$  CFU/g endast F35 som var signifikant avvikande med en underrepresentation avseende andelen prover med  $>10$  CFU/g ( $p < 0,05$ , Fisher's exact test). Den högsta halten som påträffades var i ett prov från F38 med 17 400 CFU/g.



**Figur 3.** Antal analyserade prover uppdelade per slakteri/produktionsanläggning/ursprungsland samt hur många av dessa som var positiva för campylobacter totalt och med halter över 10 eller 100 CFU/g. Beteckningarna med F## eller endast nummer representerar olika svenska slakterier och produktionsanläggningar medan DK733, FI216, FRA och LVA002845 representerar dansk, finsk fransk respektive lettisk produktion. Röda och gröna cirklar anger statistiskt signifikant ( $p < 0,05$ , Fisher's exact test) över- respektive underrepresentation för specifika slakterier, produktionsanläggningar eller ursprungsländer och stjärnor indikerar hur denna över-/underrepresentation yttrar sig. För positiva prover är detektionsgränsen fynd i motsvarande 25 g kycklingkött.

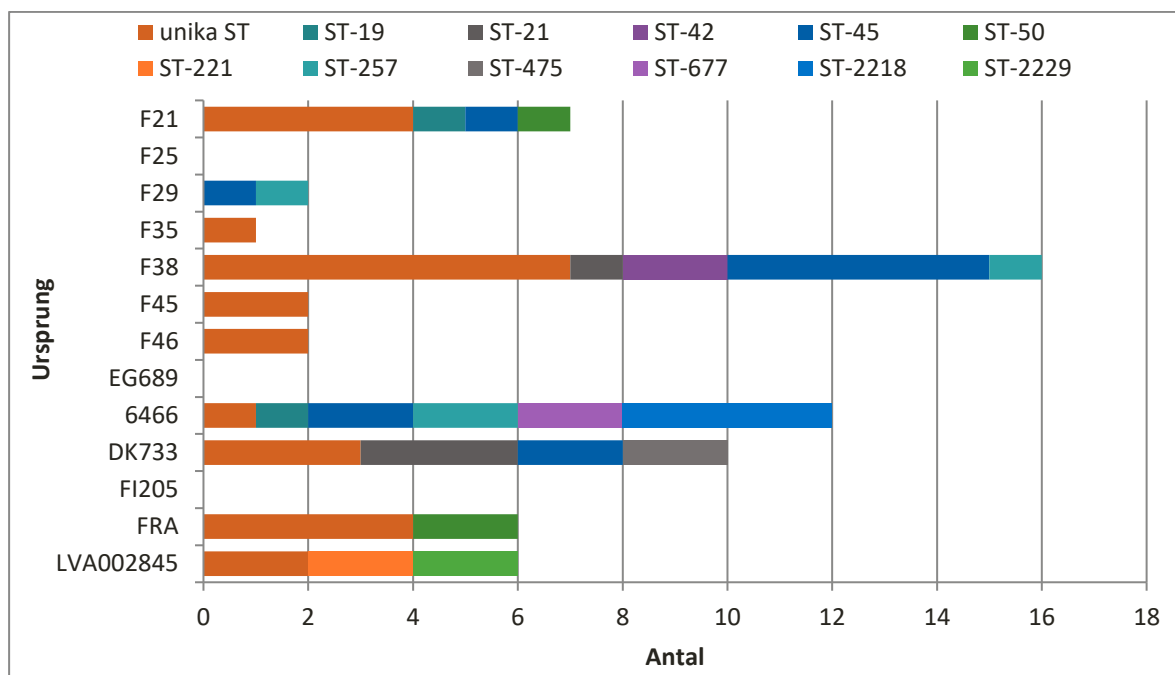
## Klassificering av isolat från människa och kycklingkött utifrån sekvenstyp

Under vecka 34 erhöles 98 campylobacterisolat från kliniska fall med Sverige som inrapporterat smittland och dessa härrörde från 17 av Sveriges 21 regioner/län. Detta motsvarade 65 % av det totala antalet inrapporterade inhemska sjukdomsfall under samma vecka (n=151). Nästan samtliga isolat (n=97) var av arten *C. jejuni* medan ett isolat var *C. coli*. Totalt identifierades 32 olika kända sekvenstyper (ST) bland de kliniska isolaten (Figur 4). I ytterligare fem fall kunde inte ST bestämmas, då det med största sannolikhet rör sig om nya typer som inte ännu klassificerats. Den vanligaste typen var ST-257 (n=18) som återfanns i åtta olika län/regioner. Även den näst vanligaste typen, ST-45 (n=11), återfanns i åtta olika regioner/län. Andra vanliga sekvenstyper var ST-21 och ST-42 som påträffades vid nio tillfällen vardera.



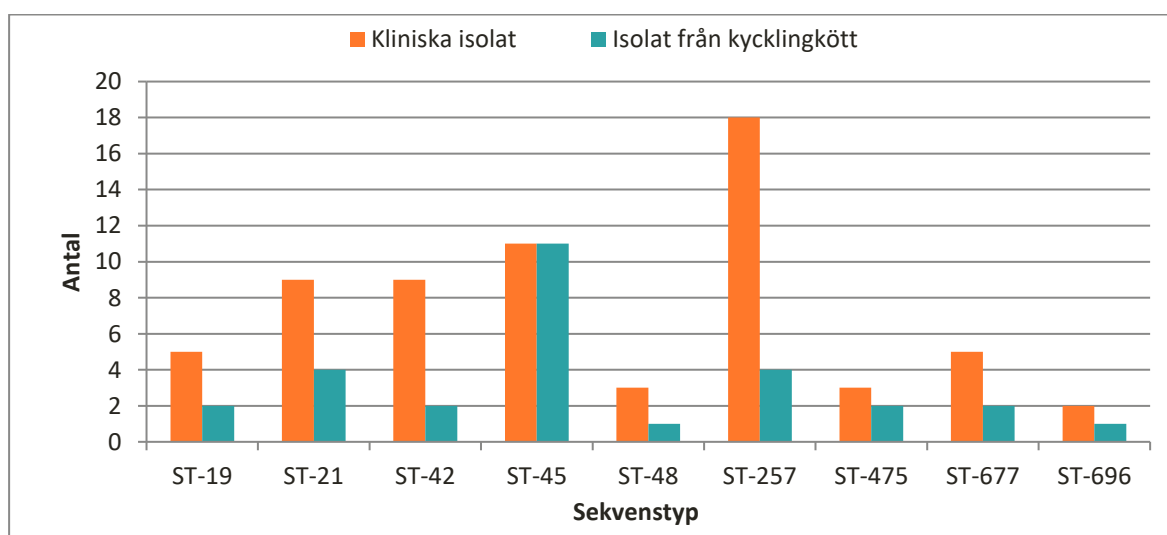
**Figur 4.** Sekvenstyper (ST) för de 98 kliniska isolat av campylobacter som samlades in från 17 av landets 21 regioner/län vecka 34 2018. Fem isolat för vilka en ST inte kunde bestämmas är samlade under kategorin ST-?.

De 61 positiva kycklingköttstesterna genererade totalt 64 olika isolat av campylobacter och av dessa var 57 *C. jejuni*, sex *C. coli* och ett *C. lari*. Sammantaget var dessa isolat fördelade mellan 37 olika ST, varav 26 påträffades vid enskilda tillfällen och elva återfanns mer än en gång (Figur 5). Vanligast var ST-45 som isolerades från elva olika kycklingköttstest härrörande från fem olika slakterier/produktionsanläggningar/ursprungsländer följt av ST-21, ST-257 och ST-2218 som påträffades vid fyra tillfällen vardera.



**Figur 5.** Sekvenstyper för de 64 isolat av campylobacter från kycklingkött som helgenomsekvenserats uppdelade utifrån ursprung. DK733 är danskt, FI205 finskt, FRA franskt och LVA002845 lettiskt medan övriga beteckningar representerar kött från svenska slakterier och produktionsanläggningar. Kategorin ”unika ST” innehåller både namngivna och ännu icke klassificerade ST.

En jämförelse mellan ST bland isolat från människa och isolat från kycklingkött visade att nio återfanns i båda provtyperna (Figur 6). Sammanlagt innefattade dessa gemensamma sekvenstyper 65 (66 %) av de kliniska isolaten och 29 (45 %) av isolaten från kycklingkött. Vanligast bland de gemensamma sekvenstyperna var ST-45 och ST-257 med sammanlagt 22 isolat per sekvenstyp, följt av ST-21 och ST-42 som identifierades hos sammanlagt 13 respektive 11 isolat.



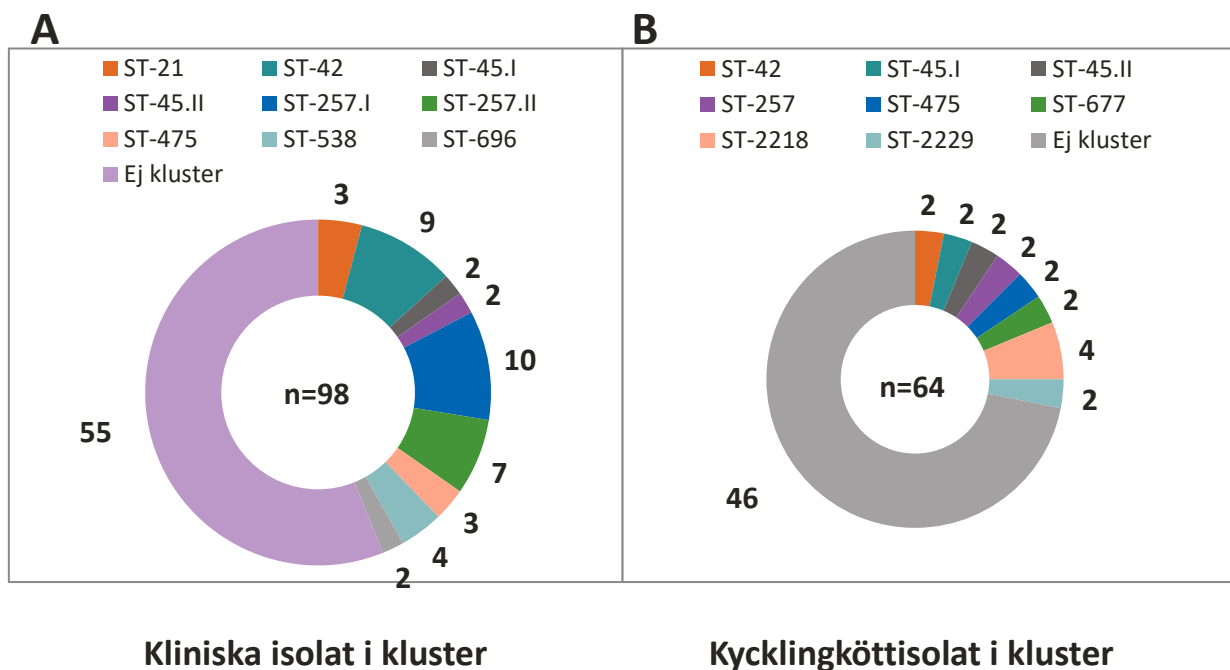
**Figur 6.** Sekvenstyper som delas mellan kliniska isolat och isolat från kycklingkött.



## Identifiering av genetiska kluster

En mer detaljerad genetisk jämförelse baserad på SNP-analys visade att 55 (56 %) av isolaten från människa var unika medan 43 (44 %) var nära identiska med ett eller fler andra isolat från människa. Dessa 43 isolat grupperades i nio genetiska kluster tillhörande sju olika sekvenstyper (Figur 7A). Av de största klustren tillhörde två ST-257 med tio respektive sju genetiskt mycket lika isolat. Ett tredje stort kluster med nio genetiskt nära identiska isolat tillhörde ST-42. Övriga kluster innehöll mellan två och fyra isolat vardera. Samtliga kluster innefattade isolat från två eller fler län/regioner.

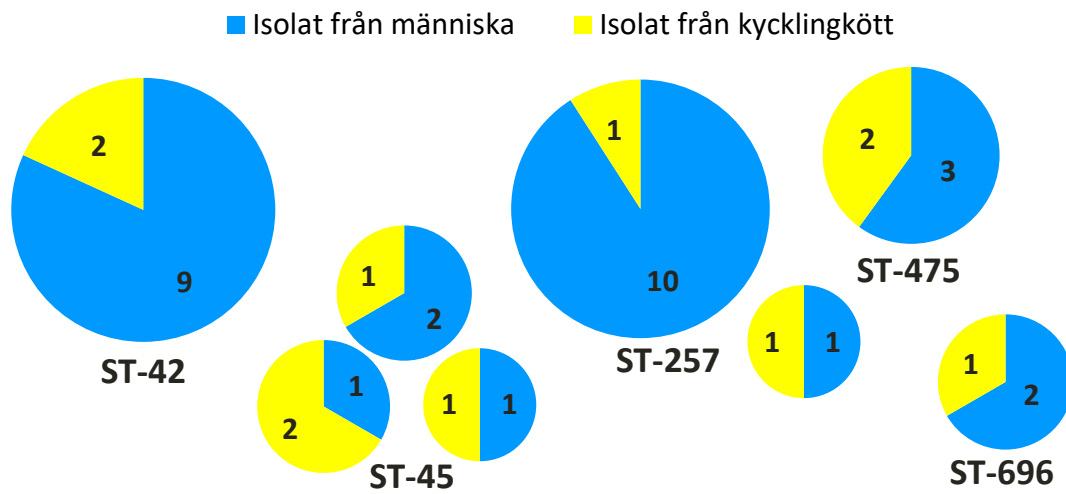
Efter SNP-analys av kycklingköttisolaten klassades 46 (72 %) som unika medan 18 (28 %) klustrade med något eller några andra kycklingisolat (Figur 7B). Dessa var fördelade mellan åtta olika kluster inom sju olika ST. Det största klustret bestod av fyra isolat tillhörande ST-2218 som samtliga härrörde från en och samma produktionsanläggning, fast med olika men i tiden närliggande produktionsdatum (ej visat). Övriga sju kluster, som alla bestod av två isolat, återfanns också hos enskilda producenter och oftast i produkter med närliggande produktionsdatum. I ett fall skilde det dock elva dagar mellan produktionsdatumen och i ett annat fyra dagar.



**Figur 7.** Sekvenstyper innehållande kluster med nära identisk sekvens bland kliniska isolat (A) och kycklingköttisolat (B). I figurernas mitt anges det totala antalet isolat som typats och antalet isolat som klustrar anges vid sidan av respektive STs färgkod. ST med fler än ett kluster är uppdelade utifrån respektive klusters storlek. Unika isolat, det vill säga isolat som inte klustrar representeras gemensamt i ljusgrått.

En motsvarande jämförelse mellan isolat från människa och kycklingkött visade att 29 (30 %) av isolaten från människa var genetiskt identiska eller nära identiska med ett eller två isolat från kyckling. Sammanlagt kunde åtta kluster med isolat från både människa och kycklingkött identifieras och dessa kluster hörde till fem olika ST (Figur 8). I de största klustren, som omfattade tio (ST-257) respektive nio (ST-42) isolat från människa återfanns isolat från kycklingkött producerad vid slakteri F38 (1 respektive 2 isolat). Även tre mindre kluster, två tillhörande ST-45 och ett ST-696, innefattade kycklingköttisolat från detta slakteri. Av de övriga klustren kunde två kluster med ett isolat vardera

från människa (ST-45 och ST-257) kopplas till kyckling från slakteri F29 medan det sista (ST-475), som hade tre isolat från människa, innefattade isolat från danskt kycklingkött.



**Figur 8.** Sekvenstyper innehållande kluster med nära identisk sekvens där isolat från både människa och kycklingkött ingår. Blå och gula andelar av cirklarna representerar isolat från människa respektive kycklingköttisolat med antalet angivet. Cirklarnas storlek är ungefärligt proportionerliga till det totala antalet klustrande isolat de representerar.

# Diskussion

Undersökningen av förekomst och halter av campylobacter i kycklingkött från butik visade att 61 % av 100 analyserade prover var positiva i augusti 2018. Detta är högre än under motsvarande kartläggning som genomfördes under augusti 2017 där campylobacter detekterades i 50 % av 100 prover (Dryselius och Jernberg 2018). Tre tidigare kartläggningar har visat mellan 16 och 43 % positiva prover (Livsmedelsverket 2005; Lindblad 2006; Livsmedelsverket 2017). Dessa undersökningar var dock genomförda helt eller delvis under andra tider på året då andelen kycklingflockar med campylobacter normalt är lägre (Statens Veterinärmedicinska Anstalt 2019). Därtill saknades både ekologiskt uppförd och utländsk kyckling i provunderlaget för två kartlägningsstudier som genomfördes 2002 och 2003.

Risken att drabbas av campylobacterinfektion ökar med antalet bakterier en person utsätts för och därför är även halterna på kycklingköttet av relevans. Sammantaget var dessa högre i augusti 2018 än vid de tidigare kartläggningarna och i jämförelse mot augusti 2017 hade andelen prover med över 10 CFU per gram kycklingkött ökat från 21 till 25 %. Även andelen prov med riktigt höga halter (>100 CFU/g) var högre i augusti 2018 (6 % jämfört med 3 % i augusti 2017).

Ökningen i förekomst och halter av campylobacter på kycklingköttet verkade inte vara generell utan snarare kopplad till specifika kategorier och producenter. Den största ökningen stod kategorin utländsk kyckling för, med nästan en fördubbling av andelen positiva prover och en ökning från 4 till 28 % för prover med halter över 10 CFU/g. En möjlig förklaring till detta är en signifikant ökad förekomst av campylobacter i dansk kyckling jämfört med augusti 2017. En annan möjlig bidragande orsak var att utbudet av finsk kyckling, i vilken campylobacter hittills inte detekterats, minskat kraftigt i butiksled samtidigt som lettisk kyckling med relativt hög campylobacterförekomst tillkommit vid kartläggningen 2018. Utöver ökningen bland utländskt kycklingkött syntes även en uppgång i andelen positiva prover och halter i produkter från Sveriges största slakteri F38. Hos denna producent återfanns dessutom fyra av totalt sex prover med halter över 100 CFU/g och toppnoteringen var hela 17 400 CFU/g. Slutligen kan tilläggas att den ojämna fördelningen av antalet hela kycklingar respektive styckdetaljer mellan kategorierna (Tabell 1) inte har påverkat resultaten nämnvärt då varken andelen positiva prover eller halterna campylobacter skilde sig signifikant mellan provtyperna.

Förekomst av campylobacter i kycklingflockar är säsongsbunden med en tydlig ökning under årets varma månader (Statens Veterinärmedicinska Anstalt 2019). En förklaring till den ökade förekomsten skulle därför kunna vara att sommaren 2018 var varm i jämförelse med sommaren 2017. Något som talar emot denna förklaring är dock att det varken bland övrig svensk konventionellt uppförd eller ekologiskt uppförd kyckling kunde ses någon ökning. Snarare observerades en tendens till minskning hos dessa båda kategorier (Figur 2).

Den närmare analysen av förekomst och halter på slakteri-, produktionsanläggnings- eller ursprungslandsnivå visade att det fanns en stor variation (Figur 3). Antalet prover från flera av slakterierna/produktionsanläggningarna/ursprungsländerna var dock mycket lågt vilket gör jämförelser osäkra. Det var bara två (F21 och dansk kyckling) som var signifikant överrepresenterade avseende förekomst av campylobacter medan två (F25 och F35) var signifikant underrepresenterade. F35, som är Sveriges näst största kycklingslakteri, hade dessutom en signifikant lägre andel prover med halter

över 10 CFU/g medan landets största slakteri, F38, var överrepresenterad avseende andelen prover med riktigt höga halter (>100 CFU/g).

Den absoluta majoriteten av isolaten från människa utgjordes av *C. jejuni* vilket noterats tidigare liksom även att *C. coli* ligger bakom en mindre andel fall (Kaakousch 2015). Också bland de 64 isolaten från kycklingkött var *C. jejuni* vanligast med 57 isolat följt av *C. coli* och *C. lari* som representerade fem respektive ett isolat. Framförallt *C. jejuni*, men även *C. coli* är vanligt förekommande hos kyckling medan *C. lari* är relativt ovanlig och snarare förknippas med vilda fågelarter (Miller 2014).

Typning med hjälp av helgenomsekvensering visade på en förhållandevis stor diversitet där 37 olika ST identifierades både bland de kliniska isolaten och bland isolaten från kycklingkött (Figur 4 och 5). Majoriteten av sekvenstyperna återfanns bara en gång och bland de typer som återkom mer än en gång innefattade de flesta fem eller färre isolat hos vardera provtyp. Vanligast bland prov från människa var ST-257 (18 isolat). Denna sekvenstyp orsakade ett vinterutbrott i Sverige 2015 där de genetiska analyserna pekade på att en stor kycklingproducent utgjorde källan. Klusteranalys mellan dessa äldre isolat och de som påträffats under augusti 2018, alltså tre år senare, visade en skillnad på 20-40 SNP. Detta kan tala för att det inte varit en nyintroduktion av denna typ i den svenska kycklingproduktionen eller dess närmiljö utan en variant som är etablerad och återkommande ger infektion hos människa. Sammantaget indikerar dock resultaten att det under augusti 2018 inte förekommit någon enskild dominerande utbrottstam med stor spridning bland både människor och kyckling på samma sätt som under 2017 (Folkhälsomyndigheten 2017; Livsmedelsverket 2017; Dryselius och Jernberg 2018).

Den mer detaljerade typningen baserad på SNP-analys visade att 44 % av isolaten från människa tillhörde genetiska kluster och därför delade ursprung med ett eller flera andra fall. Sammanlagt rörde det sig om nio olika kluster bestående av mellan två och tio isolat med identisk eller nära identisk arvs massa (Figur 7A). Samtliga kluster innefattade isolat från olika län/regioner vilket tyder på att den gemensamma smittkällan för respektive kluster varit geografiskt spridd. Ur ett epidemiologiskt perspektiv är detta intressant eftersom det då ofta rör sig om livsmedelsburen smitta snarare än smitta från exempelvis djurkontakt, bad- eller dricksvatten.

Av isolaten från kycklingkött grupperade sig 28 % i åtta olika genetiska kluster (Figur 7B). Ingen spridning av campylobacter mellan slakterier observerades eftersom varje enskilt kluster var förknippat med ett slakteri eller en produktionsanläggning. De klustrande isolaten härrörde istället från produkter med olika men oftast i tiden närliggande produktionsdatum. Några möjliga förklaringar till detta skulle kunna vara (i) att en kycklingflock med samma stam av campylobacter slaktats under två eller flera efter varandra följande dagar, (ii) att en stam av campylobacter har förts över mellan olika flockar på slakteriet/produktionsanläggningen eller (iii) att campylobacter har förts över mellan flockar redan på gården innan transport till slakt. I ett fall identifierades ett kluster med isolat härrörande från produkter med elva dagar mellan produktionsdatumen. En möjlig förklaring till detta skulle kunna vara att producenten tillämpar så kallad delad slakt där ett första deluttag av slaktkyckling görs ungefär 7-10 dagar före huvudslakten. Ett syfte med delad slakt, som bara praktiseras av vissa producenter, är att öka mängden producerat kycklingkött per yt-/tidsenhet i ett kycklingstall. Delad slakt medför dock att hygienbarriärerna till stallet bryts en extra gång vilket leder till ökad förekomst och ökade halter av campylobacter bland flockar (Allen 2008; Anonym 2013; Gregoriev 2017) och därmed en förhöjd risk i konsumentled.

Den jämförande SNP-analysen mellan isolat från båda provtyperna visade att 29 av de 98 isolaten från människa var genetiskt mycket nära besläktade med ett eller flera kycklingköttisolat (Figur 8). Detta indikerar att kontaminerat kycklingkött varit den bakomliggande orsaken till åtminstone 30 % av de inhemska sjukdomsfallen under vecka 34 2018. Av de 29 isolaten hade 26 stycken fördelade på sju olika kluster ett nära genetiskt släktskap med svensk konventionellt uppfödd kyckling medan ett kluster med de resterande tre isolaten var kopplat till dansk kyckling. Den tydliga överrepresentationen för svensk konventionellt uppfödd kyckling kan tyckas överraskande, men kan förklaras av en mycket dominerande ställning på marknaden för färskt kycklingkött. Mer överraskande var istället att ett enskilt slakteri (F38), förknippades med 24 isolat från människa fördelade på fem olika kluster.

Av flera skäl kan man anta att de 30 % isolat från människa som är genetiskt mycket nära besläktade med isolat från kycklingkött underskattar den verkliga andelen sjukdomsfall som kan relateras till kyckling. För det första var urvalet av det undersökta kycklingköttet begränsat till bara 100 prover. För det andra tillhörde 50 av dessa prover kategorierna Ekologiskt uppfödd kyckling och Utländsk kyckling som bara utgör en bråkdel av det totala utbudet i affär. För det tredje var kycklingköttet införskaffat i en begränsad del av landet (Stockholm-Uppsala) och från endast 25 olika butiker samtidigt som isolaten från människa samlats in från hela Sverige. Dessutom är det inte säkert att införskaffandet av kycklingköttprover helt matchar insamlingen av kliniska isolat i tid. Insamling av fler kycklingköttprover från hela landet under ett längre tidsspann samt med ett större fokus på svensk konventionellt uppfödd kyckling skulle därför kunna resultera i att en större andel sjukdomsfall kan kopplas till kyckling.

# Slutsatser

Denna studie visar att campylobacter är vanligt förekommande i färskt kycklingkött och att kyckling är en betydande orsak till campylobacterinfektion hos människa. Merparten av sjukdomsfallen med anknytning till kyckling kunde härledas till svensk konventionellt uppfödd kyckling, och mer specifikt till landets största slakteri. Sammantaget visar detta att stärkta åtgärder för att förhindra introduktion av campylobacter i kycklingproduktionen, framförallt hos stora producenter, har goda möjligheter att minska antalet sjukdomsfall hos människa.

# Referenser

- Allen, VM et al. 2008. Sources and spread of thermophilic *Campylobacter* spp. During partial depopulation of broiler chicken flocks. *J. Food Prot.* 71(2); 264-270.
- Anonym. 2013. *Campylobacter – ett nationellt strategidokument*. ISBN 978-91-7555-019-0.
- Dryselius R. och Jernberg C. 2018. *Campylobacter från butik och klinik – jämförelser under och efter utbrottet 2016-2017*. L-10:2018.
- EFSA 2010. Scientific opinion on Quantification of the risk posed by broiler meat to human campylobacteriosis in the EU. *EFSA Journal* 8(1); 1437.
- Folkhälsomyndigheten 2017. <https://www.folkhalsomyndigheten.se>, se Epidemiologisk typning av campylobacterisolat insamlade vecka 11 2017.
- Folkhälsomyndigheten 2019a. <https://www.folkhalsomyndigheten.se>, se statistik om campylobacter.
- Folkhälsomyndigheten 2019b. <https://www.folkhalsomyndigheten.se>, se Mikrobiella och immunologiska övervakningsprogram.
- Georgiev, M et al. 2017. Effect of enhanced biosecurity and selected on-farm factors on *Campylobacter* colonization of chicken broilers. *Epidemiol. Infect.* 145(3); 553-567.
- Kaakousch, NO et al. 2015. Global epidemiology of *Campylobacter* infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 28(3); 687-720.
- Lindblad, M et al. 2006. Microbiological baseline study of broiler chickens at Swedish slaughterhouses. *J. Food Prot.* 69(12); 2875-2882.
- Livsmedelsverket. 2005. *Campy-SET Campylobacter: Smittspårning, epidemiologi och typning*. Rapport 15-2005.
- Livsmedelsverket 2017. <https://www.livsmedelsverket.se>, se Förekomst och halter av *Campylobacter* i färsk kyckling från butik våren 2017.
- Miller, WG et al. 2014. Comparative genomics of the *Campylobacter lari* group. *Genome Biol. Evol.* 6(12); 3252-3266.
- NMKL 2007. Termotolerante *Campylobacter* – Påvisning, semi-kvantitativ og kvantitativ bestemmelse i levnedsmidler og drikkevand. Nordisk Metodikkommitté för Livsmedel, 119 3e utg., 2007.
- Skarin H. 2017. Swedish winter peaks of *Campylobacter* in humans and chicken are connected. The 19th International Workshop on *Campylobacter*, *Helicobacter* and Related Organisms. 20170910-14, Nantes, France. Abstract book p 120.
- Statens Veterinärmedicinska Anstalt 2019. <http://www.sva.se>, se information om *Campylobacter*programmet.
- Sundström K. 2018. Cost of illness for five major foodborne illnesses and sequelae in Sweden. *Appl. Health Econ. Health Policy* 16:243-257.

