

Technical University of Denmark



Salmonella Dublin i oksekød, 2014

Aabo, Søren; Hansen, Tina Beck

Publication date:
2015

Document Version
Også kaldet Forlagets PDF

[Link back to DTU Orbit](#)

Citation (APA):

Aabo, S., & Hansen, T. B. (2015). Salmonella Dublin i oksekød, 2014. Søborg: DTU Fødevareinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet.

DTU Library

Technical Information Center of Denmark

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Salmonella Dublin i oksekød, 2014

Søren Aabo og Tina Beck Hansen
DTU Fødevareinstituttet

Projektnummer: 2012-28-64-00441

Baggrund og formål:

Case-by-case overvågningen af dansk og udenlandsk fersk kød af kvæg ophørte ved årsskiftet til 2013 som følge af meget få fund. I 2012 blev der imidlertid påvist *Salmonella* i 14,3 % af de undersøgte partier af fersk dansk oksekød, mens man i samme periode ikke så den samme stigning i fund af *Salmonella* på slagterierne. Det er derfor muligt, at der er andre kilder til salmonellas forekomst i det ferske oksekød. En del oksekød opskæres typisk på andre virksomheder end på slagteriet, og krydskontaminering med *Salmonella* her kan derfor være en af årsagerne til det høje fund, da disse virksomheder typisk forarbejder store mængder dansk og udenlandsk kød i de samme produktionslinjer. Siden planlægningen af dette projekt er forekomsten af *Salmonella* Dublin faldet i oksekød, men projektet er blevet gennemført som oprindeligt planlagt.

Formålet med dette projekt har været at afklare forekomsten af *Salmonella* Dublin i fersk oksekød af dansk oprindelse på opskæringsvirksomhederne. Udover *Salmonella* er der undersøgt kvantitativt for enterokokker som indikator for temperaturlastning over 5 °C samt for *Enterobacteriaceae* og *E. coli*. Projektet kan ikke adskille den kontaminering, der kommer fra dyret selv, og den der hidrører fra proceslinjen.

Vigtigste konklusioner:

- *Salmonella* Dublin påvist kun i en prøve ud af 375 enkeltprøver (0,3 %).
- Det generelle niveau af enterokokker på overflader var lavt med 66 % under detektionsgrænsen og 3,2 % over 1.000 cfu /cm². I undersøgelsen fra 2013 var de tilsvarende tal henholdsvis 71 % og 4 %.
- Der er proportionalitet mellem *E. coli* og enterokokker niveauerne (CFU/cm²), hvilket tyder på jævnbyrdig vækstunderstøttelse af de to indikatorer.
- Et indikator baseret proceshygiejnekræterium for STEC kan potentielt udvikles med både generisk *E. coli* og enterokokker som indikatorer.

Prøvetagningsplan:

Der blev kun udtaget prøver i kød af dansk oprindelse fra færdigt opskårne partier, og som var beregnet til omsætning på det danske hjemmemarked. I store opskæringsvirksomheder blev der udtaget 5 prøver fra samme batch opskårne kroppe. På virksomheder med begrænset opskæring ændredes batchdefinitionen til, at et parti kunne omfatte kød fra op til 5 dyr.

Hver prøve består af ca. 120 cm² overflade med en tykkelse på højst 1 cm (ca. 120 g kød), hvor overfladen skulle bestå af gammel snitflade.

Ved prøvetagning blev der desuden indsamlet information, om der forudgående havde været udskåret importeret kød på samme linje uden mellemliggende rengøring.

Metode og resultater:

Ud af de planlagte 400 prøver af oksekød med dansk oprindelse fra 8 opskæringsvirksomheder plus 4 reservevirksomheder blev der i perioden august 2014 til november 2014 udtaget i alt 375 oksekødsprøver fra 13 virksomheder, hvoraf 10 partier kom fra 4 ikke planlagte virksomheder. Prøverne fordelte sig på 75 partier af 5 prøver (Tabel 1)

Tabel 1. Antal udtagne oksekødsprøver og prøveserier fordelt på opskæringsvirksomheder.			
Virksomhed	Planlagte udtag	Antal reelle udtag	
	Partier (å 5 prøver)	Prøveserier numre	Enkeltprøver
Himmerlandskød A/S	14	20 (12 ^a)	60
Inco København A/S	8	2	10
Skare Meat Packers K/S	14	12	60
Hadsund kreaturslagteri A/S (Nordic Beef)	8	6	30
Ana Meat ApS (Tayyib Meat Aps)	4	9 (5 ^b)	25
Svendborg Slagtehus A/S	6	6	30
Danish Crown, Holdsted (Energivej + Grindstedvej)	8	8	40
Danish Crown, Aalborg	8	8	40
Mogens Nielsen Kreaturslagteri A/S	6	6	30
Dan Ox, Padborg	i.p. ^c	4	20
GJ Kød	i.p.	2	10
Gert Nielsen	i.p.	2	10
WP Kød	i.p.	2	10
I alt	76	87 (75^{ab})	375

^a Nedskevret til 12 baseret på prøveudtagningsdatoer.

^b Nedskevret til 5 baseret på prøveudtagningsdatoer.

^c i.p.: Ikke planlagt.

Hver kødprøve blev stomacheret i 120 ml buffer. Efter præopformering analyseredes først for *Salmonella* med en kvalitativ qPCR (BAX Q7 SALMONELLA) metode, og positive prøver blev desuden testet semikvantitativt for at vurdere antallet af *Salmonella* i prøven. Prøver fundet positive i den kvalitative test, blev desuden dyrket på traditionel vis for at kunne bestemme serotypen. Indholdet af enterokokker, *E. coli* og Enterobacteriaceae blev bestemt kvantitativt ved laboratoriets standardmetode. Prøvetagningsmetoden og stomacheringsvolumen tillader, at kimtallet frit kan tolkes som cfu/gram eller cfu/cm².

Salmonella

Ved qPCR blev der påvist *Salmonella* i 1 af 375 prøver (0,3 %) eller 1,3 % af de undersøgte partier. Til sammenligning blev 9 prøver ud af 314 (2,9 %) og 8,6 % af de undersøgte partier fundet positive i 2013 hvor 4 ud af 5 positive partier med positive fund af prøver havde der været udsåret importeret kød inden det testede kød, og det kan ikke afvises, at det var en kilde til krydskontaminering.

E. coli, Enterobacteriaceae og enterokokker

De 375 prøver blev analyseret kvantitativt for *E. coli*, *Enterobacteriaceae* og enterokokker ved dyrkning. Fordeling af positive prøver ses i Tabel 2.

Tabel 2. Påvisning af <i>E. coli</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> (ent.bact.), enterokokker (ent.kok.) og <i>Salmonella</i> i oksekød fordelt på opskæringsvirksomheder.								
Virksomhed	<i>E. coli</i> ^a		<i>Ent.bact.</i> ^a		Ent.kok. ^a		<i>Salmonella</i> ^b	
	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg
Himmerlandskød A/S	45	15	47	13	43	17	0	60
Inco København A/S	0	10	4	6	0	10	1	9
Skare Meat Packers K/S	9	51	24	36	6	54	0	60
Hadsund kreaturslagteri A/S (Nordic Beef)	19	11	20	10	22	8	0	30
Ana Meat ApS (Tayyib Meat Aps)	1	24	13	12	16	9	0	25
Svendborg Slagtehus A/S	7	23	14	16	3	27	0	30
Danish Crown, Holdsted (Energivej + Grindstedvej)	0	40	4	36	1	39	0	40
Danish Crown, Aalborg	3	37	14	26	9	31	0	40
Mogens Nielsen Kreaturslagteri A/S	2	28	11	19	2	28	0	30
Dan Ox, Padborg	7	13	16	4	7	13	0	20
GJ Kød	7	3	10	0	7	3	0	10
Gert Nielsen	3	7	10	0	7	3	0	10
WP Kød	0	10	10	0	3	7	0	10
I alt, antal prøver	103	272	197	178	126	249	1	374
I alt, prævalens, gen.	27,5 %		52,5 %		33,6 %		0,3 %	
I alt, prævalens, 95% CI	23 – 32 %		47 – 58 %		29 – 39 %		0,01 - 1,5 %	

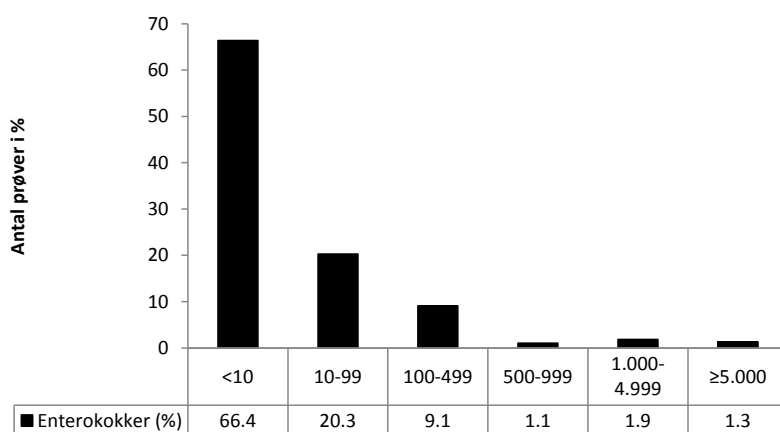
^a Positiv (pos) svarer til påvisning af mindst 10 CFU/ml.

^b Positiv (pos) svarer til påvist i prøven.

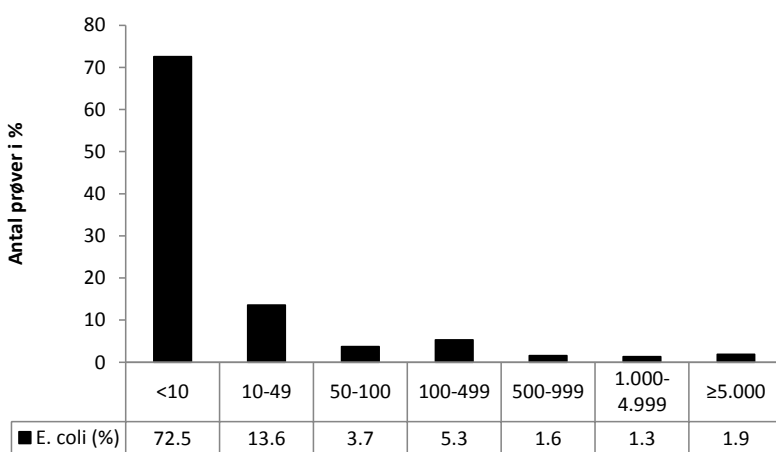
For *E. coli* fandtes 72,5 % af prøverne under detektionsgrænsen, mens det tilsvarende var 47,5 og 66,4 % af prøverne for henholdsvis *Enterobacteriaceae* og enterokokker. Den af FVST fastsatte grænse på 3.000 CFU/ml kunne overholdes i 96 % af prøverne hvilket er samme niveau som i 2013. I lighed med 2013 tillader datasættet ikke en verifikation af en korrelation mellem forekomst af *Salmonella* og enterokokker som blev påvist hakket svine- og oksekød i CKL projekt fra 2001/2002.

Kvantitativ forekomst af indikatorer i 375 prøver oksekød

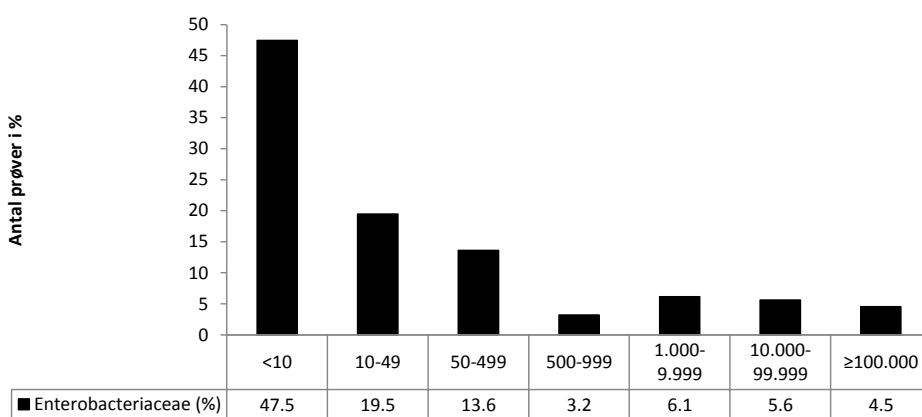
Den kvantitative fordeling af enterokok-positive prøver i 2014 ligger på tilsvarende niveau som 2013 (Figur 1). Tilsvarende fordelinger for *E. coli* og *Enterobacteriaceae* ses i Figur 2 og 3.



Figur 1. Enterokokker (CFU/cm²) i 375 prøver af dansk oksekød fra 13 opskæringsvirksomheder i 2014.



Figur 2. *E. coli* (CFU/cm²) i 375 prøver af dansk oksekød fra 13 opskæringsvirksomheder i 2014.



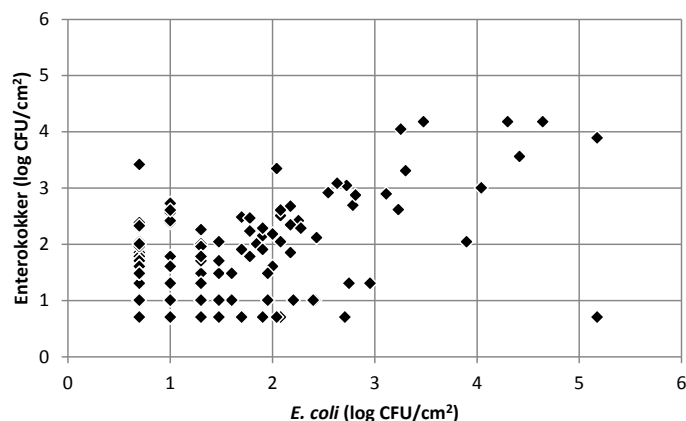
Figur 3. *Enterobacteriaceae* (CFU/cm²) i 375 prøver af dansk oksekød fra 13 opskæringsvirksomheder i 2014.

Sammenhæng mellem kvantitative forekomster af indikatorer i samme prøve (n=375)

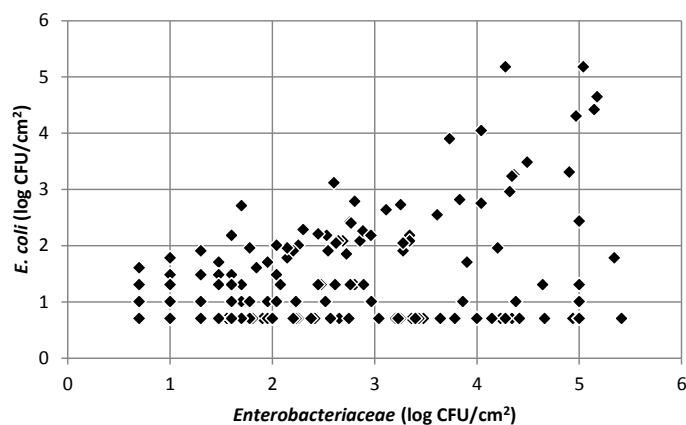
For at visualisere eventuelle sammenhænge mellem niveauer af de enkelte indikatorer afbildes for hver prøve log CFU/cm² for *E. coli* og enterokokker (Figur 4), *Enterobacteriaceae* og *E. coli* (Figur 5), og *Enterobacteriaceae* og enterokokker (Figur 6). Alle tre sammenhænge var statistisk signifikante, når de blev testet ved CHI²-test ($P < 0,001$). Dvs. når der påvises ≥ 10 *E. coli* pr. cm² i en prøve, er der ca. 3 gange forhøjet chance for, at der også påvises ≥ 10 enterokokker pr. cm² i den samme prøve (Figur 4), når der påvises ≥ 10 enterokokker pr. cm² i en prøve, er der ca. 4 gange forhøjet chance for, at der også påvises ≥ 10 *Enterobacteriaceae* pr. cm² (Figur 5), og når der ikke påvises *E. coli* i en prøve er chancen for, at der heller ikke påvises *Enterobacteriaceae* i prøven ca. 2 gange forhøjet (Figur 6).

For *E. coli* og enterokokker ses en trend for ligefrem proportionalitet mellem de to bakterier, og dette tolkes som vækstunderstøttelse af begge bakterier (Figur 6). Samtidig ses også en positiv korrelation mellem enterokokkniveau og prævalensen af *E. coli* positive prøver (Tabel 3). Sammenlignes konfidensintervallerne (95% CI) for *E. coli* prævalenserne ses, at op til omkring 100 – 999 enterokokker pr. cm² er der ingen overlap mellem intervallerne, dvs. at *E. coli* prævalensen er signifikant ($P < 0,05$) stigende med stigende antal enterokokker i prøverne. Derefter er der for få prøver med høje enterokokkniveauer til at vise en yderligere statistisk sammenhæng, men de gennemsnitlige *E. coli* prævalenser viser dog en stigende tendens (Tabel 3). Muligheden for at anvende enterokokforekomst som indikator for vækstunderstøttelse af *E. coli* eller VTEC vil styrkes, hvis organismernes har sammenlignelige lagfaser og vækstrater ved lave temperaturer. Dette forventes til en vis grad, men nogle typer af VTEC har større syrerensistens end *E. coli* generelt, hvilket både kan påvirke lagfase og vækstrate, så en afklaring af potentialet som indikator vil kræve yderligere undersøgelser. Til sammenligning er der fundet jævnbyrdige laveste temperatur grænse for vækst, lagfaser samt vækstrater for enterokokker og *Salmonella* i laboratoriemedier ved temperaturer mellem 5 og 12 °C (DTU Fødevareinstituttet, upubliceret undersøgelse).

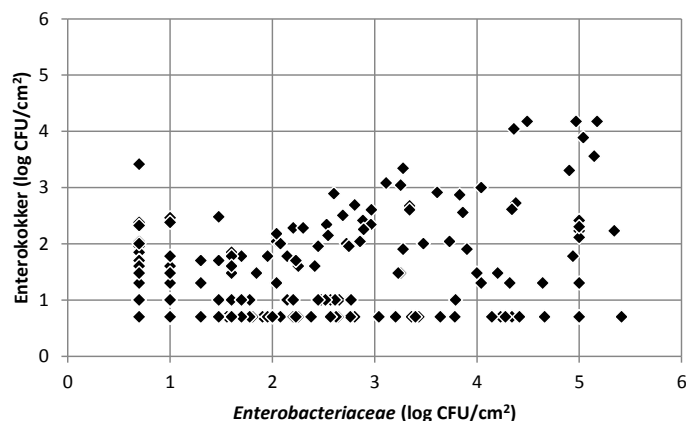
Tabel 3. <i>E. coli</i> positive og negative oksekødsprøver fordelt efter indholdet af enterokokker (CFU/cm²) samt fordeling af <i>E. coli</i> niveauerne (CFU/cm²) efter indholdet af enterokokker.					
<i>E. coli</i> (påvist)	Enterokokker (CFU/cm²)				
	<10	10 – 99	100 – 999	1.000 – 9.999	≥ 10.000
Positive	28	33	31	7	4
Negative	221	43	7	1	0
Prævalens, gen.	11 %	43 %	82 %	88 %	100 %
Prævalens, 95% CI	6 – 16 %	32 – 55 %	66 – 92 %	47 – 100 %	40 – 100 %
<i>E. coli</i> (CFU/cm²)					
<10	221	43	7	1	0
10 – 99	24	26	15	0	0
100 – 999	3	7	13	3	0
1.000 – 9.999	0	0	3	1	2
≥ 10.000	1	0	0	3	2
I alt	249	76	38	8	4



Figur 4. Sammenhæng mellem niveauet (log CFU/cm²) af *E. coli* og enterokokker i oksekød udtaget i opskæringsvirksomheder. Detektionsgrænsen for de anvendte metoder var 10 CFU/cm². Resultater under detektionsgrænsen er sat til 0,7 log CFU/cm².



Figur 5. Sammenhæng mellem niveauet (log CFU/cm²) af *Enterobacteriaceae* og *E. coli* i oksekød udtaget i opskæringsvirksomheder. Detektionsgrænsen for de anvendte metoder var 10 CFU/cm². Resultater under detektionsgrænsen er sat til 0,7 log CFU/cm².



Figur 6. Sammenhæng mellem niveauet (log CFU/cm²) af *Enterobacteriaceae* og enterokokker i oksekød udtaget i opskæringsvirksomheder. Detektionsgrænsen for de anvendte metoder var 10 CFU/cm². Resultater under detektionsgrænsen er sat til 0,7 log CFU/cm².

E. coli er en delmængde af *Enterobacteriaceae*. *E. coli* er den dominerende *Enterobacteriaceae* i gødning, men psykrofile arter af *Enterobacteriaceae*, som *Hafnia* og *Serratia*, kan vokse under 5 °C og kan blive mere dominerende senere i kødkæden. I Figur 5 ses de tilhørende værdier for *E. coli* og *Enterobacteriaceae* for hver prøve. Der ses en tendens til udskillelse af to populationer, som tolkes som 1) en population af prøver hvor proportionalitet er drevet af vækstunderstøttelse over 5 °C og 2) en population med stigende indhold af *Enterobacteriaceae* uden samtidig stigning af *E. coli*, der repræsenterer prøver med temperatureksponering under 5 °C. Denne tolkning er efterprøvet ved at opdele prøverne i 2 populationer med *E. coli* enten under eller over detektionsgrænsen sammenligne proportionaliteten ved brug af lineære regressionskoefficienter, R^2 . R^2 steg med stigende *E. coli* indhold indtil 100 *E. coli* pr. cm^2 , hvorefter den igen faldt. Hypotesen om udskillelse i de to populationer understøttes derfor kun delvist af analysen.

Sammenhæng mellem enterokokker og *Enterobacteriaceae* (Figur 6) ligner den for *E. coli* og *Enterobacteriaceae* (Figur 5). Dette er i nogen grad forventeligt, da der er fundet proportionalitet mellem forekomst af enterokokker og *E. coli* (Figur 4).

Eksempler på proceshygiejne kriterier baseret på enterokokker, *E. coli* og *Enterobacteriaceae*

FVST arbejder pt med at udvikle et risikobaseret proceshygiejne kriterium for vækstunderstøttelse af *Salmonella* i opskæringsvirksomheder for svinekød baseret på enterokokker som indikator. Tidligere FVST resultater viser også en positiv korrelation mellem enterokokker og *Salmonella* i hakket oksekød i detail og vi forventer en tilsvarende korrelation for oksekød i opskæringen. Den lave forekomst af *Salmonella* i dette projekt betyder imidlertid, at den forventelige korrelation ikke har kunnet verificeres.

Indeværende projekt viser en positiv korrelation mellem *E. coli* og enterokokker. Dette tilskrives vi samtidig vækstunderstøttelse af begge organismer. Der er således en mulighed for at både *E. coli* og Enterokokker kan være potentielle indikatorer for vækstunderstøttelse af både *Salmonella* og STEC.

I Tabel 4 er angivet forskellige muligheder for valg af m, M og c ved en stikprøvestørrelse på 5 for hver af de tre indikatorer med en angivelse af hvor mange % af de 75 partier i undersøgelsen, der ville falde for proceshygiejne kriteriet. *Enterobacteriaceae* er taget med for sammenligningens skyld, men er ikke særlig egnet til et proceshygiejne kriterie, da denne gruppe rummer bakterieslægter, der vokser under 5 °C og derfor kan forekomme i højt antal udelukkende pga. kødets alder og ikke pga. brist i proceshygiejnen. M og m er valgt, dels ud fra aktionsgrænserne anført i projektbeskrivelsen, dels ud fra observationerne i projektet, hvorimod c er arbitrært valgt.

Som det ses af Tabel 4 er det muligt at fastsætte flere kombinationer af m, M og c for *E. coli* og enterokokker, der fører til nogenlunde samme profil over % partier der falder. Dette indikerer en mulighed for at vælge indikator frit, da der kan findes en kombination m, M og c, der udpeger partier med ca. samme styrke.

Ved valg af indikator spiller f.eks, robusthed af indikatoren også en rolle. Enterokokker er gram-positive og er generelt mere robuste end gram-negative *E. coli*, hvilket kan tale til fordel for enterokokker. Projektet indikerer imidlertid, at *E. coli* er jævnbyrdig med enterokokker i opskæringsleddet, og begge organismer således er potentielle kandidater som indikatorer for et risikobaseret mikrobiologisk kriterium for vækst af *Salmonella* og STEC i oksekød i opskæringsvirksomheder.

Tabel 4. Afprøvning af forskellige forslag til proceshygiejne kriterier på partier (n = 75) af oksekød udtaget i opskæringsvirksomheder.					
Indikator	Processhygiejne kriterium				% partier der falder
	n	M	M	c	
<i>E. coli</i>	5	50	500	2	14,7
	5	5.000	-	-	6,7
	5	5.000	-	1	1,3
	5	5.000	50.000	1	2,7
	5	5.000	50.000	2	2,7
<i>Enterobacteriaceae</i>	5	10.000	-	-	32,0
	5	10.000	-	1	9,3
	5	10.000	100.000	1	21,3
	5	10.000	1.000.000	1	9,3
Enterokokker	5	1.000	10.000	1	5,4
	5	1.000	10.000	2	5,3
	5	3.000	15.000	1	4,0
	5	3.000	-	-	5,3
	5	3.000	-	1	2,7

Konklusion:

Salmonella kunne påvises i 1 af 75 partier (1,3 %) eller 0,3 % af 375 enkeltprøver. De tilsvarende tal for 2013 var 8,6 % og 2,9 %. Enterokok- og *E. coli*-niveauer var generelt lave med 66 – 72 % af prøverne under detektionsgrænsen, mens 10 – 14 % af prøverne havde et indhold over 100 CFU/ cm². Pga. sit indhold af psykrotrofe bakterieslægter lå *Enterobacteriaceae* generelt højere end *E. coli* (medlem af samme familie) med kun 47 % under detektionsgrænsen og med ca. 15 % af prøver med et niveau over 1.000 CFU/cm². Kimtallene for enterokokker og *E. coli* viste en tendens til positiv korrelation, hvilket kan indikere samtidig vækst begge organismer i nogle af prøverne. Hvis *E. coli* og enterokokker vækstunderstøttes ved samme temperaturer, vil enterokokker potentielt kunne anvendes som indikator for vækstmulighed af *E. coli* og STEC i oksekød. Perspektivet er, at enterokokker kan fungere som mulig målorganisme i et mikrobiologisk proceshygiejnekræterium for *E. coli* og muligvis STEC. Optimalt skal enterokokker og *E. coli* / STEC have omtrentlig samme laveste temperaturgrænse for vækst, samme lagfase, og samme vækstrate ved relevante kølekædetemperaturer. Disse forhold, samt særlige forhold omkring syretolerance af STEC skal afklares før der kan gives en mere sikker vurdering af potentialet.