

Mikroprofil Gris

Kartläggning av mikroorganismer på slaktroppar

av Mats Lindblad



**LIVSMEDELS
VERKET**

NATIONAL FOOD
ADMINISTRATION, Sweden

Produktion:

Livsmedelsverket, Box 622
SE-751 26 Uppsala, Sweden

Teknisk redaktör:

Merethe Andersen

Tryck:

Livsmedelsverkets repro
Uppsala 2006-01-17

Livsmedelsverkets rapportserie är avsedd för publicering av projektrapporter, metodprövningar, utredningar m m. I serien ingår även reserapporter och konferensmaterial. För innehållet svarar författarna själva.

Rapporterna utges i varierande upplagor och tilltrycks i mån av efterfrågan. De kan rekvireras från Livsmedelsverkets kundtjänst (tel 018-17 55 06) till självkostnadspris (kopieringskostnad + expeditonsavgift).

Projektgrupp

Mats Lindblad, projektledare
Roland Lindqvist
Gunilla Gålne
Klas Svensson
Sølvi Sørgerd
Karin Gustafsson

FoU / mikrobiologiska enheten
FoU / mikrobiologiska enheten
Tillsynsavgd. / enheten för köttillsyn
Tillsynsavgd. / enheten för köttillsyn
Tillsynsavgd. / enheten för köttillsyn
Avgd. för information och nutrition

Laborativt arbete

Catarina Carlsson
Catarina Nilsson
Kerstin Olsson
Lina Thebo
Christer Wiberg
Paula Ågren

FoU / mikrobiologiska enheten
FoU / mikrobiologiska enheten
FoU / mikrobiologiska enheten
FoU / mikrobiologiska enheten
FoU / mikrobiologiska enheten
FoU / mikrobiologiska enheten

Provtagning

Besiktningveterinärer och besiktningssassistenter samt personal på två småskaliga slakterier

Referensgrupp

Samrådsgruppen för mikrobiologisk livsmedelssäkerhet (SMIL)

Sammanställning av rapport

Mats Lindblad

Summary	4
Sammanfattning	5
Slutsatser ur ett riskhanteringsperspektiv	6
Inledning	8
Syfte	9
Förekomst av patogena mikroorganismer på gris	10
Förändringar av mikrofloran på gris under slaktprocessen.....	11
Provtagning av slaktkroppar	12
Material och metoder	14
Provtagning	14
Analyser	15
Statistisk bearbetning	17
Resultat.....	18
Totalt antal analyserade prov	18
Antal prov per slakteri.....	18
Baslinjedata från de tio största slakterierna i Sverige	20
Indikatorbakterier	20
Yersinia enterocolitica	22
Campylobacter	22
Salmonella.....	22
Listeria monocytogenes	22
VTEC	22
Koagulaspositiva stafylokocker	23
Jämförelser mellan småskaliga och storskaliga slakterier	24
Indikatorbakterier	24
Yersinia enterocolitica	26
Koagulaspositiva stafylokocker	26
Övriga bakterier	27
Samband mellan olika bakteriegrupper.....	28
Diskussion.....	30
Tack!	33
Referenser	34
Appendix 1	40

Summary

Reliable data on the occurrence of microorganisms from farm to table are necessary to improve our understanding and our possibilities to reduce the incidence of foodborne illnesses. Knowledge of the average occurrence of bacteria will also provide a baseline against which hygiene in the slaughterhouses can be evaluated. The baseline may also serve as a reference for evaluation of changes or future risk management actions.

The objective of this one-year survey was to estimate the prevalence and levels of selected pathogenic bacteria and indicator organisms on Swedish swine carcasses. In addition, the occurrence of bacteria on swine carcasses from low- and high-capacity slaughterhouses was compared. The results were also used to examine the relation between the levels of different indicator organisms and the occurrence of pathogenic bacteria.

The sampling was performed by swabbing of carcasses at four places (ham, back, belly and neck) directly after cleavage of the bodies, before chilling. All samples were sent to the National Food Administration for analysis. The ten largest slaughterhouses in Sweden (568 samples) and four low-capacity slaughterhouses (204 samples) were included in the study.

Baseline data from the ten largest slaughterhouses in Sweden show that none of the sampled carcasses were positive for *Salmonella*, and that the prevalences of *Campylobacter*, *Listeria monocytogenes* and verotoxin producing *Escherichia coli* (VTEC) were low (1, 3 and 1 %, respectively). Bacteria in the VTEC positive samples lacked other virulence genes (*eaeA*, *Hly*) needed to cause human illness. Pathogen *Yersinia enterocolitica* could not be cultivated from any sample, but 16 % of the samples tested positive by a PCR analysis. Coagulase positive staphylococci were found on about one third of the carcasses, in most in cases at low levels (<10 CFU/cm²). *E. coli* was isolated from about half of the samples and Enterobacteriaceae from close to 90 %. The levels of both these bacterial groups were in most cases lower than 10 CFU/cm². The levels of total aerobic microorganisms ranged from 10² to 10⁴ CFU/cm².

The percentage samples positive for *E. coli* and Enterobacteriaceae were higher at high-capacity slaughterhouses than low-capacity slaughterhouses. The prevalence or levels of other bacteria did not differ significantly between high-capacity and low-capacity slaughterhouses.

The mean level of Enterobacteriaceae was about 0.4 log CFU/cm² higher than the mean level of *E. coli* on carcasses positive for both bacterial groups. The probability of finding *Y. enterocolitica* and coagulase positive staphylococci on carcasses increased with increasing levels of *E. coli*.

This survey has presented data on the occurrence of different bacteria on swine carcasses. These data will improve our ability to assess the role of pork meat as a source of foodborne illness. The results will also be a support for different risk management actions in the slaughterhouses.

Sammanfattning

Syftet med Mikroprofil Gris var att upprätta en nationell baslinje över förekomst och halter av indikatorbakterier och patogena bakterier på slaktkroppar av gris. Dessutom jämfördes förekomsten av bakterier på slaktkroppar från små- och storskaliga slakterier. Resultaten användes också för att undersöka sambandet mellan förekomsten av indikatorbakterier och patogena bakterier.

Slaktkroppar provtogs genom att fyra ställen på kroppen (skinka, rygg, buk, hals) svabbades med kompress direkt efter urtagning och klyvning. Proverna skickades i kylådor till Livsmedelsverket för analys. De tio största storskaliga slakterierna i Sverige och fyra småskaliga slakterier ingick i undersökningen. Under ett år analyserades prover från 568 slaktkroppar från storskaliga slakterier och 204 från småskaliga slakterier.

Baslinjedata från de tio största slakterierna i Sverige visar att samtliga prov var negativa för *Salmonella* och att förekomsten av *Campylobacter*, *Listeria monocytogenes* och verotoxinproducerande *Escherichia coli* (VTEC) var låg (1, 3 respektive 1 %). Två slaktkroppar var positiva för *Campylobacter jejuni* och fyra för *C. coli*. Bakterierna i de VTEC positiva proverna saknade de vanligaste virulensgenerna (*eaeA*, *Hly*) som krävs för att de ska kunna orsaka sjukdom hos människor. Patogen *Yersinia enterocolitica* kunde inte isoleras från något prov genom odling men 16 % av proverna var positiva i PCR-analyser. Koagulaspositiva stafylokocker förekom på knappt en tredjedel av slaktkropparna, oftast i låga halter (< 10 CFU/cm²). *E. coli* isolerades från drygt hälften av proverna och knappt 90 % av proverna var positiva för Enterobacteriaceae. Flertalet positiva prov hade halter som var lägre än 10 CFU/cm² av båda bakteriegrupperna. Halterna av totalt antal aeroba mikroorganismer varierade oftast mellan 10² och 10⁴ CFU/cm².

Andelen prov per slakteri med *E. coli* eller Enterobacteriaceae var högre bland storskaliga än bland småskaliga slakterier. Bland småskaliga slakterier varierade andelen prov som var positiva för *E. coli* från 4 - 50 % och för Enterobacteriaceae från 7 - 80 %. Motsvarande andelar för storskaliga slakterier var 39 - 84 % respektive 68 - 100 %. Förekomst eller halter av andra bakterier skiljde sig inte signifikant mellan små- och storskaliga slakterier.

De genomsnittliga halterna av Enterobacteriaceae var knappt 0,4 log CFU/cm² högre än halterna av *E. coli* på slaktkroppar som var positiva för båda bakteriegrupperna. Sannolikheten att finna *Y. enterocolitica* och koagulaspositiva stafylokocker på slaktkroppar ökade med stigande halter av *E. coli*.

Resultaten av kartläggningen ger en förbättrad kunskap om förekomsten av olika mikroorganismer på slaktsvin direkt efter slakt. Detta är data som kan användas för att bedöma risken för att griskött ska utgöra en smittkälla för olika livsmedelsburna sjukdomar. Resultaten kan också utgöra ett stöd för utveckling av företagets egenkontroll och för att bedöma behovet av tillsynsåtgärder.

Slutsatser ur ett riskhanteringsperspektiv

Framtagna av Tillsynsavdelningen/Enheten för köttillsyn tillsammans med Samrådsgruppen för mikrobiologisk livsmedelssäkerhet (SMIL)

Vid värdering (revision) av HACCP-planer för slakt av svin måste kontrollmyndigheten kunna avgöra följande:

- Om livsmedelsföretagaren identifierat de hälsofaror som är signifikanta vid slakt av svin, dvs. har denne identifierat de agens som är kända för att orsaka hälsostörning hos konsument efter konsumtion av slutprodukter från svinslakt och för vilka det är nödvändigt att identifiera steg för styrning (CCP) på slakterinivå.
- Om de förfaranden för styrning som livsmedelsföretagaren inrättat är ändamålsenliga, dvs. effektiva om de följs.
- Om de förfaranden för verifiering av styråtgärderna som livsmedelsföretagaren inrättat är ändamålsenliga.

Följande resultat, slutsatser och andra uppgifter i rapporten ser vi som särskilt användbara när ovanstående avgöranden skall fällas:

- Resultaten bekräftar tidigare erfarenheter gällande *Salmonella* spp. Dagens styråtgärder i svinslakt fungerar effektivt, dvs. reducerar risken för *Salmonella* till en acceptabel nivå. Befintliga styråtgärder baserar sig på övervakning i mottagningssteget (levande djur) i vilket det säkerställs att endast djur från gårdar som inte är spärrade för *Salmonella* slaktas i ordinarie slakt.
- Av rapporten kan slutsatsen dras att hälsofarorna EHEC/VTEC och *Campylobacter* inte är att betrakta som signifikanta hälsofaror vid slakt av svin.
- Av rapportens litteraturgenomgång framgår att *Yersinia enterocolitica* är en signifikant hälsofara vid slakt av svin trots att bakterien inte kunde isoleras genom odling i studien. Bakterien är svår att kvantifiera varför provtagning och analys inte är en användbar verifieringsmetod för fortlöpande verifiering vid slakt. I rapporten identifieras ett möjligt samband mellan förekomst av presumtiva *E. coli* och *Yersinia*. Presumtiva *E. coli* utgör dessutom en säkrare indikation på fekal förorening än Enterobacteriaceae. Möjligheten att använda analys av presumtiva *E. coli* som indikator för *Yersinia* bör beaktas av både kontrollmyndigheten och livsmedelsföretagaren.

- Förekomsten av *Listeria monocytogenes* på slaktkroppar är låg. Inget i rapporten tyder på annat än att effektiva allmänna hygienåtgärder kan reducera risken till en acceptabel nivå.
- Halterna av koagulaspositiva stafylokocker på slaktkroppar är låga. Inget i rapporten tyder på annat än att effektiva allmänna hygienåtgärder kan reducera risken till en acceptabel nivå. Typning av stafylokock-stammarna kan vara aktuell som ett led i att bedöma kontaminationskälla.
- Resultaten pekar på att svabbprover ger haltdata med liten variation mellan slaktkroppar vid samma provtagningstillfälle. Provtagning med svabb har praktiska fördelar jämfört med destruktiv provtagning med borr. Svabbprover ger dessutom bättre möjlighet att följa förändringar av förekomsten av *E. coli* på slaktkroppar eftersom större ytor provtas. Ett underlag för att kunna sätta kriterier för bedömning av resultat vid användandet av svabbprover bör därför tas fram av Livsmedelsverket.

Inledning

Livsmedelssäkerhetsfrågor avgörs i allt större utsträckning med utgångspunkt från ett riskanalytiskt arbetssätt där och riskvärdering utgör en grund för olika hanteringsåtgärder. I det perspektivet är ett systematiskt insamlande av mikrobiologiska data för olika livsmedel och vid olika punkter i jord-till-bord-kedjan nödvändigt för att bygga upp ett underlag för att kunna identifiera och hantera problem.

Animala livsmedel, dvs kött och köttprodukter, har tillsammans med blandade rätter (där även kött ingår) varit den vanligaste livsmedelskategorin som utpekats vid matförgiftningar både i Mat Upp-projektet (SLV 1999) och i den ordinarie rapporteringen från kommunerna till Livsmedelsverket (Lindqvist *et al.* 2000; Lindqvist *et al.* 2004; Lindqvist *et al.* 2005). Detta visar på betydelsen av kunskap om förekomsten av patogena bakterier på gris och andra djurslag. Förekomsten av indikatororganismer och patogena bakterier på kyckling har tidigare kartlagts (Lindblad & Lindqvist 2003) och i en kommande studie planeras att beskriva förekomsten av bakterier på slaktkroppar av nötkreatur.

I det nationella tillsynsarbetet har behovet av den här typen av kartläggningar för att kunna besvara frågor rörande riktvärden och egenskaper hos bakterier aktualiserats. Data från denna studie kommer att utgöra ett stöd för att utvärdera enskilda slakterier utifrån deras egenkontroll, ge en bättre möjlighet att bedöma HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) -planer och ge ett underlag för arbetet med att ta fram mikrobiologiska kriterier. Resultaten från projektet kan också tjäna som en referens för kommande undersökningar och för utvärdering av framtida tillsynsåtgärder.

Syfte

Projektets syfte var att kartlägga förekomsten av sjukdomsframkallande bakterier (*Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, koagulaspositiva stafylokocker, VTEC) och ett urval indikatororganismer för fekal förorening och hygien (*Escherichia coli*, Enterobacteriaceae och totalt antal aeroba mikroorganismer) på slaktkroppar av gris. Avsikten var att ge en översiktlig bild för hela produktionen i Sverige, samt att beskriva eventuella skillnader i förekomst och halter av bakterier på storskaliga och småskaliga slakterier. Kartläggningen ska ge ett underlag för värdering och hantering av mikrobiologiska risker genom att:

- upprätta en baslinje för förekomst och i vissa fall halter av patogena bakterier och indikatororganismer på slaktkroppar från svenska slakterier
- jämföra förekomst och halter av olika bakterier på slaktkroppar från småskaliga och storskaliga slakterier
- undersöka sambandet mellan förekomsten av olika indikatorbakterier och patogena bakterier på slaktkroppar av gris

I projektet insamlades också stammar av olika bakterier som förekommer på gris. Dessa kan sedan karakteriseras med utgångspunkt från relevanta egenskaper som antibiotikaresistens, toxinbildning, virulensfaktorer mm. Karakterisering ingick inte i projektet utan kan komma att ske i följdprojekt, t ex inom ramarna för examensarbeten.

Förekomst av patogena mikroorganismer på gris

Yersinia enterocolitica är vanligt förekommande hos grisar, och fläskkött och fläskprodukter anses vara den främsta smittkällan till patogen *Y. enterocolitica* (Kapperud 1991; Ostroff *et al.* 1994). Bakterien finns både i tarmkanalen och i svalget hos grisar och vid slakt finns det risk för att den kan spridas från tarmar, tonsiller eller tunga till slaktkroppen (Nesbakken *et al.* 1994; Nesbakken *et al.* 2003). Det finns flera olika serotyper av *Y. enterocolitica*, varav flertalet inte orsakar sjukdom hos människor. Den vanligaste humanpatogena serotypen i Skandinavien är O:3, men även serotyp O:9 förekommer.

Campylobacter förekommer ofta i höga halter i tarmarna hos grisar. Trots detta är det ovanligt att man hittar den på griskött i handeln (Sørensen & Christensen 1997; Westöö & Lindberg 2002). Den vanligaste arten är *C. coli*, medan *C. jejuni* förekommer i mindre omfattning (Mafu *et al.* 1989; Adesiyun & Krishnan 1995; Sørensen & Christensen 1997). Båda arterna kan orsaka sjukdom hos människa men *C. jejuni* dominerar starkt bland isolat från patienter (Rønner *et al.* 2004).

I många länder är det vanligt att *Salmonella* finns på fläskkött. I Danmark och Nederländerna bedöms t ex att 10-15 % av dem som insjuknar i salmonellos har smittats via fläskkött (Berends *et al.* 1998; Hald *et al.* 2004). I Sverige är förekomsten av *Salmonella* mycket låg tack vare de omfattande åtgärder som vidtagits sedan 1960-talet (SVA 2004).

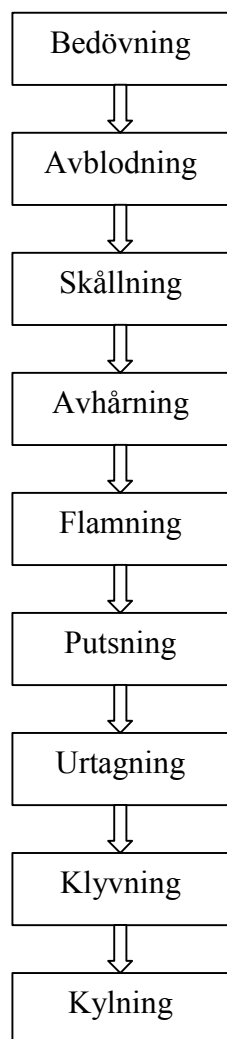
Listeria monocytogenes är en köldtålig bakterie som kan förekomma på en mängd olika platser i slakterier och andra livsmedelsanläggningar. Källan till *L. monocytogenes* på kött kan ofta vara verktyg och arbetsytor i slakteriet snarare än de slaktade djuren i sig. God hygien är därför en viktig åtgärd för att förhindra spridning av denna bakterie (Borch *et al.* 1996).

Staphylococcus aureus finns framförallt på huden, i sår och på slemhinnor hos djur och människor. Den kan också etablera sig på utrustning i slakteriet och kan därför, liksom *L. monocytogenes*, ses som indikatorbakterie för att utvärdera hygienåtgärder på en slakteri (Borch *et al.* 1996). Stammar av *S. aureus* som har förmågan att producera de toxiner som oftast är orsaken till matförgiftningar är vanligare hos människor än hos djur (Isigidi *et al.* 1992).

Verotoxinproducerande *Escherichia coli* (VTEC) kan förekomma hos gris, men i väsentligt lägre omfattning än hos nöt eller får (Beutin *et al.* 1993; Eriksson *et al.* 2003). Dessutom har VTEC stammar från gris oftast inte en fullständig uppsättning av de virulensgener som krävs för att de ska kunna orsaka sjukdom hos människor (Bouvet *et al.* 2002; Botteldoorn *et al.* 2003).

Förändringar av mikrofloran på gris under slaktprocessen

När slaktsvin anländer till slakteriet bär de på relativt höga halter av bakterier på skinnet, cirka 5 - 6 log CFU/cm² (Bolton *et al.* 2002; Pearce *et al.* 2004). Vid skällning och flamning/svedning av slaktkropparna sänks bakteriehalterna, men under slaktprocessen finns det risk för att kropparna förorenas av bakterier från mage och tarmar eller mun- och halsdelar (Gill & Jones 1998; Bolton *et al.* 2002). Bakterier kan också överföras till kött via utrustning eller verktyg i slakteriet.



Figur 1. Slaktprocessen fram till kylning

Avhårning efter skällning och putsning efter flamning/svedning är moment som medför att bakteriehalterna stiger eftersom skrap- och borstmaskiner är svåra att hålla rena och utgör en källa till bakterier (Gill & Bryant 1993; Borch *et al.* 1996; Yu *et al.* 1999; Bolton *et al.* 2002; Pearce *et al.* 2004).

Vid urtagning av mag- och tarmpaketet är det viktigt att ha bra rutiner för att förhindra att tarm- eller maginnehåll överförs till slaktkroppen. På en del slakterier försluts numera ändtarmen med en plastpåse, en åtgärd som minskar risken för förorening med bakterier från tarmen (Andersen *et al.* 1991; Nesbakken *et al.* 1994).

Under kylningen av slaktkropparna minskar ofta bakteriehalterna (Yu *et al.* 2001; Chang *et al.* 2003), men det finns också studier där högre halter av totalt antal aeroba mikroorganismer påvisats efter kylning (Gill 1998; Bolton *et al.* 2002; Pearce *et al.* 2004). Det är inte bara temperaturen i sig som påverkar halterna utan också i vilken grad som ytan på slaktkroppen torkar ut (Feldhusen *et al.* 1992; Gill 1998). *Campylobacter* är särskilt känsliga för den uttorkning som sker i samband med nedkylningen (Sørensen & Christensen 1997; Chang *et al.* 2003).

Tvättning av grisarna före eller under slakt har måttlig eller ingen effekt på halterna av bakterier på slaktkroppen (Gill 1998; Bolton *et al.* 2002).

Slaktprocessen skiljer sig en del mellan småskaliga och storskaliga slakterier. På många storskaliga slakterier skällas slaktsvinen hängande med ånga och avhåras därefter i en skrapmaskin, medan liggande skällning i varmt vatten (ca 60 °C eller mer) och avhårning ofta utförs i samma maskin vid småskalig slakt. Skällning i kar medför risk för att skällvatten kan tränga in i slaktkroppen via sticksåret i halsen men de termofila bakterier som dominerar i skällvattnen har liten betydelse för kvaliteten hos kött som kylförvaras (Sörqvist & Danielsson Tham 1986; Sörqvist & Danielsson Tham 1987). Vidare sker flamning och borstning manuellt på småskaliga slakterier. Färre personer är inblandade i slakten vilket innebär att samma slaktare utför fler moment jämfört med storskalig slakt. En jämförelse av mikrobiologisk köttkvalitet på små- och storskaliga slakterier i Sverige från 1998 visar att förekomsten av koagulaspositiva stafylokocker, liksom koliforma bakterier och *E. coli*, var lägre på småskaliga än på storskaliga slakterier (Hansson 1999). Halterna av totalt antal aeroba mikroorganismer var i genomsnitt lika höga, men varierade mer bland småskaliga än bland storskaliga slakterier.

Provtagning av slaktkroppar

I EU kommissionens beslut den 8 juni 2001 (2001/471/EG) ställs krav på att slakterier ska utöva egentillsyn enligt HACCP-principen. Beslutet upphör att gälla från och med den 1 januari 2006 men liknande krav kommer då att införlivas i den nya EU-förordningen om mikrobiologiska kriterier. I beslutet föreskrivs användning av destruktiv metod (borrprov, 4 x 5 cm²) eller av våt plus torr svabb (4 x 100 cm²) för bestämning av totala halter av aeroba mikroorganismer och av Enterobacteriaceae. Provtagning ska ske på fyra ställen på slaktkroppen, för svin på skinka, rygg, buk och käke. Efter det att lämpliga kriterier satts upp kan behörig myndighet godkänna att räkning av *E. coli* används som ett alternativ till Enterobacteriaceae.

I kommissionens beslut anges kriterier för indikatororganismer vid användning av borrprov (tabell 1). Om andra metoder än den destruktiva används skall mikrobiologiska kriterier för dessa fastställas och godkännas av den behöriga myndigheten. I Finland har Jord- och skogsbruksministeriet satt gränsvärden för dagliga medelvärden som är 0,5 logenheter lägre för provtagning med svabb (13/VLA/2003) än för borrprov, medan FSA i Storbritannien anger gränsvärden som är 0,7 logenheter lägre (FSA/0695/0502). Dessa gränsvärden bygger på antagandet att utbytet från svabbning motsvarar 20-30 % av resultat från destruktiv provtagning. I Sverige finns inga gränsvärden angivna för svabbmetoder.

Tabell 1. Medelvärden av de dagliga resultaten för godtagbara, gränsfall och ej godtagbara resultat av provtagning på svin med destruktiv metod (2001/471/EG)

	Godtagbart (log CFU/cm ²)	Gränsfall (log CFU/cm ²)	Ej godtagbart (log CFU/cm ²)
Totalt antal aeroba mikroorganismer	< 4,0	4,0 – 5,0	> 5,0
Enterobacteriaceae	< 2,0	2,0 – 3,0	> 3,0

Destruktiv provtagning anses ofta ge högre halter än svabbning, men svabbmetoder är enklare att använda och skadar inte slaktkroppen (Capita *et al.* 2004). Dessutom kan en större yta provtas, vilket minskar variationen i resultaten och ger en bättre möjlighet att uppskatta förekomsten av bakterier med låga halter på slaktkroppen, t ex *E. coli*. Utbytet av svabbning beror till stor del på vilken typ av svabb som används. Svabbning med våt + torr bomullstops ger lägre halter än strävare material som svampar eller kompresser av gasbinda (Dorsa *et al.* 1996; Gill & Jones 2000; Capita *et al.* 2004). Om sträva svabbar används kan halterna nå upp till 50 – 100 % av resultaten från destruktiv provtagning (Dorsa *et al.* 1996; Gill & Jones 2000; Pearce & Bolton 2005). Svabbning av en viss bestämd yta med eller utan provtagningsmall har också jämförts och resultaten visar att likartade resultat uppnåddes vare sig mall användes eller inte (Gill & Jones 1998; Gill & Jones 2000).

Material och metoder

Provtagning

För att ta fram en baslinje över förekomst och halter av olika bakterier på gris togs svabbprover från slaktkroppar på de tio största storskaliga slakterierna i Sverige. Dessa slaktar tillsammans 3 miljoner grisar vilket utgör 94 % av den inhemska produktionen. Antalet prov per slakteri var proportionellt mot den årliga slaktvolymen, vilket innebär att flest prov togs på de största slakterierna. Målsättningen var att analysera totalt 600 prov från storskaliga slakterier.

Dessutom togs prover från fyra småskaliga slakterier för att kunna jämföra förekomst och halter av olika bakterier på småskaliga och storskaliga slakterier. Definitionen av ett småskaligt slakteri är att färre än 20 slaktenheter slaktas per vecka och färre än 1000 enheter slaktas varje år (ett slaktsvin räknas som 0,2 slaktenheter). Urvalskriterier för de småskaliga slakterier som skulle ingå i studien var att antalet slaktade grisar skulle vara tillräckligt stort för att möjliggöra regelbunden provtagning (ca 750 - 1500 slaktsvin per år). Det måste också vara ett slakteri där det var praktiskt möjligt för Livsmedelsverkets personal att ta prover eller där slakteriet kunde ställa upp med egen personal. Målsättningen var att analysera totalt 200 prov från småskaliga slakterier (50 prov per slakteri).

Provtagningen pågick under ett år (13/9 2004 – 27/9 2005), med uppehåll för helger och semester under totalt tio veckor (vecka 52-1, 12, 18, 25, 29-31, 37). Med ett beräknat bortfall av analys på ca 10 % planerades initialt för att 880 prov skulle samlas in under projektåret. Antalet planerade prov utökades under projektets gång till 901. På samtliga storskaliga slakterier och på två av de småskaliga slakterierna skötte besiktningveterinärer och besiktningssassistenter provtagningen. På de två återstående småskaliga slakterierna togs proverna av slakteriets egen personal. En och samma person tog de flesta av proverna på ett storskaligt och ett småskaligt slakteri (C och J i figur 6 – 10). För att minska analysarbetet under veckohelger togs alla prover i början av veckan, på måndagar och tisdagar. Alla prover från småskaliga slakterier togs på måndagar då slakten normalt sker.

Vid provtagningen svabbades hela slaktkroppar av slaktsvin på fyra ställen (skinka, rygg, buk, hals; se bilder i Appendix 1). Provtagningsställena överensstämmer med kommissionsbeslut 2001/471/EG, förutom att halsen valdes istället för käken i enlighet med praxis för egenkontroll på de största svenska slakterierna. Proverna togs efter klyvning av slaktkropparna men innan kylning. En kompress fuktades med 10 ml buffrat peptonvatten innan provtagning och på vart och ett av de fyra provtagningsställena svabbades ca 10 x 10 cm² (totalt 400 cm²). En och samma kompress användes för alla fyra ytorna. Vid svabbningen använde provtagarna använde plasthandskar som byttes mellan varje slaktkropp. Efter provtagning tillsattes ytterligare 10 ml buffrat peptonvatten till varje kompress varefter de skickades i kylåda per post till Livsmedelsverket.

Vid ankomsten till Livsmedelsverket registrerades kompressernas temperatur med en IR termometer (Raytek[®] Raynger STTM). I likhet med tidigare baslinjestudier i USA (Eblen *et al.* 2005) bedömdes prover med temperaturer upp till och med 10 °C som helt godtagbara. Dessutom utfördes kvalitativa analyser på prover med temperaturer mellan 11-17 °C. Vid högre ankomsttemperaturer gjordes inga analyser.

Analyser

Efter tillsats av 90 ml buffrat peptonvatten (totalt 100 ml per kompress inklusive de 10 ml som tillsattes av provtagaren efter svabbning) kördes kompresserna i stomacher under 1 minut. Analyser på spädningsserier av homogenatet påbörjades samma dag som provet ankom. Samtliga prov analyserades kvantitativt (halter av bakterier) för *E. coli*, *Campylobacter* och koagulaspositiva stafylokocker samt kvalitativt (förekomst eller ej) för patogen *Y. enterocolitica*, *Salmonella* och VTEC. Koagulaspositiva stafylokocker utgörs huvudsakligen av *S. aureus* men det finns även två andra arter, *S. hyicus* och *S. intermedius*, som kan bilda koagulas (Roberson *et al.* 1992). Dessutom gjordes kvantitativa analyser växelvis i fyraveckorsperioder av totalt antal aeroba mikroorganismer respektive Enterobacteriaceae. För att minska arbetsbelastningen under helger utfördes kvalitativa analyser av *L. monocytogenes* bara på hälften av proverna, i första hand på de som anlände på tisdagar.

De analysmetoder som användes är huvudsakligen baserade på NMKL-metoder med vissa modifikationer i enlighet med Mikrobiologiska enhetens metodkatalog. Förutom metoder för analys av VTEC och kvantitativ bestämning av *Campylobacter* var samtliga metoder ackrediterade. De flesta av metoderna bygger på odling på agarplattor men i några fall användes även PCR-analyser.

I korthet analyserades presumtiva *E. coli* genom att 1 ml från homogenatet och från lämpliga spädningar blandades med smält trypton soja agar (TSA) och preinkuberades 1–2 timmar i rumstemperatur. Därefter övergjöts plattan med smält violetttröd galla glukos agar (VRGG) och inkuberades vid 44 °C i ett dygn. Enterobacteriaceae analyserades genom att 1 ml blandades med smält VRGG. Sedan agarn stelnat övergjöts denna med ett nytt tunt lager smält agar och inkuberades vid 37 °C i ett dygn. Analyser av aeroba mikroorganismer gjordes genom att blanda 1 ml från lämplig spädning med smält Plate Count agar (PCA) som sedan övergjöts med ett nytt tunt lager smält agar och inkuberades vid 30 °C i tre dygn.

Analyser av koagulaspositiva stafylokocker utfördes på Rabbitplasma Fibrinogen Agar (RPFA) som inkuberades i två dygn vid 37 °C. Inledningsvis spreds 0,1 ml av lämpliga spädningar på ytan av plattorna. På grund av att andelen positiva resultat visade sig vara lägre än förväntat utfördes från och med december 2004 även ingjutning av 1 ml av homogenatet. Därmed sänktes detektionsgränsen från 2,5 till 0,25 CFU/cm², vilket också var detektionsgränsen för övriga kvantitativa analyser.

Vid analyser av *L. monocytogenes* blandades först 25 ml av homogenatet med 225 ml Half Fraser (HF) buljong och primäranrikades vid 30 °C i ett dygn. Dag två överfördes 0,1 ml av buljongen till Fraser buljong för sekundäranrikning vid 37 °C i två dygn. Från svärtade rör gjordes utstryk på Hemolytic Ceftazidime Litium Chloride (HCLA) agar och på PALCAM agar som inkuberades vid 37 °C i ett dygn. Utstryk på selektiva agarplattor gjordes även från den primära anrikningsbuljongen.

Salmonella analyserades genom att 25 ml av homogenatet blandades med 225 ml buffrat peptonvatten (BPV) och preanrikades vid 37 °C i 18 timmar. Dag två överfördes 0,1 ml av buljongen till Rappaport Vassiliadis sojapepton (RVS) buljong och inkuberades i ett dygn vid 42 °C. Därefter gjordes utstryk på Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) agar och på mannitol lysin kristallviolett briljantgrönt (MLCB) agar. Agarplattorna inkuberades vid 37 °C i ett dygn.

Analyserna av *Y. enterocolitica* byggde på en kombination av odling på Yersinia Selective Agar (CIN) plattor och en PCR-metod (Thisted Lambertz *et al.* 2000). För att höja känsligheten i de fall då en första PCR-analys (PCR_I) av en anrikningsbuljong ger ett negativt resultat överförs 10 µl av PCR-produkten till en ny PCR-mix, varefter en andra PCR-analys (PCR_{II}) görs.

Campylobacter analyserades genom direktstryk (utan anrikning) av homogenat och lämpliga spädningar på blodfritt Campylobacter medium (CBFS). I den lägsta spädningen 1 ml av homogenatet på en stor agarplatta. Agarplattorna inkuberades vid 42 °C i två dygn. För konfirmering och artbestämning av presumtiva *Campylobacter* användes olika PCR-metoder (Fermer & Engvall 1999; Nogva *et al.* 2000; LaGier *et al.* 2004). I en första körning testades om isolat från CBFS var termofila *Campylobacter*. Positiva isolat analyserades sedan med realtids-PCR för *C. coli* respektive *C. jejuni*. Dessutom utfördes 16S rDNA sekvensering för artbestämning av olika isolat från CBFS plattor vid Rudbecklaboratoriet i Uppsala.

Förekomst av VTEC analyserades med en immunologisk metod, VTEC-Screen (Denka Seiken, Tokyo, Japan). Metoden bygger på Reversed Passive Latex Agglutination (RPLA) och detekterar verotoxin (*vt1* och *vt2*). Tjugofem ml av homogenatet blandades med 225 ml Modified Trypton Soy Broth (mTSB) med tillsats av mitomycin och anrikades vid 41,5 °C i ett dygn. Därefter utfördes toxinanalys på 1 ml av anrikningsbuljongen. Positiva prov analyserades med VIP för EHEC, en immunologisk metod för detektion av *E. coli* O157:H7. Olika PCR-metoder (Gannon *et al.* 1997; Paton & Paton 1998; Pass *et al.* 2000) användes för att kontrollera om det i positiva prov fanns gener för verotoxinproduktion (*vt1*, *vt2*, *vt2e*), andra virulensgener (*eaeA*, *hlyA*) eller den specifika genen för serotyp H7. Samtliga PCR-analyser av VTEC utfördes av Statens Veterinärmedicinska Anstalt.

Statistisk bearbetning

Den ursprungliga kvantitativa analysenheten, antal kolonibildande enheter (CFU) per ml, räknades om till CFU/cm² genom att dividera med provtagningsytans storlek (400 cm²) och multiplicera med den tillsatta volymen buffrat peptonvatten (100 ml).

Data från de tio största slakterierna i landet användes för att upprätta en baslinje för förekomst och halter av olika bakteriegrupper på slaktkroppar. Eftersom antalet prov per slakteri var proportionellt mot den årliga slaktvolymen ger denna baslinje ett mått på förekomsten av bakterier på slaktkroppar i svensk produktion. Alla genomsnittliga halter av bakterier är redovisade som medianvärden (CFU/cm²) och som medelvärde av logaritmerade värden (medel log CFU/cm²) från positiva prover. Medianvärdet motsvarar det mittersta värdet när haltdata från positiva prover ordnats från det lägsta till högsta.

Förekomsten av bakterier på slaktkroppar från små- respektive storskaliga slakterier jämfördes baserat på analysdata från de fyra småskaliga slakterierna och från de sex största storskaliga slakterierna. För de fyra övriga storskaliga slakterierna bedömdes antalet prov per slakteri för litet för att ta med data från dessa. Jämförelserna gjordes med Mann-Whitney (MW) test som är ett icke parametriskt test där alla observationer rankas från lägst till högst. Efter att observationerna rankats summeras rankingtalen för olika grupper. Är skillnaden stor pekar det på att grupperna skiljer sig åt.

Samtliga data från både små- och storskaliga slakterier användes för att undersöka samband mellan förekomst och halter av olika bakteriegrupper på slaktkroppar. Sambandet mellan förekomsten av indikatorbakterier och patogena bakterier prövades med χ^2 -test. Alla konfidensintervall för andelar positiva prov som visas i figurer är beräknade enligt Newcombe's metod (Newcombe 1998) med kontinuitetskorrektion.

Eftersom en stor andel negativa prov medförde att haltdata för Enterobacteriaceae och *E. coli* inte är normalfördelade användes ett icke parametriskt test, Spearmans rank korrelation, för att undersöka sambandet mellan halterna på samtliga slaktkroppar som analyserats för båda bakteriegrupperna. En beräkning av skillnaden i medelvärden (medel log CFU/cm²) gjordes också baserat på haltdata från enbart de slaktkroppar som var positiva för både Enterobacteriaceae och *E. coli*.

Resultat

Totalt antal analyserade prov

Av 901 planerade provtagningar på slaktkroppar föll 54 bort på grund av utebliven slakt, problem med utskick av provtagningsmaterial eller andra skäl. Av de 847 prov som skickades till Livsmedelsverket kunde 73 inte analyseras eftersom de ankom på en dag då analyser inte utfördes eller höll en temperatur över 17 °C. Dessutom höll 65 prov en temperatur mellan 11 och 17 °C vid ankomst och på dessa utfördes endast kvalitativa analyser. Analysresultaten från de 65 proverna med hög temperatur skiljde sig inte signifikant från resultaten från prover med ankomsttemperaturer under 11 °C (χ^2 -test, $P > 0,05$). Den huvudsakliga orsaken till att prov anlände för sent eller höll för hög temperatur var försenad postgång.

Totalt utfördes därmed kvalitativa analyser på 772 prov, varav 204 från småskaliga och 568 från storskaliga slakterier. Kvantitativa analyser utfördes på totalt 707 prov (166 och 541 från små- respektive storskaliga slakterier). Bortfall av analyser av enskilda bakteriegrupper förekom av olika orsaker. Tjugofem prov kunde inte analyseras för *Y. enterocolitica* på grund av misstanke om kontamination av proverna. Ett felaktigt analys-kit medförde att 17 prov inte analyserades för VTEC.

Antal prov per slakteri

För de fyra småskaliga slakterierna och de sex största storskaliga slakterierna anges antalet prov per slakteri och bakteriegrupp i tabell 4. Slakterierna har sorterats och namngetts i stigande ordning efter andelen *E. coli* positiva prov (småskaliga A-D och storskaliga E-J). Antalet analyserade prov från de fyra övriga storskaliga slakterierna (mellan 21 och 32 prov per slakteri) bedömdes som för litet för att medge jämförelser.

Tabell 4. Antal prov per slakteri och bakteriegrupp, samt totalt antal prov som godkänts för kvalitativa respektive kvantitativa analyser från varje slakteri.

Bakteriegrupp	Antal prov per slakteri									
	Småskaliga				Storskaliga					
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
<i>E. coli</i>	28	48	48	42	44	51	170	49	43	103
Enterobacteriaceae	15	26	30	20	12	20	87	22	25	41
Aeroba mikroorganismer	13	22	18	22	28	28	83	27	18	62
<i>Y. enterocolitica</i>	56	48	46	44	45	50	171	47	44	103
<i>Campylobacter</i>	28	48	48	42	44	50	170	49	43	106
<i>Salmonella</i>	56	53	51	44	48	50	180	49	46	106
Koagulaspos. stafylokocker*	28	43	33	27	32	35	124	30	31	71
<i>L. monocytogenes</i>	32	42	48	20	24	22	69	36	19	42
VTEC	52	48	51	44	48	50	178	49	47	106
<i>Totalt antal prov:</i>										
<i>kvalitativa analyser</i>	56	53	51	44	48	50	180	49	47	106
<i>kvantitativa analyser</i>	28	48	48	42	44	51	170	49	43	103

* endast prov analyserade med den lägsta detektionsgränsen, 0,25 CFU/cm²

Baslinjedata från de tio största slakterierna i Sverige

Indikatorbakterier

E. coli isolerades från drygt hälften av de provtagna slaktkropparna (tabell 2). Halterna på positiva slaktkroppar var oftast låga. Medianvärdet var 0,9 CFU/cm² (tabell 3) och merparten (95 %) av de positiva proven hade en halt som var lägre än 10 CFU/cm² (figur 2). Den högsta halten på en enskild slaktkropp var ca 2 500 CFU/cm².

Enterobacteriaceae fanns på 87 % av proverna (tabell 2). Halterna på positiva slaktkroppar var något högre än halterna av *E. coli*. Medianvärdet var 2,0 CFU/cm² (tabell 3). De flesta (90 %) av de positiva proven hade en halt som var lägre än 10 CFU/cm² (figur 3). Den högsta halten som uppmättes var 140 CFU/cm².

Halter av aeroba mikroorganismer kunde fastställas för samtliga analyserade prov utom ett (tabell 2). Medianvärdet var ca 2 700 CFU/cm² (tabell 3). Halterna på flertalet (89 %) av slaktkropparna varierade mellan 10² och 10⁴ CFU/cm² (figur 4). Den högsta halten som uppmättes var ca 57 000 CFU/cm².

Tabell 2. Andel positiva slaktkroppar. Data från de tio största svenska slakterierna

Bakteriegrupp	Totalt antal prov	Antal positiva	% positiva (95 % k.i.)
<i>E. coli</i>	541	306	57 (52 – 61)
Enterobacteriaceae	252	218	87 (82 - 90)
Aeroba mikroorganismer	283	282	100 **
<i>Y. enterocolitica</i>	542	85	16 (13 - 19)
<i>Campylobacter</i>	544	6	1 (0 - 2)
<i>Salmonella</i>	567	0	0 (0 - 0,8)
Koagulaspos. stafylokokker*	385	115	30 (25 - 35)
<i>L. monocytogenes</i>	260	8	3 (1 - 6)
VTEC	562	5	1 (0 - 2)

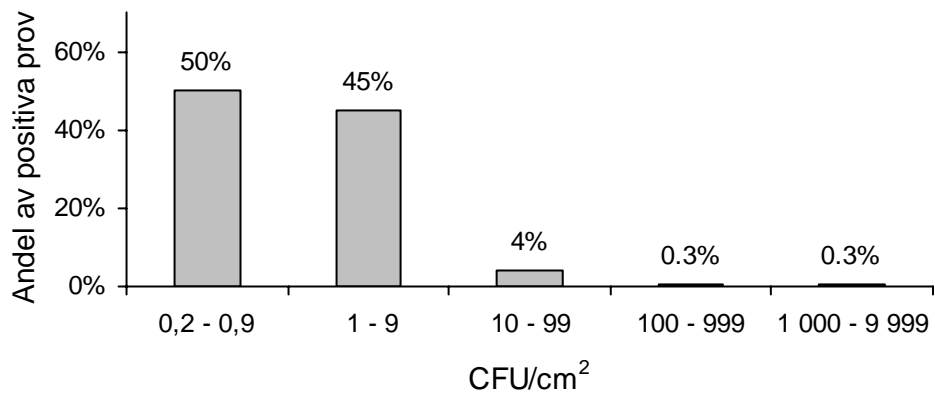
* endast prov analyserade med den lägsta detektionsgränsen, 0,25 CFU/cm²

** konfidensintervall ej relevant

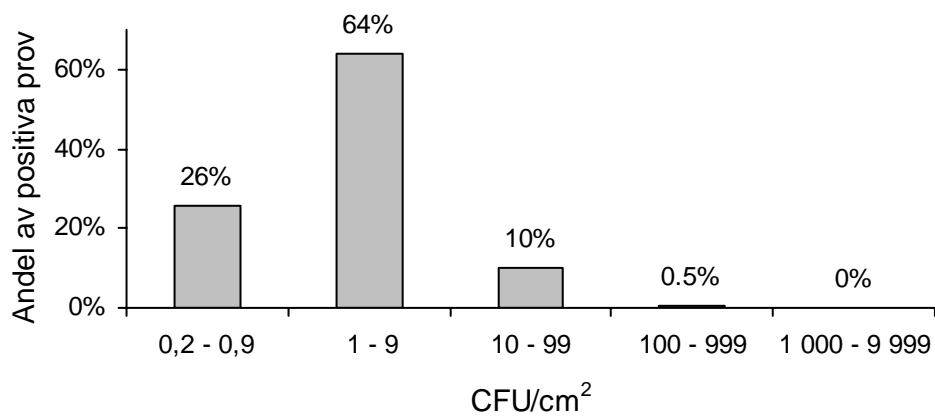
Tabell 3. Genomsnittliga halter på positiva slaktkroppar. Data från de tio största svenska slakterierna

Bakteriegrupp	Antal positiva prov	Median (CFU/cm ²)	Medel (log CFU/cm ²)	Standardavvikelse (log CFU/cm ²)
<i>E. coli</i>	306	0,9	0,1	0,6
Enterobacteriaceae	218	2,0	0,3	0,5
Aeroba mikroorganismer	282	2 693	3,5	0,7
<i>Campylobacter</i>	5	0,2	-0,6	0,2
Koagulaspos. stafylokokker*	115	0,7	0,0	0,7

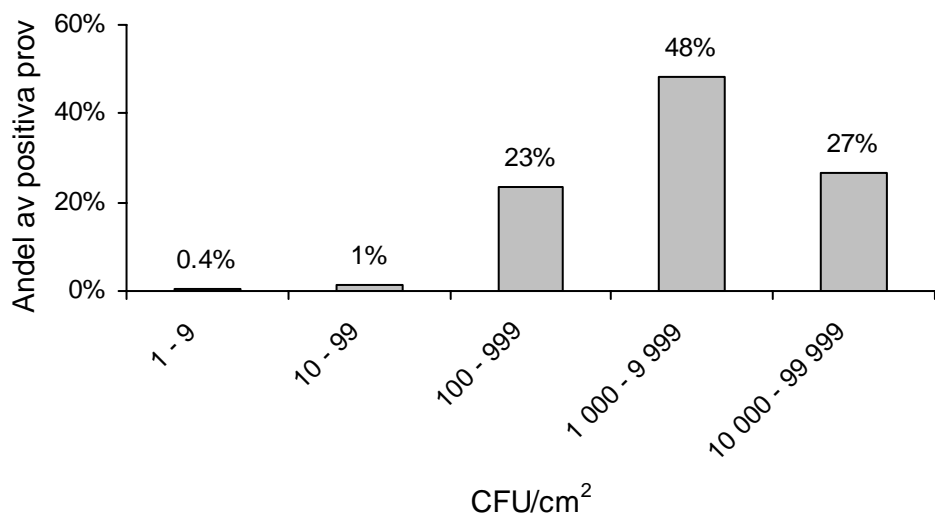
* endast prov analyserade med den lägsta detektionsgränsen, 0,25 CFU/cm²



Figur 2. Fördelning av halter av *E. coli* på 306 positiva slaktkroppar.



Figur 3. Fördelning av halter av Enterobacteriaceae på 218 positiva slaktkroppar.



Figur 4. Fördelning av halter av totalt antal aeroba mikroorganismer på 282 positiva slaktkroppar.

Yersinia enterocolitica

Patogen *Y. enterocolitica* kunde inte isoleras från något prov genom odling men 85 (16 %) av de 542 analyserade proven var positiva i PCR-analyser (tabell 2). Tjugotre prov var positiva i PCR_I och 62 prov enbart i PCR_{II}.

Campylobacter

Mikroskopering och PCR analyser av ett stort antal isolat från CBFS plattor visade att endast ett fåtal av kolonierna verkligen var *Campylobacter*. Sekvensering av 16S rDNA från några av isolaten pekade istället på att det kunde röra sig om arter ur släktena *Acinetobacter*, *Burkholderia* och *Brevundimonas*. En typ av koloni (stor, vit och utflytande) som ofta förekommer på CBFS plattor vid analyser av prover från slaktkroppar av både gris och kyckling identifierades som *Acinetobacter baumannii*.

Analyser med realtids PCR visade att sex (1 %) av 544 analyserade prov var positiva för *Campylobacter* (tabell 2). På samtliga positiva slaktkroppar var halterna lägre 1 CFU/cm² och medianvärdet var 0,2 CFU/cm² (tabell 3). Två slaktkroppar var positiva för *C. jejuni* och fyra för *C. coli*.

Salmonella

Samtliga 567 analysresultat var negativa. Det innebär att andelen smittade slaktkroppar under provtagningsperioden med 95 % sannolikhet var lägre än 0,8 % (tabell 2).

Listeria monocytogenes

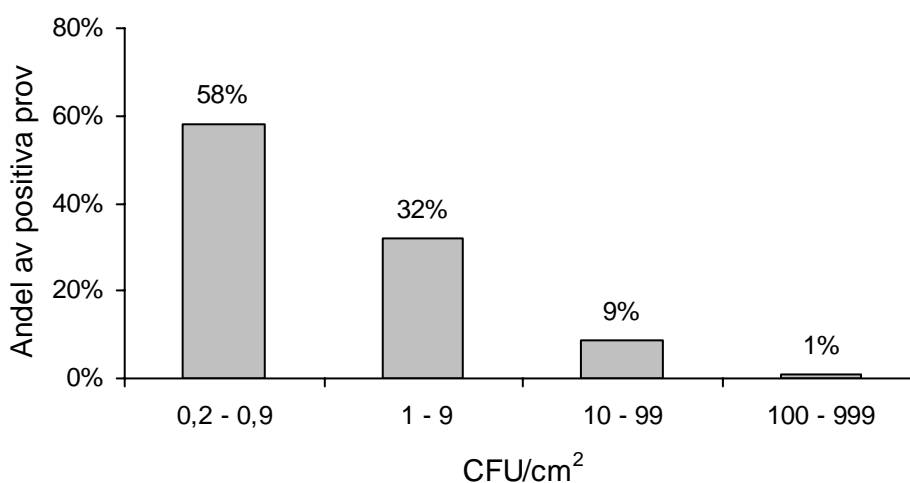
Åtta (3 %) av 260 analyserade prov var positiva för *L. monocytogenes* (tabell 2). Proverna kom från två slakterier där fyra av 36 prov, respektive fyra av 11 prov, var positiva.

VTEC

Fem (1 %) av 562 analyserade prov var positiva för VTEC (tabell 2). Inget av dessa prov var positivt för *E. coli* O157:H7 i snabbmetoden VIP för EHEC eller för *h7* gener i PCR. PCR-analyser bekräftade att det i fyra av proverna fanns bakterier med gener för produktion av verotoxin, medan ett prov var PCR-negativt. Två prov var positiva för verotoxin 1 (*vt1*), ett för verotoxin 2e (*vt2e*) och ett för både *vt1* och *vt2e*. Inget av proverna var positivt för virulensfaktorerna *eaeA* eller *hlyA*.

Koagulaspositiva stafylokocker

Totalt analyserades 543 prov, varav 158 med enbart ytspridning på agarplattor och 385 dessutom med ingjutning (detektionsgräns 2,5 respektive 0,25 CFU/cm²). Koagulaspositiva stafylokocker isolerades från en knapp tredjedel av de 385 prov som analyserades med den lägre detektionsgränsen (tabell 2). Om samtliga prov enbart hade analyserats med den högre detektionsgränsen skulle det ha resulterat i 6 % positiva prov. Halterna på positiva slaktkroppar var oftast låga, medianvärdet var 0,7 CFU/cm² (tabell 3). De flesta (91 %) av de positiva proven hade en halt som var lägre än 10 CFU/cm² (figur 5). Den högsta halten på en enskild slaktkropp var 600 CFU/cm².



Figur 5. Fördelning av halter av koagulaspositiva stafylokocker på 115 positiva slaktkroppar från storskaliga slakterier.

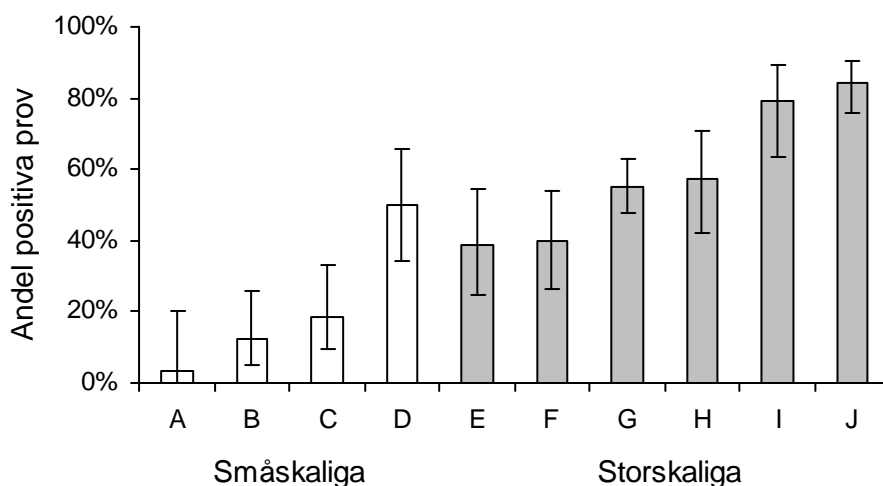
Jämförelser mellan småskaliga och storskaliga slakterier

Indikatorbakterier

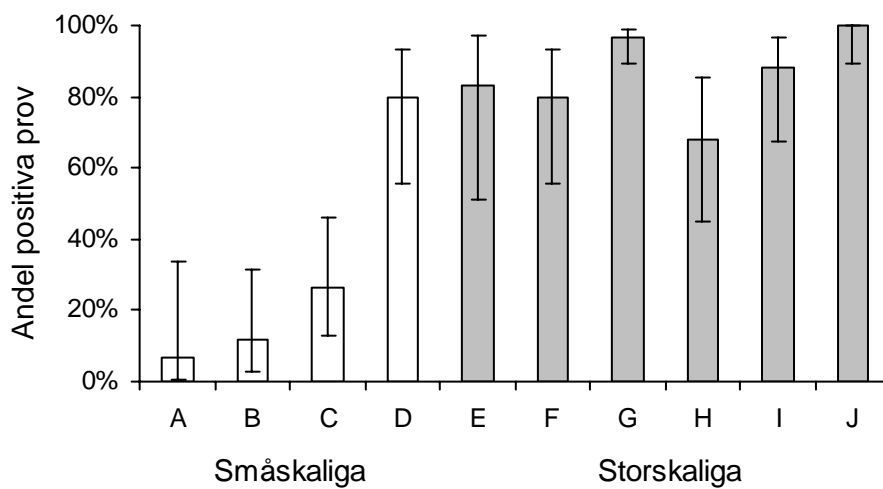
Andelen *E. coli* positiva prov per slakteri skiljde sig signifikant mellan små- och storskaliga slakterier (MW test, $P < 0,05$). Bland småskaliga slakterier varierade andelen positiva prov från 4 - 50 % och bland storskaliga slakterier från 39 - 84 % (figur 6).

Andelen prov med Enterobacteriaceae per slakteri skiljde sig också signifikant mellan små- och storskaliga slakterier (MW test, $P < 0,05$). Bland småskaliga slakterier varierade andelen positiva prov från 7 - 80 %, och bland storskaliga slakterier från 68 - 100 % (figur 7).

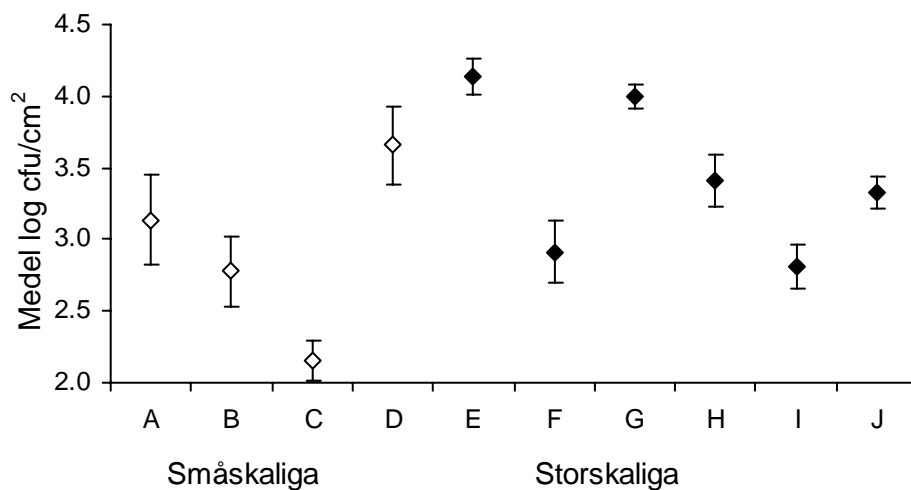
De genomsnittliga halterna av totalt antal aeroba mikroorganismer skiljde sig inte signifikant mellan små- och storskaliga slakterier (MW test, $P < 0,05$). Medelvärdena varierade mellan 2,2 - 3,7 log CFU/cm² på småskaliga slakterier, och mellan 2,9 - 4,1 log CFU/cm² på storskaliga slakterier (figur 8).



Figur 6. Andel prov med *E. coli* på småskaliga och storskaliga slakterier. Felstaplarna visar 95 % konfidensintervall.



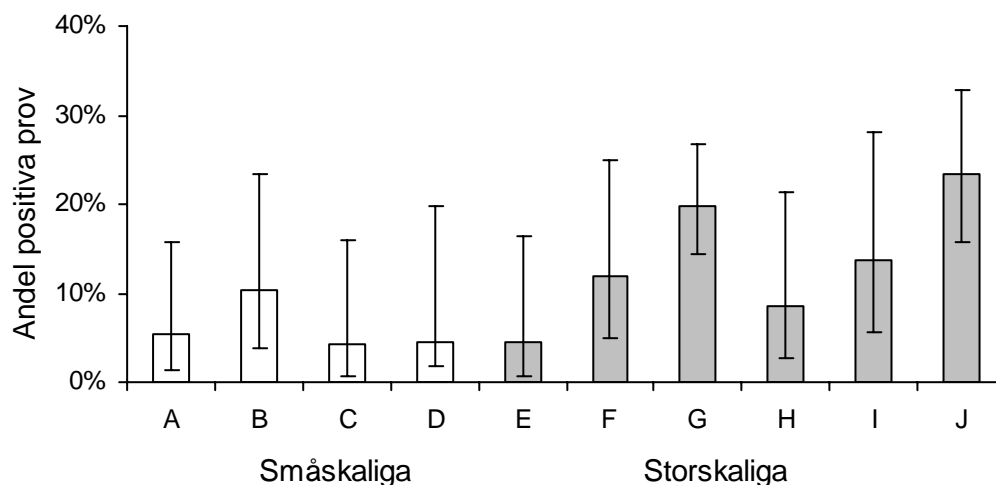
Figur 7. Andel prov med Enterobacteriaceae på småskaliga och storskaliga slakterier. Felstaplarna visar 95 % konfidensintervall.



Figur 8. Genomsnittliga halter av aeroba mikroorganismer på småskaliga och storskaliga slakterier. Felstaplarna visar 95 % konfidensintervall.

Yersinia enterocolitica

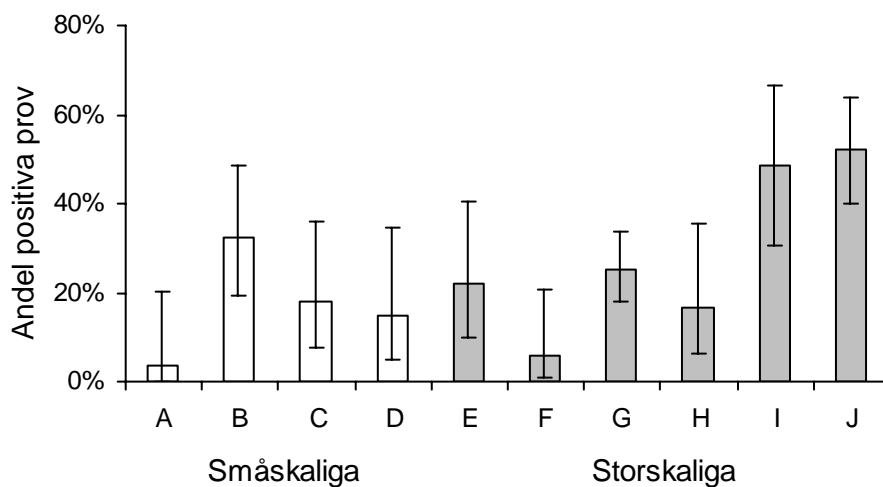
Andelen *Y. enterocolitica* positiva prov per slakteri skiljde sig inte signifikant mellan små- och storskaliga slakterier (MW test, $P > 0,05$). Bland småskaliga slakterier varierade andelen positiva prov från 4 - 10 %, och bland storskaliga slakterier från 4 - 23 % (figur 9). Av de totalt 12 positiva proven från småskaliga slakterier var två positiva i PCR_I och tio enbart i PCR_{II}.



Figur 9. Andel prov med *Y. enterocolitica* på småskaliga och storskaliga slakterier. Felstaplarna visar 95 % konfidensintervall.

Koagulaspositiva stafylokocker

Andelen prov per slakteri som var positiva för koagulaspositiva stafylokocker skiljde sig inte signifikant mellan små- och storskaliga slakterier (MW test, $P > 0,05$). Bland småskaliga slakterier varierade andelen positiva prov från 4 - 33 % och bland storskaliga slakterier från 6 - 52 % (figur 10).



Figur 10. Andel prov med koagulaspositiva stafylokocker på småskaliga och storskaliga slakterier. Felstaplarna visar 95 % konfidensintervall.

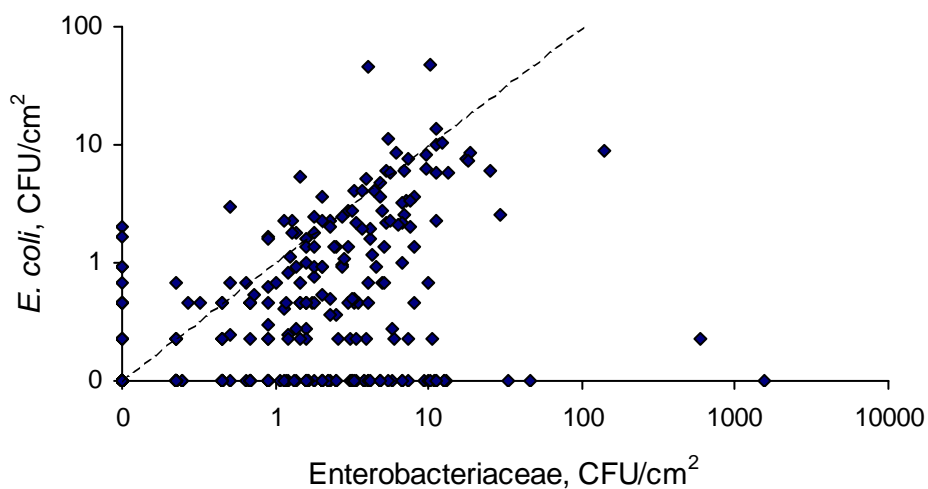
Övriga bakterier

Inga prov från småskaliga slakterier var positiva för *Campylobacter*, *Salmonella*, *L. monocytogenes* eller VTEC. Resultaten från provtagningen på storskaliga slakterier visar också att dessa bakterier är ovanliga på slaktkroppar i Sverige (tabell 2). Ett mycket större antal prover än de som tagits i denna undersökning skulle därför krävas för att kunna göra meningsfulla jämförelser mellan små- och storskaliga slakterier.

Samband mellan olika bakteriegrupper

Halterna av Enterobacteriaceae på enskilda slaktkroppar var oftast högre än halterna av *E. coli* från samma prov (figur 11). Som förväntat fanns det ett samband mellan de båda bakteriegrupperna (Spearman's rank korrelation, $P < 0,001$), men vissa prov höll höga halter av Enterobacteriaceae samtidigt som halterna av *E. coli* var låga eller under detektionsgränsen (figur 11).

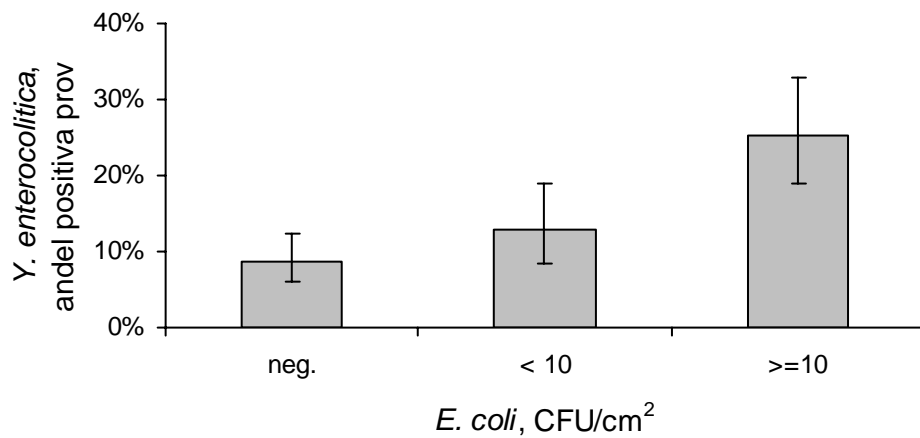
De genomsnittliga halterna av Enterobacteriaceae och *E. coli* på de totalt 148 slaktkroppar som vara positiva för båda bakteriegrupperna var 0,42 respektive 0,06 log CFU/cm². De genomsnittliga halterna av Enterobacteriaceae var således 0,36 log CFU/cm² högre än halterna av *E. coli* (95% konfidensintervall 0,28 - 0,44 log CFU/cm²).



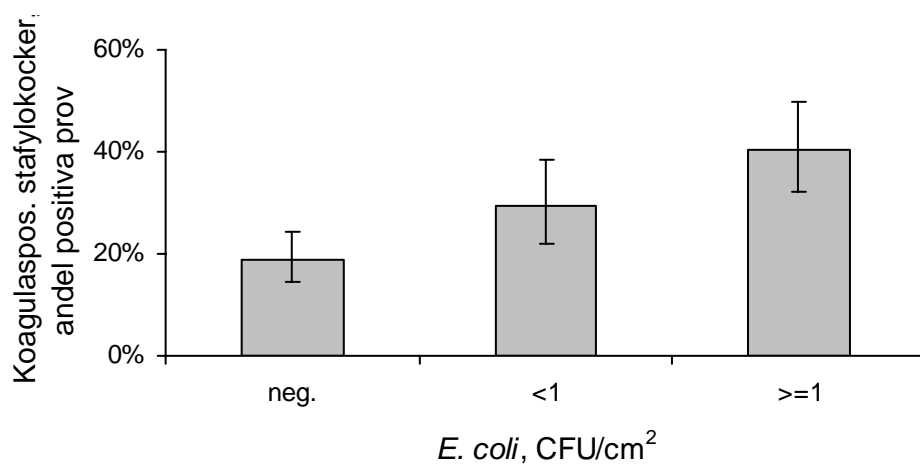
Figur 11. Samband mellan halter av Enterobacteriaceae och *E. coli* på 343 slaktkroppar från små- och storskaliga slakterier. Den streckade linjen har lutningen 1 (värden som ligger på denna linje är lika höga).

Om ett prov var positivt för *E. coli* så var sannolikheten för att provet också skulle innehålla *Y. enterocolitica* större än om provet var negativt (χ^2 -test, $P < 0,001$). Andelen prov där *Y. enterocolitica* påvisades ökade med stigande halter av *E. coli* (figur 12). Likaså var sannolikheten för att hitta koagulaspositiva stafylokokker på ett prov större om provet var positivt för *E. coli* (χ^2 -test, $P < 0,001$) och andelen positiva prov ökade med stigande *E. coli* halter (figur 13). Halterna av *E. coli* på de fem slaktkroppar som var positiva för VTEC var inte högre än normalt (två av proverna var negativa och den högsta halten var 1,1 log CFU/cm²).

Det fanns inga signifikanta samband mellan förekomst av Enterobacteriaceae eller halter av aeroba mikroorganismer och förekomst av någon patogen bakterie (χ^2 -test, $P > 0,05$).



Figur 12. Andel slaktkroppar som var positiva för *Y. enterocolitica* i förhållande till halter av *E. coli*. 692 prov från små- och storskaliga slakterier. Felstaplarna visar 95 % konfidensintervall.



Figur 13. Andel slaktkroppar som var positiva för koagulaspositiva stafylokocker i förhållande till halter av *E. coli*. 513 prov från små- och storskaliga slakterier. Felstaplarna visar 95 % konfidensintervall.

Diskussion

Baslinjedata för patogena bakterier från de tio största slakterierna i Sverige visar att samtliga provtagna slaktkroppar var negativa för *Salmonella* och att förekomsten av *Campylobacter*, *L. monocytogenes* och VTEC var låg (1, 3 respektive 1 %). Patogen *Y. enterocolitica* kunde inte isoleras från något prov genom odling men 16 % av de provtagna slaktkropparna var positiva i PCR-analyser. Koagulaspositiva stafylokocker påvisades på knappt en tredjedel av slaktkropparna.

Frånvaron av *Salmonella* 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* (SVA 2004). Det händer att *Salmonella* påvisas i svinbesättningar eller på slakterier men förekomsten är normalt mycket låg. Undantagsvis förekommer *Salmonella* i större omfattning som 2003 då *S. Cubana* hittades i 134 svinbesättningar (SVA 2004). Orsaken till utbrottet var foder kontaminerat med *Salmonella*.

På de sex slaktkroppar som var positiva för *Campylobacter* förekom både *C. jejuni* (två stycken) och *C. coli* (fyra stycken). Det vanligaste är annars att *C. coli* är den klart dominerande arten på grisar (Mafu *et al.* 1989; Adesiyun & Krishnan 1995; Sørensen & Christensen 1997). Förekomsten av *Campylobacter* på slaktkroppar varierar i hög grad mellan olika studier, men i vissa fall har bakterien påvisats på upp till två tredjedelar av provtagna slaktkroppar (Epling *et al.* 1993; Adesiyun & Krishnan 1995; Sørensen & Christensen 1997). Den låga förekomsten i Mikroprofilprojektet (1 % positiva prov) och de låga halterna (< 1 CFU/cm²) pekar på bakterien är ovanlig på slaktkroppar i Sverige. Eftersom proverna är tagna innan kylning kan man dessutom förvänta sig en minskning av halterna efter nedkylning. Resultaten från ett tidigare Riksprojekt där förekomsten av *Campylobacter* undersöktes i samarbete mellan Livsmedelsverket och landets kommuner visar också att bakterien var ovanlig på rått griskött. Endast 0,3 % av prover tagna i butiker var positiva för *Campylobacter* (Westöö & Lindberg 2002).

Resultaten visar att VTEC förekom i liten omfattning på de provtagna slaktkropparna men tyder inte på att något av proverna innehöll humanpatogena bakterier. Endast i fem prov påvisades verotoxin. I fyra av dessa bekräftade PCR-analyser förekomsten av gener för produktion av verotoxin (*vt1* och *vt2e*). Verotoxin 2e är ett toxin som orsakar ödemsjuka hos grisar men som sällan har kopplats till sjukdom hos människor (Pierard *et al.* 1998). PCR-resultaten visar också att proverna var negativa för några av de vanligaste virulensgenerna (*eaeA*, *hlyA*) som krävs för att bakterierna ska kunna orsaka sjukdom hos människor. Tidigare studier i Nederländerna och Frankrike har visat att gener för verotoxinproduktion kan påvisas i en relativt stor andel prov (upp till drygt 20 %) från levande grisar, slaktkroppar eller fläskkött (Bouvet *et al.* 2002; Botteldoorn *et al.* 2003). Bland de positiva proverna var *vt2e* vanligast och i båda studierna konstateras att humanpatogena VTEC ej kunnat påvisas.

Den låga förekomsten av *L. monocytogenes* på de provtagna slaktkropparna tyder på att slakteriernas rutiner för rengöring och desinfektion fungerar väl, åtminstone fram till den punkt då proverna togs. Undersökningar i andra länder pekar också på att förekomsten av bakterien normalt är låg på slaktkroppar, mellan 0 och 10 % (Nesbakken *et al.* 1994; Adesiyun & Krishnan 1995; Saide Albornoz *et al.* 1995; Fenlon *et al.* 1996; Autio *et al.* 2000; Kanuganti *et al.* 2002; Yeh *et al.* 2005). Under den fortsatta hanteringen kan förekomsten sedan öka. *L. monocytogenes* har t ex påträffats i upp till 80 % av prover av fläsk- eller blandfärs (Buncic 1991; Wendlandt & Bergann 1994; Duffy *et al.* 2001; Kanuganti *et al.* 2002). I Sverige har inte förekomsten i råa köttprodukter kartlagts, men ett tidigare Riksprojekt visar att *L. monocytogenes* fanns i 1 % av prover från ätfärdiga fläskprodukter som korv och skinka (Rosengren & Lindblad 2003). I projektet ingick egentligen inte provtagning av produkter som ska värmas innan konsumtion men 60 prover togs ändå av bacon och sidfläsk. Av dessa var drygt 10 % positiva för *L. monocytogenes*.

Mikroprofil Gris är den första stora kartläggningen i Sverige där en PCR-metod använts för att undersöka förekomsten av patogen *Y. enterocolitica* på slaktkroppar av gris. PCR-metoder är mycket känsliga och kan förväntas ge större andel positiva prov än traditionella odlingsmetoder (Fredriksson-Ahomaa *et al.* 1999; Johannessen *et al.* 2000; Boyapalle *et al.* 2001). I en finsk studie uppskattades t ex förekomsten av *Y. enterocolitica* på slaktkroppar av gris till 21 % med en PCR-metod, men bara till 6 % med en odlingsmetod. Traditionella metoder kan dock ge resultat som är jämförbara med PCR-metoder för prover där halterna av *Y. enterocolitica* är höga, som tarmar, inälvor eller tonsiller från gris (Fredriksson Ahomaa *et al.* 2000; Fredriksson Ahomaa *et al.* 2000; Nesbakken *et al.* 2003). Samma PCR-metod som i Mikroprofilprojektet har nyligen använts i ett Riksprojekt med syfte att kartlägga förekomsten av *Y. enterocolitica* på fläsk och fläskprodukter i svensk handel (Thisted Lambertz 2005). Resultaten visar att förekomsten av *Y. enterocolitica* i de vanligaste fläskprodukterna var något lägre än förekomsten på slaktkroppar. *Y. enterocolitica* fanns i 10 % av prover från obehandlat fläskkött och i 7 % av behandlade fläskprodukter.

Nackdelen med en PCR-metod är att det inte går att säga om de påvisade bakterierna är levande eller döda. Det faktum att inga kolonier av *Y. enterocolitica* kunde påvisas efter odling på agarplattor behöver dock inte innebära att det inte fanns levande bakterier i proverna, eftersom det på grund av bakgrundsfloran ofta är svårt att isolera *Y. enterocolitica* från CIN-plattor. Tvärtom är det rimligt att anta att det fanns levande bakterier på de positiva slaktkropparna, eftersom det inte finns något avdödningssteg mellan de moment där den huvudsakliga kontaminationen kan förväntas ske (urtag av tarmar och frigörande av hals- och mundelar) och provtagningen innan kylning.

Jämfört med den tidigare studien av mikrobiologisk köttkvalitet på fyra småskaliga och fyra storskaliga svenska slakterier från 1998 (Hansson 1999) visar resultaten från Mikroprofil Gris att förekomsten av koagulaspositiva stafylokokker har minskat på storskaliga slakterier. I Hanssons studie, som baserades på

svabbprov från totalt 200 cm² från skinkans/innanlåret insida och vid bröstbenets snittyta, varierade andelen positiva prov (> 1 CFU/cm²) per anläggning från 20 - 84 % bland storskaliga slakterier. Motsvarande siffror från Mikroprofilprojektet för landets sex största slakterier (omräknat till samma detektionsgräns som i den tidigare studien) var 2 - 20 %. Förekomsten av *E. coli* och de genomsnittliga halterna av totalt antal aeroba mikroorganismer skiljer sig mindre mellan undersökningarna. 1998 varierade andelen positiva prov per anläggning från 36 - 100 % bland storskaliga slakterier (Hansson 1999), vilket kan jämföras med 39 - 84 % i Mikroprofilprojektet. Den genomsnittliga halten av aeroba mikroorganismer på storskaliga anläggningar 1998 var 3,4 log CFU/cm² vilket stämmer väl överens med de aktuella resultaten (3,5 log CFU/cm²)(tabell 3).

Resultaten kan också jämföras en amerikansk undersökning där slaktkroppar av gris svabbades på skinka, sida och kåke efter kylning (Eblen *et al.* 2005). Kartläggningen genomfördes 1997-1998 och visar att förekomsten av *E. coli* på slaktkroppar från storskaliga slakterier i USA var i samma storleksordning som i Sverige (44 respektive 57 %). De genomsnittliga halterna på positiva prov var också jämförbara (0,0 respektive 0,1 log CFU/cm²). Eftersom halterna av *E. coli* kan förväntas sjunka under kylprocessen (Chang *et al.* 2003) är det möjligt att högre förekomst och halter skulle ha noterats i USA om proverna (i likhet med provtagningen i Mikroprofilprojektet) tagits innan kylning.

Andelen prov per slakteri med *E. coli* eller Enterobacteriaceae var högre bland storskaliga än bland småskaliga slakterier. Detta stämmer också överens med resultaten från den tidigare studien av förekomsten av bakterier på slaktkroppar från små- och storskaliga slakterier (Hansson 1999). Däremot visar resultaten från Mikroprofilprojektet inte på någon signifikant skillnad i förekomsten av koagulaspositiva stafylokocker, även om de högsta andelarna positiva prov noterades på storskaliga slakterier (figur 10).

Halterna av Enterobacteriaceae på positiva prov var låga och resultaten pekar på att svenska slakterier överlag bör klara att leva upp till gällande EU-kriterier för egenkontroll (tabell 1). Alla jämförelser måste dock göras med reservation för att kriterierna gäller för prov tagna med borrhälsmetod och att det i Sverige i dagsläget inte finns några gränsvärden angivna för svabbprover. Mindre än 10 % av proverna hade dock en halt som var högre än 10 CFU/cm² (dvs 1 log CFU/cm²) vilket ger en relativt god marginal till gränsvärdet för godtagbara dagliga medelvärden från borrhälsprov (2 log CFU/cm²). På flertalet slakterier var de genomsnittliga halterna av totalt antal aeroba mikroorganismer låga i förhållande till gällande gränsvärden, men det fanns också slakterier med relativt höga genomsnittliga halter. Det gällde främst två storskaliga slakterier (figur 8) där den genomsnittliga halten låg på eller strax över den övre gränsen för godtagbara dagliga medelvärden (4 log CFU/cm², se tabell 1).

Samband mellan indikatorbakterier och patogena bakterier är ofta svåra att fastställa, men resultaten från Mikroprofilprojektet visar att det fanns ett signifikant samband mellan förekomst av *E. coli* och bakterier som *Y. enterocolitica* och koagulaspositiva stafylokocker på slaktkroppar. *E. coli* är en indikator på fekal förorening, men bakterien kan också komma från munnen och halsdelarna på grisar (Gill & Jones 1997; Gill & Jones 1998). Kopplingen mellan *E. coli* och *Y. enterocolitica* måste alltså inte innebära att förekomsten av *Y. enterocolitica* berodde på fekala föroreningar, utan källan till kontaminationen kan också ha varit mun- och halsdelar. Resultaten pekar på att *E. coli* är en bättre indikator på förekomst av humanpatogena bakterier än Enterobacteriaceae, eftersom det inte gick att påvisa något tydligt samband mellan förekomst eller halter av Enterobacteriaceae och förekomst av patogena bakterier.

Tack!

Ett stort tack till besiktningsveterinärer, besiktningsassistenter och egen personal vid slakterierna som tack vare tålmodig provtagning gjort det möjligt att genomföra denna kartläggning. Tack också till Anna Aspán och Erik Eriksson på SVA för hjälp med VTEC analyser.

Referenser

- Adesiyun, A. A. and C. Krishnan (1995). Occurrence of *Yersinia enterocolitica* O:3, *Listeria monocytogenes* O:4 and thermophilic *Campylobacter* spp. in slaughter pigs and carcasses in Trinidad. *Food Microbiology* 12(2): 99-107.
- Andersen, J. K., R. Sørensen and M. Glensbjerg (1991). Aspects of the epidemiology of *Yersinia enterocolitica*: a review. *International Journal of Food Microbiology* 13(3): 231-237.
- Autio, T., T. Sateri, M. Fredriksson Ahomaa, M. Rahkio, J. Lunden and H. Korkeala (2000). *Listeria monocytogenes* contamination pattern in pig slaughterhouses. *Journal of Food Protection* 63(10): 1438-1442.
- Berends, B. R., F. Van Knapen, D. A. Mossel, S. A. Burt and J. M. Snijders (1998). Impact on human health of *Salmonella* spp. on pork in The Netherlands and the anticipated effects of some currently proposed control strategies. *International Journal of Food Microbiology* 44(3): 219-229.
- Beutin, L., D. Geier, H. Steinruck, S. Zimmermann and F. Scheutz (1993). Prevalence and some properties of verotoxin (Shiga-like toxin)-producing *Escherichia coli* in seven different species of healthy domestic animals. *Journal of Clinical Microbiology* 31(9): 2483-2488.
- Bolton, D.-J., R.-A. Pearce, J.-J. Sheridan, I.-S. Blair, D.-A. McDowell and D. Harrington (2002). Washing and chilling as critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point (HACCP) systems. *Journal of Applied Microbiology* 92(5): 893-902.
- Borch, E., T. Nesbakken and H. Christensen (1996). Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. *International Journal of Food Microbiology* 30(1-2): 9-25.
- Botteldoorn, N., M. Heyndrickx, N. Rijpens and L. Herman (2003). Detection and characterization of verotoxigenic *Escherichia coli* by a VTEC/EHEC multiplex PCR in porcine faeces and pig carcass swabs. *Research in Microbiology* 154(2): 97-104.
- Bouvet, J., M. P. Montet, R. Rossel, A. Roux, C. Bavai, S. Ray Gueniot, C. Mazuy, V. Atrache and C. Vernozy Rozand (2002). Prevalence of verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) and *E. coli* O157:H7 in French pork. *Journal of Applied Microbiology* 93(1): 7-14.
- Boyapalle, S., I. V. Wesley, H. S. Hurd and P. Gopal Reddy (2001). Comparison of culture, multiplex, and 5' nuclease polymerase chain reaction assays for the rapid detection of *Yersinia enterocolitica* in swine and pork products. *Journal of Food Protection* 64(9): 1352-1361.
- Buncic, S. (1991). The incidence of *Listeria monocytogenes* in slaughtered animals, in meat, and in meat products in Yugoslavia. *International Journal of Food Microbiology* 12(2/3): 173-180.

- Capita, R., M. Prieto and C. Alonso-Calleja (2004). Sampling methods for microbiological analysis of red meat and poultry carcasses. *Journal of Food Protection* 67(6): 1303-1308.
- Chang, V. P., E. W. Mills and C. N. Cutter (2003). Reduction of bacteria on pork carcasses associated with chilling method. *Journal of Food Protection* 66(6): 1019-1024.
- Dorsa, W.-J., C.-N. Cutter and G.-R. Siragusa (1996). Evaluation of six sampling methods for recovery of bacteria from beef carcass surfaces. *Letters in Applied Microbiology* 22(1): 39-41.
- Duffy, E. A., K. E. Belk, J. N. Sofos, G. R. Bellinger, A. Pape and G. C. Smith (2001). Extent of microbial contamination in United States pork retail products. *Journal of Food Protection* 64(2): 172-178.
- Eblen, D. R., P. Levine, B. E. Rose, P. Saini, R. Mageau and W. E. Hill (2005). Nationwide microbiological baseline data collected by sponge sampling during 1997 and 1998 for cattle, swine, turkeys, and geese. *Journal of Food Protection* 68(9): 1848-1852.
- Epling, L. K., J. A. Carpenter and L. C. Blankenship (1993). Prevalence of *Campylobacter* spp. and *Salmonella* spp. on pork carcasses and the reduction effected by spraying with lactic acid. *Journal of Food Protection* 56(6): 536-537.
- Eriksson, E., E. Nerbrink, E. Borch, A. Aspan and A. Gunnarsson (2003). Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 in the Swedish pig population. *Veterinary Records* 152(23): 712-717.
- Feldhusen, F., B. Woltering and R. Fries (1992). Bacteriological composition of pigskin surfaces during cold storage at various degrees of relative humidity. *International Journal of Food Microbiology* 15(1/2): 185-190.
- Fenlon, D. R., J. Wilson and W. Donachie (1996). The incidence and level of *Listeria monocytogenes* contamination of food sources at primary production and initial processing. *Journal of Applied Bacteriology* 81(6): 641-650.
- Fermer, C. and E. O. Engvall (1999). Specific PCR identification and differentiation of the thermophilic campylobacters, *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, and *C. upsaliensis*. *Journal of Clinical Microbiology* 37(10): 3370-3373.
- Fredriksson Ahomaa, M., J. Bjorkroth, S. Hielm and H. Korkeala (2000). Prevalence and characterization of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in pig tonsils from different slaughterhouses. *Food Microbiology* 17(1): 93-101.
- Fredriksson Ahomaa, M., T. Korte and H. Korkeala (2000). Contamination of carcasses, offals, and the environment with yadA-positive *Yersinia enterocolitica* in a pig slaughterhouse. *Journal of Food Protection* 63(1): 31-35.

- Fredriksson-Ahomaa, M., S. Hielm and H. Korkeala (1999). High prevalence of yadA-positive *Yersinia enterocolitica* in pig tongues and minced meat at the retail level in Finland. *Journal of Food Protection* 62(2): 123-127.
- Gannon, V. P., S. D'Souza, T. Graham, R. K. King, K. Rahn and S. Read (1997). Use of the flagellar H7 gene as a target in multiplex PCR assays and improved specificity in identification of enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains. *Journal of Clinical Microbiology* 35(3): 656-62.
- Gill, C. O. (1998). Microbiological contamination of meat during slaughter and butchering of cattle, sheep and pigs. *The microbiology of meat and poultry*. A. Davies and R. Board. London, UK, Blackie Academic & Professional: 118-157.
- Gill, C.-O. and J. Bryant (1993). The presence of *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Campylobacter* in pig carcass dehairing equipment. *Food Microbiology* 10(4): 337-344.
- Gill, C. O. and T. Jones (1998). Comparison of methods for sampling and enumerating *Escherichia coli* on pig carcasses. *Food Microbiology* 15(6): 617-623.
- Gill, C.-O. and T. Jones (1997). Assessment of the hygienic characteristics of a process for dressing pasteurized pig carcasses. *Food Microbiology* 14(1): 81-91.
- Gill, C.-O. and T. Jones (1998). Control of the contamination of pig carcasses by *Escherichia coli* from their mouths. *International Journal of Food Microbiology*: 44(1/2) 43-48.
- Gill, C.-O. and T. Jones (2000). Microbiological sampling of carcasses by excision or swabbing. *Journal of Food Protection*: 63(2) 167-173.
- Hald, T., D. Vose, H. C. Wegener and T. Koupeev (2004). A Bayesian approach to quantify the contribution of animal-food sources to human salmonellosis. *Risk Analysis* 24(1): 255-269.
- Hansson, I. (1999). Mikrobiologisk köttkvalitet vid små- respektive storskaliga slakterier. *Svensk Veterinärtidning* 51(5): 233-239.
- Isigidi, B. K., A. M. Mathieu, L. A. Devriese, C. Godard and J. v. Hoof (1992). Enterotoxin production in different *Staphylococcus aureus* biotypes isolated from food and meat plants. *Journal of Applied Bacteriology* 72(1): 16-20.
- Johannessen, G. S., G. Kapperud and H. Kruse (2000). Occurrence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in Norwegian pork products determined by a PCR method and a traditional culturing method. *International Journal of Food Microbiology* 54(1/2): 75-80.
- Kanuganti, S. R., I. V. Wesley, P. G. Reddy, J. McKean and H. S. Hurd (2002). Detection of *Listeria monocytogenes* in pigs and pork. *Journal of Food Protection* 65(9): 1470-1474.
- Kapperud, G. (1991). *Yersinia enterocolitica* in food hygiene. *International Journal of Food Microbiology* 12(1): 53-66.

- LaGier, M. J., L. A. Joseph, T. V. Passaretti, K. A. Musser and N. M. Cirino (2004). A real-time multiplexed PCR assay for rapid detection and differentiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Molecular Cellular Probes* 18: 275-282.
- Lindblad, M. and R. Lindqvist (2003). Mikroprofil Kyckling - Kartläggning av mikroorganismer på slaktkroppar. SLV rapport 21.
- Lindqvist, R., Y. Andersson, B. d. Jong and P. Norberg (2000). A summary of reported foodborne disease incidents in Sweden, 1992 to 1997. *Journal of Food Protection* 63(10): 1315-1320.
- Lindqvist, R., A. Westöö, M. Hjertqvist and Y. Andersson (2004). Rapporterade misstänkta matförgiftningar 2003. www.slv.se.
- Lindqvist, R., A. Westöö, M. Hjertqvist and Y. Andersson (2005). Rapporterade misstänkta matförgiftningar 2004. www.slv.se.
- Mafu, A. A., R. Higgins, M. Nadeau and G. Cousineau (1989). The incidence of *Salmonella*, *Campylobacter*, and *Yersinia enterocolitica* in swine carcasses and the slaughterhouse environment. *Journal of Food Protection* 52(9): 642-645.
- Nesbakken, T., K. Eckner, H. K. Hoidal and O. J. Rotterud (2003). Occurrence of *Yersinia enterocolitica* and *Campylobacter* spp. in slaughter pigs and consequences for meat inspection, slaughtering, and dressing procedures. *International Journal of Food Microbiology* 80(3): 231-240.
- Nesbakken, T., E. Nerbrink, O. J. Rotterud and E. Borch (1994). Reduction of *Yersinia enterocolitica* and *Listeria* spp. on pig carcasses by enclosure of the rectum during slaughter. *International Journal of Food Microbiology* 23(2): 197-208.
- Newcombe, R. G. (1998). Two-sided confidence intervals for the single proportion: comparison of seven methods. *Statistics in Medicine* 17: 857-872.
- Nogva, H. K., A. Bergh, A. Holck and K. Rudi (2000). Application of the 5'-nuclease PCR assay in evaluation and development of methods for quantitative detection of *Campylobacter jejuni*. *Applied Environmental Microbiology* 66(9): 4029-4036.
- Ostroff, S. M., G. Kapperud, L. C. Hutwagner, T. Nesbakken, N. H. Bean, J. Lassen and R. V. Tauxe (1994). Sources of sporadic *Yersinia enterocolitica* infections in Norway: a prospective case-control study. *Epidemiological Infection* 112(1): 133-141.
- Pass, M. A., R. Odedra and R. M. Batt (2000). Multiplex PCRs for identification of *Escherichia coli* virulence genes. *Journal of Clinical Microbiology* 38(5): 2001-2004.
- Paton, A. W. and J. C. Paton (1998). Detection and characterization of Shiga toxinogenic *Escherichia coli* by using multiplex PCR assays for stx1, stx2, eaeA, enterohemorrhagic *E. coli* hlyA, rfbO111, and rfbO157. *Journal of Clinical Microbiology* 36(2): 598-602.

- Pearce, R. A. and D. J. Bolton (2005). Excision vs sponge swabbing - a comparison of methods for the microbiological sampling of beef, pork and lamb carcasses. *Journal of Applied Microbiology* 98(4): 896-900.
- Pearce, R. A., D. J. Bolton, J. J. Sheridan, D. A. McDowell, I. S. Blair and D. Harrington (2004). Studies to determine the critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point systems. *International Journal of Food Microbiology* 90(3): 331-339.
- Pierard, D., G. Muyldermans, L. Moriau, D. Stevens and S. Lauwers (1998). Identification of new verocytotoxin type 2 variant B-subunit genes in human and animal *Escherichia coli* isolates. *Journal of Clinical Microbiology* 36(11): 3317-3322.
- Roberson, J. R., L. K. Fox, D. D. Hancock and T. E. Besser (1992). Evaluation of methods for differentiation of coagulase-positive staphylococci. *Journal of Clinical Microbiology* 30(12): 3217-3219.
- Rosengren, Å. and M. Lindblad (2003). Riksprojekt 2001. *Listeria monocytogenes* i kyld konsumtionsfärdig mat. SLV rapport 13.
- Rönner, A. C., E. O. Engvall, L. Andersson and B. Kaijser (2004). Species identification by genotyping and determination of antibiotic resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from humans and chickens in Sweden. *International Journal of Food Microbiology* 96(2): 173-179.
- Saide Albornoz, J. J., C. L. Knipe, E. A. Murano and G. W. Beran (1995). Contamination of pork carcasses during slaughter, fabrication, and chilled storage. *Journal of Food Protection* 58(9): 993-997.
- SLV (1999). MAT UPP - intensivstudie av matförgiftningar i Uppland under ett år. SLV-rapport 12.
- SVA (2004). Zoonoses in Sweden 2003. Uppsala, SVA.
- Sørensen, R. and H. Christensen (1997). *Campylobacter* i svinekød - et problem? *Dansk Veterinaertidsskrift* 80(10): 452-453.
- Sörqvist, S. and M. L. Danielsson Tham (1986). Bacterial contamination of the scalding water during vat scalding of pigs. *Fleischwirtschaft* 66: 1745-1748.
- Sörqvist, S. and M. L. Danielsson Tham (1987). Investigations into the growth of thermophilic bacilli in water used at vat scalding of pig carcasses. *Fleischwirtschaft* 67: 189-190.
- Thisted Lambertz, S. (2005). Riksprojekt 2004. Patogen *Yersinia enterocolitica* i obehandlade och behandlade fläskprodukter. SLV rapport 18.
- Thisted Lambertz, S., R. Lindqvist, A. Ballagi-Pordany and M.-L. Danielsson-Tham (2000). A combined culture and PCR method for detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in food. *International Journal of Food Microbiology* 57(1-2): 63-73.
- Wendlandt, A. and T. Bergann (1994). *Listeria monocytogenes*. Occurrence in a factory for slaughtering, carving and meat processing. *Fleischwirtschaft* 74(12): 1329-1331.

- Westöö, A. and T. Lindberg (2002). Riksprojekt 1 - *Campylobacter* i kött och vatten. SLV rapport 10.
- Yeh, K. S., S. P. Chen and J. H. Lin (2005). One-year (2003) nationwide pork carcass microbiological baseline data survey in Taiwan. *Journal of Food Protection* 68(3): 458-461.
- Yu, S. L., D. Bolton, C. Laubach, P. Kline, A. Oser and S. A. Palumbo (1999). Effect of dehairing operations on microbiological quality of swine carcasses. *Journal of Food Protection* 62(12): 1478-1481.
- Yu, S. L., P. H. Cooke and S. I. Tu (2001). Effects of chilling on sampling of bacteria attached to swine carcasses. *Letters in Applied Microbiology*. 2001 32(3): 205-210.

Appendix 1

Anvisning för provtagning av slaktkroppar

Mottagning av provlåda

- Innehåll: För vart och ett av de prov som ska tas medföljer en följesedel, en burk, en kompress, ett par handskar och två rör med provvätska. Dessutom finns i varje låda tre kylklampar, ett gummiband och en adresslapp för retur.
- Lägg kylklamparna i frys. De ska ligga platt så att de sedan går att stoppa ner i facken i lådan igen. Resten av materialet kan stå i rumstemperatur.

Tidpunkt för provtagning

- Slaktkropparna ska svabbas strax efter klyvningen, innan kylning
- Ta prover under förmiddagen när produktionen kommit igång, välj inte dagens allra första grisar (gäller främst storskaliga slakterier). Proverna behöver inte fördelas mellan olika slaktgrupper
- Följ provtagningsplanen och ta prover på rätt dag, viktigt för arbetet i labbet

Val av slaktkropp

- Endast slaktsvin, inte suggor eller galtar
- Viktigt att slaktkroppar väljs slumpmässigt. Välj godtyckligt ut en slaktkropp som startpunkt, och ta sedan prov på en kropp som kommer ett förutbestämt antal senare (t ex den tionde eller den femtonde). På småskaliga slakterier kan det vara svårare att välja helt slumpmässigt, men sträva efter att inte styra provtagningen till vissa slaktkroppar

Provtagning

- Sätt på handskar
- Håll ett rör med provvätska på kompressen i burken. Ta ur kompressen ur burken och krama ur kompressen (överflödigt vätska ska inte tillbaka i burken)
- Svabba den ena halvan av slaktkroppen på fyra ställen: skinka, rygg, sida och hals. På varje ställe ska en yta på ca 10x10 cm svabbas med så stor kraft som möjligt, tio gånger vågrätt och tio gånger lodrätt. Observera att det alltså bara är en kvadrat-decimeter på varje ställe som ska provtas, samma storlek som kompressen så jämför med den. Börja svabba uppifrån på skinkan och gå nedåt, en och samma kompress för alla fyra ställena. Svabba nära snittytorna men bara på svålen (se bilder)
- Lägg kompressen i burken igen, håll på provvätskan ur det andra röret, sätt på locket och sätt burken i lådan. De tomma rören för provvätska ska också tillbaka i lådan
- Fyll i följesedeln
- Upprepa för nästa prov, byt handskar mellan varje

Transport

- Lägg kylklamparna i provlådans fack direkt efter provtagningen, stäng locket och stoppa in lådan i skyddskartongen. Dra gummibandet runt kortsidorna på lådan och sätt på adresslappen
- Se till att proverna går iväg med posten samma dag som de tas

Provtagningsytor

Rygg, sida och hals



Skinka



Hals (närbild)

Valfritt att ta prov på kroppshalvan med eller utan huvud



Sida (närbild)



Foto: Åke Sagler/Mats Lindblad, Uppsala

1. Verksamhetsplan 2005.
2. Collaborative study of method for detection of *Escherichia coli* O157 in food – NMKL no 164, 1999, by C Normark.
3. Proficiency Testing – Food Chemistry, Trace Elements in Food, Round T–10 by C Åstrand and L Jorhem.
4. Utvärdering av första etappen av projektet God livsmedelskvalitet i Västernorrland av H Nordenfors och U Fäger.
5. Lunchmat i Uppsala 2001 – Undersökning av matens energi- och fettinnehåll av H Karlén Nilsson, M Arnemo och W Becker.
6. Projektinriktad kontroll 2004. Ursprung och identitet av kött infört från annat EU-land av U Evans Cederlund.
7. Interkalibrering av laboratorier. Mikrobiologi – Livsmedel, januari 2005 av C Normark och C Gunnarsson.
8. Proficiency Testing – Food Chemistry, Nutritional Components in Food, Round N-35, by L Merino.
9. Normerande inspektioner av storhushåll 2002–2003. Resultat från normerande inspektioner av storhushåll i samband med kommuninspektion av U Lantz och D Rosling.
10. A Risk Assessment of Uranium in Drinking Water by K Svensson, P O Darnerud and S Skerfving.
11. The Component Aspect Identifier – A Tool for Handling Food Component Information in a Food Database Management System by I Unwin and W Becker.
12. Rapportering om livsmedelstillsyn 2004 – Tillsynsmyndigheternas rapportering om livsmedelstillsyn av D Rosling.
13. Interkalibrering av laboratorier. Mikrobiologi – Dricksvatten 2005:1, mars av T Šlapokas och C Gunnarsson.
14. Interkalibrering av laboratorier. Mikrobiologi – Livsmedel, april 2005 av C Normark, K Mykkänen och C Gunnarsson.
15. Campy-SET, Campylobacter: Smittspårning, epidemiologi och typning.
16. Kontroll av rests substanser i animalier och animaliska livsmedel av I Nordlander och H Green.
17. The Swedish Monitoring of Pesticide Residues in Food of Plant Origin: 2004, EC and National Report by A Andersson and A Jansson.
18. Riksprojekt 2004: Patogen *Yersinia enterocolitica* – i obehandlade och behandlade fläskprodukter av S Thisted Lambertz.
19. Rapportering av dricksvattentillsyn 2003 – Tillsynsmyndigheternas rapportering om dricksvattentillsyn av D Rosling.
20. Swedish Nutrition Recommendations Objectified (SNO) – Basis for general advice on food consumption for healthy adults by H Enghardt Barbieri and C Lindvall.
21. Proficiency Testing – Food Chemistry, Trace Elements in Food, Round T–11 by C Åstrand and L Jorhem.
22. Proficiency Testing – Food Chemistry, Nutritional Components in Food, Round N-36, by L Merino and M Åström.
23. Comparative hazard characterization in food toxicology by Annika Tallsjö, Ulf Hammerling, Roland Grafström and Nils-Gunnar Ilbäck.
24. Proficiency Testing – Food Chemistry, Vitamins in Foods, Round V-3 by H S Strandler and A Staffas.
25. Intagsberäkningar av dioxin (PCDD/PCDF), dioxinlika PCBer och metylkvicksilvver via livsmedel av E Ankarberg och K Petersson-Grawé.
26. Normerande inspektioner av livsmedelsbutiker 2003–2005. Resultat från normerande inspektioner av livsmedelsbutiker i samband med kommuninspektion av D Rosling.
27. Normerande inspektioner av storhushåll 2004–2005. Resultat från normerande inspektioner av storhushåll i samband med kommuninspektion av D Rosling.
28. Riskprofil – Dricksvatten och mikrobiologiska risker av T Lindberg och R Lindqvist.
29. Interkalibrering av laboratorier. Mikrobiologi – Dricksvatten 2005:2, september av T Šlapokas, och C Gunnarsson.
30. Interkalibrering av laboratorier. Mikrobiologi – Livsmedel, oktober 2005 av C Normark, K Mykkänen och C Gunnarsson.

1. Mikroprofil Gris – Kartläggning av mikroorganismer på slaktroppar av M Lindblad.

