

Tillväxt av *Bacillus cereus* och *Clostridium perfringens* i livsmedel under avsvälning

Vetenskapligt underlag

Denna titel kan laddas ner från: www.livsmedelsverket.se/publicerat-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, 2018

ISSN 1104-7089

Grafisk produktion: Livsmedelsverket

Förord

Livsmedelsverket arbetar för att skydda konsumenternas intressen genom att arbeta för säker mat och bra dricksvatten, att informationen om maten är pålitlig så ingen blir lurad och för att främja bra matvanor. Livsmedelsverkets leder och samordnar landets livsmedelskontroll samt att ta fram och förvalta råd till konsumenter och verksamhetsutövare inom området livsmedel och dricksvatten. Verksamheten baseras på vetenskapliga rön enligt riskanalysens principer.

Livsmedelsverket rapport 2018 nr 15 om tillväxt av *Bacillus cereus* och *Clostridium perfringens* i livsmedel under avsvälning är ett vetenskapligt underlag som tagits fram av Risk- och nyttovärderingsavdelningen som svar på en fråga från Livsmedelsverkets Kontrollavdelningen. Rapporten är författad av Karin Nyberg och kvalitetsgranskad av Roland Lindqvist.

Livsmedelsverket

Per Bergman

Avdelningschef, Risk- och nyttovärderingsavdelningen

Innehåll

Förord	3
Sammanfattning	7
Summary	8
Growth of <i>Bacillus cereus</i> and <i>Clostridium perfringens</i> in food during cooling	8
Inledning	9
Syfte	9
Frågeställning	9
Metodik	9
Kvalitetssäkring	10
Faroidentifiering	11
Farokarakterisering	13
<i>Bacillus cereus</i>	13
<i>Clostridium perfringens</i>	13
Exponeringsuppskattning	14
<i>Bacillus cereus</i>	14
<i>Clostridium perfringens</i>	16
Riskkaraktärisering	18
Slutsatser och svar på fråga	18
Kunskapsluckor	18
Referenser	19

Sammanfattning

Den upphettning som normalt sker vid preparering av livsmedel är ofta inte tillräckligt hög för att inaktivera sporer av *Clostridium perfringens* och *Bacillus cereus*. Om inte livsmedlet kyls ned till temperaturer som motverkar tillväxt kan därför sporer övergå till vegetativa bakterier och snabbt växa till sjukdomsframkallande nivåer.

Syftet med den här rapporten är att ta fram ett vetenskapligt underlag om tillväxt av de sporbildande bakterierna *Bacillus cereus* och *Clostridium perfringens* i livsmedel under avsvälning från 60 alternativt 55 °C ned till 8 °C. Detta vetenskapliga underlag bygger på data från litteraturen, data från prognosmodeller samt egna modelleringar.

Resultaten visar att om det befintliga riktvärdet för avsvälning till 8 °C på 4 timmar följs, sker ingen tillväxt av *Bacillus cereus* och *Clostridium perfringens*. Vid en avsvälningstid på 9 timmar har såväl publicerade resultat som modelleringar i de flesta fall visat på en tillväxt på mindre än alternativt strax över 1 log₁₀ CFU av *Bacillus cereus* och *Clostridium perfringens* per gram livsmedel. Vid en avsvälningstid på 12 timmar har såväl publicerade resultat som modelleringar i de flesta fall visat på en tillväxt på mindre än alternativt strax över 2 log₁₀ CFU av *Bacillus cereus* och *Clostridium perfringens* per gram livsmedel.

Om ett livsmedel inte antas innehålla mer än 100 sporer som alla gror ut till växande bakterier, bör således ett livsmedel som fått svalna på 9 timmar fortfarande anses vara säkert med avseende på *Bacillus cereus* och *Clostridium perfringens*. Det vill säga att det inte växt mer än till nivåer av mer än 10³ CFU per gram livsmedel.

Summary

Growth of *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* in food during chilling

The temperatures that are obtained during the normal preparation of food are usually not high enough to inactivate spores of *Clostridium perfringens* and *Bacillus cereus*. Therefore, food needs to be chilled at a sufficient rate to avoid spores to grow to disease-causing levels.

The aim with this report is to provide a scientific basis for the growth of *Clostridium perfringens* and *Bacillus cereus* during the chilling of foods from 60 and 54 °C to 8 °C. The data has been obtained from literature review and predictive modelling.

The results show that if chilling to 8 °C is done in 4 hours there will be no growth of *Clostridium perfringens* and *Bacillus cereus*. If chilling to 8 °C is done in 9 hours, the results show a growth of below or just above 1 log₁₀ CFU per gram of food. If chilling is done in 12 hours, the results show a growth of below or just above 2 log₁₀ CFU per gram of food.

If the assumption is made that a foodstuff does not contain more than 100 spores, and that all of these survive the cooking process and can grow during chilling, a foodstuff that is chilled for 9 hours will still be safe with regard to *Clostridium perfringens* and *Bacillus cereus*.

N.B. The title of the publication is translated from Swedish, however no full version of the publication has been produced in English.

Inledning

Den Europeiska lagstiftningen om livsmedelshygien kräver att nedkylning av livsmedel, till en temperatur som inte medför att hälsorisk uppstår, ska ske så snart som möjligt efter upphettning (Bilaga II, kapitel IX, punkt 7 i förordning 852/2004). I vägledningar till kontrollpersonal anger Livsmedelsverket sedan länge ett riktvärde för nedkylningstid, att om ett livsmedel kyls ned till 8 °C eller svalare inom fyra timmar efter tillagningen så hinner ingen tillväxt påbörjas i livsmedlet. Med anledning av frågor som Livsmedelsverket fått från företag och kontrollpersonal anses det angeläget att undersöka om det riktvärde som Livsmedelsverket anger har vetenskapligt stöd eller om det finns anledning att göra en förändring av riktvärdet.

Syfte

Syftet med den här rapporten är att ta fram ett vetenskapligt underlag om tillväxt av de sporbildande bakterierna *Bacillus cereus* och *Clostridium perfringens* i livsmedel under kontinuerlig exponentiell avsvälning från 60 alternativt 55 °C ner till 8 °C.

Frågeställning

Hur stor tillväxt av sporbildare (*Bacillus cereus* och *Clostridium perfringens*) kan förväntas om riktvärdet på 4 timmars avsvälning följs, alternativt om nedkylning av livsmedel tar längre tid? Utgå från en kontinuerlig exponentiell avsvälning och ge gärna svar både med och utan lagtid.

Metodik

Detta vetenskapliga underlag bygger på data från litteraturen, data från prognosmodeller samt egna modelleringar. Den vetenskapliga litteratur som använts har eftersökts i databasen Pubmed (Tabell 1). Utifrån de träffar som genererades av vald söksträng valdes relevanta artiklar utifrån abstract.

Tabell 1. Databas, söksträng och antal träffar som ligger till grund för detta underlag.

Databas	Söksträng	Antal träffar	Utvalda artiklar	Datum
Pubmed	cooling AND growth AND food AND (cereus OR perfringens)	65	28	2018-02-10

Sekundära prognosmodeller för *Bacillus cereus* (Juneja *et al.* 2018a), vilka beskriver hur tillväxthastigheten respektive lagtiden varierar med temperaturen, användes för att beräkna tillväxten vid olika scenarier för avsvälning, tid-temperaturkurvor, genom att kombinera de sekundära modellerna med en primär Baranyi tillväxtmodell (Baranyi and Roberts 1994). Temperaturen (T) efter en viss tid (t) antogs följa en exponentiell modell enligt Fazil *et al.* (2002) som definierades av start (T₀) och sluttemperatur (T_s) samt hur avsvälningstiden (C_t) antogs vara (Ekvation 1 och 2).

Ekvation 1:
$$T = T_0 \times e^{-k \times t}$$

Ekvation 2:
$$k = \frac{\ln(T_0) - \ln(T_s)}{C_t}$$

Modellerna implementerades i programvaran R (R Development Core Team 2010) med användande av programpaketet deSolve (Soetaert *et al.* 2010) för att lösa de resulterande differentialekvationerna för att kunna beräkna tillväxten, det vill säga ökningen av antalet bakterier under avsvälningen.

Kvalitetssäkring

Vetenskapliga underlag som tas fram av Livsmedelsverkets Risk- och nyttovärderingsavdelning är kvalitetssäkrade. Detaljer om kvalitetssäkringen visas i Tabell 2.

Tabell 2. Sammanfattning av information för kvalitetssäkring.

Datum när beställningen gjordes:	2018-02-05
Datum när svar behövs:	Ej angivits
Ansvarig handläggare:	Karin Nyberg, Risk- och nyttovärderingsavdelningen
Namn på kvalitetsgranskare:	Roland Lindqvist, Risk- och nyttovärderingsavdelningen
Underlaget godkänd av och datum:	Per Bergman, Risk- och nyttovärderingsavdelningen, 2018-05-25

Faroidentifiering

Clostridium perfringens och *Bacillus cereus* är sporbildande bakterier som är vanligt förekommande på livsmedelsråvaror. Sporbildning är ett sätt för de bakterier som har denna förmåga att överleva exempelvis upphettning, uttorkning eller näringsbrist. Sporen är mycket tåligare än vad bakterien är i sin vegetativa form. För livsmedelsindustrin är det viktigt att ha kännedom om hur dessa bakterier fungerar för att på så vis kunna undvika att de tillåts kontaminera slutråvaran (Andersson *et al.* 1995).

Den upphettning som normalt sker inom livsmedelsindustrin är ofta inte tillräckligt hög för att inaktivera sporer av *Clostridium perfringens* och *Bacillus cereus* (Tabell 3). Om inte livsmedlet kyls ner till temperaturer som inte stödjer tillväxt kan därför sporer övergå till vegetativa bakterier och snabbt växa till sjukdomsframkallande nivåer. Livsmedel med halter på 10^5 och högre av både *Clostridium perfringens* och *Bacillus cereus* ska betraktas som otillfredsställande (EFSA 2005).

Tabell 3. Temperatur- och pH-intervall och minimum vattenaktivitet för tillväxt av *Clostridium perfringens* och *Bacillus cereus* samt D-värden för bakterierna i sporform (Blackburn and McClure 2009; Gibbs 2009).

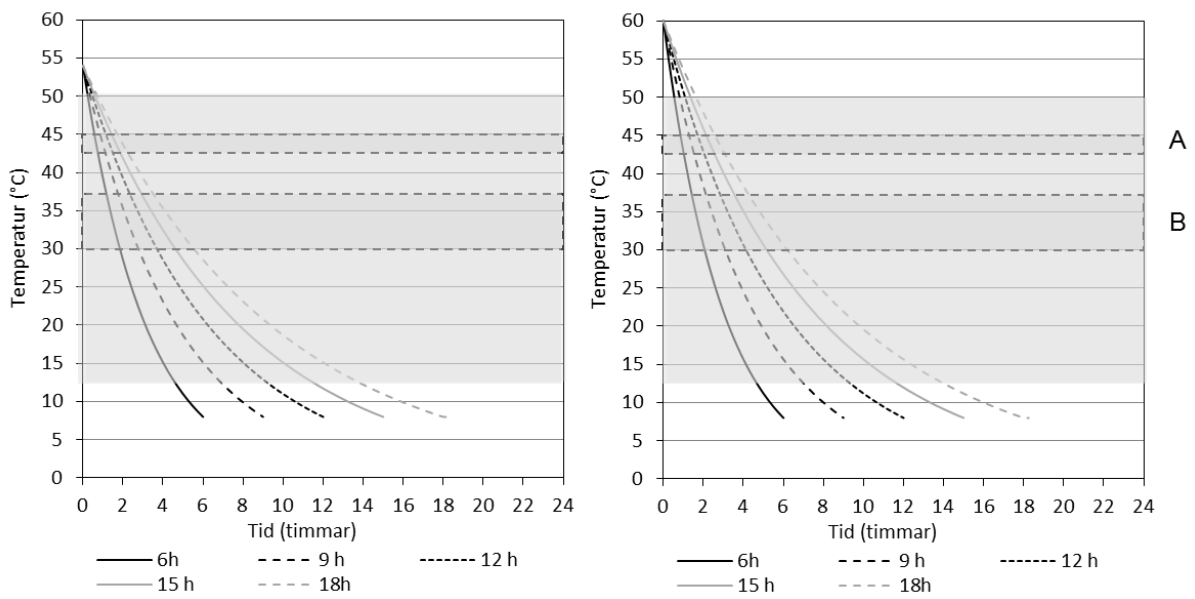
Bakterie	Temperatur min-max (°C)	Temperatur optimum (°C)	D _{95°C} för sporer (minuter)	D _{100°C} för sporer (minuter)
<i>Bacillus cereus</i>	5.0 - 35 ^a 15 - 50 ^b	30 - 37	-	1.2 - 27
<i>Clostridium perfringens</i>	12 - 50	43 - 45	1 - 64	-

^a Avser psykotrofa stammar av *Bacillus cereus*

^b Avser mesofila stammar av *Bacillus cereus*

I vägledningarna till kontrollpersonal anger Livsmedelsverket som riktvärde för nedkylningstid att om ett livsmedel kyls ned till 8°C eller kallare inom fyra timmar efter tillagning så hinner ingen tillväxt påbörjas i livsmedlet. Nedkylning till 8°C på 4 timmar är ett riktvärde som härstammar från USA som i sin FDA Food Code anno 1976 nämner dessa värden för att säkerställa ett säkert livsmedel. Denna tid utökades till 6 timmar 1993 och ingen förändring har skett sedan dess (FDA 2017). Även USDA rekommenderar en nedkylningsstandard på 6 timmar. För större mängder livsmedel kan det dock vara svårt att uppnå en kylning av livsmedel från 60°C till 8°C på 4 till 6 timmar utan att använda speciella nedkylningsmetoder.

Figur 1 visar några olika nedkylningsscenarioer för kontinuerlig exponentiell nedkylning som erhållits utifrån Ekvation 1 genom att variera tiden för avsvälning från 6 upp till 18 timmar från två olika starttemperaturer (54 samt 60°C). Således kan den effekt visas som livsmedlets starttemperatur samt avsvälningstiden har på tiden som livsmedlet befinner sig vid olika temperaturintervall. Ju längre tid som livsmedlet befinner sig i det temperaturfönster som tillåter optimal tillväxt desto högre tillväxt kommer ske. Detta temperaturfönster visas även i Tabell 3.



Figur 1. Exempel på temperaturkurvor avseende avsvälning av livsmedel. Kurvorna till vänster visar avsvälning från 54 °C och kurvorna till höger visar avsvälning från 60 °C. De streckade boxarna visar optimal temperatur för tillväxt av (A) *Clostridium perfringens* och (B) *Bacillus cereus* och grått fält visar det totala temperaturintervall som tillåter tillväxt.

Farokaraktärisering

Bacillus cereus

Bacillus cereus orsakar två typer av matförgiftning, varav en variant ger diarré och en variant ger kräkning orsakad av toxin som bakterien bildar i livsmedlet. Symtomen av diarré-varianten ger kraftiga magsmärtor, gasbildning och vattnig diarré som uppkommer 8 till 16 timmar efter konsumtion av kontaminerade livsmedel och oftast går över efter 24 timmar. De symtom som uppkommer vid förgiftning med kräktoxin inkluderar magkramp och kräkning och uppkommer efter 1 till 5 timmar och går över inom 24 timmar. För båda varianterna av *Bacillus cereus* matförgiftning krävs mellan 10^5 - 10^8 bakterier per gram livsmedel för att orsaka sjukdom (FDA 2012).

Clostridium perfringens

Clostridium perfringens orsakar matförgiftning som ger kraftiga magsmärtor, gasbildning och diarré. Symtom uppkommer 8 till 22 timmar efter konsumtion av kontaminerade livsmedel och tillfrisknande sker efter cirka 24 timmar. Det krävs vanligtvis minst 10^6 *Clostridium perfringens* per gram livsmedel för att orsaka matförgiftning, även om känsliga individer kan drabbas även efter konsumtion av en mindre mängd bakterier (FDA 2012; Gibbs 2009).

Exponeringsuppskattning

Bacillus cereus

För att visa på tillväxt av *Bacillus cereus* har resultat från två studier av Juneja *et al.* (2018a och 2018b) använts. I dessa har tillväxten studerats under avsvälning från 54.5 till 7.2 °C i bland annat tillagade bönor, ris och en blandning av nötkött, ris och grönsaker. De experimentella resultaten från Juneja *et al.* (2018a och 2018b) visar att avsvälning upp till 9 timmar ger lika med eller mindre än 1 log CFU tillväxt av *Bacillus cereus* per gram livsmedel (Tabell 3). Det är först vid avsvälning på 15 timmar som det, i en av de testade livsmedelskombinationerna, rapporteras en tillväxt över 3 log CFU per gram livsmedel.

Tabell 3. Observerad data på tillväxt under avsvälning från 54.5 till 7.2 °C av *Bacillus cereus* (Juneja *et al.* 2018a).

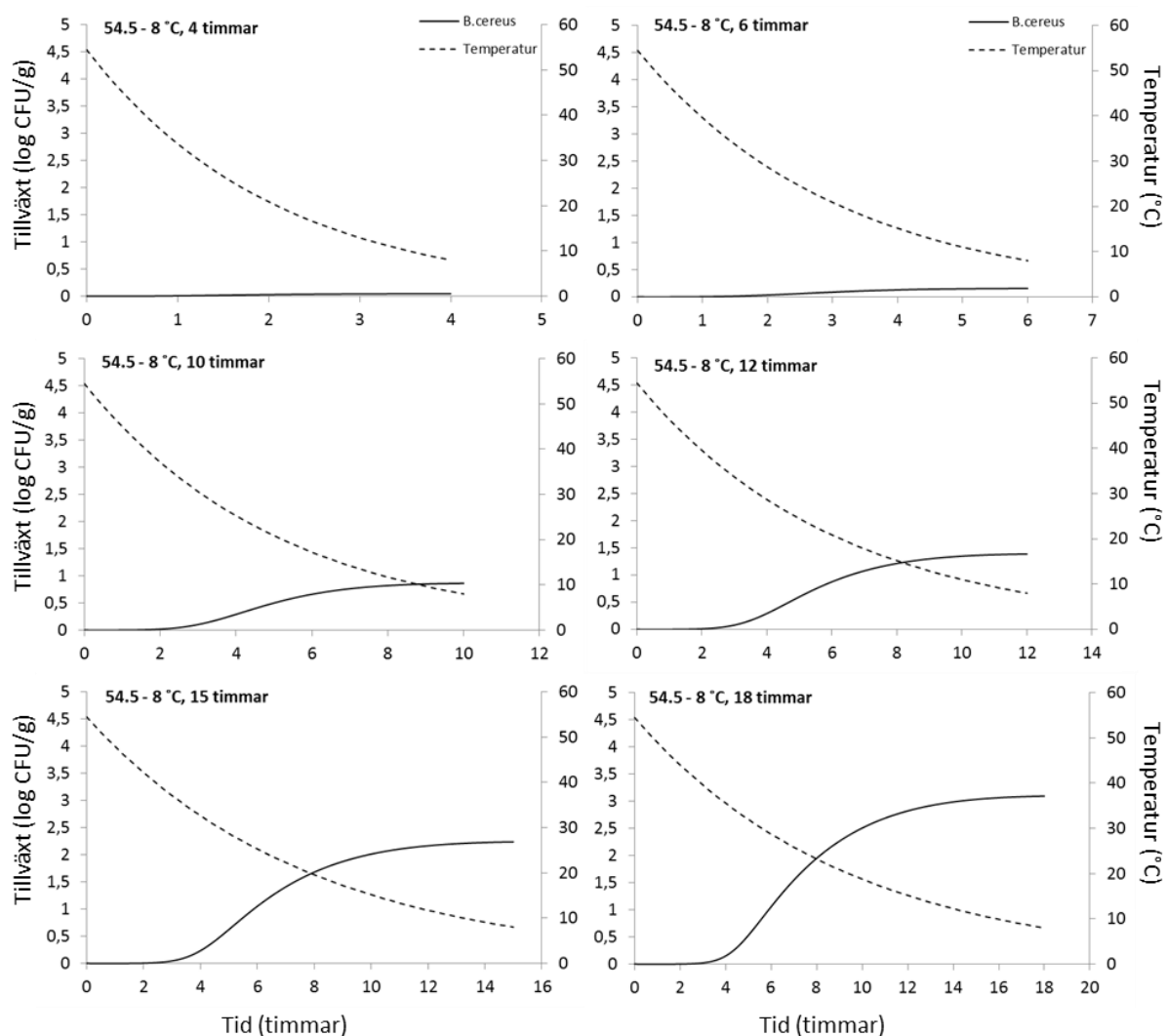
Tid (timmar)	Initial nivå, medel ± SD (log CFU/g)	Nivå efter avsvälning, medel ± SD (log CFU/g)	Tillväxt, medel (log CFU/g)
6	2.27 ± 0.08 ^a	2.37 ± 0.11 ^a	0.1 ^a
	2.15 ± 0.14 ^b	2.41 ± 0.07 ^b	0.26 ^b
	2.29 ± 0.17 ^c	2.52 ± 0.03 ^c	0.23 ^c
9	2.28 ± 0.4 ^a	2.96 ± 0.15 ^a	0.68 ^a
	2.15 ± 0.27 ^b	3.20 ± 0.17 ^b	1.05 ^b
	2.30 ± 0.03 ^c	3.41 ± 0.15 ^c	0.84 ^c
12	2.24 ± 0.16 ^a	4.02 ± 0.12 ^a	1.78 ^a
	2.04 ± 0.18 ^b	3.96 ± 0.08 ^b	1.92 ^b
	2.36 ± 0.10 ^c	4.45 ± 0.15 ^c	2.09 ^c
15	2.28 ± 0.06 ^a	5.13 ± 0.09 ^a	2.85 ^a
	2.19 ± 0.08 ^b	5.11 ± 0.04 ^b	2.92 ^b
	2.15 ± 0.16 ^c	5.65 ± 0.07 ^c	3.5 ^c
18	2.22 ± 0.10 ^a	5.87 ± 0.07 ^a	3.65 ^a
	2.13 ± 0.09 ^b	5.82 ± 0.10 ^b	3.69 ^b
	2.37 ± 0.07 ^c	6.57 ± 0.29 ^c	4.2 ^c
21	2.36 ± 0.08 ^a	6.63 ± 0.15 ^a	4.27 ^a
	2.15 ± 0.12 ^b	6.02 ± 0.16 ^b	3.87 ^b
	2.26 ± 0.10 ^c	7.58 ± 0.13 ^c	5.32 ^c

^a Bönor, (Juneja *et al.* 2018a)

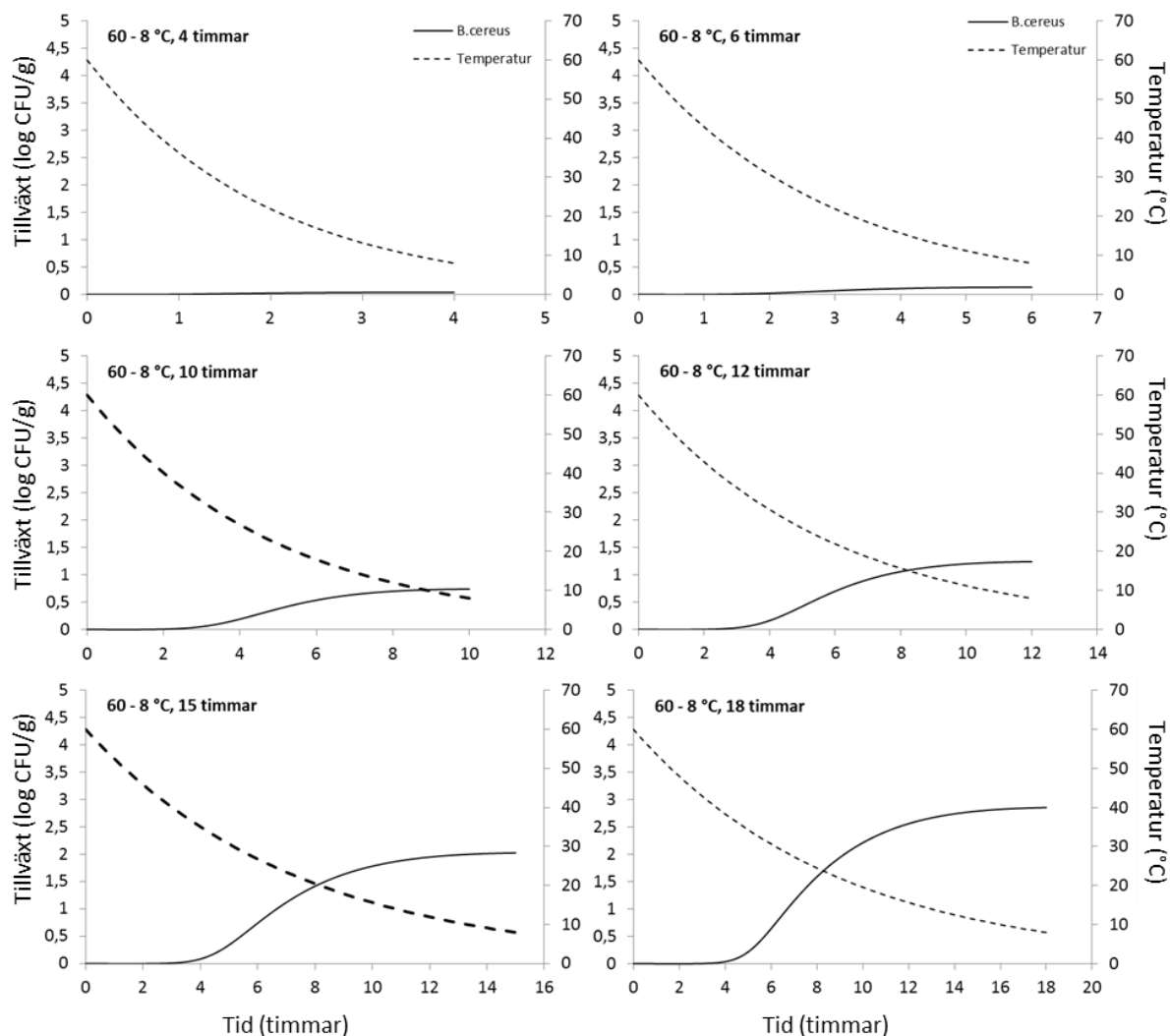
^b Ris, (Juneja *et al.* 2018b)

^c Nötkött, ris och grönsaker, (Juneja *et al.* 2018b)

Den prognosmodell för tillväxt av *Bacillus cereus* under avsvälning som tagits fram av Juneja *et al.* (2018a) har applicerats för olika avsvälningstider ner till 8 °C från starttemperaturer på 54.5 samt 60 °C (Figur 2 & 3) givet en exponentiell avsvälning enligt Fazil *et al.* (2002) För prognosen användes modellen fastän den inte är utvecklad för temperaturer över 54.5. En begränsning som bedöms vara liten eftersom ingen tillväxt sker vid temperaturer över 49 °C samt att det antas vara endast en begränsad inaktivering av sporer i det temperaturintervallet. Modellresultaten i figur 2 & 3 visar att den temperatur som livsmedlet har innan avsvälning påbörjas påverkar tillväxten av *Bacillus cereus*. Eftersom det i princip inte sker någon tillväxt vid temperaturer över 50 °C kommer livsmedlet befinna sig kortare tid vid temperaturer som tillåter tillväxt om avsvälningen påbörjas vid en högre initial temperatur, exempelvis 60 °C.



Figur 2. Antagna temperaturkurvor för avsvälning från 54.5 - 8 °C under 4 - 18 timmar och den modellerade tillväxten av *Bacillus cereus* som potentiellt skulle kunna ske under avsvälningstiden.



Figur 3. Antagna temperaturkurvor för avsvälning från 60 - 8 °C under 4 - 18 timmar och den modellerade tillväxten av *Bacillus cereus* som potentiellt skulle kunna ske under avsvälningstiden.

Clostridium perfringens

För att visa på tillväxt av *Clostridium perfringens* har resultat från två studier av Juneja *et al.* (2007 & 2010) använts. I dessa har avdödning av *Clostridium perfringens* studerats under avsvälning från 54.5 till 7.2 °C i olika sorters tillagat nötkött. De två studierna skiljer sig bland annat med avseende på nötköttets salthalt som i den ena studien var 1.11% och i den andra 0.85%. Studien med nötkött med högre salthalt gav mindre tillväxt under avsvälningen och visade på en tillväxt under 1 log CFU per gram såväl vid 12 som 15 timmars avsvälningstid (Juneja *et al.* 2010). Studien med lägre salthalt visade på 3.9 log CFU per gram efter 12 timmars avsvälning (Juneja *et al.* 2007). Den tillväxt som dessa studier rapporterat är inklusive en eventuell lagfas, som dock inte har specificerats. Tillväxten visas i tabell 4.

Eftersom det för *Clostridium perfringens* saknas studier på kortare avsvälningstider än 12 timmar kördes dessutom en dynamisk prognosmikrobiologisk modell från Combase. Begränsningen med denna modell är att den endast är tillämplig i intervallet mellan 52 och 15 °C. Den underskattning av tillväxten som detta kan leda till bedöms inte vara så viktig för slutsatserna eftersom *Clostridium*

perfringens tillväxtintervall anges som 15 till 50 °C och tillväxten mellan modellens lägre gräns 15 och 12 °C antas vara förhållandevis liten. Modelleringen utfördes med en salthalt på 0.85%, vilket motsvarar den lägre salthalt som rapporterats av Juneja *et al.* (2007).

Tabell 4. Observerad tillväxt under avsvälning från 54.5 till 7.2 °C av *Clostridium perfringens* från Juneja *et al.* (2007 & 2010) samt modellerad tillväxt under avsvälning från 52.0 till 15 °C från Combase.

Tid (timmar)	Initial nivå, medel ± SD (log CFU/g)	Nivå efter avsvälning, medel ± SD (log CFU/g)	Tillväxt (log CFU/g)
6	3.0 ^a	3.05 ^a	0.05 ^a
9	3.0 ^a	3.42 ^a	0.42 ^a
12	3.0 ^a	4.35 ^a	1.35 ^a
	2.93 ± 0.14 ^b	3.67 ± 0.12 ^b	0.74 ^b
	3.34 ± 0.21 ^c	7.24 ± 0.15 ^c	3.90 ^c
15	3.0 ^a	5.44 ^a	2.44 ^a
	3.76 ± 0.07 ^b	3.82 ± 0.52 ^b	0.06 ^b
	3.17 ± 0.13 ^c	8.04 ± 0.70 ^c	4.87 ^c
18	3.0 ^a	6.51 ^a	3.51 ^a
	3.24 ± 0.18 ^c	7.85 ± 0.27 ^c	4.61 ^c
21	3.0 ^a	7.33 ^a	4.33 ^a
	3.13 ± 0.07 ^b	7.85 ± 0.01 ^b	4.72 ^b

^a Combase dynamisk prognosmodell, 0.85% NaCl

^b Nötkött med 1.11% NaCl, (Juneja *et al.* 2010)

^c Nötkött med 0.85% NaCl, (Juneja *et al.* 2007)

Riskkaraktärisering

Slutsatser och svar på fråga

- Om riktvärdet på 4 timmars avsvälning följs så kommer ingen tillväxt av *Bacillus cereus* och *Clostridium perfringens* att ske.
- Vid en avsvälningstid på 9 timmar har såväl publicerade resultat som modelleringar visat på en tillväxt av *Bacillus cereus* och *Clostridium perfringens* på mindre än, alternativt strax över, $1 \log_{10}$ CFU per gram livsmedel.
- Vid en avsvälningstid på 12 timmar har såväl publicerade resultat som modelleringar i de flesta fall visat på en tillväxt av *Bacillus cereus* och *Clostridium perfringens* på mindre än, alternativt strax över, $2 \log_{10}$ CFU per gram livsmedel. Det finns dock en studie som har visat en högre tillväxt för *Clostridium perfringens*, upp till $3.9 \log_{10}$ CFU per gram livsmedel efter 12 timmars avsvälning.
- Om ett livsmedel antas att inte innehålla mer än 100 sporer som alla gror ut till växande bakterier bör således ett livsmedel som fått svalna på 9 timmar fortfarande anses vara säkert med avseende på *Bacillus cereus* och *Clostridium perfringens*. Det vill säga att det inte växt mer än till nivåer av mer än 10^3 CFU per gram livsmedel.
- Livsmedlets egenskaper har stor betydelse för hur mycket tillväxt som sker. Detta exemplifieras i detta underlag av hur salthalten i en studie påverkade tillväxten av *Clostridium perfringens*. Detta innebär en osäkerhet att ta hänsyn till vid tolkningen av uppskattad tillväxt vid olika avsvälningstider eftersom i underlaget endast ett fåtal livsmedel har ingått.
- I princip sker ingen tillväxt av *Bacillus cereus* eller *Clostridium perfringens* vid temperaturer från $50 \text{ }^\circ\text{C}$ och högre. Ju högre initial temperatur som används desto kortare tid kommer livsmedlet befinna sig vid temperaturer som stödjer tillväxt, om avsvälningen sker enligt den antagna avsvälningsskurvan och tiderna.
- I detta underlag har resultat utifrån avsvälningsskurvor med en form angiven av frågeställaren tagits fram. Om avsvälningsskurvan har ett annat utseende kan det påverka tillväxten under avsvälning.

Kunskapsluckor

Det finns endast ett fåtal livsmedelstyper representerade i publicerade studier på tillväxt av *Bacillus cereus* och *Clostridium perfringens* under avsvälning. I dessa saknas vissa temperaturintervall, till exempel ner till under $8 \text{ }^\circ\text{C}$ på 4 timmar. Detta kan kompenseras av bra prognosmodeller, men de befintliga modellerna är endast validerade i ett livsmedel (kokta bönor).

Referenser

- Andersson, A., Rönner, U. and Granum, P. E. (1995) What problems does the food industry have with the spore-forming pathogens *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*? *International Journal of Food Microbiology* **28**, 145-155.
- Baranyi, J. and Roberts, T. A. (1994) A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology* **23**, 277-294.
- Blackburn, C. and McClure, P. (2009) Pathogenic *Bacillus* species. In *Foodborne pathogens - hazards, risk analysis and control* ed. C. Blackburn, P. McClure pp. 845-888. Cambridge: Woodhead Publishing
- EFSA (2005) Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on the request from the Commission related to *Clostridium* spp in foodstuffs. *The EFSA Journal* **199**, 1-65.
- Fazil, A. M., Ross, T., Paoli, G., Vanderlinde, P., Desmarchelier, P. and Lammerding, A. M. (2002) A probabilistic analysis of *Clostridium perfringens* growth during food service operations. *International Journal of Food Microbiology* **73**, 315-329.
- FDA (2012) *Bad bug book, foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins*, 2nd ed. In ed.:
- FDA (2017) *Food Code. Recommendations of the United States Public Health Service Food and Drug Administration*. Retrieved at: <https://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceRegulation/RetailFoodProtection/FoodCode/UCM595140.pdf>
- Gibbs, P. (2009) Pathogenic *Clostridium* species. In *Foodborne pathogens - hazards, risk analysis and control* ed. C. Blackburn, P. McClure pp. 820-843. Cambridge: Woodhead Publishing
- Juneja, V. K., Bari, M. L., Inatsu, Y., Kawamoto, S. and Friedman, M. (2007) Control of *Clostridium perfringens* spores by green tea leaf extracts during cooling of cooked ground beef, chicken, and pork. *Journal of Food Production* **70**, 1429-1433.
- Juneja, V. K., Mishra, A. and Pradhan, A. (2018a) Dynamic predictive model for growth of *Bacillus cereus* from spores in cooked beans. *Journal of Food Production* **81**, 308-315.
- Juneja, V. K., Mohr, T. B., Silverman, M. and Snyder, P. O. J. (2018b) Influence of cooling rate on growth of *Bacillus cereus* from spore inocula in cooked rice, beans, pasta, and combination products containing meat or poultry. *Journal of Food Production* **81**, 430-436.
- Juneja, V. K., Porto-Fett, A. C. S., Gartner, K., Tufft, L. and Luchansky, J. B. (2010) Potential for growth of *Clostridium perfringens* from spores in pork scrapple during cooling. *Foodborne Pathogens and Disease* **7**, 153-157.
- R Development Core Team (2010) *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria, R Foundation for Statistical Computing. Retrieved from <http://www.R-project.org>.
- Soetaert, K., Petzoldt, T. and Setzer, R. W. (2010) Solving differential equations in R: Package deSolve. *Journal of Statistical Software* **33**, 1-25.



Uppsala Hamnesplanaden 5, SE-751 26

www.livsmedelsverket.se