

Riskprofil

Kallrökta, icke värmebehandlade, fermenterade produkter som smittkälla för EHEC

av Roland Lindqvist, Mats Lindblad, Lars Plym Forshell och Sven Lindgren



LIVSMEDELS
VERKET

NATIONAL FOOD
ADMINISTRATION, Sweden

Produktion:

Livsmedelsverket, Box 622
SE-751 26 Uppsala, Sweden

Teknisk redaktör:

Merethe Andersen

Tryck: Livsmedelsverkets repro

Uppsala 2003-12-05

Livsmedelsverkets rapportserie är avsedd för publicering av projektrapporter, metodprovningar, utredningar m m som inte redovisas i Livsmedelsverkets tidskrift Vår Föda. 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).

Riskprofil

Livsmedelsverket arbetar enligt principen för riskanalys. En förutsättning för detta är att hanteringen av ett livsmedelssäkerhetsproblem baseras på kunskap om hur olika faktorer påverkar risken. En riskprofil har som uppgift att sammanställa tillgänglig kunskap om ett problem och att sätta in denna kunskap i sitt sammanhang. Syftet är att identifiera och bedöma aspekter av relevans för prioritering och hantering av problemet. Riskprofilen utgör alltså ett underlag för fortsatta åtgärder. Exempel på åtgärder kan vara ingen åtgärd, utformning av regler och tillsynsstrategier, kunskapsuppbyggande arbete eller genomförandet av en riskvärdering. Ansvaret att utforma en riskprofil vilar på riskhanterare (framför allt de som arbetar med tillsyn och regler) men utformas i samverkan med riskvärderare.

Innehållsförteckning

Sammanfattning.....	5
Summary.....	6
Inledning.....	7
Syfte.....	7
Kallrökta korvar.....	7
Processteknik.....	8
Fermenteringsförutsättningar.....	8
Faroidentifiering.....	9
EHEC.....	9
Textruta: VTEC/EHEC – de olika begreppen.....	11
Antal inhemska fall orsakade av EHEC O157 och andra EHEC.....	12
Smittkällor och smittvägar.....	12
Farokarakterisering.....	13
Symptom och följsjukdomar.....	13
Dos-respons samband.....	14
Exponeringsuppskattning.....	14
Förekomst.....	14
Konsumtion.....	15
Tillväxt och överlevnad av EHEC i fermenterade produkter.....	15
Utbrott med fermenterade produkter som smittkälla.....	17
Beskrivning av EHEC-utbrott med fermenterade produkter som smittkälla.....	18
Riskhanteringsåtgärder internationellt.....	19
Analys utifrån svenska förhållanden.....	21
Problemets omfattning.....	21
Faktorer som påverkar konserveringseffekten.....	21
Identifiering och utvärdering av möjliga riskhanteringsåtgärder.....	21
Identifiering av kunskapsluckor.....	27
Slutsatser av relevans för att hantera smittspridning av EHEC via kallrökta, icke värmebehandlade, fermenterade produkter.....	28
Rekommendationer.....	28
Litteratur.....	30

Sammanfattning

EHEC-utbrottet i Skåne hösten 2002 kunde kopplas till förtäring av kallrökt korv. Många av fallen krävde intensivvård på sjukhus och aktualiserade att denna typ av produkter kan utgöra ett allvarligt hälsoproblem i de fall eventuellt förekommande EHEC bakterier inte avdödas i produktionsprocessen. Därför beslöt Livsmedelsverket att utarbeta en riskprofil över kallrökta, icke värmebehandlade produkter som smittkälla för EHEC. Syftet är att få ett underlag för beslut om vidare åtgärder för att minska denna hälsorisk genom att identifiera kunskapsluckor och föreslå rekommendationer för fortsatt agerande.

Konsekvenserna av EHEC infektioner kan omfatta allt från symptomfria smittbärare till oblodiga eller blodiga diarréer, hemolytiskt uremiskt syndrom (akut njursvikt) och dödsfall. Symptomen orsakas av en grupp av *E. coli* bakterier som producerar ett verotoxin och flera andra, mindre kända, virulensfaktorer. Det finns åtminstone 60 olika typer som förknippats med humanfall men *E. coli* O157 är den vanligaste och den är anmälningspliktig i Sverige sedan 1996. Barn yngre än 10 år är särskilt drabbade och mellan 1996 och 2002 registrerades årligen totalt 45 - 117 inhemska fall av EHEC O157 och uppskattningsvis 10 - 21 fall av andra EHEC-typer.

EHEC bakterier har isolerats från många olika djurslag men förekomsten i tarmkanalen hos friska nötkreatur är central för smittspridningen. Det finns fyra huvudvägar för smittspridning; direktkontakt med smittade djur, person till person, via miljön och via livsmedel. Livsmedel smittas genom kontakt med djurfekalier (direkt, via vatten, via andra livsmedel eller ytor) eller genom infekterade personer som hanterar mat. Internationellt har otillräckligt upphettad köttfärs, vegetabilier, opastöriserad mjölk och juice, och vid fem tillfällen fermenterade korvar orsakat utbrott. Tillväxt av EHEC-bakterier i livsmedlet är inte nödvändigt för att orsaka sjukdom, överlevnad räcker, eftersom infektionsdosen uppskattas till mindre än 100 bakterier.

Kallrökta produkter genomgår en fermenteringsprocess, där mjölksyrabakterier i råvarorna eller som tillsats växer till och bildar syror. Fermenteringen bidrar till att produkten får en fast konsistens, önskvärd smak och god hållbarhet. I processen ingår inget enskilt processteg som säkert avdödar alla EHEC-bakterier utan vid fermenteringen uppstår en kombination av förhållanden (lågt pH, mjölksyra, låg vattenaktivitet), som förhindrar tillväxt och leder till en avdödning. Dessa kan styras genom tillverkningsprocessen, t ex är starterkulturens tillsättning, blandning och tillväxt i smeten ett viktigt steg för att snabbt få igång en syrabildning och pH-sänkning så att avdödningen påbörjas. Avdödningshastigheten ökar med temperaturen.

Principiellt bör åtgärder för att minska risken inriktas på att förhindra att EHEC-bakterier kontaminerar råvarorna, till exempel vid slakten, och på att förhindra tillväxt och optimera avdödning av förekommande bakterier. Kunskap om hur ofta nötråvaran är smittad av EHEC och med vilka halter saknas, men frekvensen är så låg att provtagning av kött eller korv för att påvisa dem inte är realistiskt. Därför bör *E. coli* användas som en indikator på fekal smitta. Vidare behöver studier utföras som för svenska produkter definierar vilka betingelser som förhindrar tillväxt. Likaså behöver möjligheten av en ökad avdödning genom optimering av produktionsbetingelserna, t ex lagringstemperaturen, valideras för svenska produkter.

Summary

An outbreak of EHEC infection in southern Sweden in the fall of 2002 was linked to the consumption of cold-smoked fermented sausage. Many of the cases required intensive hospital care. This outbreak is an illustration that these types of products may constitute a serious health problem if the production process does not eliminate the EHEC bacteria potentially present. In view of this, the National Food Administration decided to develop a risk profile on the role of cold-smoked, non-heat-treated fermented products as a source of EHEC infection. The purpose of the risk profile was to identify risk management activities to reduce this risk.

The consequences of an EHEC infection can range from an asymptomatic carrier state, to non-bloody or bloody diarrhoea, hemolytic uremic syndrome, and death. Symptoms are caused by a group of *E. coli* bacteria that produce a verocytotoxin (shiga-toxin) and several other, less well-known, virulence factors. At least 60 different types of this group of bacteria have been associated with human disease but the most common is *E. coli* O157. Since 1996 human cases caused by this pathogen is to be reported to the health authorities. Between 1996 and 2002 a total of 45 to 117 annual cases of EHEC O157 were reported, and approximately 10 to 21 annual cases of other EHEC types.

The presence of EHEC bacteria in the intestines of cattle is central to the transmission of this disease. There are four main routes of disease transmission; contact with animals, person-to-person, via the environment and via food and drinking water. Food is contaminated either by contact with animal feces (directly, via water, via food or via surfaces) or by an infected person handling food. Foods implicated in outbreaks include undercooked minced beef (hamburgers), vegetables, non-pasteurised milk and juice, and five reports of fermented sausages. Survival is sufficient for EHEC to cause illness since growth is not considered necessary due to the very low infectious dose.

During sausage fermentation lactic acid bacteria, naturally present or added as starter cultures, grow and produce acids, which improves the texture, taste and shelf-life of the product. There is no single step in the process that eliminates the EHEC bacteria. Instead, a combination of factors act together (pH, aw, and level of lactic acid) to achieve conditions that prevent growth and kill off the bacteria present. The factors and the extent of inactivation can be controlled in the production process. How the starter culture is added to the mixture and the observation that inactivation increases with temperature are two important aspects to improve safety.

Efforts to reduce the risk should focus on minimising the contamination of ingredients with EHEC bacteria, for instance during slaughter, on preventing growth and on optimising inactivation of the EHEC bacteria potentially present. Knowledge on the prevalence and levels of EHEC contamination in raw beef is missing. Due to the expected low prevalence of EHEC detection by microbiological testing of sausage is not considered a realistic option. Using generic *E. coli* as an indicator may be more useful. There is a need to define the conditions that prevent growth in Swedish type sausages. Also, the possibility of optimising inactivation, for instance by an increase in maturation-/storage-temperatures, should be validated in these products.

Inledning

Under hösten 2002 registrerades ett stort antal fall av EHEC-infektion i Skåne. Bland dessa fanns 30 patienter som alla kunde kopplas till förtäring av kallrökt korv tillverkad på ett litet charkuteri i Bjärnum. Flera av patienterna behövde sjukhusvård och 12 av dem krävde intensivvård för HUS. En patient har fått allvarliga bestående men (Hansson 2003).

Den aktuella korven är en kallrökt, fermenterad produkt i vilken både nöt- och svinkött ingår. I Sverige produceras cirka 2000 ton årligen av denna typ av korv. Dessa korvar fermenteras, röks och mognar i 5-7 dygn vid en temperatur mellan 20-30° C varefter de hängs i kyl i cirka en vecka. Därpå förpackas korven och distribueras till kund.

Detta produktsortiment har ej genomgått en värmebehandling vilket medför att de konserverande egenskaper som bildas som ett resultat av fermenteringen effektivt måste hämma och avdöda eventuella patogener som tillförs via råvaran eller processen i övrigt. Brister i fermenteringsprocessen medför att EHEC och andra patogener kan överleva i fermenterade korvar.

Syfte

Syftet med denna riskprofil är

- att ge underlag för beslut om åtgärder för att minska risken för konsument att drabbas av EHEC vid förtäring av kallrökta, icke värmebehandlade, fermenterade produkter
- att identifiera viktiga kunskapsluckor som behöver fyllas för att riktlinjer för produktion av denna typ av produkter skall kunna tas fram
- att avge rekommendationer för fortsatt agerande

Eftersom EHEC sällan påvisats i svinkött avgränsas riskprofilen till att omfatta rena nötköttsprodukter och produkter i vilka nötkött utgör en betydande del av köttråvaran.

Kallrökta korvar

Denna produktkategori utgörs av korvar som genomgått en fermenteringsprocess. Mjölksyrabakterier i råvarorna eller som tillsats växer till och bildade syror bidrar till att produkten får en fast konsistens, önskvärd smak, god hållbarhet och ökad säkerhet. Tekniken har mångtusenåriga anor och beskrivs i såväl sumerisk som egyptisk historia. Fermenteringen sker i temperaturer mellan 25-42°C beroende på produkt och de egenskaper som man vill ska framträda.

Denna form av fermenterade korvar skiljs från det övriga korvsortimentet genom att de äts utan att produkten genomgått en värmebehandling. I Sverige tillämpas en modifiering vid tillverkning av det kallrökta sortimentet som innebär att ca 80% (ca. 7000 ton /år) värmebehandlas efter fermenteringen. I Tyskland framställs ca 280000 ton kallrökta och

torkade korvar årligen. I Italien produceras ca 140000 ton, i Spanien ca 130000 ton och i Norge och Danmark ca 7000 ton var. I dessa uppräknade länder sker ej en värmebehandling efter fermenteringssteget. Övriga former av korv utgörs av råkorv (ex. fläskkorv) och kokta korvar som falukorv och prinskorv. Dessa produkter är inte aktuella i denna riskprofil.

Processteknik

Råvaran för korv utgörs vanligtvis av nöt och/eller svinkött. Men på marknaden finner man även renkorv, älgkorv etc. som genomgått ett fermenteringssteg. Framställningen av kallrökt korv följer i stort följande mall:

- Val av kötråvara och förbehandling
- Snabbhackning alt. malning av kötråvaran
- Tillsats av övriga ingredienser och tillsatser
- Sprutning av korvmassan i tarmar
- Förvaring av korven i mognadskamrar vid lämplig temperatur och med korta rökperioder
- Eftermognad och urtorkning

Beroende på vilken slags korv man vill framställa modifieras framställningsprocessen. Grundprincipen är att det finfördelade köttet konserveras i den miljö som skapas under fermentationen och den efterföljande mognadsprocessen. En förutsättning är att korvsmeten innehåller en lämplig fermenteringsflora som tillväxer på tillsatta kolhydrater och som gynnas av tillsatser och en lämplig fermenteringsstemperatur. I sin traditionella utformning skapades hanteringsmönster där mjölksyrabakterier anrikades genom tillsatser (t.ex. rimning i salt och socker). I dag tillsätts s.k. starterkulturer som består av olika mjölksyrabakterier med väldokumenterade egenskaper för att starta fermenteringsprocessen. En tidigare sats kan även sparas och användas som starter. Denna teknik har dock en stor osäkerhet. Kemikalien glukon-delta-lacton används även för att surgöra en produkten och därigenom gynna fermenterande bakterier. Vid sidan av påverkan på smak och hållbarhet innebär rökning/förvaring vid mognadstemperatur att en viss urtorkning sker.

Fermenteringsförutsättningar

Inverkan av ingredienser

En tillsats av kolhydrater är en förutsättning för en gynnsam och säker fermentation. Vanligast i Sverige är att använda någon form av potatis som antingen tillsätts rå, i form av potatisflingor eller som kokt. I isterband används förkokta korngryn som kolhydratkälla. I tidigare skeden användes korngrynen efter att de fått svälla i vatten något dygn. Därigenom kom korngrynen även att berika korvsmeten med en aktiv fermenteringsflora. I rena köttkorvar används någon procent glukos som näring för mjölksyrabakterierna. För att stimulera tillväxten av mjölksyrabakterierna kan tomatpuré tillsättas.

Inverkan av tillsatser

Koksalt tillsätts korvsmet dels för dess smakmässiga egenskaper, men även för att salt påverkar vattenaktiviteten och därmed begränsar tillväxthastigheten för främst den gram-negativa bakteriefloran. Koksaltet tillsätts i kombination med natriumnitrit (NaNO_2). Huvudargumentet för en nitrittillsats är att den motverkar en tillväxt av bl.a. *Clostridium botulinum*. Men en annan viktig funktion är att nitriten (NO_2) reduceras till kväveoxid (NO). Kväveoxiden är starkt reaktiv och binder sig till myoglobin som därigenom övergår i det ljusröda och stabila färgpigmentet nitrosomyoglobin. Ursprungligen användes salpeter (eg. natriumnitrat, NaNO_3) vilken fungerade som elektronacceptor för vissa mikroorganismer i korvsmeten och därigenom övergick till nitrit. Vid sidan av färgsättning och konserveringseffekt påverkar nitriten även smaken.

I sin traditionella utformning stimulerades mjölksyrabakterier i korvsmeten genom hanteringsmetoder och tillsatser. Genom att rimma köttråvaran anrikas en flora av mjölksyrabakterier och förpackning i tarmar ger en anaerob miljö som motverkar den aeroba förskämningens flora. En tillsats av vegetabilier med en rik förekomst av mjölksyrabakterier ger en förutsättning för en konserverande fermentativ aktivitet. Trots att selekterade kulturer med mjölksyrabakterier (sk. starterkulturer) använts mejeritekniskt sedan början av 1900 talet dröjde det till efter mitten av 1950 talet innan denna teknik började användas inom charkindustrin. I dag finns på marknaden ett stort antal starterkulturer med innehåll av olika mjölksyrabakterier. Bakteriernas främsta uppgift är dels att skapa en konserverande miljö och dels att reducera nitrit till kväveoxid som stabiliserar färgsättningen. Bland mjölksyrabakterierna förekommer olika arter av laktobaciller och pediokocker. Under 1950-talet utformades en kultur som består av en stafylokock. Organismen har visat sig synnerligen användbar när det gäller att påverka arom och färgsättning. Användningen av en stafylokock som tillsats vållade en viss oro, men kulturen har inte bidragit till problem med säkerheten. En vit beläggning som ibland ses på vissa fermenterade korvar består av mögelsvampen *Penicillium nalgiovense*. Denna tillsätts bl.a. som ett skydd av ytan mot oönskade infektioner. Dessutom anses den ha en viss arompåverkan.

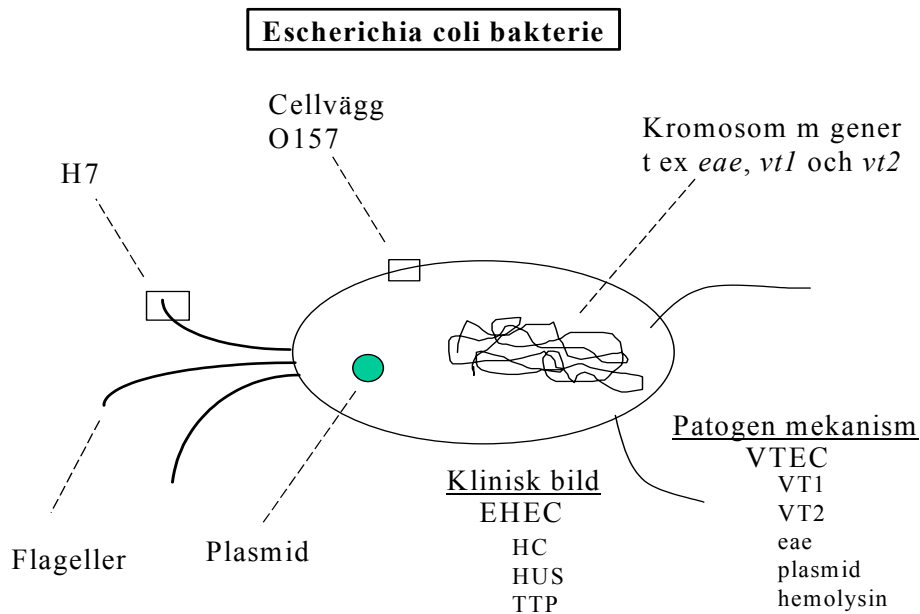
Glukon- δ -lakton har kommit till användning för att simulera en syrabildande aktivitet. Substansen bryts ned i fuktig miljö till glukonsyra vilket sänker pH och därigenom gynnar den syratoleranta floran av mjölksyrabakterier. Det anses dock att produkter konserverade med denna teknik har en bristande hållbarhet.

Faroidentifiering

EHEC

Escherichia coli är en gram-negativ fermentativ bakterie som tillhör normalfloran i tarmen hos människor och varmblodiga djur. Variationen inom arten är stor och man kan dela in bakterierna i olika undergrupper baserat på de egenskaper som bakterierna har. Det är känt att bakterier tillhörande några av dessa undergrupper kan orsaka infektioner hos människor.

Benämningen EHEC (Enterohemorrhagisk Escherichia coli) baserar sig på en klinisk bild och innefattar de *E. coli* som kan ge upphov till blödande grovtarmsinflammation (hemorragisk colit, blodiga diarréer). Sjukdomen spontanläker oftast men för i genomsnitt 5% av fallen utvecklas akut njursvikt (hemolytiskt uremiskt syndrom – HUS) eller störningar i blodkoagulationen (trombotisk trombocytopenisk purpura – TTP). Dessa komplikationer är vanligast hos mycket unga respektive mycket gamla individer. EHEC bakterier brukar inkluderas i en större gruppering som varierande benämns VTEC (verocytotoxinproducerande *E. coli*) eller STEC (Shigatoxinliknande *E. coli*). VTEC och STEC är i praktiken synonyma benämningar men innefattar både humanpatogena och icke humanpatogena typer. Benämningen VTEC baserar sig på förhållandet att toxinet påvisas genom sin påverkan på veroceller (celler från vero-apor). Benämningen STEC baserar sig på toxinets immunologiska likhet med toxinet hos dysenteribakterien *Shigella dysenteriae*. EHEC benämningen skapar problem genom att den egentligen baserar sig på en klinisk bild som inte är känd, och därför inte användbar, vid karaktärisering av *E. coli*-fynd i djur-, miljö- eller livsmedelsprov. Analytiskt påvisas bakterierna oftast genom påvisning av ett verotoxin eller en ytstruktur typisk för den vanligaste EHEC bakterien. Ingen av dessa karaktärer utgör ett entydigt bevis för en EHEC-bakterie vilket kan förvirra begreppen. I riskprofilen innefattar benämningen EHEC alla serotyper av humanpatogena verotoxinproducerande *E. coli* (HP-VTEC), medan EHEC O157 innefattar HP-VTEC av serotyp O157. En sammanfattning av relationen mellan de olika begreppen visas i figur 1 och i figur A1 (Textruta).



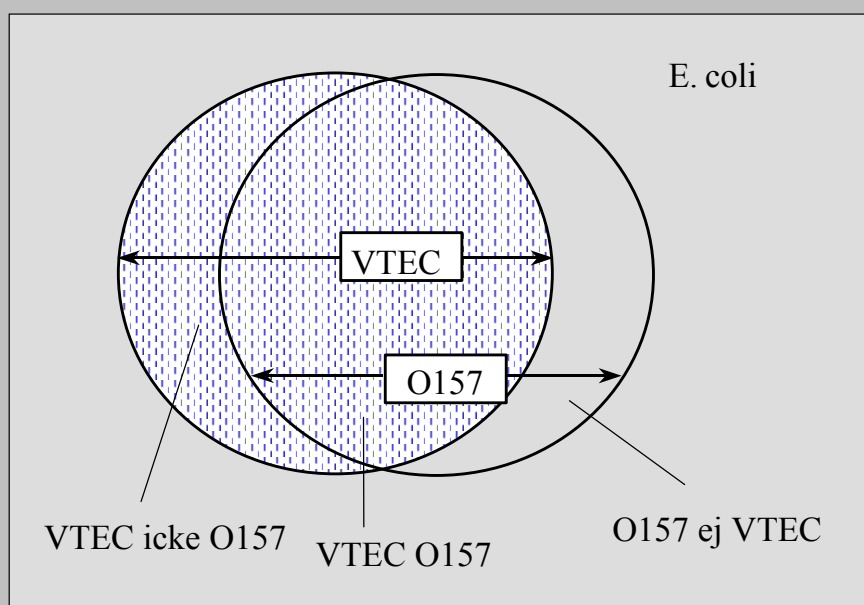
Figur 1. Schematisk bild av några av de egenskaper som används för att karaktärisera EHEC och andra verotoxinproducerande *E. coli*. Flageller= rörelseorgan, Plasmid = arvs massa utanför bakteriekromosomen, eae = gen som kodar för virulensfaktorn intimin (fastsättning av bakterien i tarmen), hemolysin = molekyl som kan lysa röda blodkroppar. (Se Textruta för detaljer).

Textruta: VTEC/EHEC – de olika begreppen

Det finns ett flertal karaktärer som man kan basera den mer detaljerade beskrivningen av bakterierna inom gruppen VTEC på. En grupp av karaktärer baserar sig på närvaron och typen av olika ytstrukturer. Dessa ytstrukturer ger upphov till bildandet av specifika antikroppar i blodet hos djur som exponeras för dem, och kallas därför för antigen. En grupp av strukturer sitter i bakteriens cellvägg och kallas för somatiska antigen (eller O-antigen) och betecknas med O följt av en siffra beroende på vilket specifikt antigen av denna typ det är (figur 1). En annan grupp av antigen sitter på strukturer som kallas flageller vilka är bakteriens rörelseorgan. Dessa kallas för flagell-antigener (eller H-antigen) och benämns med H följt av en siffra (figur 1). Om bakterien är orörlig och inte har någon flagell skrivs H- eller oftare NM för non-motile. Baserat på förekomsten och typen av dessa O- och H-antigener på bakteriens yta delas VTEC-gruppen upp i olika serotyper. Den vanligaste serotypen av VTEC som ger upphov till livsmedelsburna utbrott är *E. coli* O157:H7.

Andra karaktärer som används för att beskriva VTEC gäller närvaron av virulensfaktorer, det vill säga egenskaper som påverkar bakteriens möjligheter att orsaka sjukdom. Förmågan att producera verocytotoxin är ett exempel på en virulensfaktor, som ju dessutom ingår i definitionen på VTEC. Det finns två huvudtyper av toxin, VT1 och VT2, och bakterien kan producera en eller båda typerna. Men då inte alla VTEC verkar kunna orsaka sjukdom hos människa, eller endast i mycket liten grad, bestämmer också andra virulensfaktorer i vilken grad detta sker. Exempel på sådana faktorer är förmågan att adhaera till celler i tarmen (egenskap som kodas av *eae*-genen) och att producera ett hemolysin (egenskap som beror på närvaron av en stor plasmid).

Som framgår av det ovan beskrivna baserar sig serotypillhörigheten och virulensen på olika egenskaper och tillhörigheten till gruppen VTEC kan inte bestämmas enbart baserat på serotyp. Även om *E. coli* O157:H7 är en vanlig orsak till sjukdom förekommer det att bakterier av denna serotyp inte har förmågan att bilda verocytotoxin. En sammanfattning av relationen mellan begreppen ovan visas i figur 1 och figur A1 nedan.



Figur A1. Schematisk skiss över relationen mellan begreppen *E. coli*, VTEC, och *E. coli* O157. Storleken av cirklor respektive gemensamma områden visar inte på några kvantitativa förhållanden mellan dessa olika typer. (Figur modifierad efter ACMSF report 1995).

Antal inhemska fall orsakade av EHEC O157 och andra EHEC

Det har isolerats över 200 serotyper av VTEC från djur. Av dessa har åtminstone 60 serotyper associerats med humana sjukdomsfall där *E. coli* O157 är den vanligaste. Förutom *E. coli* O157:H7 har följande serotyper orsakat utbrott; O145:H-, O157:H-, O?:H19, O104:H21, O26:H11, O111:H-, och O113:H21 (Johnsson et al. 1996, NZ 2001). Åtminstone de tre sista serotyperna har också orsakat ansamlingar av HUS-fall (NZ 2001).

Endast sjukdom orsakad av *E. coli* O157 är anmälningspliktig i Sverige. Denna plikt infördes 1996 efter det ökande antal fall som inträffade 1995-96. Under perioden 1988 till 1994, då det säkert förekom en viss underrapportering, diagnosticerades 0-3 fall per år, av vilka omkring 50% var O157 och resterande andel utgjordes av andra serotyper (SMI 1996).

Efter att anmälningsplikten infördes har mellan 45 och 117 inhemska fall rapporterats per år (1997-2002, SMI:s hemsida 14/3-03). För mellan 1 till 10 fall årligen saknas uppgift om smittland. Eftersom EHEC orsakad av andra serotyper än O157 inte är anmälningspliktig är osäkerheten stor om deras omfattning. En uppskattning baserad på information från olika källor antyder att åtminstone 10 till 21 sådana fall inträffade per år mellan 1997 och 2001 (B. de Jong, muntligen). Med dessa uppgifter kan antalet fall av inhemsk EHEC uppskattas ligga mellan 46 till 148 fall per år.

Det största antalet fall (mellan 21 och 42 %) inträffar i åldersgruppen 0 till 4 år (SMI:s hemsida). Antalet fall per år och 100 000 personer visar ännu tydligare att andelen yngre personer som drabbas är oproportionerligt stor (SMI 2001). Genomsnittet för hela befolkningen år 2001 var 1,1 fall per 100 000 invånare. Bland barn i åldrarna 1-4 år inträffade 8,5 fall per 100 000 och i åldrarna 5-9 inträffade 3,6 fall per 100 000 barn.

Mellan 1997 och 2002 var andelen kvinnor som drabbades av EHEC O157 mellan 55 och 58 % av det totala antalet anmälda fall. De flesta fallen uppträder i de län där det bor mest folk; Stockholm, Västra Götaland och Skåne. Ett undantag är Hallands län som har många rapporterade fall. En jämförelse av antalet rapporterade inhemska fall per 100 000 invånare mellan 1997 och 2002 visar; Halland (2,5 – 16,5), Västra Götaland (0,8 – 3,0), Skåne (0,2 – 3,8), Stockholm (<0,1 – 0,5), och Jönköping (0,3 – 1,5).

Smittkällor och smittvägar

Den viktigaste reservoaren för EHEC är mag-tarmkanalen hos idisslare, särskilt nötkreatur. På nötkreatur orsakar *E. coli* O157: H7 inga kliniska symtom vilket försvårar identifiering av bärare. Andra djurslag från vilka EHEC har isolerats inkluderar får, getter, hjortar, svin och fåglar såsom måsar, duvor och gäss. Det finns fyra huvudvägar för smittspridning, 1) via direktkontakt med infekterade djur, 2) via person till person, 3) via livsmedel eller dricksvatten och 4) via miljön (t ex få i sig vatten när man simmar i en förorenad sjö/ bassäng, eller genom kontakt med fekalt förorenade miljöer såsom betesmark, lada). Alla dessa smittvägar har dokumenterats i Sverige med varierande grad av säkerhet. Djurkontakt antingen direkt eller via förorenade miljöer har nämnts som särskilt vanliga i Sverige.

De vanligaste vägarna som EHEC introduceras i livsmedelskedjan tros vara genom förorening med djurfekalier, direkt (till exempel vid slakt), via förorenat vatten (bevattning med avloppsvatten), via andra förorenade livsmedel eller ytor, eller genom infekterade personer som hanterar maten. Förutom den initiala föroreningen av livsmedlet påverkas den

fortsatta smittspridningen av bakteriens förmåga att tillväxa och överleva vid den fortsatta hanteringen.

Internationellt har man pekat på följande livsmedel som sannolik orsak till EHEC-utbrott; otillräckligt upphettade hamburgare, dricksvatten, opastöriserad mjölk, salami, alfalafa groddar, "white radish" groddar (Japan), värmebehandlade köttprodukter (slakteributik Skottland), opastöriserad äpplejuice, majonnäs eller majonnäsbaseade dressingar, Mortadella och Teewurst, Mesclun sallad, youghurt, melon eller salladsbar, isbergssallad, kallrökt korv, pastöriserad mjölk, Mettwurst (SCVMPH 2003, Feng 1995).

Farokarakterisering

Symptom och följsjukdomar

Konsekvenserna av EHEC infektioner kan omfatta allt från symptomfria smittbärare, till oblodiga diarréer, hemorrhagisk colit (blodiga diarréer), hemolytiskt uremiskt syndrom, och dödsfall. En till tio (medel 3-4) dagar efter intag börjar symptomen vanligtvis med kraftiga magkramper och vattniga diarréer. Efter 2-3 dagar kan dessa övergå till att bli blodiga hos uppskattningsvis 30-75% av de exponerade. Kräkningar förekommer i omkring 50% av fallen och feber, oftast låg, hos omkring 30% av fallen (Griffin & Tauxe 1991). Sjukdomen läker vanligen av sig själv men en relativt stor andel av fallen kräver vård på sjukhus. EHEC O157 kan utsöndras i avföringen flera veckor efter att symptomen har upphört. Barn utsöndrar vanligen bakterien längre än vuxna. I en studie bland barn under 5 år var mediantiden för utsöndring i avföringen 17 dagar efter symptomen började medan 38% utsöndrade bakterien längre än 20 dagar (Mead & Griffin 1998).

Särskilt hos de som har blodiga diarréer kan allvarliga följsjukdomar utvecklas. Särskilt barn (< 5-10 år) kan utveckla hemolytiskt uremiskt syndrom (HUS), vilket kännetecknas av störd njurfunktion och hemolytisk anemi (anemi på grund av minskad livslängd hos de röda blodkropparna). Mellan 0 till 15% av fallen med hemorrhagisk colit kan få HUS. Enligt amerikanska data utvecklar ungefär 3-7% av de sporadiska fallen HUS medan så många som 20% eller mer i vissa utbrott har utvecklat HUS (Mead & Griffin 1998). Omkring 60% tillfrisknar utan några följder medan 30% drabbas av mindre följsjukdomar. För omkring 5% leder HUS till allvarliga följder såsom stroke och permanenta skador på njurarna (vilket kan kräva njurtransplantation och livslång dialys). I uppskattningsvis 3-5% av HUS-fallen avlider patienten. Det finns i Sverige ingen officiell statistik över antalet HUS fall per år. Under åren 1997 till 2002 kom uppskattningsvis totalt mellan 4 till 11 HUS fall per år till SMI:s kännedom (B. de Jong, muntligen).

Särskilt hos äldre patienter kan förutom HUS också thrombotisk trombocytopenisk purpura (TTP) utvecklas. TTP kännetecknas av förlust av blodplättar, hudrodnader, feber och olika neurologiska symptom. Sjukdomen kan ha en dödlighet på upp till 50%.

Dos-responssamband

Relationen mellan den intagna dosen och sannolikheten för att sjukdom ska uppstå i en population beskrivs med ett dos-responssamband. Den teoretiska infektionsdosen för infektiösa patogener som salmonella, campylobacter och EHEC är en (1 st.) bakterie. I praktiken är sannolikheten för att en enskilda bakterie orsakar sjukdom oftast mycket låg, men den ökar med antalet bakterier man exponeras för, alltså med dosen. För infektiösa patogener anger infektionsdosen alltså inte ett tröskelvärde mellan säker och osäker mat. Istället ger den en uppfattning om de doser som har givit upphov till utbrott av sjukdom och om den relativa virulensen hos olika patogener. Infektionsdosen för *E. coli* O157:H7 har angivits vara klart lägre än för salmonella och campylobacter, kanske mindre än 10 bakterier. En konsekvens av detta är att det inte krävs någon tillväxt i det kontaminerade livsmedlet för att det ska kunna ge upphov till sjukdom. Efter kontamination är det alltså tillräckligt att bakterien överlever den vidare hanteringen för att livsmedlet ska vara osäkert. Det är mindre känt om infektionsdosen för andra EHEC bakterier.

Tillgängliga dos-respons samband för *E. coli* O157:H7 är förhållandevis få och dessa har baserats på 1) antaganden om likartad virulens som shigella (Cassin et al. 1998), 2) utbrottsdata (Nauta et al. 2001), 3) djurdata (Haas et al. 2000) eller kombinationer av dessa tre (Powell et al. 2000). För övriga EHEC är kunskapen ännu knapphändigare och begränsar sig till ett dos/responssamband för O111 och O55 baserat på försök med frivilliga (Haas et al., 1999).

Exponeringsuppskattning

Förekomst

Prevalensdata från länder inom EU anger att förekomsten hos nötkreatur varierar mellan 0 – 13 % på besättningsnivå, mellan 0 – 7 % på individnivå, mellan 0 – 1,3 % på slaktkroppar och mellan 0 – 0,1 % i malet nötkött och andra köttprodukter (SCVMPH 2003). Förekomsten av VTEC O157 varierar under året och är störst i slutet av sommaren och början på hösten. SCVMPH (2003) redovisar också resultat från andra studier och sammanställningar, bl a Duffy et al. (2001) som anger förekomsten på besättningsnivå kan vara upp till 20 %, på individnivå mellan 2 – 8 % och i nötkött upp till 6 %. Jämfört med nötkött uppges förekomsten vara lägre i griskött, men ungefär lika hög eller något högre i lammkött (Duffy et al., 2001, Ross & Shadbolt 2001).

I Sverige startades ett övervakningsprogram 1996 i samarbete mellan Jordbruksverket och SVA. Varje år provtas 2000 nötkreatur i samband med slakt. Förekomsten av VTEC O157 i träckprover har under perioden 1997 – 2001 varierat mellan 0,3 – 1,7 % (SVA 2002). Unga djur har oftare varit infekterade än äldre djur. En studie från 1998/99 med provtagning i besättningar visade att 10 % av besättningarna var infekterade, och att förekomsten bland kalvar och kvigor var 1 – 2 % (SVA 2001). Den geografiska variationen är stor, andelen positiva besättningar är högst i Halland (23 %) och lägst i Norrland (0 %)(Eriksson 2002). Liknande studier med andra djurslag har visat att 0,8 % av lamm, 0,9 % av får och 0,1 % av

grisar varit bärare av VTEC O157. Provtagning av vilda djur har endast gett enstaka positiva resultat (SVA 2001).

VTEC, inklusive *E. coli* O157:H7 förekommer oftare i importerat än i svenskt nötkött (Lindqvist et al. 1998). Verocytotoxinproducerande *E. coli* fanns i 15,5 och 1,1 % av importerade respektive inhemska prover. Med den känsligaste metoden detekterades *E. coli* O157:H7 i 2,4 % av de importerade proverna medan alla inhemska prover var negativa. Genom att vikta resultaten i förhållande till andelen importerat och inhemskt kött uppskattades den sammantagna prevalensen av VTEC i Sverige till 4,0 %, och förekomsten av *E. coli* O157:H7 till 0,5 %.

Efter EHEC-utbrottet i Skåne hösten 2002 gjordes en smittskyddsutredning där Jordbruksverket undersökte besättningar från 15 gårdar som levererat slaktdjur till korvtillverkaren. Förekomst av VTEC konstaterades på fem av gårdarna, men provresultaten visade inte på samma bakterietyp som drabbat de personer som insjuknat och som påvisats i den kallrökta korven (SJV:s hemsida).

Uppgifter om halter av *E. coli* i råvaror respektive färdiga produkter finns endast tillgängliga från ett fåtal studier. I USDA:s baslinjestudie av den mikrobiologiska floran på nötboskap efter slakt (1994, 1996) har endast 4 positiva prov (av drygt 4000 prover) påvisats. Halten *E. coli* O157:H7 var i samtliga fall lägre än 1 MPN/cm². Från Belgien finns uppgifter om två positiva prov från undersökning av slaktkroppar med halterna 1 respektive 200 CFU/cm². För köttfärs finns uppgifter från en kartläggning av förekomsten av *E. coli* O157:H7 där tre positiva prov hittades (Padhye & Doyle 1991); halterna varierade mellan 0,4 – 1,5 MPN/g. Prover av köttfärs eller hamburgare från utbrott visar på halter från 0,3 – 15 MPN/g (Coleman et al. 1998) upp till 500 – 1000 CFU/g (Armstrong et al. 1996).

Konsumtion

I Sverige produceras årligen cirka 2000 ton av kallrökt, fermenterad, icke värmebehandlad korv. Detta kan jämföras med att vi producerar 7000 ton fermenterad korv som genomgår en värmebehandling innan den distribueras till affärsledet. Till 2000 ton inhemskt producerade korvar skall läggas importerade produkter. Dessa utgörs dels av kallrökta fermenterade korvar, främst från Danmark och Tyskland, samt fermenterade korvar av typ Salami som endast genomgår en fermentering följt av mogning och intorkning. Dessvärre finns inga någorlunda lättillgängliga uppgifter om hur stor importen av icke värmebehandlade korvar är.

Tillväxt och överlevnad av EHEC i fermenterade produkter

Konserverande egenskaper

En mängd faktorer påverkar konserveringsskyddet i kallrökta korvar. Egenskaper som mängd bildad mjölksyra, pH, vattenaktivitet, salt- och nitrit-innehåll, H₂O₂, bacteriociner och rökkomponenter bidrar i större eller mindre omfattning till skyddet. Ofta påpekas att det är pH som är mest betydelsefull för att hämma patogener. Det gäller ej för de pH-nivåer som förekommer i fermenterade produkter. Konserveringen ges av mängden odissocierad

mjölksyra. Detta beror på att den odissocierade molekylen i sitt oladdade skick tränger in genom membranet hos den attackerade bakterien. Därigenom ändras pH i cytoplasman. När detta sjunkit tillräckligt mycket inleds en avdödningsprocess. I normaltillståndet kan mikroorganismer reglera den inre pH nivån genom energikrävande (ATP beroende) system. Vid låga pH kan ej den attackerade bakterien bilda tillräckligt med energi för att kompensera för effekter av den syra som trängt in genom membranerna och avdödningsprocessen inleds. Hur stor andel som är odissocierad styrs av pH. Vid pH 3,9 är ca 50% av mjölksyran odissocierad, vid pH 4,5 ca 20%. För att hämma enterobakterier (bl.a. *E. coli*) krävs ca 0,3% mjölksyra vid pH 4,2, 0,5% vid pH 4,5 och 3% vid pH 5.4. Konserveringseffekten avgörs av mängden syra i vattenfasen. Genom att torka korven ökas syrakoncentrationen och konserveringseffekten förstärks.

Salt tillsätts för att minska vattenaktiviteten och därigenom motverkas tillväxt främst av Gramnegativa bakterier. En vattenaktivitet under 0,95 hämmar tillväxt av *E. coli* och toxinbildning av *C. botulinum*. Gränsen för avdödning är däremot inte helt klarlagd. Nitrit bidrar även till skyddet mot oönskade angrepp och hållbarhet. Genom rökning sker en uttorkning och dessutom tillförs aromämnen och konserverande substanser som fenoler, aldehyder och benzopyrener. Dock anses inte dessa substanser ha betydelse för säkerheten. Bl.a. benzopyrener är cancerogena och det finns en ambition att minska detta innehåll.

Faktorer som påverkar EHEC:s tillväxt

Tillväxtbegränsande faktorer för *E. coli* är väl kända. Det finns också en del data för *E. coli* O157:H7 medan informationen gällande andra EHEC är mer begränsad. Uppgifterna i tabell 1 baseras på olika serotyper och antas vara representativ även för variationen inom EHEC (Tabell 1). Det ska noteras att de min- och max-värden som anges gäller då övriga faktorer är optimala. Om detta inte är fallet begränsas området inom vilket tillväxt kan ske. Intressant i sammanhanget är att förmågan hos *E. coli* att tillväxa trots låga pH och vattenaktiviteter är bäst i temperaturområdet 25 – 30°C (Presser et al. 1998, Salter et al. 2000), alltså just det område där många fermentationprocesser äger rum.

Tabell 1. Tillväxtbegränsande faktorer av relevans för *E. coli* i fermenterade produkter (efter Ross & Shadbolt 2001)

Miljöfaktor	Minimum	Maximum
Vattenaktivitet (a_w , NaCl som humectant)	~ 0.95	0.999
Temperatur	~ 7,5	~ 49 ²
PH	3,9 ¹	10
Odissocierad mjölksyra (mM)		8-10

1 Det lägre pH-värdet för tillväxt brukar anges till 4,4 men det finns några studier som antyder att den lägre gränsen ligger runt 3,9-4,0. Den nedre gränsen beror också på vilken syra som används. Oorganiska syror såsom saltsyra är mindre hämmande än organiska syror såsom mjölksyra, ättikssyra.

2 För *E. coli* O157:H7 brukar 44-45°C anges som max. I vissa buljonger eller agarplattor är den maximala temperaturen lägre vilket begränsar möjligheten att påvisa bakterien vid standardanalystemperaturen 44°C.

E. coli O157:H7 uppvisar ingen specifik tolerans mot nitrit och nitrat. Den verkar inte heller ha någon ovanlig tolerans mot värme. Bakterierna klarar att växa både i närvaro och frånvaro av syre. Tillväxt kan ske i vaccumpackat kött vid 8–9 °C, men inte när det är förpackat vid 100 % CO₂ (NZ 2001). Däremot överlever *E. coli* O157:H7 atmosfärer innehållande upp till 100 % CO₂.

Förmågan att motstå en given stressfaktor beror dessutom på de förhållanden som EHEC bakterien utsatts för tidigare. Till exempel har en ökad tolerans mot lågt pH observerats för *E. coli* bakterier som tidigare exponerats för en milt sur miljö, svält eller genomgått en övergång från en tillväxtfas till en stationär fas. En sådan adaptation kan också innebära en ökad tolerans mot andra stressfaktorer än den som utlöste adaptationen.

Överlevnad under processen

Ett flertal valideringsstudier har genomförts där *E. coli* O157:H7 inokulerats i råvaror som sedan använts för tillverkning av fermenterade korvprodukter (salami, pepperoni, medvurst mm). Resultaten visar att halterna av *E. coli* minskar med 1 – 2 log CFU/g under fermentering och torkning (Hinkens et al. 1996; Faith et al. 1998; Riordan et al. 1998). Om den färdiga produkten sedan lagras i kylskåpstemperatur kan bakterierna överleva förhållandevis länge. Glass et al. (1992) anger t ex att halten *E. coli* O157:H7 endast minskade med 1 log CFU/g efter förvaring i 4 °C under två månader. Vid lagring i rumstemperatur (ca 20 °C) minskar halterna väsentligt snabbare (Faith et al. 1997).

Bakteriernas överlevnad under tillverkningen påverkas av produktens egenskaper. Avdöningen blir större med sjunkande pH och stigande salt- och nitrithalter (Riordan et al., 1998). Tillsats av nitrit till en koncentration av 100 ppm kan leda till att halten *E. coli* O157:H5 under fermenteringen minskar till en tiondel jämfört med en produkt utan nitrit (Casey & Condon, 2000).

Utbrott med fermenterade produkter som smittkälla

Fermenterade korvar har pekats ut som smittkälla för EHEC i åtminstone fem utbrott före det svenska (Tabell 2). Utredningen av det amerikanska utbrottet visade att bestämmelserna och GHP (Good Hygienic Practice) hade följts och pekade på betydelsen av kontaminerad råvara. Vid några av de andra utbrotten har utredningarna pekats på betydelsen av försäljning av produkt innan avslutad mognad, möjlig efterkontamination, avsaknad av starterkultur, bristande journalföring och kontrollrutiner.

Tabell 2. Översikt av utbrott med EHEC där konsumtion av fermenterade produkter utpekats som orsak

År	Land	Livsmedel	Serotyp	Antal fall	Referens
1994	USA	Salami ¹	O157:H7	24 (3 HUS)	MMWR 1995
1995	Australien	Mettwurst, Salami	O111:NM	120 (23 HUS, 1†)	Ross & Shadbolt 2001)
1995-96	Tyskland	Mortadella, Teewurst	O157:H- ²	3-600 ³ (28 ⁴ HUS, 3 †)	Ammon et al. 1999
1998	Kanada	Salami	O157:H7	160 (5 HUS)	Williams et al. 2000
1999	Kanada	Salami	O157:H7	39	MacDonald et al. 2001
2002	Sverige	Kallrökt korv	O157:H7	20-30? (12 HUS?)	Hansson 2003

† Dödsfall, HUS = fall av hemolytiskt uremiskt syndrom

1 Dry-cured (Torr saltad)

2 Sorbitolfermenterande, även några andra serotyper isolerades från HUS-fallen

3 Uppskattat baserat på att andelen som får HUS är 5-10%

4 Alla barn under 13 år

Beskrivning av EHEC-utbrott med fermenterade produkter som smittkälla

Utbrottet i USA 1994 kunde härledas till skivad förpackad salami (dry-cured, torrsaltad). Enligt utredningen fanns det inget skäl att misstänka efterkontamination utan den troligaste förklaringen var att *E. coli* O157:H7 fanns i råvarorna och överlevde produktionsprocessen trots att den enligt protokollen hade utförts enligt de bestämmelser som fanns och enligt GMP (Good Manufacturing Practice) (Tilden et al. 1995). Efter blandningen av ingredienserna och stoppningen i skinn hade fermenteringen påbörjats efter 24 timmar vid 10-13 °C.

Fermenteringen skedde med starterkultur och vid 20-27 °C i cirka 88 timmar vid en luftfuktighet av 70-80 % relativ fuktighet. Det uppmätta pH-värdet var 5,4 efter 16 timmar, 5,2 efter 40 timmar och 5,0 efter 60 timmar. Efter fermenteringen följde torkning i cirka 36 dagar vid 13 °C och 70-85 % RH. Undersökning av paket där *E. coli* O157:H7 hittades visade att pH var mellan 4,9 och 5,0, salthalt mellan 3,7 till 3,9 % och fukt:protein kvot mellan 1,80-1,86. Enligt uppskattningar var infektionsdosen mindre än 50 bakterier.

Utbrottet i Australien kunde knytas till Mettwurst och troligen också till salami från en leverantör. Enligt Australiska förhållanden är det generellt inte så stora skillnader mellan dessa typer av korvar. I båda uppnås pH < 5 medan de genomsnittliga mognadstiderna och temperaturerna skiljer något; 14 dagar i 14 °C för salamityp korvar och 5 dagar och 18 °C för mettwurst-typen (Ross & Shadbolt 2001). Enligt den juridiska utredningen av det aktuella utbrottet kan det ha varit så att kommersiella övervägande gjorde att produkten fördes ut på marknaden innan den vanligen använda mognadstiden hade uppnåtts.

Vid utbrottet i Tyskland var konsumtion av skivad Mortadella och Teewurst statistiskt associerad med HUS. Av dessa ansågs Teewurst vara mer trolig som orsak eftersom Mortadellan vid produktion genomgår en upphettning vilket inte görs med Teewursten. En efterkontamination av Mortadella kunde dock inte uteslutas. Barn i Tyskland använder ofta

Teewurst som ett bredbart pålägg och alla HUS-fall som rapporterades drabbade barn under 13 år.

Vid utbrottet i Kanada 1998 pekade epidemiologiska undersökningar på att smittkällan var Genoa salami. Med hjälp av provtagning kunde det också påvisas att korven kom från den största leverantören i det drabbade området. En undersökning utförd av Canadian Food Inspection Agency visade på brister i tillverkningsrutinerna: användning av naturlig fermentering utan starterkultur, bristfällig journalföring, avsaknad av rutiner för hantering av produkter med avvikande provresultat, ingen kontroll av inkommande råvaror, felaktiga metoder för att mäta pH. Även vid utbrottet 1999 kunde smittkällan spåras till en viss tillverkare av salami. Undersökningar av anläggningen pekade på att det också i detta fallet förekom brister vid tillverkningen.

Korven som orsakade det svenska utbrottet är enligt producenten av en kallrökt, ej värmebehandlad typ. Den ingående köttråvaran torrsaltas med en 2,5 till 3-procentig nitrit/saltblandning i 2 dygn vid 2-4°C. Efter tillsats av starterkultur och stoppning fermenteras och torkar korven utan rök under ca ett dygn vid 28°C. Sedan sker fermentering och rökning (rök var 3:e timme i cirka 1 timma) under 5 till 7 dygn vid 26°C. pH efter denna period brukar vara omkring 4,5. Efter detta följer en mognadslagring vid 2-4°C i ungefär 1 vecka (tid beror på lagerhållning etc.). Förpackning i vakuum sker sedan innan distribution och produkten anges som kylvara.

Riskhanteringsåtgärder internationellt

Åtgärder mot VTEC inriktas generellt (a) mot insatser i nötbosättningarna; (b) mot att minska kontaminering vid slakt; (c) mot konsumentexponering av kontaminerade produkter samt specifikt (d) mot specifika processteg i korvtillverkningen.

Exempel på åtgärder

(a):

- Obligatorisk undersökning av besättningar som satts i samband med sjukdom hos människa. Restriktioner för positiva besättningar avseende förflyttning av djur och speciell hantering och undersökning vid slakt.
- Frivilligt eller obligatoriskt kontrollprogram
- Användning av probiotika

(b):

- Ökade krav på slakthygien och tillämpning av HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point)
- Slumpmässig provtagning avseende Enterobacteriaceae, *E. coli* eller *E. coli* O157:H7 följt av korrigerande åtgärder vid fel
- Olika dekontamineringsmetoder

(c):

- Slumpmässig provtagning av styckat kött och köttfärs avseende *E. coli* O157:H7 eller generiska *E. coli* eller Enterobacteriaceae
- Positiva produkter styrs till särskild hantering, t.ex. värmebehandling
- Förhöjd hygien i styckning och andra steg mellan slakt och försäljning till konsument med tillämpning av HACCP i alla led.

(d):

- Styrning av fermenteringen
- Styrning av temperatur/tid under mogning
- Mikrobiologisk kontroll av kött råvaran

Speciella åtgärder med särskild relevans för tillverkning av kallrökta produkter tillämpas bl.a. i Australien och i USA. I USA krävs att tillverkarna alternativt värmebehandlar produkterna, använder sig av validerade processer som ger en 5-log reduktion, tillämpar en HACCP-plan som innehåller test av korvsmeten och en 2-log reduktion eller analyserar färdig produkt innan den distribueras. Dessa krav har också implementerats i Canada. I Australien och Nya Zeeland krävs att fermenteringen och efterföljande processer skall ge minst en 3-log avdödning av *E. coli* innan produkterna får lämna tillverkaren. I Australien har tillverkaren haft två valmöjligheter. Antingen visa en 3-log reduktion genom inokulerings-studier eller en utvärdering av tillverkningsprocessen av en nationell expertgrupp. Enligt Ross & Shadbolt (2001) har få inokuleringsförsök gjorts då dessa är tekniskt svåra och dyra att utföra, och de flesta väljer att få sin process utvärderad av en nationell expertkommitté. Erfarenheter från detta system visar på svårigheterna att objektivt utvärdera processerna vilket har lett till frustration hos både tillverkare och experter.

Principen bakom de föreslagna åtgärderna är enkel. Man har utgått från de maximala halter av bakterier som kan uppträda i dessa produkter och sedan utgående från portionsstorlekar beräknat hur mycket halterna behöver reduceras för att i princip inga bakterier ska konsumeras. Har det funnits ett HACCP program så har man utgått från att den initiala halten som kan uppträda i råvarorna är lägre och att det därför krävs en lägre reduktion under produktionen.

I EU-direktiv 77/99 anges att köttprodukter med ett $\text{pH} < 4,5$ eller en vattenaktivitet $\leq 0,91$ eller vattenaktivitet $\leq 0,95$ och $\text{pH} \leq 5,2$ har genomgått en behandling motsvarande helkonservering och följaktligen skall anses som fullt lagringsstabila. Produkter som inte uppfyller dessa krav skall anses ha genomgått behandling motsvarande kylkonservering vilket ställer krav på kylförvaring av produkten.

I Sverige finns sedan 1999 en handlingspolicy avseende kontroll av EHEC som sammanställts av de närmast berörda myndigheterna. I denna finns bl.a. rekommendationer om hygienåtgärder och besöksrutiner i besättningar med idisslare samt speciella åtgärder i besättningar vilka har visats ha ett samband med EHEC-fall hos människa. Vidare framhålls att regelbunden och anonym övervakning av förekomst i livsmedel av vissa VTEC som kan anses utgöra risk för enterohemorragisk sjukdom hos människa bör genomföras.

Analys utifrån svenska förhållanden

Problemets omfattning

Kallrökta fermenterade produkter kan utgöra en smittkälla för EHEC. Ett fåtal utländska utbrott liknande det svenska finns rapporterade (tabell 2). Liksom för andra livsmedelsburna patogener gäller emellertid att det för varje EHEC fall som kommer till myndigheternas kännedom inträffar ett ytterligare antal okända fall ute i samhället. Det är därför viktigt att förstå att de rapporterade fallen inte ger hela bilden och att upptäckten av ett utbrott i Sverige orsakat av kallrökt fermenterad korv sedan 1996 inte nödvändigtvis ger den sanna bilden av hur ofta denna typ av produkt orsakar sjukdomsfall. Med vår nuvarande kunskap är det mycket svårt att uppskatta det verkliga antalet fall. Detta gäller både det totala antalet EHEC-fall och antalet EHEC-fall orsakade av kallrökta icke värmebehandlade produkter. Ett problem i sammanhanget är att EHEC-fall orsakade av andra serotyper än O157 inte är anmälningspliktiga.

Faktorer som påverkar konserveringseffekten

Sammantaget finner man att konserveringseffekter i kallrökta korvar erhålls av en mängd samverkande faktorer enligt principen för den så kallade "hurdle-effekten". Vad som är viktigt att beakta är att avdödningseffekten är beroende av dessa hämmande mekanismer under en tidsperiod. För att optimera förutsättningen för att åstadkomma en sanering av eventuell kontaminerande bakterier krävs att hela tillverkningsprocessen följer ett väl utarbetat kontrollprogram som avser köttråvara och kolhydratkälla, val av starterkultur, inblandning av kulturen i korvsmeten, tillsatser, val av mognadstemperatur, relativ fuktighet under fermentations- och rökningsfasen, uttorkning och eftermognad. I anslutning till denna process krävs även utformning av mätpunkter som avser bland annat pH och vattenaktivitet.

Identifiering och utvärdering av möjliga riskhanteringsåtgärder

Inledning

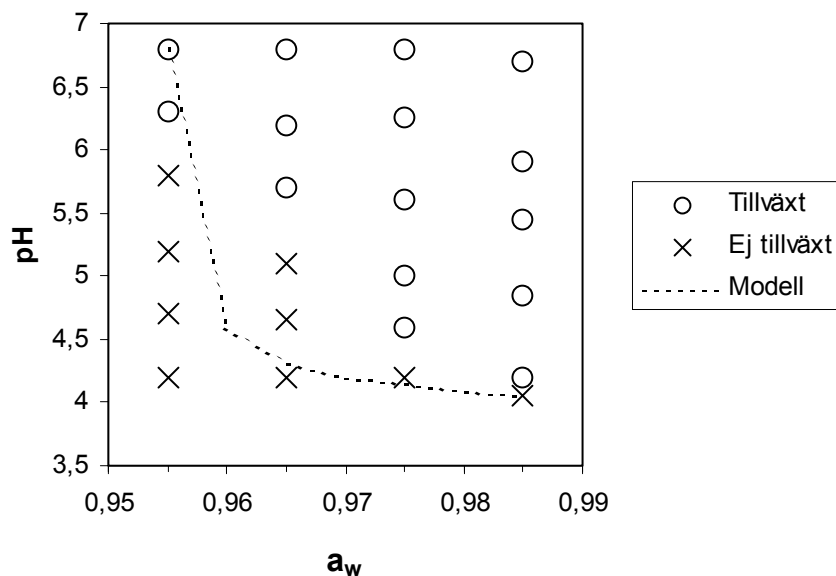
Då avdödning genom värmebehandling inte är aktuellt för dessa produkter får riskhanteringen rikta sig mot några andra principiella kontrollpunkter. Den första punkten bör vara att förhindra att EHEC finns i råvarorna. Övriga principiella åtgärder är att 1) förhindra tillväxt och 2) maximera/optimera avdödningen av de EHEC som eventuellt finns i råvarorna genom att styra miljöbetingelserna vid produktion och efterföljande lagring av korven.

I en genomgång av inaktiveringen av *E. coli* i denna typ av produkter sammanställde Ross & Shadbolt (2001) en stor mängd experimentella studier utförda både i buljongförsök och i fermenterade produkter. De fann att oberoende av de experimentella betingelserna, t ex pH, a_w , och typ av produkt så kunde temperaturen förklara omkring 66-78% av avdödningshastigheten. Temperaturen är alltså den dominerande faktorn som bestämmer avdödningshastigheten och den faktor som ger störst möjlighet att kontrollera avdödningen. pH och a_w är inte oväsentliga

men verkar vara mindre dominerande. Den förklaring som författarna föreslog till denna observation var att så fort betingelserna i ett livsmedel blir sådana att *E. coli* inte kan tillväxa så börjar de avdödas och hastigheten med vilket detta sker bestäms främst av temperaturen. Tidpunkten när icke tillväxtbetingelserna uppnås och avdödningsen börjar i en fermenterad produkt är däremot mycket beroende av livsmedelsspecifika miljöfaktorer (pH, a_w) förutom temperaturen, och dessa kan påverkas genom tillverkningsprocessen.

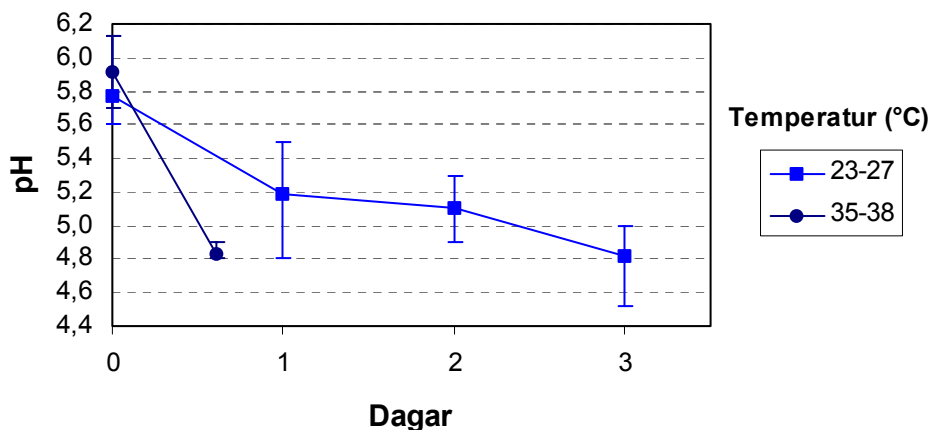
1) Förhindrande av tillväxt under fermenteringsfasen

Tillväxt av EHEC i korvsmeten under den initiala fermenteringsfasen kan inte uteslutas (Nissen & Holck 1998). Hämmningen av tillväxten är resultatet bland annat av ett samspel mellan pH (odissocierad syra) och vattenaktivitet. Detta samspel har beskrivits i en tillväxt/icke tillväxt modell som visar i vilka pH- och a_w -intervall som tillväxt kan ske respektive inte kan ske (Presser et al., 1998). Vi har inte haft tillgång till data över initiala pH och vattenaktivitetsvärden och hur dessa utvecklas vid tillverkningsprocesser som används av svenska producenter. Däremot har sådana data hittats i internationell vetenskaplig litteratur. Vid fermenteringens början ligger pH i korvmassan normalt inom intervallet 5,6 – 6,2 och vattenaktiviteten omkring 0,95. Enligt modellen så ligger dessa betingelser i gränsområdet där tillväxt är möjlig. Då modellen baserar sig på buljongförsök och på enbart en *E. coli* stam så bör prognosen tolkas mer som en indikation som behöver testas för varje produkt än som en allmängiltig sanning. Men utgående från denna modell så är en viktig förutsättning för att tillväxt inte ska ske att vattenaktiviteten hålls låg. Om vattenaktiviteten är 0,97 eller högre så anger modellen att sannolikheten för tillväxt är över 50% även vid ett så lågt pH som 4,5 (figur 2). Figuren visar resultat från försök där pH reglerats genom tillsats av saltsyra. Om mjölksyra tillsätts upphör tillväxten vid högre pH än när enbart oorganisk syra används för att sänka pH.

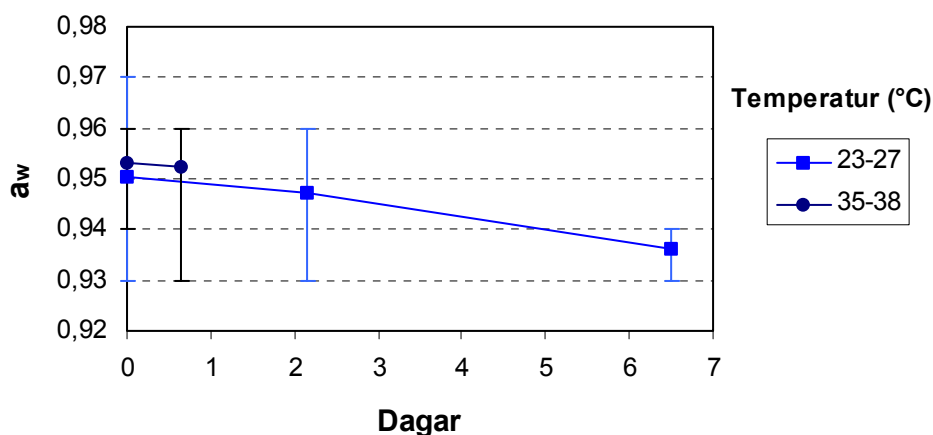


Figur 2. Observerade data och prognos för tillväxt/icke tillväxt av *E. coli* vid 20 °C. Notera att mjölksyrhalten är noll eftersom pH i försöket reglerades genom tillsats av saltsyra. Hämningen av tillväxten sker vid ett högre pH med mjölksyra än med saltsyra. Streckad linje visar 50 % sannolikhet för tillväxt enligt prognosmodellen. Fritt efter Presser et al. (1998).

Om fermenteringen sker vid en temperatur över 30 °C sjunker pH till under 5,0 inom ett dygn. Vid lägre temperaturer (som är typiskt för svenska produkter av denna typ) tar det ofta 2–3 dagar innan pH gått ner till nivåer under 5,0 (figur 3). Vattenaktiviteten sjunker endast långsamt under fermenteringen och de första dagarnas torkning (figur 4).



Figur 3. Förändring av pH under fermentering av korv vid olika temperaturer. Genomsnittliga värden baserade på data från 14 studier. (Trüssel & Jemmi 1989; Glass et al. 1992; Farber et al. 1993; Hinkens et al. 1996; Tilden et al. 1996; Faith et al. 1997; Faith et al. 1998a; Faith et al. 1998b; Nissen & Holck 1998; Riordan et al. 1998; Cosanu & Ayhan 2000; Erkkilä et al. 2000; Stiebing et al. 2000b; Lahti et al. 2001). Staplar visar min- och maxvärden.



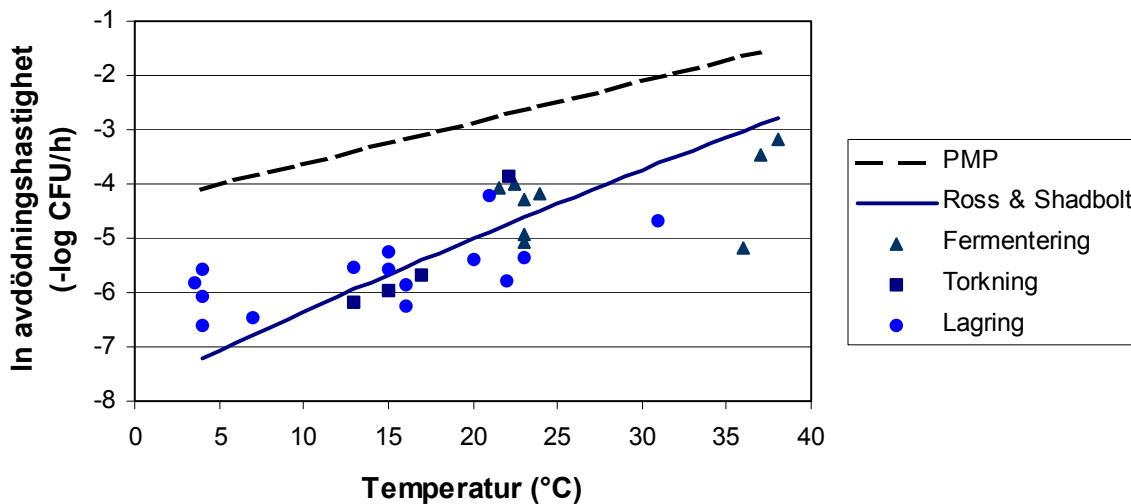
Figur 4. Förändring av a_w under fermentering av korv vid olika temperaturer. Genomsnittliga värden baserade på data från åtta studier. (Trüssel & Jemmi 1989; Farber et al. 1993; Hinkens et al. 1996; Faith et al. 1997; Faith et al. 1998a; Nissen & Holck 1998; Riordan et al. 1998; Lahti et al. 2001). Staplarna visar observerade min- och maxvärden.

Sammanfattningsvis kan alltså sägas att det är väsentligt att korvsmetens egenskaper, särskilt pH och vattenaktivitet, är kända och att de är under kontroll så att de så snart som möjligt ligger i de intervall där tillväxt inte kan ske.

2) Överlevnad under fermentation, torkning och lagring

När väl betingelser som förhindrar tillväxt har uppnåtts i den fermenterade produkten så sker en avdödning. Optimering av hastigheten med vilken avdödningen sker verkar vara en ytterligare möjlighet att öka säkerheten i tillverkningsprocessen. Det finns två prognosmodeller som beskriver överlevnad av *E. coli*. Den första är Ross & Shadbolts (2001) modell som förutsäger avdödning som en funktion enbart av temperaturen. Den modellen bygger som tidigare nämnts på en sammanställning av försök utförda i fermenterad korv. Den andra modellen ingår i USDA/ARS Pathogen Modelling Program (PMP) och inkluderar förutom temperatur också pH, vattenaktivitet och viktsprocent mjölksyra som oberoende variabler. Den modellen bygger på buljongförsök.

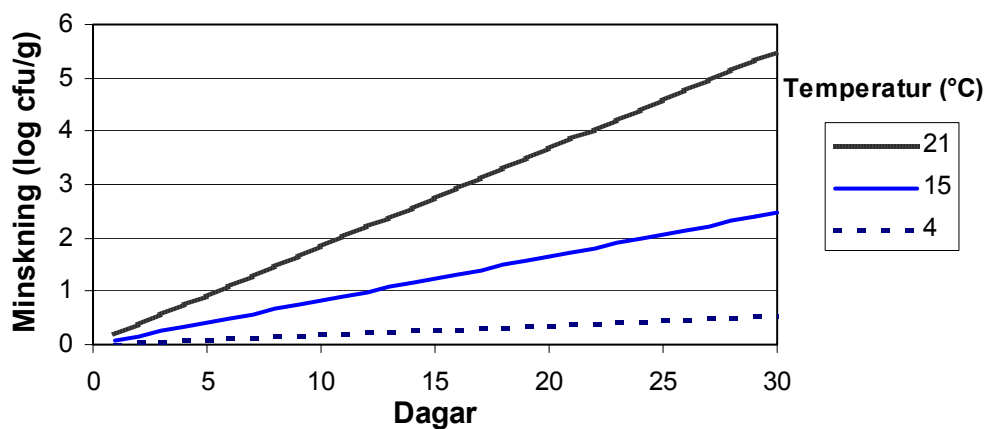
I riskprofilen har oberoende data, d v s data ej använda till att utveckla någon av dessa modeller, använts för att validera dessa båda modeller. Data har hämtats från experimentella studier där överlevnaden av *E. coli* vid olika fermenterings- respektive lagrings / torknings-temperaturer har undersökts. Värdena i figur 5 anger genomsnittlig avdödningshastighet. I exemplet har de oberoende variablerna i PMP-modellen satts till nivåer som ofta förekommer i korv direkt efter fermentering: pH 4,8; a_w 0,95; mjölksyra 1 %; nitrit 75 ppm (halten tillsatt nitrit i korv är normalt högre, men modellen medger inte halter över 75 ppm).



Figur 5. Validering av prognoser för minskningen av halten av *E. coli* under tillverkning av fermenterad korv. Genomsnittliga avdöningshastigheter baserade på data från 12 studier (Hinkens et al. 1996; Nissen & Holck 1998; Riordan et al. 1998; Casey & Condon 2000; Cosanu & Ayhan 2000; Erkkilä et al. 2000; Stiebing et al. 2000a; Stiebing et al. 2000b; Calicioglu et al. 2001; Chikthimmah & Knabel 2001; Lahti et al. 2001; Uyttendaele et al. 2001).

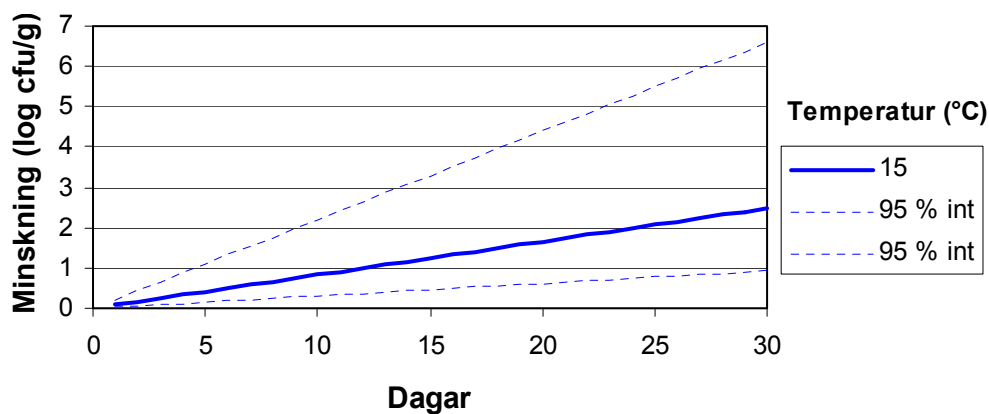
Valideringen visar att den predikterade avdöningshastigheten från Ross & Shadbolts modell stämmer väl överens med observerade data. Detta gäller särskilt vid temperaturer mellan 15 och 25 °C, medan avdöningen vid 4°C underskattas något. PMP-modellen förutspår däremot en väsentligt högre avdöning än den observerade i hela temperaturintervallet. Ross & Shadbolts modell är således mest lämpad att använda för prognoser för minskningen av halten *E. coli* vid olika temperaturer.

Ändringar i fermentationstemperatur är förmodligen mindre lämpade för att kontrollera avdöningen, dels därför att de redan är förhållandevis höga och dels för att ännu högre temperaturer skulle ge en helt annan typ av produkter. Vi valde därför att illustrera tre olika torknings/lagringstemperaturers effekt på avdöningen genom att använda Ross & Shadbolts modell (figur 6).



Figur 6. Prognos för minskning av halten av E. coli under torkning/lagring av fermenterad korv baserad på Ross & Shadbolts modell.

Efter 30 dagar förutspås endast en liten minskning vid 4 °C, medan den teoretiska avdödningen är väsentligt större vid högre temperaturer. Osäkerheten i prognoserna är dock relativt stor, vilket framgår av figur 7 där 95 % konfidensintervall för prognosen vid en av temperaturerna är angivet.



Figur 7. Prognos för minskning av halten av E. coli under torkning/lagring av fermenterad korv baserad på Ross & Shadbolts modell. Streckade linjer visar 95 % konfidensintervall för prognosen för minskningen vid 15 °C.

Sammanfattningsvis kan torknings- /lagringstemperaturer över kyltemperaturer förväntas öka avdödningen och vara en möjlig väg att öka säkerheten av dessa produkter.

3) Potentiella faror med att öka torknings /lagringstemperaturen

Vid en höjning av lagringstemperaturen kan en ökad tillväxt av mikroorganismer, t ex andra sjukdomsframkallande bakterier, inte uteslutas. För att kontrollera denna fara är det viktigt att förhållandena i de fermenterade produkterna snabbt blir sådana att de inte tillåter växt av dessa patogener. Två potentiella faror vid tillverkning av fermenterad korv som kan beaktas är toxinbildande *Staphylococcus aureus* och *Listeria monocytogenes*. *S. aureus* är känslig för konkurrens och borde kunna kontrolleras genom kontroll av att fermentationsprocessen snabbt kommer igång. Försök i näringsbuljong pekar också på att avdöningen ökar med stigande temperatur (Whiting et al. 1996).

Vad gäller *Listeria monocytogenes* påverkas dess möjligheter till tillväxt och överlevnad i hög grad av samspelet med mjölksyrabakterierna. Tillsats av starterkultur är viktigt för att undvika att *L. monocytogenes* växer till under fermenteringen. Det finns också en variation mellan olika arter av mjölksyrabakterier när det gäller deras förmåga att konkurrera ut *L. monocytogenes*. Däremot är sambandet mellan temperatur under tillverkningsprocessen och överlevnad av *L. monocytogenes* mindre tydligt än för *E. coli*. Studier som syftar till att direkt undersöka temperaturens betydelse är också ovanliga men det finns försök med fermenterad korv som visar att halterna av *Listeria* minskar snabbare vid 15 – 20 °C än vid 4 °C (Nissen & Holck 1998; Chiktimah et al. 2001). Utifrån dessa förhållandevis begränsade data bör effekten av en förhöjd lagringstemperatur på tillväxt och avdödning av *L. monocytogenes* utvärderas för varje enskild produkt.

Identifiering av kunskapsluckor

Halter av EHEC i kontaminerat kött har undersökts i enstaka internationella studier, men data för svenska förhållanden saknas. Detta beror på att det är mycket resurskrävande att samla in haltdata för en bakterie med den låga förekomst som är aktuell i kötttråvara. Däremot finns uppgifter om totala halter av *E. coli*.

Dokumentation om variation och normala värden för temperatur, vattenaktivitet och sänkning av pH vid fermentering av korv saknas för olika svenska produkter. De studier som har gjorts av avdödning av EHEC bygger på försök där vattenhalten i korvmassan ligger på ca 0,95-0,96 vid tillverkningens början, och där pH reduceras till ca 4,8 – 5,0 under fermenteringen. Data behövs för att kunna bedöma relevansen av dessa studier för svenska förhållanden.

Kunskap om hur optimala omständigheter för att förhindra möjligheter till tillväxt under fermenteringen kan uppnås saknas. Likaså saknas uppgifter om hur överlevnaden påverkas om pH sänks till lägre nivåer än 4,8.

Enkel metodik för entydig påvisning av EHEC saknas.

Slutsatser av relevans för att hantera smittspridning av EHEC via kallrökta, icke värmebehandlade, fermenterade produkter

- Kallrökta, icke värmebehandlade fermenterade produkter har i ett fåtal fall satts i samband med EHEC-smitta.
- Både importerade, införda och svenskproducerade varor tillhörande denna kategori förekommer på den svenska marknaden.
- Av avgörande betydelse för smittspridningen är fekalt förorenade råvaror beroende på förekomsten av EHEC i tarmkanalen hos friska nötkreatur.
- Flera kartläggningar visar att EHEC kan påvisas hos svensk (och utländsk) nötboskap.
- Kunskap om hur ofta nötråvaran är smittad av EHEC och med vilka halter saknas, men frekvensen är så låg att provtagning av kött eller korv för att påvisa EHEC inte är realistiskt.
- I produktionen av kallrökta, fermenterade icke värmebehandlade produkter ingår inget enskilt processteg som säkert avdödar alla eventuella EHEC som förekommer i råvaran.
- De viktigaste faktorerna som förhindrar tillväxt av EHEC och som styr när avdödningen påbörjas är pH, mängden odissocierad mjölksyra och vattenaktiviteten.
- Starterkulturer används för att öka produktsäkerheten. Deras inblandning och tillväxt i smeten är viktiga steg för att få igång en snabb syrabildning och pH-sänkning.
- När väl avdödningen påbörjats verkar temperaturen vara den viktigaste faktorn för avdödningshastigheten. Avdödningen sker långsamt i kylskåpstemperatur och snabbare i rumstemperatur.
- Säkra produkter skapas av en kombination av ovan angivna faktorer som tillsammans leder till förhållanden som avdödar EHEC. Dessa faktorer kan styras så att avdödningen maximeras.
- Kunskap om betingelserna (pH, vattenaktivitet, temperatur, starterinblandning) vid produktionen av svenska korvar samt hur dessa betingelser samspelar för att optimera avdödningen saknas.

Rekommendationer

- Med hänsyn till den mycket låga infektionsdosen ska ”nolltolerans” avseende EHEC i kallrökta fermenterade produkter gälla.
- Produktion av kallrökt korv skall styras med tillämpning av GHP och HACCP.
- HACCP program skall utformas för varje enskild produkt med hänsyn till faktorer som styr avdödande av EHEC och andra patogener. Det förutsätter att:
 - Optimala betingelser för fermenteringsprocessen fastställs för varje enskild produkt. Betingelser i korvmassan som förhindrar tillväxt och som påbörjar inaktivering/avdödning av EHEC skall uppnås så snabbt som möjligt.

- Betydelsen av faktorer som temperatur, tid, pH och vattenaktivitet för avdödning av EHEC under mogning/torkning skall fastställas. Speciellt bör avdödningseffekten vid torkning/mognad i temperaturer på 15-20°C valideras.
 - Inverkan på andra patogener som *S. aureus* och *L. monocytogenes* under rekommenderad process utvärderas.
- Med hänsyn till resultatet av ovan nämnda studier föreligger eventuellt ett behov av en översyn av rekommendationer som rör förvaringstemperatur för färdiga produkter.
- Särskilda åtgärder för att minska besättningsprevalensen av EHEC skall övervägas i områden med hög prevalens.
- Slakt- och styckningsbranschen måste tillse att förorenad råvara ej släpps ut på marknaden. Detta förutsätter:
 - en striktare tillämpning av gällande regler om djurens renhet vid slakt och hygien vid slakt och styckning
 - att uppföljning av den obligatoriska provtagningen av slaktkroppar sker kontinuerligt och att åtgärder vidtages så snart analysresultaten indikerar en försämrad slakthygien
 - att effektiva HACCP-program implementeras och följs i slakt- och styckning.
- Ansvariga myndigheter skall tillse att företagens egentillsyn avseende GHP och HACCP följs och fungerar.
- *E. coli* bör användas som en indikator på fekal förorening.

Litteratur

- ACMSF 1995. Report on Verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food, HMSO, London, England.
- Ammon, A, Petersen, LR, Karch, H. 1999. A large outbreak of hemolytic uremic syndrome caused by an unusual sorbitol-fermenting strain of *Escherichia coli* O157:H-. The Journal of Infectious Diseases, 179:1274-7.
- Armstrong, G L, J Hollingsworth, Morris Jr, JG. 1996. Emerging foodborne pathogens: *Escherichia coli* O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world, Epidemiological Reviews 18: 29-51.
- Calicioglu, M, NG Faith, DR Buege, Luchansky JB. 2001. Validation of a manufacturing process for fermented, semidry Turkish soudjouk to control *Escherichia coli* O157:H7, Journal of Food Protection 64(8): 1156-1161.
- Casey, P, Condon, S. 2000. Synergistic lethal combination of nitrite and acid pH on a verotoxin-negative strain of *Escherichia coli* O157, International Journal of Food Microbiology 55(1/3): 255-258.
- Cassin MH, Lammerding AM, Todd EC, Ross W, McColl RS. 1998. Quantitative risk assessment for *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef hamburgers. International Journal of Food Microbiology. 54 (1):21-44.
- Chikthimmah, N, Knabel, SJ. 2001. Survival of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* in and on vacuum packaged Lebanon bologna stored at 3.6 and 13.0 degree C, Journal of Food Protection 64(7): 958-963.
- Coleman, P, E D Ebel, M Powell, T Roberts, Schlosser, W. 1998. Preliminary pathways and data for a risk assessment of *E. coli* O157:H7 in beef. Washington, FSIS.
- Cosanu, S, Ayhan, K. 2000. Survival of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 strain in Turkish soudjouk during fermentation, drying and storage periods, Meat Science 54(4): 407-411.
- Duffy, G, D C R Riordan, J J Sheridan, J E Call, R C Whiting, I S Blair, McDowell, DA. 2000. Effect of pH on survival, thermotolerance, and verotoxin production of *Escherichia coli* O157:H7 during simulated fermentation and storage, Journal of Food Protection 63(1): 12-18.
- Eriksson, E 2002. Verotoxinbildande *E. coli* O157 i den svenska nötpopulationen, SVA-vet 3-4: 10-12.
- Erkkilä, S, M Venalainen, S Hielm, E Petaja, E Puolanne, Mattila Sandholm, T. 2000. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in dry sausage fermented by probiotic lactic acid bacteria, Journal of the Science of Food and Agriculture 80(14): 2101-2104.
- Farber, J M, E Daley, R Holley, Osborne, WR. 1993. Survival of *Listeria monocytogenes* during the production of uncooked German, American and Italian-style fermented sausages, Food Microbiology. 1993 10(2): 123-132.
- Faith, N G, N Parniere, T Larson, T D Lorang, Luchansky, JB. 1997. Viability of *Escherichia coli* O157:H7 in pepperoni during the manufacture of sticks and the subsequent storage of slices at 21, 4 and -20 degree C under air, vacuum and CO₂, International Journal of Food Microbiology 37(1): 47-54.
- Faith, N G, N Parniere, T Larson, T D Lorang, C W Kaspar, Luchansky, JB. 1998a. Viability of *Escherichia coli* O157:H7 in salami following conditioning of batter, fermentation and drying of sticks, and storage of slices, Journal of Food Protection 61(4): 377-382.
- Faith, N G, R K Wierzba, A M Ihnot, A M Roering, T D Lorang, C W Kaspar, Luchansky, JB. 1998b. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in full- and reduced-fat pepperoni after manufacture of sticks, storage of slices at 4 degree C or 21 degree C under air and vacuum, and baking of slices on frozen pizza at 135, 191 and 246 degree C, Journal of Food Protection 61(4): 383-389.
- Feng, P 1995. *Escherichia coli* Serotype O157:H7: Novel Vehicles of Infection and Emergence of Phenotypic Variants, Emerging Infectious Diseases, 1:47-52.
- Glass, K A, J M Loeffelholz, J P Ford, Doyle, MP. 1992. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 as affected by pH or sodium chloride and in fermented, dry sausage, Applied and Environmental Microbiology 58(8): 2513-2516.
- Griffin PM, Tauxe RV. 1991. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. Epidemiological Revue, 13:60-98.

- Haas, CN, Rose, JB, Gerba, CP. 1999. Quantitative microbial risk assessment. J. Wiley & Sons, Inc. New York.
- Haas CN, Thayyar-Madabusi A, Rose JB, Gerba CP. 2000. Development of a dose-response relationship for *Escherichia coli* O157:H7. International Journal of Food Microbiology. 56 (2-3):153-9.
- Hansson, H B. 2003. EHEC utbrott i Skåne 2002, Slutrapport från smittskyddsläkare.
- Hinkens, J C, N G Faith, T D Lorang, P Bailey, D Buege, C W Kaspar, Luchansky, JB. 1996. Validation of pepperoni processes for control of *Escherichia coli* O157:H7, Journal of Food Protection 59(12): 1260-1266.
- Johnson RP, Clarke RC, Wilson JB, Read SC, Rahn K, Renwick SA, Sandhu KA, Alves D, Karmali MA, Lior H, McEwen SA, Spika JS, Gyles CL. 1996. Growing concerns and recent outbreaks involving non-O157:H7 serotypes of verotoxigenic *Escherichia coli*. Journal of Food Protection, 59:1112-1122.
- Lahti, E, T Johansson, T Honkanen Buzalski, P Hill, Nurmi, E. 2001. Survival and detection of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* during the manufacture of dry sausage using two different starter cultures, Food Microbiology 18(1): 75-85.
- Lindqvist, R, A K Antonsson, B Norling, L Persson, A C L Ekström, U Fäger, E Eriksson, S Löfdahl, Norberg, P. 1998. The prevalence of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) and *E. coli* O157:H7 in beef in Sweden determined by PCR assays and an immuno-magnetic separation (IMS) method, Food Microbiology 15(6): 591-601.
- MacDonald, D, M Fyfe, A Paccagnella, J Fung, J Harb, Louie, K. 2001. *Escherichia coli* O157:H7 outbreak linked to salami, British Columbia, Canada, 1999. Field Epidemiology Training Program, 2001 Abstracts.
- Mead PS, Griffin PM. 1998. *Escherichia coli* O157:H7. Lancet, 352:1207-1212
- MMWR 1995. *Escherichia coli* O157:H7 Outbreak linked to commercially distributed dry-cured salami – Washington and California, 1994. Morbidity and Mortality Weekly Report, March 10, 44: 157-160.
- Nauta, MJ, Evers, E.G, Takumi, K., Havelaar, AH. 2001. Risk assessment of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* O157 in steak tartare in the Netherlands. RIVM report 257851003/2001.
- Nissen, H, Holck, A. 1998. Survival of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Kentucky in Norwegian fermented, dry sausage, Food Microbiology 15(3): 273-279.
- NZ. 2001. Risk Profile: Shiga toxin producing *Escherichia coli* in red meat and meat products. Institute of Environmental Science & Research Limited.
- Padhye, N V, Doyle, MP. 1991. Rapid procedure for detecting enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in food, Applied and Environmental Microbiology 57(9): 2693-2698.
- Powell, MR, Ebel, E, Schlosser, W, Walderhaug, M, Kause, J. 2000. Dose-response envelope for *Escherichia coli* O157:H7. Quantitative Microbiology 2:141-163.
- Presser, K A, T Ross, Ratkowsky, DA. 1998. Modelling the growth limits (growth/no growth interface) of *Escherichia coli* as a function of temperature, pH, lactic acid concentration, and water activity, Applied and Environmental Microbiology 64(5): 1773-1779.
- Riordan, D C R, G Duffy, J J Sheridan, B S Eblen, R C Whiting, I S Blair, McDowell, DA. 1998. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture of pepperoni, Journal of Food Protection 61(2): 146-151.
- Ross, T, Shadbolt, B. 2001. Predicting *Escherichia coli* inactivation in uncooked comminuted fermented meat products, Meat and Livestock Australia.
- Salter MA, Ratkowsky DA, Ross T, McMeekin TA. 2000. Modelling the combined temperature and salt (NaCl) limits for growth of a pathogenic *Escherichia coli* strain using nonlinear logistic regression. International Journal of Food Microbiology. 61(2-3):159-67.
- SCVMPH 2003. Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health On Verotoxigenic *E. coli* (VTEC) in foodstuffs.
- SJV:s hemsida. Webbadress: www.sjv.se God hygien - bästa sättet att stoppa EHEC-utbrott
- SMI:s hemsida. Webbadress: <http://gis.smittskyddsinstitutet.se/mapapp/build/intro.html> Anmälningspliktiga sjukdomar.
- SMI 1996. Smittsamma sjukdomar. Epidemiologiska enhetens årsrapport. Smittskyddsinstitutet.
- SMI 2001. Smittsamma sjukdomar. Epidemiologiska enhetens årsrapport. Smittskyddsinstitutet.
- Stiebing, A, N Vogt, J Baumgart, Putzfeld, K. 2000a. Surviving ability of EHEC in raw sausages. I.

- Spreadable raw sausage, *Fleischwirtschaft* 80(3): 87-90.
- Stiebing, A, N Vogt, J Baumgart, K Putzfeld, Bergt, J. 2000b. Surviving ability of EHEC in raw sausages. II. Sliceable raw sausage, *Fleischwirtschaft* 80(6): 107-110.
- SVA 2001. Zoonoses in Sweden up to and including 1999.
- SVA 2002. Trends and sources of zoonotic infections recorded in Sweden during 2001.
- Tilden J Jr, Young W, McNamara AM, Custer C, Boesel B, Lambert-Fair MA, Majkowski J, Vugia D, Werner SB, Hollingsworth J, Morris JG Jr. 1996. A new route of transmission for *Escherichia coli*: infection from dry fermented salami. *Am J Public Health* 86:1142-5.
- Trüssel, M, Jemmi, T. 1989. Das Verhalten von *Listeria monocytogenes* während der Reifung und Lagerung von künstlich kontaminierter Salami und Mettwurst, *Fleischwirtschaft* 69(10): 1586-1592.
- USDA 1994. Nationwide beef microbiological data collection program: steers and heifers.
- USDA 1996. Nationwide beef microbiological data collection program: cows and bulls.
- Uyttendaele, M, S Vankeirsbilck, Debevere, J. 2001. Recovery of heat-stressed *E. coli* O157:H7 from ground beef and survival of *E. coli* O157:H7 in refrigerated and frozen ground beef and in fermented sausage kept at 7 degree C and 22 degree C, *Food Microbiology* 18(5): 511-519.
- Whiting, R C, S Sackitey, S Calderone, K Morely, Phillips, JG. 1996 Modelling the growth of *Staphylococcus aureus* in nongrowth environments, *International Journal of Food Microbiology* 31: 231-243.
- Williams, R C, S Isaacs, M L Decou, E A Richardson, M C Buffet, R W Slinger, M H Brodsky, B W Ciebin, A Ellis, Hockin, J. 2000. Illness outbreak associated with *Escherichia coli* O157:H7 in Genoa salami, *Canadian Medical Association Journal* 162(10): 1409-1413.

1. Interkalibrering av mikrobiologiska livsmedelslaboratorier – oktober 2001 – av C Haarala och Å Rosengren.
2. Rapportering om livsmedelstillsyn 2000 – Kommunernas rapportering om livsmedelstillsyn av D Rosling.
3. Rapportering av dricksvattentillsyn 2000 – Kommunernas rapportering om livsmedelstillsyn av D Rosling.
4. Proficiency Testing Programme, Chemistry series, Trace Elements in Food – Round 6 – by C Åstrand and L Jorhem.
5. Säkerhetsgenomgång – kommunal dricksvattenförsörjning av A-S Wikström och R Jönsson.
6. Examination of Residues in Live Animals Products – Results of the Control 2001 by I Nordlander.
7. Sous vide – matlagningsmetod på frammarsch av U Lantz och P Norberg.
8. Interkalibrering av mikrobiologiska livsmedelslaboratorier – januari 2002 – av C Haarala.
9. Proficiency Testing Nutritional Components in Food – Round 29, March – April 2002 by L Merino.
10. Riksprojekt 1 – 2000, Campylobacter i kött och vatten – Kartläggning av Campylobacter i rätt kött och råvatten till dricksvatten i Sverige år 2000.
11. Collaborative study of method för qualitative determination of *Listeria monocytogenes* in food – NMKL no 136 2nd ed. 1999, by C Normark.
12. Kollaborativ avprövning av metodförslag för bestämning av *Bacillus cereus* i livsmedel – NMKL nr 67, 4 utg. 1997, av I Pudas och C Normark.
13. Interkalibrering av mikrobiologiska livsmedelslaboratorier – april 2002 – av C Haarala och Å Rosengren.
14. Interkalibrering av laboratorier – mikrobiologiska dricksvattenanalyser 2002:1 (mars) av T Šlapokas och M Ljunge.
15. The Swedish Monitoring of Pesticide Residues in Food of Plant Origin: 2001, EC and National Report by A Andersson, A Jansson and A-K Kuusk.
16. Bly och kadmium i vegetabilier odlade kring Rönnskärsverken i Skelleftehamn 2001 av B Sundström och L Jorhem.
17. Proficiency Testing Nutritional Components in Food – Round 30, September – October 2002 by L Merino.
18. Provundersökning inför Riksmaten 1997–98 av W Becker.
19. Validitet av ett nordiskt konsumtionsfrekvensformulär för potatis, grönsaker, frukt och bär av S Persson och W Becker.
20. Rapportering om livsmedelstillsyn 2001 – Kommunernas rapportering om livsmedelstillsyn av D Rosling.
21. Mathantering på sjukhus och andra vårdinrättningar av U Lantz och B Svensson.
22. Comparison of solvent and supercritical fluid extractions of incurred pesticide residues in wheat – The 5th progress report of an EU SMT4 project: "Development of multi-residue methods for pesticides in dry and dried foodstuffs using solvent or supercritical fluid extraction and GC detection".
23. Proficiency Testing Programme, Chemistry series, Trace Elements in Food – Round 7 – by C Åstrand and L Jorhem.
24. Rapportering av dricksvattentillsyn 2001 – Kommunernas rapportering om livsmedelstillsyn av D Rosling.
25. Indirekt miljöpåverkan av Livsmedelsverkets beslut. Underlag för beslut om vidare arbetsstrategi av C Lagerberg.
26. Exponering för organiska miljökontaminanter via livsmedel – Intagsberäkningar av ΣPCB, PCB-153, ΣDDT, p,p'-DDE, PCDD/F, dioxinlika PCB, PBDE och HBCD baserade på konsumtionsdata från Riksmaten 1997-98 av Y Lind, P O Darnerud, M Aune och W Becker.
27. Verksamhetsplan 2003.

1. Svenska näringsrekommendationer översatta till livsmedel – underlag till generella råd på livsmedels- och måltidsnivå för friska vuxna av H Enghardt Barbieri och C Lindvall.
2. Interkalibrering av mikrobiologiska livsmedelslaboratorier – oktober 2002 – av C Normark.
3. Interkalibrering av laboratorier – mikrobiologiska dricksvattenanalyser 2002:2 (september) av T Šlapokas, M Ljunge och A Gidlund.
- 4.Handledning för ökad IT-säkerhet inom dricksvattenområdet av D Lindahl och M Wedlin, Totalförsvarets Forskningsinstitut, FOI.
5. Granskning av salmonellaförekomst i köttberedningar införda till Sverige från annat EU-land – Projektinriktad kontroll 2002 av A Arvidsson.
6. Examination of Residues in Live Animals Products – Results of the Control 2002 by I Nordlander.
7. Syntetiska myskföreningar i bröstmjolk och fisk – resultatrapport till Naturvårdsverkets Miljöövervakningsenhet av S Eriksson, P O Danerud, M Aune, R Bjerselius, P Slanina, S Cnattingius och A Glynn.
8. Interkalibrering av mikrobiologiska livsmedelslaboratorier – januari 2003 – av Å Rosengren och C Normark.
9. Proficiency Testing – Food Chemistry, Nutritional Components, Round 31, March-April 2003 by L Merino.
10. Interkalibrering av laboratorier – mikrobiologiska dricksvattenanalyser 2003:1 (april) av T Šlapokas, M Ljunge och A Gidlund.
11. Interkalibrering av laboratorier. Mikrobiologi – Livsmedel, april 2003 av C Normark.
12. The Swedish Monitoring of Pesticide Residues in Food of Plant Origin: 2002, EC and National Report by A Andersson, A Jansson and G A Eskhult.
13. *Listeria monocytogenes* i kyld konsumtionsfärdig mat av Å Rosengren och M Lindblad.
14. Rapportering om livsmedelstillsyn 2002 – Kommunernas rapportering om livsmedelstillsyn av D Rosling.
15. Rapportering av dricksvattentillsyn 2002 – Kommunernas rapportering om dricksvattentillsyn av D Rosling.
16. Ringtest on pesticide analysis using LC-MS detection. Incurred and Spiked Residues of Pesticides in Iceberg lettuce and Apple Homogenates by C Jansson.
17. Proficiency Testing – Food Chemistry, Nutritional Components, Round 32, September-October 2003 by L Merino and U Pagard.
18. Proficiency Testing – Food Chemistry, Vitamins in Foods, Round V-1 by H S Strandler and A Staffas.
19. Proficiency Testing – Food Chemistry, Trace Elements in Food, Round T-8 by C Åstrand and L Jorhem.
20. Riskprofil – Kallrökta, icke värmebehandlade, fermenterade produkter som smittkälla för EHEC av R Lindqvist, M Lindblad, L Plym Forshell, S Lindgren.



LIVSMEDELS
VERKET

NATIONAL FOOD
ADMINISTRATION, Sweden