

Listeria monocytogenes

Tillväxt i fermenterad korv, vegetabiliska pålägg och efter tillsats av konserveringsmedel i ätbara livsmedel



Denna titel kan laddas ner från: [Livsmedelsverkets sida för att beställa eller ladda ner material](#).

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

© Livsmedelsverket, 2022.

Författare:

Jakob Ottoson.

Rekommenderad citering:

Livsmedelsverket. Ottoson, J. 2022. *Listeria monocytogenes* - Tillväxt i fermenterad korv, vegetabiliska pålägg och efter tillsats av konserveringsmedel i ätfärdiga livsmedel. Livsmedelsverkets PM. Uppsala.

ISSN 1104-7089

Omslag: Livsmedelsverket

Inlaga: Ange fotograf för bilder i rapporten

Förord

Detta PM utgör ett vetenskapligt underlag om möjligheten för *Listeria monocytogenes* att tillväxa i fermenterad korv, vegetabiliska pålägg samt efter tillsats av konserveringsmedel (nitrit, laktat, diacetat och sorbat) i ätbara livsmedel. Underlaget har tagits fram på beställning av UV/HM och SV/SL (Dnr 2021/04205) och kommer att ligga till grund för riskhantering med avseende på listeria i olika produkter med eller utan tillsats av konserveringsmedel. Underlaget är uppdelat i faroidentifiering, farokarakterisering, exponeringsuppskattning och riskkarakterisering, där de specifika frågeställningarna besvaras.

Ansvarig för underlagets innehåll är Jakob Ottoson, mikrobiolog och riskvärderare på Risk- och nyttovärderingsavdelningen. Underlaget har granskats av Roland Lindqvist, senior mikrobiolog och riskvärderare på Risk- och nyttovärderingsavdelningen.

Christina Lantz, Teamchef för Team Biofaror

November 2022

Innehåll

Förord.....	3
Förkortningar.....	6
Bakgrund	7
Övergripande frågeställning:.....	8
Specifika frågor som ska besvaras:.....	8
Datakällor och metoder	9
Datakällor	9
Litteratur	9
Analys av prover	9
Food Spoilage and Safety Predictor	9
Metoder.....	10
pH och vattenaktivitet i rökt medvurst, salami och skivade vegetabiliska pålägg.....	10
Tillväxt av <i>Listeria monocytogenes</i> i rökt medvurst, salami, charkuterier och skivade vegetabiliska pålägg	10
Hämning av <i>Listeria monocytogenes</i> tillväxt med tillsatser	11
Betydelse av bakteriekulturer	11
Faroidentifiering och farokaraktärisering	12
Resultat och diskussion	13
Vattenaktivitet och pH i rökt medvurst, svensk salami och skivade vegetabiliska pålägg	13
Vattenaktivitet och pH i fermenterade korvar från andra länder.....	14
Tillväxt av <i>Listeria monocytogenes</i> i rökt medvurst, salami, charkuterier och skivade vegetabiliska pålägg	15
Svensk salami och medvurst	15
Ungersk salami	16
Skivade vegetabiliska pålägg	18
Charkuterivaror – skinka och kalkon	18
Betydelsen av tillsats av nitrit	19
Betydelsen av tillsatser av salt från organiska syror	20
Hämning av listeriatillväxt med tillsatser i skivat pålägg och kallrökt fisk	20
Betydelsen av specifika bakteriekulturer	23
Svar på specifik frågeställning	24
Osäkerheter.....	26
Referenser	28
Bilaga 1 - Produktspecifik simulering av skivade vegetabiliska pålägg	30

Förkortningar

a_w	Vattenaktivitet – en fysikalisk storhet som används vid bedömning av risk för bakterie- och mögeltillväxt. Med vattenaktiviteten avses mängden för mikroorganismerna tillgängligt vatten.
CFU	Kolonibildande enhet – bestämning av antalet bakterier eller mögelsporer som ökar i antal genom celledning under definierade förhållanden.
FSSP	Food Safety and Spoilage Predictor – en samling av modeller utvecklade på Danmarks Tekniska Universitet (DTU 2022) för att prognosticera tillväxten av bland annat listeria, mjölksyrebakterier och förskämningensflora i livsmedel under definierade förhållanden.
Lm	<i>Listeria monocytogenes</i>

Bakgrund

Livsmedelsverkets risk- och nytta avdelning har tagit fram ett vetenskapligt underlag om förekomst och tillväxt av *Listeria monocytogenes* (Riskvärderingsrapport, Livsmedelsverkets rapportserie nr 09 del 2 2017, uppdaterad 2019). Rapporten har tagits fram på beställning av Livsmedelsverkets dåvarande Rådgivningsavdelning (numera Hållbara matvanor) och utgör underlag till Livsmedelsverkets råd om *L. monocytogenes* i livsmedel (Riskhanteringsrapport, Livsmedelsverkets rapportserie nr 09 del 1 2017).

Fermenterad korv

Fermenterade korvar är en typ av produkter i vilka pH och vattenaktivitet i hög grad varierar mellan olika enskilda varianter. I riskvärderingsrapporten, tabell 2, anges specifika värden av pH och vattenaktivitet för exempel på rökt medvurst respektive salami som sedan används för modellering av tillväxt av *L. monocytogenes*. De valda exemplen är dock inte riktigt typiska för de båda produkttyperna. Även om egenskaperna hos fermenterad korv varierar både mellan och inom olika produkttyper kan svensk kallrökt medvurst generellt förväntas ha ett lägre pH-värde, medan en italiensk salami normalt har en lägre vattenaktivitet än det som anges i rapporten. Dessutom kan tillväxten av *L. monocytogenes* i fermenterad korv förväntas påverkas inte bara av pH och vattenaktivitet, utan även i viss mån av halten av nitrit. En undersökning av pH och vattenaktivitet i svensktillverkade skivade kallrökta medvurst/salamis har gjorts av Livsmedelsverket under hösten 2021. Sammanlagt mättes pH och vattenaktivitet på 15 olika produkter. Produkterna köptes in i fyra större livsmedelsbutiker i Uppsala och analyserna utfördes av Eurofins under vecka 44 och vecka 45. Samtliga produkter innehöll natriumnitrit (E250).

Vegetabiliska smörgåspålägg

Vegetabiliska skivade smörgåspålägg är en typ av produkter som har ökat på marknaden under senare år. Det finns inga data på förekomst och fram tills nu har det inte funnits tillgängliga data på pH och vattenaktivitet. Därför har det inte gått att bedöma risken för *L. monocytogenes* i dessa produkter.

En undersökning av pH och vattenaktivitet har gjorts av Livsmedelsverket under hösten 2021. Sammanlagt mättes pH och vattenaktivitet på 15 olika vegetabiliska pålägg. Produkterna köptes in i fyra större Livsmedelsbutiker i Uppsala och analyserna utfördes av Eurofins under vecka 44 och vecka 45. De flesta produkterna innehöll konserveringsmedel, en innehöll surhetsreglerande medel och några produkter ingetdera.

Effekt av konserveringsmedel eller specifika bakteriekulturer på tillväxt av *Listeria monocytogenes*
Salter av organiska syror som natriumlaktat och natriumdiacetat är godkända livsmedelstillsatser som kan hämma eller förhindra tillväxt av *L. monocytogenes*. Specifika bakteriekulturer för inhibering av tillväxt av *L. monocytogenes* används också av vissa företag inom svensk produktion av framförallt kallrökt och gravad fisk.

Övergripande frågeställning:

För att bedöma möjligheter för *L. monocytogenes* att tillväxa i olika sorters fermenterade korvar önskar avdelningarna Hållbara matvanor och Säkra livsmedel en komplettering av befintligt underlag med avseende på pH och vattenaktivitet för dessa produkter.

Vidare önskas en bedömning av hur tillsats av laktat, acetat samt specifika bakteriekulturer påverkar tillväxt av *L. monocytogenes*.

Specifika frågor som ska besvaras:

Fermenterad korv

1. Hur förväntas pH och vattenaktivitet variera i olika typer av fermenterade korvar? Det vill säga i:
 - a. svensk kallrökt medvurst och svensk salami.
 - b. fermenterade korvar från andra länder, till exempel italiensk salami, spansk fuet eller ungersk pick-salami.
2. Hur påverkas tillväxten av *L. monocytogenes* av nitrittillsats till fermenterade korvar? Utgå från tillåtna halter för charkprodukter.
3. Bedöm möjligheten för *L. monocytogenes* att tillväxa i olika typer av fermenterade korvar med avseende på den typiska variationen av pH och vattenaktivitet samt tillsats av nitrit.

Konserveringsmedel och bakteriekulturer i ätfärdiga livsmedel

4. Hur påverkas tillväxten av *L. monocytogenes* av olika tillsatser som är avsedda att hämma bakterien i ätfärdiga livsmedel som kallrökt och gravad fisk samt charkprodukter som till exempel kokt/varmrökt skinka och kalkonbröst samt kokt medvurst?
 - a. Vilka kombinationer av olika koncentrationer av laktat och diacetat hämmar växt av *L. monocytogenes*?
 - b. Hur påverkar tillsats av specifika bakteriekulturer växt av *L. monocytogenes*?

Skivade vegetabiliska smörgåspålägg

5. Bedöm möjligheten för *L. monocytogenes* att tillväxa i olika typer av skivade vegetabiliska smörgåspålägg med avseende på den typiska variationen av pH och vattenaktivitet samt eventuell tillsats av laktat, acetat och sorbat.

Om möjligt, redovisa gärna svaret i tabell eller diagram.

Datakällor och metoder

Datakällor

Litteratur

I första hand användes kända källor, t.ex. har det gjorts några större sammanställningar på a_w och pH i olika typer av fermenterad korv. Den mest omfattande är Ross & Shadbolt (2000). En annan betrodd källa med information om såväl aktuella produkter som tillsatser är den riskvärdering som utfördes av Vitenskapskomiteen 2018 (VKM 2018). För halter av nitrit i produkter i butik användes den sammanställning av natrium- och kaliumnitrit som Efsas panel för nutrition tog fram 2017 (EFSA 2017). Det fanns dock inte någon angivelse av pH och a_w för spansk fuet i någon av dessa varför en specifik sökning gjordes för denna typ av korv (tabell 1). Dessutom utfördes litteratursökningar för att få samlad information om tillsatser (tabell 2) och bakteriekulturer. Alla sökningar gjordes i databasen Food Safety and Technology Abstracts (FSTA) från 2001 och framåt enligt söksträngar i tabell 1. Endast artiklar på engelska valdes ut. Sökningarna gjordes 2022-02-15 och urvalet skedde i tre steg; genom screening av (i) titel, (ii) abstract och (iii) full-text.

Analys av prover

Det saknas bra information om pH och a_w för såväl svensk salami och medvurst samt skivade vegetabiliska smörgåspålägg i den vetenskapliga litteraturen. Med anledning av detta har produkter på den svenska marknaden köpts in och analyserats för a_w och pH (se bakgrund). Sammanlagt analyserades 16 stycken olika svenska korvar samt 15 stycken skivade vegetabiliska smörgåspålägg. Analysresultaten presenteras i rapporten och användes vidare i tillväxtsimuleringen för att besvara fråga 3 och fråga 5.

Food Spoilage and Safety Predictor

Programvaran Food Spoilage and Safety Predictor (v. 4) har utvecklats som ett hjälpmedel för att använda matematiska modeller i syfte att förutsäga produkters hållbarhet samt tillväxt av patogena mikroorganismer i livsmedel (DTU 2022). I detta underlag har programvaran använts för att simulera tillväxthastigheter och gränsvärden för tillväxt/ingen tillväxt av Lm. Modellerna som användes har validerats genom omfattande observationer utförda som inokuleringsförsök i livsmedel. Med avseende på tillväxtmodellerna så har utfallet jämförts med 690 försök. Tillväxtgränserna har i sin tur validerats mot 1014 försök. I 89 % kunde modellen ge korrekt svar, i 6 % överskattades möjligheten för tillväxt och i 5 % av fallen underskattades möjligheten för tillväxt. Psi-värdet (ψ) beräknas från uppsättningen av ingående parametrar och beskriver om specifika produkttegenskaper och lagringsförhållanden förtutspås tillåta ($\text{Psi} < 1,0$) eller inte tillåta ($\text{Psi} > 1,0$) tillväxt. Ett psi-värde, $\text{Psi} = 1,0$, är den teoretiska tillväxtgränsen. I de fall Lm tillväxt överskattades (fail-safe) var Psi-faktorn i genomsnitt 0,67 medan den vid underskattning (fail-dangerous) i genomsnitt var 1,22; som allra högst var Psi-faktorn 1,95 (Mejholm et al. 2010). För att undvika det senare utfallet, och ge en säkerhetsmarginal för andra osäkerheter under verkliga förhållanden, föreslår konstruktörerna att Psi-faktorn sätts till 2,0 (DTU 2022). I underlaget redovisas gränsen för tillväxt/inte tillväxt vid $\text{Psi} = 1,0$ såväl som $\text{Psi} = 2,0$.

Tabell 1. Söksträngar som användes för att hitta data i litteraturen för att kunna besvara de olika delfrågorna

Delfråga	Söksträng	Filter	Totalt: efter titel, abstract, fulltext
1a	Fuet AND (pH OR aw OR water activity)	-	11, 5, 3
4a	Listeria AND (growht OR inhibition) AND (cold cuts OR turkey OR salmon OR fish OR ham NOT sausage) AND (lactate OR diacetate OR sorbate)	review	1, 1, 1
		-	78, 25, 6
4b	Listeria AND (growht OR inhibition) AND (cold cuts OR turkey OR salmon OR fish OR ham NOT sausage) AND (biopreserv*)	review	3, 1, 1
		-	50, 14, 4

Metoder

pH och vattenaktivitet i rökt medvurst, salami och skivade vegetabiliska pålägg

Där det saknas underlag i den vetenskapliga litteraturen, det vill säga för svensk fermenterad korv och skivade produkter, utfördes analyser (se bakgrund och under datakällor ovan). Övrig information kom från betrodda källor och en litteratursökning (fuet). Värden för pH och a_w för respektive produkt fördes in i tabeller som redovisas under avsnittet Resultat och diskussion.

Tillväxt av *Listeria monocytogenes* i rökt medvurst, salami, charkuterier och skivade vegetabiliska pålägg

För att bedöma Lm tillväxt i de olika produkterna användes prediktiv mikrobiologi med hjälp av verktyget Food spoilage and safety predictor (FSSP) v.4 (DTU 2022) beskrivet under datakällor ovan. Ingångsdata för simuleringarna baserades på analysdata (svensk salami och vegetabiliska smörgåspålägg) och litteraturvärden (utländska korvar och charkuteriprodukter) för pH och a_w . Ett antal salter av organiska syror är godkända som tillsatser vilka kan ha en hämmande effekt på listeriatillväxten. Exempel på sådana som frekvent förekommer i livsmedel är laktat, (di)acetat och sorbat. Dessutom utvärderades effekten av nitrit (tabell 2). Ingångsdata för dessa tillsatser togs från VKM (2018) samt, för nitrit och sorbat, högsta tillåtna tillsats (Livsmedelsverket 2022). Nitrithalten sjunker i samband med kokning (Honikel 2008). Dessutom är nitrit reaktivt och kan såväl oxideras som reduceras i livsmedlet och koncentrationen i den färdiga produkten varierar betänkligt men ligger i regel mellan 5 - 20 % av den tillsatta halten (Honikel 2008). Vissa av kväveföreningarna, till exempel kväveoxid (NO), har dock en bakterietillväxthämmande effekt (EFSA 2017) som inte tas hänsyn till i simuleringarna. Huvuddelen av nitriten oxideras dock och förekommer i form av nitrat, särskilt vid lägre pH (Honikel 2008). I simuleringen användes medelvärde för respektive produkt baserat på en sammanställning som gjordes för att utvärdera säkerheten för kalium- och natriumnitrit som tillsatser (EFSA 2017). För vatteninnehållet i produkten användes det i FSSP förinställda värdet för torrhalt i produkten, vilket är 35 % vid tillsats av sorbat (DTU 2022). Simuleringarna gjordes i den generella modellen för Lm där tillväxten kan simuleras i upp till 90 dagar.

Liksom i Livsmedelsverket (2017) beräknades tiden för tillväxt från detektionsgränsen (0,04 CFU/g) till gränsvärdet (100 CFU/g), vilket motsvarar 3,4 \log_{10} tillväxt. Dessutom angavs också tiden för 100 gånger (2 \log_{10}) tillväxt. Modellingarna gjordes utan lagfas i enlighet med VKM (2018) och med stöd av att lagfasen, enligt data till grund för utvecklingen av FSSP, i de flesta försök inte var signifikant i fisk. Dock var tillsatsen av bakterier i dessa försök ganska stor, > 10² CFU/g (Mejholm & Dalgaard 2007).

Tabell 2. Godkända tillsatser som ofta används i livsmedel och som kan ha en hämmande effekt på tillväxten av Lm (Livsmedelsverket 2022)

Tillsats	E-nummer	Användningsområde
Natriumlaktat Kaliumlaktat	E 325 E 326	Surhetsreglerande ämnen, som även förstärker antioxidanternas verkan mot härskning och brunfärgning.
Natrium(di)acetat Kaliumacetat	E 262(ii) E 261	Används som konserverings- eller surhetsreglerande medel i många livsmedel. Hämmar växt av många bakterier.
Kaliumsorbitat	E 202	Används i sura och svagt sura livsmedel. Hämmar tillväxt av jäst- och mögelsvampar samt vissa bakterier.
Kaliumnitrit Natriumnitrit	E 249 E 250	Hämmar tillväxt av bakterier, t.ex. <i>Clostridium botulinum</i> . Får endast användas i form av nitritsalt, vilket är en blandning av nitrit och koksalt, till charkuterivaror.

Hämning av *Listeria monocytogenes* tillväxt med tillsatser

För att bedöma vilka halter av tillsatser som behövs för att helt hämma tillväxt av Lm användes verktyget ”Growth boundary of *Listeria monocytogenes*” i FSSP (DTU 2022). Detta gjordes för att undersöka vilka koncentrationer av laktat/diacetat som hämmar tillväxt av Lm vid 4 °C och 8 °C i skivade smörgåspålugg med pH 5,8, 6,1 och 6,4 samt kallrökt fisk med pH 6,0 och 6,2. Salthalten i vattenfasen antogs vara 5,0 % för alla produkter, vilket motsvarar en vattenaktivitet på 0,971. Vidare antogs förpackning i modifierad atmosfär med en gasblandning bestående av 30 % koldioxid för skivade smörgåspålugg samt vacuumförpackning för fiskprodukterna. Simuleringen gjordes med en inställning av Psi-faktorn till såväl 1,0 som 2,0. Även om tillsatserna vid Psi = 1,0 inte med 100 % säkerhet helt kan hämma Lm tillväxt, så minskas tillväxthastigheten signifikant vid dessa nivåer (DTU 2022).

Dessutom gjordes en litteratursökning som beskrivet ovan. Endast artiklar som behandlat tillsatsförsök i industriell skala beaktades då de flesta försök som utförts med tillsatta Lm-stammar i laboriemiljö redan omfattas av uppbyggnaden och valideringen av FSSP. Vidare utvärderade Efsa (2014) förekomsten av Lm i gravad och rökt lax med avseende på tillsats av konserveringsmedel, redovisat i Livsmedelsverket (2017).

Betydelse av bakteriekulturer

För att besvara fråga 4b gjordes en litteratursökning enligt tabell 1. Syftet var att hitta samlad information av utförda försök (review), samt försök som validerats i pilot- eller industriell skala.

Faroidentifiering och farokaraktärisering

Listeria monocytogenes (Lm) är en bakterie som orsakar infektionen listerios hos människa. Lm är allmänt spridd i naturen och finns därför på många livsmedelsråvaror. Bakterien kan få fäste, och vara svår att bli av med, i lokaler och på utrustning där livsmedel tillverkas. På så sätt kan bakterien förorena de livsmedel som tillverkas där. Det som utmärker Lm är att den kan föröka sig i kylskåpstemperatur och utan tillgång till syre, till exempel i vakuumpförpackningar. I produkter med lång hållbarhet i kylskåp kan listeria därför hinna föröka sig till nivåer som är skadliga för riskgrupper innan hållbarhetstiden gått ut. Det gäller framförallt livsmedel som förvarats några veckor i kylskåp och ska ätas utan att hettas upp, till exempel vakuumpförpackad rökt och gravad fisk, skivat köttpålägg, patéer, mögel- och kittostar och vissa kalla ätbara maträtter. Listeria dör vid upphettning, men överlever frysning (Livsmedelsverket 2022).

Symtom på sjukdomen varierar beroende på vem som drabbas. Personer som inte tillhör någon av riskgrupperna blir vanligtvis inte sjuka. Personer med nedsatt immunförsvar¹ och sköra äldre kan drabbas av blodförgiftning eller hjärnhinneinflammation. För dessa personer är listerios en mycket allvarlig sjukdom med dödlighet mellan 20 och 30 procent. Det förekommer även klassiska mag- och tarmbesvär såsom diarré och kräkningar. Gravida kan få diffusa influensaliknande symtom. Infektionen kan spridas till fostret som smittas. I värsta fall leder smittan till missfall eller allvarligt sjukt barn (Livsmedelsverket 2022). Inkubationstiden har angetts från några dygn till tre veckor, ibland ännu längre (Folkhälsomyndigheten 2022), särskilt för fall hos gravida (Goulet et al. 2013). Den långa inkubationstiden försvårar såväl smittspårning som utbrottsutredningar (Socialstyrelsen 2013).

Antalet rapporterade listeriefall har ökat från 40-50 under början av 2000-talet till 70-120 under de senaste åren. Majoriteten av fallen är inhemskt smittade och tillhör de äldre åldersgrupperna och/eller har nedsatt immunförsvar på grund av underliggande sjukdom eller annan orsak. Ökningen av rapporterade listeriefall ses både i Sverige och internationellt i Europa. Däremot har antalet gravida kvinnor och/eller nyfödda barn med listerios minskat i Sverige sedan 90-talet och under senare år har 1-2 gravida kvinnor/nyfödda barn per år rapporterats med infektionen (Folkhälsomyndigheten 2022) vilket är lågt i ett internationellt perspektiv (Livsmedelsverket 2017). För mer djupgående information om bakterien och sjukdomen hänvisas till avsnitten för faroidentifiering och farokaraktärisering i Livsmedelsverket rapport nr. 09 2017 del 2 (Livsmedelsverket 2017).

¹ Personer med nedsatt immunförsvar är de som är organtransplanterade, har cancer, inflammatoriska sjukdomar, nedsatt njur- och leverfunktion eller hiv/aids. Personer med blodcancer är mest mottagliga för listeria.

Resultat och diskussion

Vattenaktivitet och pH i rökt medvurst, svensk salami och skivade vegetabiliska pålägg

De enda tillgängliga data på a_w och pH som fanns tillgängliga inför framtagandet av Livsmedelsverket (2017) var från ett examensarbete utfört hos en svensk korvtillverkare (Rundqvist 2015). I studien testades olika recept och för att vara på den säkra sidan användes resultaten från de försök som landade på högst pH (5,2) medan andra recept i samma studie kunde ge en slutprodukt på pH 4,7. I Livsmedelsverkets undersökning 2021 låg pH i de analyserade proverna på rökt medvurst och svensk salami mellan 3,9 och 5,2 (medel 4,4). Vattenaktiviteten varierade mellan 0,82 och 0,96 (medel 0,93) (tabell 3). De vegetabiliska skivade påläggen hade i regel såväl högre pH (medel 5,4; min – max 4,7 – 6,7) som vattenaktivitet (0,97; 0,94 – 0,98) (tabell 3). I Kommissionens förordning 2073/2005/EG räknas livsmedel med $pH \leq 4,4$ eller $a_w \leq 0,92$ samt livsmedel med $pH \leq 5,0$ och $a_w \leq 0,94$ till dem som inte medger Lm tillväxt. Enligt dessa kriterier medger samtliga vegetabiliska pålägg tillväxt av Lm men endast fyra av de svenska analyserade korvprodukterna (figur 1).

Tabell 3. pH och vattenaktivitet i rökt medvurst, svensk salami och skivade vegetabiliska pålägg från Livsmedelsverkets undersökning

Produkt	pH	a_w	Produkt	pH	a_w
Svensk salami 1	4,6	0,88	Vegetabiliskt pålägg 1	5,5	0,97
Svensk salami 2	4,6	0,82	Vegetabiliskt pålägg 2	5,6	0,96
Svensk salami 3	4,5	0,9	Vegetabiliskt pålägg 3	5,2	0,98
Svensk salami 4	4,5	0,93	Vegetabiliskt pålägg 4	5,9	0,96
Svensk salami 5	4,2	0,95	Vegetabiliskt pålägg 5	6,4	0,96
Medvurst 1	4,2	0,94	Vegetabiliskt pålägg 6	5,1	0,94
Medvurst 2	5,2	0,96	Vegetabiliskt pålägg 7	5,1	0,96
Medvurst 3	4,6	0,95	Vegetabiliskt pålägg 8	4,9	0,97
Medvurst 4	4,7	0,95	Vegetabiliskt pålägg 9	5,2	0,96
Medvurst 5	4,7	0,93	Vegetabiliskt pålägg 10	5,8	0,97
Medvurst 6	4,0	0,93	Vegetabiliskt pålägg 11	4,7	0,98
Medvurst 7	4,7	0,95	Vegetabiliskt pålägg 12	4,8	0,99
Medvurst 8	3,9	0,93	Vegetabiliskt pålägg 13	4,7	0,96
Medvurst 9	4,6	0,94	Vegetabiliskt pålägg 14	6,7	0,97
Medvurst 10	3,9	0,92	Vegetabiliskt pålägg 15	6,1	0,97
Medvurst 11	4,2	0,93			
Medel (median)	4,4 (4,5)	0,93 (0,93)	Medel (median)	5,4 (5,2)	0,97 (0,97)
Min – max	3,9 – 5,2	0,82 – 0,96	Min-max	4,7 - 6,7	0,94 - 0,99

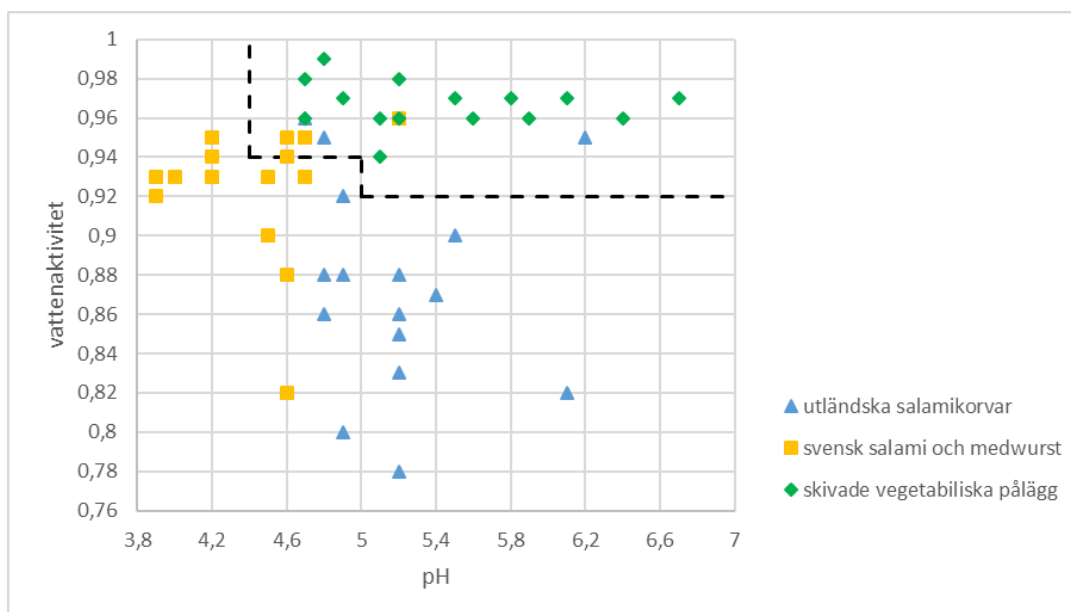
Vattenaktivitet och pH i fermenterade korvar från andra länder

Vattenaktivitet och pH i sexton olika typer av utländsk korv, i huvudsak salami, redovisas i tabell 4. Fuet kan säljas efter 17 dagars processning; pH har vid den tidpunkten sjunkit till 5,2 och a_w till 0,88. Korven fortsätter dock att mogna och pH stiger (5,6) medan vattenaktiviteten sjunker ytterligare (0,67) (Roig-Sagués et al. 1999). Ingen av dessa kombinationer medger tillväxt av *Lm* och i försök har Porto-Fett et al. (2017) påvisat total eliminering av *Lm* under mognaden av Fuet. I salami varierade pH mellan 4,8 och 6,2 (medel 5,2) och vattenaktiviteten mellan 0,82 och 0,96 (medel 0,88), Fuet exkluderat. Baserat på kombinationen av dessa parametrar medger tre stycken produkter tillväxt av *Lm* (figur 1); samtliga är salamikorvar från Ungern (tabell 4).

Tabell 4. Vattenaktivitet och pH i utländsk korv (Ross & Shadbolt, 2000))

Produkt	pH	a_w	Produkt	pH	a_w
Italiensk salami 1	5,2	0,86	Picksalami	6,1	0,82
Italiensk salami 2	5,5	0,9	Ungersk salami 1	4,8	0,95
Italiensk salami 3	5,4	0,87	Ungersk salami 2	4,7	0,96
Italiensk salami 4	4,9	0,92	Ungersk salami 3	5,2	0,83
Italiensk salami 5	4,9	0,88	Ungersk salami 4	6,2	0,95
Italiensk salami 6	5,2	0,78	Pepperoni	4,9	0,8
Italiensk salami 7	5,2	0,88	Fuet dag 17	5,2 ^a	0,85 ^a
Italiensk salami 8	4,8	0,88	Fuet dag 53	5,6 ^a	0,67 ^a
Italiensk salami 9	4,8	0,86	Medel (median)	5,2 (5,2)	0,86 (0,87)
			Min – max	4,8 – 6,2	0,67 – 0,96

^a pH och a_w taget från Roig-Sagués et al. 1999



Figur 1. Vattenaktivitet och pH i utländska salamikorvar, svensk salami och medvurst samt skivade vegetabiliska pålägg. Punkter inom det avgränsade området i övre högra hörnet motsvarar de livsmedel som medger tillväxt av *Listeria monocytogenes* med avseende på pH och vattenaktivitet. Ju längre upp i högra hörnet, desto snabbare tillväxt av *L. monocytogenes* medges.

Tillväxt av *Listeria monocytogenes* i rökt medvurst, salami, charkuterier och skivade vegetabiliska pålägg

Tre produkter vardera av svensk salami och rökt medvurst, skivade vegetabiliska smörgåspålägg (tabell 3) och utländsk korv (tabell 4) som enligt kriterierna i 2073/2005/EC medger Lm tillväxt valdes ut för modellering; medelprodukten, en med gynnsamma förhållanden för Lm tillväxt samt en med mindre gynnsamma förhållanden med avseende på pH och vattenaktivitet (figur 1). Modelleringen för charkuteriprodukterna skinka och kalkon utgick från samma värden för pH och a_w som i Livsmedelsverket (2017). Dessutom utvärderades effekten av tillsatt nitrit och sorbat. Olika kombinationer upp till högsta tillåtna tillsats utgjorde ingångsdata för dessa tillsatser (tabell 5). Tillväxten av Lm simulerades vid 4 °C och 8 °C.

Tabell 5. Ingångsdata för modellerna i FSSP. Tillväxtsimuleringar gjordes för förvaringstemperaturer vid 4 °C respektive 8 °C under sämsta (temp, pH och a_w = min; nitrat, och sorbat = max), intermediära, respektive bästa tillväxtförhållanden för produkter som medger tillväxt samt för medelvärdet för produktkategorin med avseende på pH och a_w

Fråga	Produkt	pH/ a_w ^c			Nitrit [mg/kg] ^e		Sorbit [g/kg]		
		min	med	max	nej	Ja	min	med	max
2 & 3	Svensk salami och medvurst ^a	4,6/0,95	4,4/0,93 ^d	5,2/0,96	0	11/20			
	Ungersk salami ^b	4,7/0,96	5,2/0,922	6,2/0,95	0	11/20			
4a	Kalkon		6,3/0,983		0	13/20			
	Skinka		5,9/0,979		0	11/20			
5	Skivade vegetabiliska smörgåspålägg ^a	4,7/0,96	5,4/0,97	6,7/0,97			0	1,0	2,0

^a se tabell 3 i rapporten; ^b se tabell 4 i rapporten; ^c omräknades till salt i vattenfas för modellering i FSSP; ^d medger inte tillväxt av Lm; ^e data från Efsa (2017)

Svensk salami och medvurst

Listeriatillväxten hämmas av lågt pH och bakterien kan inte tillväxa i kylskåpstemperatur vid pH 4,7. Däremot förutspås en relativt långsam tillväxt vid pH 5,2 (tabell 6). I det värsta scenariot, det vill säga i den produkt som hade mest gynnsamma förhållanden för Lm tillväxt med avseende på pH och vattenaktivitet (pH 5,2, a_w 0,96),. Den angivna hållbarheten för denna produkt var 42 dagar vilket endast underskreds vid 8 °C (38 dagar utan respektive 41 dagar med tillsats av nitrit; tabell 6). Dessutom innehåller medvurst andra för Lm tillväxtbegränsande faktorer, såsom laktat och mjölksyrabakterier (se nedan), som inte tillväxtmodelleringen tagit hänsyn till.

Tabell 6. Simulerade tider för 100 gånger (2 log₁₀) respektive 2500 gånger (3,4 log₁₀) tillväxt av *Listeria monocytogenes* i två typer av rökt medvurst med olika pH och vattenaktivitet, tillsats av nitrit och vid två förvaringstemperaturer enligt simulering i FSSP. Produkterna är valda utifrån bästa respektive sämsta tillväxtförhållanden som ligger inom ramen för medger Lm tillväxt enligt 2073/2005/EC. Medelvärden för pH och vattenaktivitet i medvurst medger inte tillväxt av *L. monocytogenes*

Produkt	Temp [° C]	Nitrit [mg/kg]	Tid för 2 log tillväxt [dygn]	Tid för 3,4 log tillväxt [dygn]
Medvurst – pH 4,7 ^a och a _w 0,96 ^b	4	0	> 90	> 90
	8	0	> 90	> 90
Medvurst – pH 5,2 och a _w 0,95 ^c	4	0	> 90	> 90
	8	0	23	38
		11	24	41
		20	26	44

^a Lägsta pH som kan anges i FSSP är 4,97, vid vilket ingen tillväxt av Lm sker i denna vattenaktivitet och temperatur; ^b Motsvarar 6,6 % NaCl i vattenfasen; ^c Motsvarar 8,0 % NaCl i vattenfasen;

Ungersk salami

För de utländska korvarna (tabell 4) valdes tre typprodukter, varav alla råkade vara ungersk salami, som enligt kriterierna i 2073/2005/EC medger Lm tillväxt, ut för modellering; 1) en med gynnsamma förhållanden för Lm tillväxt samt 2) en med mindre gynnsamma förhållanden med avseende på pH och vattenaktivitet samt 3) medelvärden för ungersk salami (tabell 5). Det låga pH-värdet i den första (4,7) medger inte tillväxt av Lm i kylskåpstemperatur. Medelvärden för de fyra ungerska produkterna (tabell 5) medgav inte heller Lm tillväxt i kylskåpstemperatur. Däremot kan enligt simuleringarna en relativt snabb tillväxt ske vid pH 6,2 vid 8 °C (tabell 7). Tillsats av nitrit har en begränsad effekt i de koncentrationer som i regel finns kvar efter fermentering och förlängde tiden för 2 log₁₀ tillväxt med ett dygn vid pH 6,2 (tabell 7). I salami finns dock även andra för Lm tillväxtbegränsande faktorer, såsom laktat och mjölksyrabakterier (se nedan), som inte tillväxtmodelleringen tagit hänsyn till.

Tabell 7. Simulerade tider för 100 gånger (2 log₁₀) respektive 2500 gånger (3,4 log₁₀) tillväxt av *Listeria monocytogenes* i tre typer av ungersk salami med olika pH och vattenaktivitet samt tillsats av nitrit vid två förvaringstemperaturer enligt simulering i FSSP. Produkterna är valda utifrån medelvärdet, bästa respektive sämsta tillväxtförhållanden som ligger inom ramen för medger Lm tillväxt enligt 2073/2005/EC

Produkt	Temp [° C]	Nitrit [mg/kg]	Tid för 2 log tillväxt [dygn]	Tid för 3,4 log tillväxt [dygn]
Ungersk salami – pH 4,7 ^a och a _w 0,95 ^b	4	0	> 90	> 90
	8	0	> 90	> 90
Ungersk salami, medelvärde – pH 5,2 och a _w 0,922	4	0	> 90	> 90
	8	0	> 90	> 90
Ungersk salami – pH 6,2 och a _w 0,96 ^c	4	0	17	29
		11	18	30
	8	0	6,7	11
		11	7,2	12
		20	7,6	13

^a Lägsta pH som kan anges i FSSP är 4,97, vid vilket ingen Lm tillväxt sker i denna vattenaktivitet och temperatur; ^b Motsvarar 8,0 % NaCl i vattenfasen; ^c Motsvarar 6,6 % NaCl i vattenfasen

Skivade vegetabiliska pålägg

Liksom i salami och medvurst är pH en viktig faktor för att begränsa Lm tillväxt i vegetabiliska pålägg. Dock har en stor andel av produkterna en sammansättning som innebär goda förutsättningar för Lm att tillväxa till halter över gränsvärdet, som snabbast på drygt en vecka vid 8 °C (tabell 8). Tillsats av sorbat har enligt modelleringarna en begränsad effekt på Lm tillväxthastighet och tiden för 3,4 log₁₀ tillväxt förlängdes endast med enstaka dagar vid maximal tillåten tillsats vid pH 6,7. Vid pH 5,4 kunde dock Lm tillväxt hämmas med en måttlig tillsats av sorbat enligt simuleringarna (tabell 8). Eftersom produkterna har lite olika tillsatser och dessutom förpackas i modifierad atmosfär redovisas produktspecifika simuleringar i Bilaga 1. Baserat på dessa antas Lm kunna tillväxa till över gränsvärdet i tre av produkterna inom hållbarhetstiden vid 4 °C. Alla dessa tre produkter har ett pH över 6,0, (Bilaga 1) vilket också framhövdes som en gräns för riskprodukter av såväl ost som charkuterier i Livsmedelsverket (2017).

Tabell 8. Simulerad tid för 100 gånger (2 log₁₀) respektive för 2500 gånger (3,4 log₁₀) tillväxt av *Listeria monocytogenes* i tre typer av skivade vegetabiliska smörgåspålägg med olika pH och vattenaktivitet, olika tillsats av sorbat vid två förvaringstemperaturer enligt simulering i FSSP. Produkterna är valda utifrån medelvärdet samt bästa respektive sämsta tillväxtförhållanden som ligger inom ramen för medger Lm tillväxt enligt 2073/2005/EC

Produkt	Temp [° C]	sorbat [g/kg]	Tid för 2 log tillväxt [dygn]	Tid för 3,4 log tillväxt [dygn]
Skivat vegetabiliskt pålägg – pH 4,7 ^a och a _w 0,96 ^b	4	0	> 90	> 90
	8	0	> 90	> 90
Skivat vegetabiliskt pålägg, medelvärde – pH 5,4 och a _w 0,97 ^c	4	0	20	34
		1	> 90	> 90
	8	0	8	13
		1	> 90	> 90
Skivat vegetabiliskt pålägg – pH 6,7 och a _w 0,97 ^c	4	0	13	22
		1	14	23
		2	15	25
	8	0	5,1	8,6
		1	5,4	9,2
		2	5,8	9,8

^a Lägsta pH som kan anges i FSSP är 4,97, vid vilket ingen tillväxt av Lm sker i denna vattenaktivitet och temperatur; ^b Motsvarar 6,6 % NaCl i vattenfasen; ^c Motsvarar 5,1 % NaCl i vattenfasen

Charkuterivaror – skinka och kalkon

För skinka och kalkon utgick simuleringarna från samma pH och a_w som i Livsmedelsverket (2017), men utvärderades med tillsatser av nitrit enligt tillsatserna redovisade i tabell 5. Den simulerade tiden som det tar för Lm att tillväxa från detektionsgränsen (0,04 CFU/g) till gränsvärdet (100 CFU/g) var som kortast sju dygn; i kalkon utan tillsatser vid 8 °C (tabell 9). Vid 4 °C och maximal tillsats av nitrit i samma produkt är motsvarande tid 66 dygn. I rökt skinka är tillväxten generellt något långsammare

eftersom pH i regel är lägre i fläsk- jämfört med fjäderfäkött (EFSA 2013). Dessutom är salthalten i regel något högre i skinka än i kalkon. Ingen hänsyn till eventuell effekt av rökningen, det vill säga fenol, har tagits i beaktande i modelleringen, inte heller paketering i modifierad atmosfär. Simuleringen gjordes som i övriga fall utan att anta någon lag-fas för Lm.

Tabell 9. Simulerad tid för 100 gånger ($2 \log_{10}$) respektive för 2500 gånger ($3,4 \log_{10}$) tillväxt av *Listeria monocytogenes* i kalkon och rökt skinka med olika pH och vattenaktivitet samt tillsats av nitrit vid två förvaringstemperaturer enligt simulering i FSSP. Lag-fasen är inte inkluderad i simuleringarna

Produkt	Temp [° C]	Nitrit [mg/kg]	Tid för 2 log tillväxt [dygn]	Tid för 3,4 log tillväxt [dygn]
Kalkon – pH 6,3 och a_w 0,983 ^a	4	0	10	18
		13	11	19
		20	12	20
	8	0	4,1	7,0
		13	4,5	7,6
		20	4,6	7,9
Rökt skinka – pH 5,9 och a_w 0,979 ^b	4	0	12	20
		11	13	22
		20	13	23
	8	0	4,8	8,1
		11	5,1	8,6
		20	5,3	9,1

^a Motsvarar 3,1 % NaCl i vattenfasen; ^b Motsvarar 3,7 % NaCl i vattenfasen;

Betydelsen av tillsats av nitrit

Salter av nitrit används ofta i saltlag eller i korvmassa för att utveckla och fixera köttets färg, hämma mikrobiell tillväxt och utveckla karakteristiska smaker. Som beskrivits ovan sjunker dock koncentrationerna av nitrit vid beredning samt i den färdiga produkten. I simuleringen användes medelkoncentrationerna från en utvärdering som baserades på ett stort antal prov från produkter från olika europeiska länder. Variationen i nitritkoncentration är dock stor, från under detektionsnivå till 140 mg/kg för de aktuella produkterna (EFSA 2017). I en sammanställning av nitritkoncentrationen i tyska produkter var koncentrationen i majoriteten av produkterna < 20 mg/kg, flest produkter låg inom kategorin < 10 mg/kg (Honikel 2008). Vid koncentrationer under 20 mg/kg förväntas tillväxthastigheten för Lm att endast begränsas marginellt (tabell 6, 7 och 9).

Betydelsen av tillsatser av salt från organiska syror

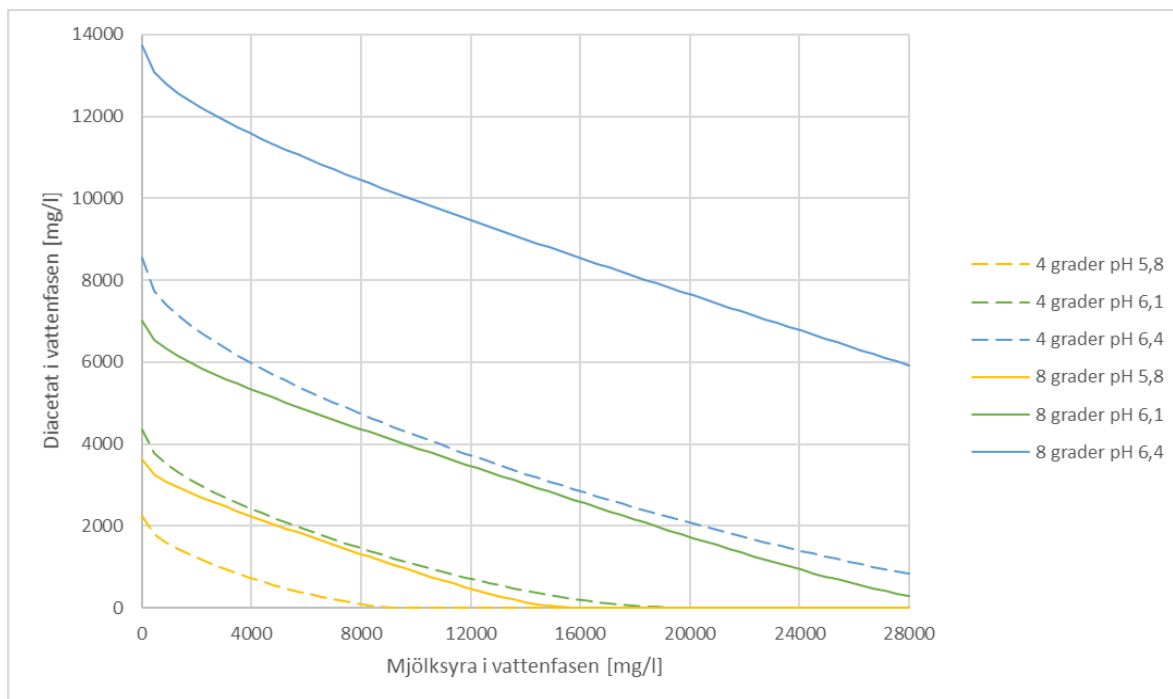
Tillsatser av laktat och diacetat kan tillsammans med andra faktorer såsom fenol från rökning, viss sänkning av pH och förvaring i modifierad atmosfär² vid låg temperatur begränsa eller helt förhindra Lm tillväxthastighet i kallrökt och gravad fisk (Tocmo et al. 2014) samt charkuteriprodukter. I Mejholm & Dalgaard (2007) påvisades ingen tillväxt av någon av de tillsatta Lm-stammarna i 8 °C efter tillsats av 1,5 % laktat (w/w) och 0,15 % diacetat (w/w) under 40 dagar i kallrökt lax. Angivna intervall för att hindra tillväxt beror på temperatur, fenolhalt, pH, vatteninnehåll (i produkten) samt vattenaktivitet, men var i kallrökt lax vid 4 °C 1 % laktat/0,1 % diacetat i vattenfasen (Mejholm & Dalgaard 2007). Sorbat fungerar som mest tillväxthämmande vid lägre pH och tillsats av 1 g/kg produkt hämmade tillväxten av Lm helt vid såväl 4 °C som 8 °C vid pH 5,4. Vid pH 6,7 hade dock sorbat enligt modelleringen en ytterst begränsad effekt på Lm tillväxthastighet och tiden för 3,4 log₁₀ tillväxt förlängdes med enstaka dagar (tabell 8). Sorbat kan dock i kombination med benzoat, propionat eller nitrit ge en bättre Lm-hämmande effekt (Glass et al. 2007) och enligt de produktspecifika simuleringarna som redovisas i Bilaga 1 går det att utläsa en kombinationseffekt med sorbat ihop med mjölksyra och acetat eller diacetat samt (lågt) pH.

I den Europeiska kartläggningsstudien utvärderades tillsatser i kombinationer av konserverings- och surhetsreglerande medel i rökt och gravad fisk (EFSA 2014). Den enda signifikanta skillnaden som påvisades där var att Lm förekom oftare i de produkter som hade två eller fler par tillsatser än övriga, det vill säga produkter utan tillsatser eller med ett par tillsatser, vilket redovisades i Livsmedelsverket (2017). Det var dock inte någon skillnad mellan produkterna med avseende på halter över 100 CFU/g vid slutet av hållbarhetstiden. Det saknades information om i vilka koncentrationer konserveringsmedlen hade tillsatts, vilket lyftes som en osäkerhet (EFSA 2014).

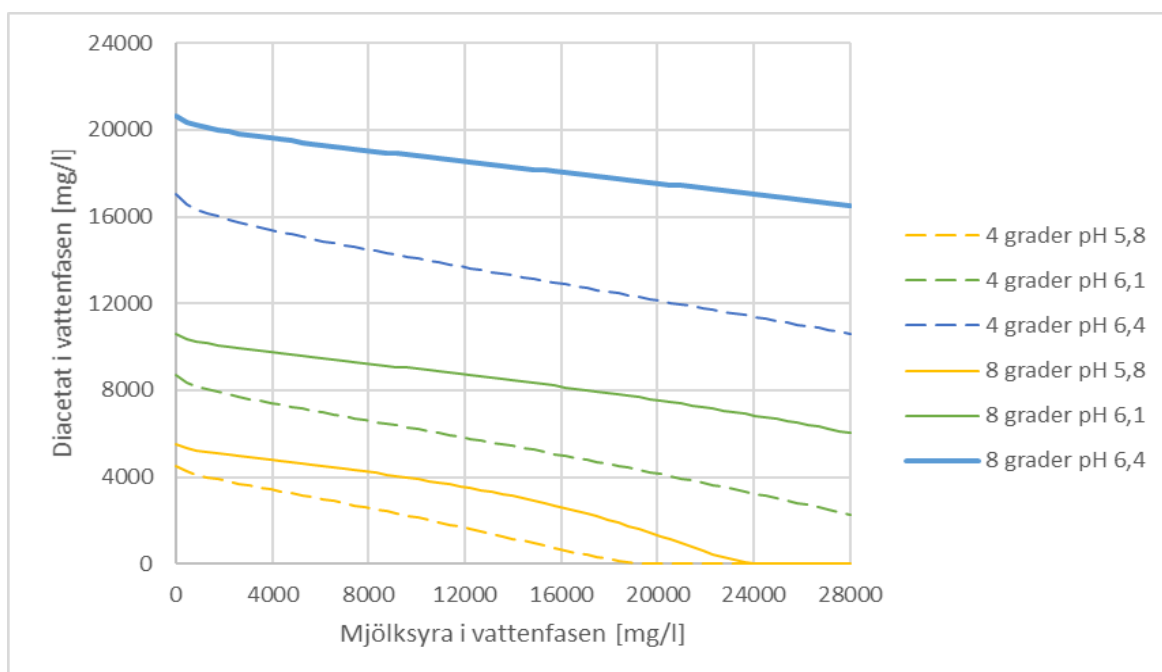
Hämning av listeriatillväxt med tillsatser i skivat pålägg och kallrökt fisk

För att undersöka förhållanden som helt hämmar tillväxt av Lm användes verktyget ”Growth boundary of *Listeria monocytogenes*” i FSSP (DTU 2022). Detta gjordes för skivade smörgåspålägg med olika pH (5,8; 6,1; 6,4) förpackade i modifierad atmosfär (30 % CO₂) vid 4 °C och 8 °C. Salthalten i vattenfasen sattes till 5,0 %, vilket motsvarar en vattenaktivitet på 0,971. Resultaten presenteras i figur 2 (Psi = 1,0) och figur 3 (Psi = 2,0). Såväl temperatur som pH har betydelse för hur mycket laktat och diacetat som behövs för total hämning och ju högre pH och temperatur, desto högre andel tillsats behövs. Som lägst, vid ett förhållande 10:1 (laktat:diacetat), ger 4 g laktat, 0,4 gram diacetat per kilogram produkt en halt motsvarande 4 900 mg/l mjölksyra och 616 mg/l diacetat i vattenfasen (data visas inte) vilket enligt simuleringen är tillräckligt för att hämma Lm tillväxt med Psi-faktorn satt till 1,0 (figur 2). Dessa halter måste höjas för att hämma Lm tillväxt med högre pH i produkten samt vid högre förväntade förvaringstemperaturer. Framförallt krävs betydligt större andel diacetat för att kunna hämma Lm tillväxt helt med god säkerhet, det vill säga när Psi-faktorn är inställd på 2,0 (figur 3). Motsvarande simuleringar för att tillväxthämmande betingelser för Lm i kallrökt fisk (fenolhalt 10 ppm) presenteras i figur 4 (Psi = 1,0) och figur 5 (Psi = 2,0).

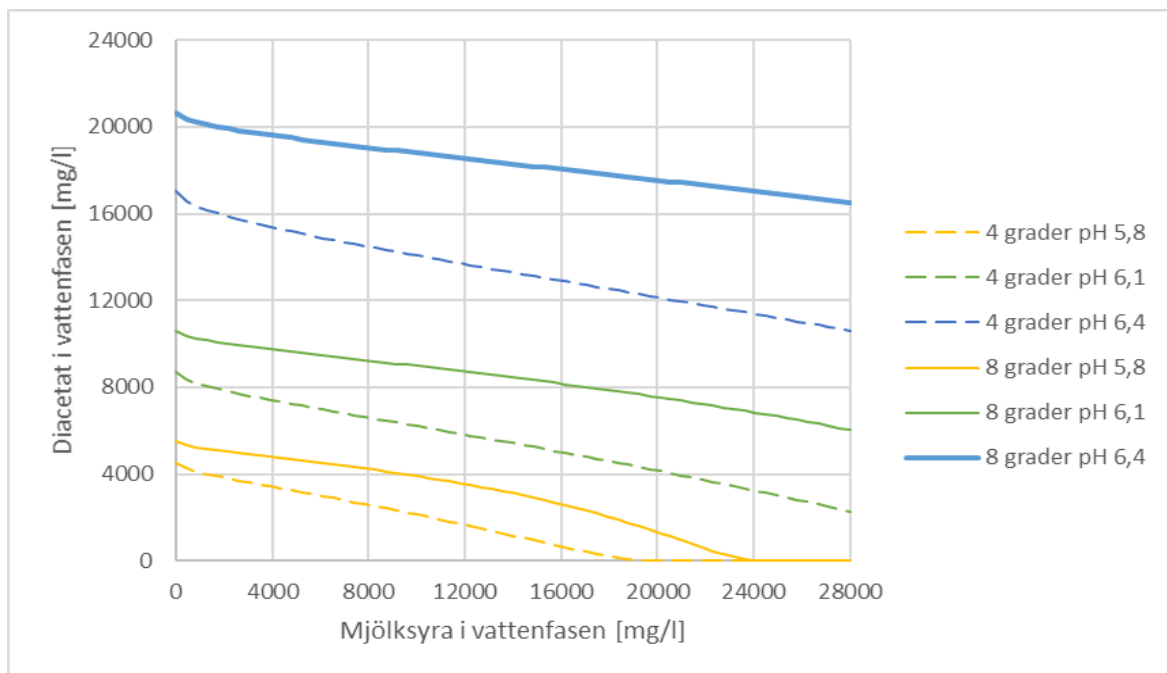
² Detta är aktuellt för skivade smörgåspålägg medan fisk i regel vacuumförpackas.



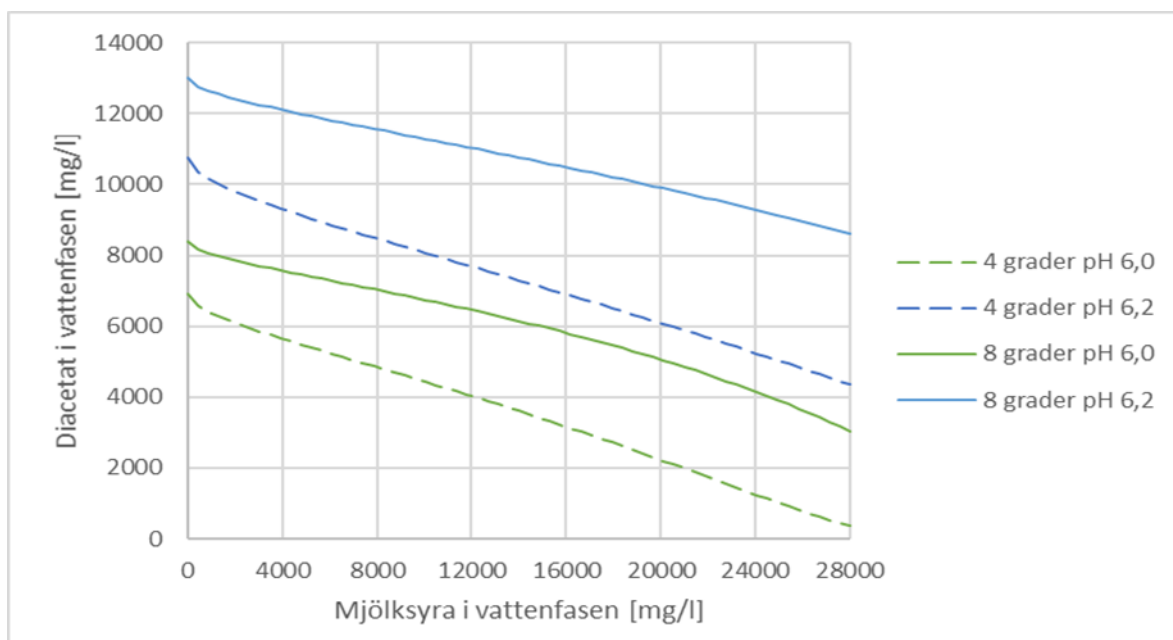
Figur 2. Halter av mjölksyra och diacetat i vattenfasen som (med $\Psi = 1,0$, vilket underskattade tillväxtmöjligheterna för *Listeria monocytogenes* i 5 % av validerade försök (Mejholm et al. 2010)) förhindrar tillväxt av *Listeria monocytogenes* i skivade pålägg förpackade i modifierad atmosfär (30 % koldioxid) med en salthalt i vattenfasen på 5,0 % (motsvarande a_w 0,971) vid olika kombinationer av pH (5,8 gul; 6,1 grön; 6,4 blå) och temperatur (4 °C streckad linje; 8 °C heldragen linje).



Figur 3. Halter av mjölksyra och diacetat i vattenfasen som med förhindrar tillväxt av *Listeria monocytogenes* i skivade pålägg förpackade i modifierad atmosfär (30 % koldioxid) med en salthalt i vattenfasen på 5,0 % vid olika kombinationer av pH (5,8 gul; 6,1 grön; 6,4 blå) och temperatur (4 °C streckad linje; 8 °C heldragen linje). Dessa värden är simulerade med $\Psi = 2,0$ vilket motsvarade ett 99 % konfidensintervall i validerade försök (Mejholm et al. 2010).



Figur 4. Halter av mjölksyra och diacetat i vattenfasen som (med Psi = 1,0, vilket underskattade tillväxtmöjligheterna för *Listeria monocytogenes* i 5 % validerade försök (Mejholm et al. 2010)) förhindrar tillväxt av *Listeria monocytogenes* i vacuumförpackad kallrökt (fenolhalt 10 ppm) fisk med en salthalt i vattenfasen på 5,0 % vid olika kombinationer av pH (6,0 grön; 6,2 blå) och temperatur (4 °C streckad linje; 8 °C heldragen linje).



Figur 5. Halter av mjölksyra och diacetat i vattenfasen som förhindrar tillväxt av *Listeria monocytogenes* i vacuumförpackad kallrökt (fenolhalt 10 ppm) fisk med en salthalt i vattenfasen på 5,0 % vid olika kombinationer av pH (6,0 grön; 6,2 blå) och temperatur (4 °C streckad linje; 8 °C heldragen linje). Dessa värden är simulerade med Psi = 2,0 vilket motsvarade ett 99 % konfidensintervall i validerade försök (Mejholm et al. 2010).

Betydelsen av specifika bakteriekulturer

Starterkulturer har använts för att säkerställa en snabb initiering av fermenteringsprocessen vilket ger en stabil process såväl som en säkrare produkt (Työppönen et al. 2003). Fermenterade produkter omfattas dock inte av denna fråga då eventuella starterkulturer är en naturlig del av produkten som redan har tagits i beaktande i modelleringarna för svensk och utländsk korv ovan. Bakterier kan även appliceras på ytan av produkter eller ihop med saltlag för att hämma Lm tillväxt. Effekten kan bero på (i) konkurrens om näringsämnen, vilket begränsar max-halten Lm kan uppnå (Vescuvo et al. 2006; Mejholm & Dalgaard 2007b). (ii) När bakterierna tillväxer bildas bland annat mjölksyra som sänker pH och a_w i produkten vilket sänker tillväxthastigheten för Lm (Työppönen et al. 2003; Mellefont et al. 2008). (iii) Vidare kan vissa bakteriestammar producera ämnen som har hämmande (bakteriostatisk) eller dödande (bakteriocid) effekt på Lm. Exempel på dessa är bland annat stammar av *Lactobacillus sakei*, *L. casei*, *L. brevis*, *L. curvatus*, *L. plantarum* och *Carnobacterium* spp. (Gálvez et al. 2007; Tomé et al. 2008; Tocmo et al. 2014; Iacomo et al. 2021; Stupar et al. 2021).

Även om flera försök har påvisat att olika bakterier kan producera ämnen som har en hämmande effekt på Lm gav litteratursökningen dock inte någon samlad bild av hur väl applicering av bakteriekulturer fungerar i industriell skala på lax eller charkuteriprodukter. Det finns dock en potential med biokonservering som ytterligare ett hinder för att minska sannolikheten för listeriatillväxt (Tocmo et al. 2014). För att bedöma hur väl detta fungerar behövs fler tillsatsstudier där Lm tillsätts till produkten under för produktionen jämförbara förhållanden varefter halten Lm bestäms vid slutet av hållbarhetstiden efter lagring vid olika temperaturer, definierade i EURL (2021). Dessutom vore det önskvärt med en större studie som jämför förekomsten av Lm vid sista hållbarhetsdagen på produkter med eller utan tillsatta bakteriekulturer, i linje med den Europeiska kartläggningsstudien med avseende på bl.a. tillsatser (EFSA 2014). I studien av Iacumin et al. (2021) var det till exempel bara en av fem testade föreslagna bakteriestammar med bakteriocid effekt som kunde begränsa tillväxten av Lm på rökt havsaborre. Den hämmande stammen var dock framtagen och såldes som produkt i detta syfte (Iacumin et al. 2021).

Med avseende på konkurrens om näringsämnen gjordes i Livsmedelsverket (2017) modelleringar i FSSP med simulerad halt mjölksyrabakterier vilka utvärderade begränsningen av listeriatillväxten i form av reducerad maxhalt i produkten när mjölksyrabakterierna nådde stationärfas. Listeriabakterierna hann dock enligt simuleringarna i de flesta fall tillväxa till halter över 100 CFU/g innan detta inträffade och tiden för hundra gånger tillväxt påverkades inte (Livsmedelsverket 2017). En lägre maxhalt i slutprodukten kan dock vara en viktig faktor för att minska sannolikheten för sjukdomsfall enligt en riskvärdering från Mataragas et al. (2010).

Svar på specifik frågeställning

Fermenterad korv

1. Hur förväntas pH och vattenaktivitet variera i olika typer av fermenterade korvar? Det vill säga i:
 - a. svensk kallrökt medvurst och svensk salami.
 - b. fermenterade korvar från andra länder, till exempel italiensk salami, spansk fuet eller ungersk pick-salami.

Svar: 1a. se tabell 3 i dokumentet, 1b. se tabell 4 i dokumentet.

2. Hur påverkas tillväxten av *L. monocytogenes* av nitrittillsats till fermenterade korvar? Utgå från tillåtna halter för charkprodukter.

Svar: Nitrit har en begränsad effekt på Lm tillväxt under hylltiden eftersom koncentrationen i de flesta produkterna förväntas vara låg (EFSA 2017; Honikel 2008). Troligen överskattas dock Lm tillväxtförmåga något då andra former av kväveföreningar som bildas också kan ha en bakteriehämmande effekt som simuleringen inte kan ta hänsyn till (se osäkerheter nedan).

3. Bedöm möjligheten för *L. monocytogenes* att tillväxa i olika typer av fermenterade korvar med avseende på den typiska variationen av pH och vattenaktivitet samt tillsats av nitrit.

Svar: De flesta fermenterade korvarna har ett pH, a_w eller en kombination av dessa som inte medger tillväxt av Lm (figur 1). Av de produkter som däremot inte begränsas helt av dessa parametrar gjordes tillväxtsimuleringar i FSSP. Tiden för två respektive 3,4 \log_{10} tillväxt av Lm redovisas för fem olika fermenterade korvar, med eller utan tillsats av nitrit, i tabell 6 respektive tabell 7. Enligt modelleringarna har en av 16 analyserade svenska korvar förutsättningar för Lm tillväxt till över gränsvärdet inom en rimlig hållbarhetstid i kylskåpstemperatur; detta vid 8 °C (tabell 6). En av de utländska korvarna, en ungersk salami med pH 6,2 och a_w 0,96 medgav enligt simuleringarna tillväxt till över gränsvärdet under hållbarhetstiden (tabell 7). Utöver de faktorer som inkluderades i modellen kan dock även andra faktorer såsom laktat och mjölksyrabakterier i produkterna begränsa Lm tillväxt. Vare sig dessa faktorer eller effekten av förpackning i modifierad atmosfär har beaktats i modelleringen (se vidare osäkerheter nedan).

Konserveringsmedel och bakteriekulturer i ätfärdiga livsmedel

4. Hur påverkas tillväxten av *L. monocytogenes* av olika tillsatser som är avsedda att hämma bakterien i ätfärdiga livsmedel som kallrökt och gravad fisk samt charkprodukter som till exempel kokt/varmrökt skinka och kalkonbröst samt kokt medvurst?
 - a. Vilka kombinationer av olika koncentrationer av laktat och diacetat hämmar växt av *L. monocytogenes*?
 - b. Hur påverkar tillsats av specifika bakteriekulturer växt av *L. monocytogenes*?

Svar: Den simulerade tillväxten av Lm i smörgåspålägg av kalkon och kallrökt skinka med eller utan tillsats av nitrit redovisas i tabell 9. Effekten av nitrit i charkuteriprodukterna är ytterst begränsad vid

de låga koncentrationer som i regel finns kvar efter beredning (Honikel 2008; EFSA 2017). Huruvida andra tillväxthämmande kväveföreningar kan bromsa Lm tillväxt är dock inte utrett (se osäkerheter nedan). I skivade vegetariska smörgåspålägg tillsätts ofta sorbat (Bilaga 1). Sorbat fungerar mer tillväxthämmande i sura produkter och förlängde tiden för 3,4 log₁₀ tillväxt av Lm med endast enstaka dagar vid pH 6,7 (tabell 8, se svar 5 nedan). Dock finns indikationer på att effekten kan vara högre ihop med andra konserveringsmedel såsom nitrit, propionat och benzoat (Glass et al. 2007) som inte är utvärderade i detta underlag. Vid pH 5,4 påvisade simuleringen en bättre hämmande effekt (tabell 8).

4a. Koncentrationerna av laktat/diacetat som helt begränsar möjligheten för Lm att tillväxa redovisas i figurerna 2 och 3 för smörgåspålägg med motsvarande 5,0 % salt i vattenfasen (a_w 0,971, utan tillsats) och pH i ett spann från 5,8 till 6,4, och som förvaras i modifierad atmosfär vid 4 °C respektive 8 °C. Motsvarande tillsatser till vacuumförpackad kallrökt fisk (pH 6,0 och pH 6,2) presenteras i figurerna 4 och 5. I bästa scenariot (pH 5,8; temp 4 °C) kan en hämning av Lm tillväxt ske till exempel med tillsats av motsvarande 4 g laktat, 0,4 g diacetat per kg produkt (data visas inte). Förutom pH och temperatur påverkar även salthalt, andra tillsatser och produktens vatteninnehåll dessa gränser för tillväxt/inte tillväxt av Lm (se osäkerheter nedan) och det är därför viktigt att producenterna själva anpassar tillsatsen till sin produkt då dessa siffror endast är indikativa. Vill man med god marginal försäkra sig om total begränsning av Lm tillväxt behövs framför allt andelen diacetat ökas (figur 3 och figur 5). Det finns dock en potential att med laktat/diacetat, tillsammans med andra faktorer begränsa Lm tillväxthastighet signifikant i smörgåspålägg samt kallrökt och gravad fisk även om de tillsätts i lägre halter än de som, enligt simuleringarna, med säkerhet förhindrar tillväxt.

4b. Vissa bakteriekulturer kan begränsa tillväxten av Lm genom olika mekanismer, se avsnitt ”Betydelse av specifika bakteriekulturer” i rapporten. Det är dock svårt att uppskatta hur stor betydelse dessa kan ha utan att det har gjorts en validering i industriell skala. I dagsläget får tillsats av specifika bakteriekulturer ses som ytterligare ett hinder som kan begränsa Lm tillväxt ihop med andra mer välstuderade faktorer. Det vore önskvärt att företag gjorde tillsatsstudier i enlighet med EURL (2021).

Skivade vegetabiliska smörgåspålägg

5. Bedöm möjligheten för *L. monocytogenes* att tillväxa i olika typer av skivade vegetabiliska smörgåspålägg med avseende på den typiska variationen av pH och vattenaktivitet samt eventuell tillsats av laktat, acetat och sorbat.

Svar: Alla skivade vegetabiliska smörgåspålägg har en kombination av pH och a_w som medger tillväxt av Lm (figur 1). Utav dessa redovisas den simulerade tillväxten av Lm för tre produkter, med och utan tillsats av sorbat, i tabell 8. I produkterna med pH < 5,0 bedöms inte tillväxt kunna ske vid 4 °C enligt FSSP, men åtminstone åtta av de 14 analyserade produkterna har en miljö som medger relativt snabb tillväxt av Lm (figur 1); som kortast nio dagar för 3,4 log₁₀ tillväxt vid pH 6,7 och a_w 0,97 i 8 °C (tabell 8). I modifierad atmosfär förlängs denna tid till 11 dagar (Bilaga 1). Effekten av sorbat var marginell vid högre pH enligt modelleringen i FSSP och tiden för 3,4 log₁₀ tillväxt förlängdes med enstaka dagar. Däremot har sorbat, enligt simuleringarna, en mycket mer tillväxthämmande effekt i surare produkter (tabell 8). I Bilaga 1 redovisas produktspecifika simuleringar som utgår från förpackning i modifierad atmosfär (30 % koldioxid, 70 % kvävgas) samt maximal tillsats av konserverings- och surhetsreglerande medel enligt innehållsförteckningarna. Baserat på dessa antas Lm kunna tillväxa till över gränsvärdet i tre av produkterna inom hållbarhetstiden vid 4 °C; i fyra av produkterna vid 8 °C (Bilaga 1). De tre produkter i vilka en relativt snabb tillväxt kunde ske vid 4 °C

har ett pH över 6,0, vilket också framhävdes som en gräns för riskprodukter av såväl ost som charkuterier i Livsmedelsverket (2017).

Osäkerheter

Vid analys av **pH och a_w** ges svaret med två värdesiffror. Förutom att dessa kan skilja sig mellan produkter och varumärken finns där också en mätosäkerhet i analysen som påverkar resultatet i modelleringen. I Livsmedelsverket (2017) visade modelleringarna att en höjning av pH med 0,1 (inom intervallet 4,8 – 6,2) motsvarade cirka 10 % förkortning av tillväxttiden. På motsvarande sätt gav en höjning av a_w på 0,01 (inom intervallet 0,94 – 0,99) 23 % snabbare tillväxt enligt modelleringen. En annan osäkerhet med avseende på a_w är att den är beroende av fler faktorer än salthalt, såsom andra tillsatser samt produktens vatteninnehåll. I FSSP sker dock en automatisk reglering av halterna så att det inte går att simulera orimliga scenarier där till exempel alla natriumjoner inte kan lösa sig.

För **tillsatserna** finns en osäkerhet i den reella koncentrationen i vattenfasen eftersom den beror på ett flertal faktorer och att dessa simuleringar endast har utgått från ett antal exempel. Även Efsa (2014) lyfte avsaknaden av faktiska koncentrationer som en osäkerhet i den utvärdering som gjordes i samband med den europeiska kartläggningen under förra decenniet (EFSA 2014). Sorbat var mer tillväxthämmande i produkter med lägre pH. Omfattande buljongförsök har visat att en kombination av lågt pH (< 6,0) och lägre temperatur tillsammans med tillsatser såsom laktat och diacetat har en starkt listeriehämmande effekt (Skandamis et al. 2007). Med avseende på nitrit kan den faktiska koncentrationen variera betänkligt, men i majoriteten av produkterna bedöms den vara så pass låg att Lm tillväxthastighet inte hämmas signifikant. Dock bildas även andra metaboliter som också kan påverka Lm negativt. Dessa har inte kunnat utvärderas och troligtvis överskattas förmågan för Lm tillväxt något i produkter med tillsats av nitrit.

Det finns en potential att med biokonservering med vissa **bakteriekulturer** hämma Lm tillväxt, vilket kan härledas till olika mekanismer (produktion av bakteriociner, konkurrens om näringsämnen samt en indirekt sänkning av pH och a_w) men det saknas en utvärdering likt den som gjordes i samband med den europeiska kartläggningen nämnd med avseende på tillsatser ovan. Ett problem med att utföra en dylik kartläggning är att starterkulturer eller godkända biokonservingsmedel inte behöver anges som ingrediens på förpackningen. Det vore önskvärt att fler företag verifierar effekten av såväl tillsatta bakteriekulturer som tillsatser, eller i kombination, enligt EURL (2021).

Effekten av olika **förpackningar** är inte specifikt utvärderad i detta underlag, men i Livsmedelsverket (2017) fastslogs att listeriatillväxten är sjunkande från förpackning i syre > vacuum > modifierad atmosfär. Inom den senare kategorin är tillväxten långsammare ju högre andelen koldioxid är. Det finns även en kombinationseffekt där en låg temperatur förstärker tillväxthämningen från koldioxiden. Antalet extra dagar som det tar för Lm att tillväxa från 0,04 till 100 CFU/g jämfört med aerob miljö bedömdes dock vara begränsad vid 30 % koldioxid³ i förpackningen (Livsmedelsverket 2017). Förpackning i modifierad atmosfär ger dock en extra säkerhetsmarginal i förhållande till tiderna som presenteras i rapporten, fram till dess att förpackningen bryts. Vid högre andel koldioxid (70 – 80 %) i

³ Förpackning av skinka sker i regel i en gasblandning bestående av 30 % koldioxid och 70 % kvävgas

den modifierade atmosfären begränsas tillväxten av Lm ytterligare (VKM 2018; Livsmedelsverket 2017). I den europeiska kartläggningen påvisades Lm mer sällan i förpackningar med modifierad atmosfär än i övriga förpackningstyper (OR = 0,60; p = 0,048) (EFSA 2014; Livsmedelsverket 2017).

Referenser

DTU (2022). Food Spoilage and Safety Predictor. Danmarks Tekniske Universitet, Lyngby. URL: <http://fssp.food.dtu.dk/>.

EFSA (2013). Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Listeria monocytogenes* in certain ready-to-eat foods in the EU, 2010-2011 Part A: *Listeria monocytogenes* prevalence estimates. EFSA Journal 11: 3241.

EFSA (2014). Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Listeria monocytogenes* in certain ready-to-eat foods in the EU, 2010-2011 Part B: analysis of factors related to prevalence and exploring compliance. EFSA Journal 12: 3810.

EFSA (2017). Re-evaluation of sodium nitrate (E 249) and potassium nitrate (E 250) as food additives. EFSA Journal 15: e04786.

EURL (2021). *Lm* Technical guidance document for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat-foods, Version 4 of 1 July 2021. Anses, Maisons-Alfort.

Folkhälsomyndigheten (2022). www.folkhalsomyndigheten.se

Gálvez A, Abriouel H, López RL & Omar NB (2007). Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. Int J Food Microbiol 120:51-70.

Glass K, McDonnell LM, Rasell RC & Zierke KL (2007). Controlling *Listeria monocytogenes* on Sliced Ham and Turkey Products Using Benzoate, Propionate, and Sorbate. J Food Prot 70: 2306-2312.

Goulet V, King LA, Vaillant V & de Valk H (2013). What is the incubation period for listeriosis? BMC Infect Dis 13: 11.

Honikel K-O (2008). The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. Meat Science 78: 68-76.

Iacumin L, Cappellari G, Pellegrini M, Basso M & Comi G (2021). Analysis of the Bioprotective Potential of Different Lactic Acid Bacteria Against *Listeria monocytogenes* in Cold-Smoked Sea Bass, a New Product Packaged Under Vacuum and Stored at $6 \pm 2^\circ\text{C}$. Front Microbiol 12:796655.

Livsmedelsverket (2017). Förekomst och tillväxt av *Listeria monocytogenes* i livsmedel. Livsmedelsverkets rapportserie 2017 nr 9 del 2. Uppsala.

Livsmedelsverket (2022). www.livsmedelsverket.se

Mataragas M, Zwietering MH, Skandamis PN & Drosinos EH (2010). Quantitative microbiological risk assessment as a tool to obtain useful information for risk managers--specific application to *Listeria monocytogenes* and ready-to-eat meat products. Int J Food Microbiol 141 Suppl 1: S170-179.

Mejholm O & Dalgaard P (2007a). Modeling and Predicting the Growth Boundary of *Listeria monocytogenes* in Lightly Preserved Seafood. J Food Prot 70:70-84.

Mejholm O & Dalgaard P (2007b). Modeling and predicting the growth of lactic acid bacteria in lightly preserved seafood and their inhibiting effect on *Listeria monocytogenes*. J Food Prot 70:2485-2497.

Mejlholm O, Gunvig A, Borggaard C et al. (2010). Predicting growth rates and growth boundary of *Listeria monocytogenes* - an international validation study with focus on processed and ready-to-eat meat and seafood. Int J Food Microbiol 141:137-150.

Mellefont LA, McMeekin TA & Ross T (2008). Effect of relative inoculum concentration on *Listeria monocytogenes* growth in co-culture. Int J Food Microbiol 121:157-168.

- Porto-Fett A, Sargatal E, Shane L et al. (2017). Validation of fermentation, drying, and storage parameters for control of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., and *Listeria monocytogenes* in fuet, a traditional Spanish sausage. *J Food Prot* 80(Suppl A):166.
- Roig-Sagués AX, Lopéz-Sabater EJ, Mora-Ventura MT, Hernadés-Herrero MM & Rodríguez-Jerez JJ (1999). Microbiological events during the elaboration of “fuet”, a Spanish ripened sausage - Relationships between the development of histidine- and tyrosine-decarboxylase-containing bacteria and pH and water activity. *Eur Food Res Technol* 209:108-112.
- Ross T & Shadbolt CT (2000). Predicting *Escherichia coli* inactivation in uncooked comminuted fermented meat products. *Meat & Livestock Australia*. Sydney.
- Rundqvist A-K (2015) Konsistensförbättring av skivad salami och hushållsmedwurst på Siljans Chark AB. MSc Thesis, Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala.
- Skandamis PN, Stopforth JD, Yoon Y, Kendall PA & Sofos JN (2007). Modeling the Effect of Storage Atmosphere on Growth–No Growth Interface of *Listeria monocytogenes* as a Function of Temperature, Sodium Lactate, Sodium Diacetate, and NaCl. *J Food Prot* 70:2329-2338.
- Socialstyrelsen (2013) Infektion med *Listeria monocytogenes* - ett nationellt strategidokument. Socialstyrelsen, Smittskyddsinstitutet, Livsmedelsverket, Statens veterinärmedicinska anstalt, Jordbruksverket. Stockholm.
- Stupar J, Holöymoén IG, Hoel S et al. (2021). Diversity and Antimicrobial Activity towards *Listeria* spp. and *Escherichia coli* among Lactic Acid Bacteria Isolated from Ready-to-Eat Seafood. *Foods* 10:271.
- Tocmo R, Krizman K, Khoo WJ, Phua LK, Kim M & Yuk H-G (2014). *Listeria monocytogenes* in Vacuum-Packed Smoked Fish Products: Occurrence, Routes of Contamination, and Potential Intervention Measures. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 13:172-189.
- Tomé E, Pereira VL, Lopes CI et al. (2008). *In vitro* tests of suitability of bacteriocin-producing lactic acid bacteria, as potential biopreservation cultures in vacuum-packaged cold-smoked salmon. *Food Control* 19: 535-543.
- Työppönen S, Markkula A, Petäjä E, Suihko S-H & Mattila-Sandholm T (2003). Survival of *Listeria monocytogenes* in North European type dry sausages fermented by bioprotective meat starter cultures. *Food Control* 14: 181-185.
- Vescovo M, Scolari G & Zacconi C (2006). Inhibition of *Listeria innocua* growth by antimicrobial-producing lactic acid cultures in vacuum-packed cold-smoked salmon. *Food Microbiol* 23: 689-693.
- VKM (2018). *Listeria monocytogenes* - vurdering av helseråd til gravide og andre utsatte grupper - Uttalelse fra Faggruppe for hygiene og smittestoffer i Vitenskapskomiteen for mat og miljø. VKM Report 2018:13. Vitenskapskomiteen. Oslo.

Bilaga 1 - Produktspecifik simulering av skivade vegetabiliska pålägg

Tabell B1. Produktspecifik simulering av skivade vegetabiliska pålägg utförda i FSSP med avseende på pH, vattenaktivitet (salthalt i vattenfasen) och tillsats av konserverings- och surhetsreglerande medel. Tiden som anges är den tid det tar för *Listeria monocytogenes* att tillväxa från detektionsgränsen (0.04 CFU/g) till gränsvärdet (100 CFU/g) vid 4 °C och 8 °C, med tillsats, förpackade i modifierad atmosfär (30/70 CO₂/N₂)

Produkt	pH	a _w	Tillsats	Surhetsreglerande	4 °C [dygn]	8 °C [dygn]
Vegetabiliskt pålägg 1	5,5	0,97	Na-diacetat, K-sorbat, Mjölksyra	Äppelsyra, K-laktat	>90	>90
Vegetabiliskt pålägg 2	5,6	0,96	K-sorbat	-	>90	>90
Vegetabiliskt pålägg 3	5,2	0,98	K-sorbat	-	>90	>90
Vegetabiliskt pålägg 4	5,9	0,96	K-sorbat	-	>90	26
Vegetabiliskt pålägg 5	6,4	0,96	-	-	38	14
Vegetabiliskt pålägg 6	5,1	0,94	-	-	>90	71
Vegetabiliskt pålägg 7	5,1	0,96	K-sorbat, Na-acetat, Mjölksyra	-	>90	>90
Vegetabiliskt pålägg 8	4,9	0,97	K-sorbat, Na-acetat, Mjölksyra	-	>90	>90
Vegetabiliskt pålägg 9	5,2	0,96	K-sorbat, Na-acetat, Mjölksyra	-	>90	>90
Vegetabiliskt pålägg 10	5,8	0,97	K-sorbat, Na-acetat, Mjölksyra	-	>90	42
Vegetabiliskt pålägg 11	4,7	0,98	K-sorbat	-	>90	>90
Vegetabiliskt pålägg 12	4,8	0,99	K-sorbat	-	>90	>90
Vegetabiliskt pålägg 13	4,7	0,96	K-sorbat	-	>90	>90
Vegetabiliskt pålägg 14	6,7	0,97	-	-	30	11
Vegetabiliskt pålägg 15	6,1	0,97	-	-	31	12

