

Slut-rapport

17. april 2012

Proj.nr.2000245/2000247

Opdateret undersøgelse af *Yersinia*-forekomst på fersk svinekød – projekt 2000245

FH/

Yersinia i ikke-varmebehandlede kødprodukter - projekt 2000247

Flemming Hansen

Introduktion

Nærværende slutrapport opsummerer formål og indhold for 2 projekter omhandlende *Yersinia enterocolitica* gennemført på DMRI i perioden 1. okt 2009 til 31. december 2011. De 2 projekter hænger nøje sammen og er udført i tæt samarbejde mellem projekternes deltagere.

Opdateret undersøgelse af *Yersinia*-forekomst på fersk svinekød

Formålet med dette projekt var at fastlægge forekomsten af patogener *Yersinia enterocolitica* i fersk svinekød af dansk og tysk oprindelse.

Det blev besluttet at anvende en PCR metode (Thisted Lambertz et. al., 2008 AEM **74**; 19 side 6060-6067). For at opnå semi-kvantitative data blev prøverne fortyndet 10-fold i opformeringsmedium til -3 fortynding og efterfølgende analyseret med PCR. For at kunne sammenligne de opnåede resultater med tidligere data fundet med NMKL's dyrkningsmetode, blev 96 prøver analyseret med både den nye PCR og NMKL117:1996.

Der blev i alt undersøgt 417 prøver af fersk svinekød med PCR, heraf 145 prøver af kam, 105 mørbrad og 167 bov/bovsnitte. Prøverne var generelt udtaget på kødforædlingsvirksomheder og dermed 3- 5 dage efter slagting. 24 af de modtagne prøver havde været frosset og er derfor taget ud af datamaterialet.

***Yersinia enterocolitica* i ikke-varmebehandlede kødprodukter**

Formålet med dette projekt var at dokumentere den opnåelige reduktion af *Yersinia enterocolitica* under fremstilling af ikke-varmebehandlede kødprodukter (spegepølser, røget filet, spegeskinke).

Indledningsvist blev 2 *Y. enterocolitica* stammer med resistens mod spectinomycin og chloramphenicol udvalgt til de planlagte "challenge-tests". Resistensen gør det muligt at genfinde de podede *Y. enterocolitica* på agar-medier tilsat de pågældende antibiotika. I to tidsmæssigt uafhængige forsøg i

DMRI's forsøgsfløj, blev der gennemført challenge-test (dobbelbestemmelse) med forskellige recepter af spegepølser og røget filet. Reduktionen af *Y. enterocolitica* gennem produktionsprocessen blev bestemt og vækst eller yderligere henfald under lagring blev ligeledes dokumenteret.

Saltet, tørret skinke blev ikke undersøgt i challenge-test, men produktets sikkerhed i relation til *Y. enterocolitica* blev vurderet på basis af produktets fremstillingsproces/saltindhold.

Afslutningsvist blev de opnåede reduktioner for spegepølse og røget filet sammenholdt med de opdaterede data fra prævalensundersøgelsen og risikoen for human *Y. enterocolitica* infektion som følge af indtag af dansk produceret kødprodukter blev vurderet.

Sammenligning af væksthastighed for de to udvalgte resistente stammer med tre ikke-resistente stammer isoleret fra svinekød, viste ingen væsentlig forskel på vækst i medier med varierende mængde af NaCl, nitrit, laktat samt pH. De to resistente stammer blev således fundet fuldt ud anvendelige til challenge-test i saltede, fermenterede ikke-varmebehandlede kødprodukter.

Reduktion af *Y. enterocolitica* under produktion af spegepølser blev dokumenteret i 12 forskellige recepter, fremstillet i 60 mm tarm, fermenteret eller GdL-syrnet og tørret og røget. Reduktion af *Y. enterocolitica* blev bestemt efter endt fermentering (72 timer), efter tørring til et tørresvind på ca. 15% henholdsvis ca. 35% og efter lagring af den færdige vacuumpakke spegepølse i 8 uger ved 5°C og 20°C

For samtlige undersøgte recepter opnås en reduktion i antallet af *Y. enterocolitica* under fremstillingsprocessen, men omfanget af reduktionen varierer afhængig af recepten og det aktuelle tørresvind. For en standard fermenteret spegepølse opnås en reduktion af *Y. enterocolitica* på mellem 2,0 og 4,5 log cfu. For GdL syrnede spegepølser opnås en mindre reduktion, ca. 1,6 – 2,0 log cfu. Der blev ikke observeret vækst af *Y. enterocolitica* i de færdige spegepølser efter 8 ugers lagring, hverken ved 5° eller 20°C.

De opnåede data er anvendt til at udvikle et hjælpeværktøj, som beregner en forventet reduktion af *Y. enterocolitica* under produktion af spegepølser, som funktion af pH-forløb (starterkultur/GdL), nitrit, salt, vand og tørresvind.

Den opnåelige reduktion af *Y. enterocolitica* under produktion og lagring af røget filet blev undersøgt og dokumenteret i 12 forskellige recepter (variabelt salt indhold samt med /uden nitrit tilsætning og med/uden laktat). De forskellige typer af røget filet blev undersøgt i en ægte dobbeltbestemmelse, dvs. produceret 2 gange på 2 forskellige dage.

Projektet viser, at *Y. enterocolitica* reduceres under fremstilling af røget filet, men at reduktionens størrelse (fra 1,9 – 4,7 log cfu) varierer afhængig af recept (salt, nitrit, laktat) og ikke mindst den anvendte røgeproces. I centrum af fileten opnås en væsentligt mindre reduktion (fra 0 – 1,0 log cfu). Projektet viste også, at der ikke forekommer opformering af *Y. enterocolitica* under lagring ved 4-5°C i 5 uger, hverken på overflade eller i centrum af den røgede filet.

Den opnåelige reduktion af *Y. enterocolitica* under fremstilling af tørret, saltet skinke blev ikke bestemt ved challenge-test, men er blevet vurderet på basis af produktets indhold af NaCl, nitrit og vand, samt tilgængelig viden i litteraturen. For denne type produkt vurderes der ikke at være nogen risiko for vækst af *Y. enterocolitica* under produktion. Tværtimod kan det estimeres, at *Y. enterocolitica* reduceres med mindst 4 log under saltnings- og tørringsprocessen.

Heller ikke ved en efterfølgende lagring af skinken (hel skinke eller skiver) er der risiko for vækst af *Y. enterocolitica*, idet produktet vil indeholde ca. 11% salt/vand eller mere samt 150 ppm nitrit.

En samlet vurdering af risiko for at få en *Y. enterocolitica* infektion efter indtag af dansk produceret fermenteret spegepølse og røget filet er udarbejdet. Som input er der anvendt de opdaterede semi-kvantitative prævalensdata fundet ved PCR undersøgelse af 393 prøver fersk kød i 2010-11, samt opnåede reduktioner fra udvalgte "worst case" recepter for spegepølse og røget filet. Endvidere er der anvendt samme forudsætninger som Alban et al (2002) benyttede til deres vurdering af estimerede tilfælde af human *Salmonella* Typhimurium DT104 infektioner der kunne skyldes konsum af salami.

Beregningen viste, at der ikke vil forekomme mere end 2 overlevende *Y. enterocolitica* i en given 40 grams portion af spegepølse (estimeret til 27 tilfælde ud af 1 mio serveringer) og højst 1 *Y. enterocolitica* i en tilsvarende 40 grams portion af røget filet (39 tilfælde ud af 1 mio serveringer). Til gengæld er det relativt ofte at der vil forekomme netop 1 *Y. enterocolitica* i en 40 gram's spegepølseportion (4000 tilfælde ud af 1 mio serveringer). En egentlig beregning af hvor ofte indtag af sådanne serveringer vil føre til human sygdom, kunne ikke gennemføres da, der ikke er publiceret anvendelige data om "attack rates" eller dosis/respons for *Y. enterocolitica*. Det blev dog vurderet som usandsynligt, at selv hyppigt indtag af kødprodukter med så lav en dosis *Y. enterocolitica* ville kunne forårsage sygdom hos normale individer.

De ca. 200-300 årligt registrerede tilfælde af human yersiniose i Danmark kan derfor ikke forklares med indtag af dansk-producerede spegepølse og røget filet.