

ADVIES 11-2019

Betreft:

**Groeipotentieel van *Listeria monocytogenes*
in rauwmelkse hoeveboter**

(SciCom 2018/17)

Wetenschappelijk advies goedgekeurd door het Wetenschappelijk Comité op 21/06/2019.

Sleutelwoorden:

Listeria monocytogenes, rauwmelkse hoeveboter, groei, houdbaarheidstest

Key terms:

Listeria monocytogenes, raw milk homestead butter, growth, durability study

Inhoud

<i>Samenvatting</i>	3
<i>Summary</i>	5
1. Referentietermen	7
1.1. <i>Vraagstelling</i>	7
1.2. <i>Wettelijke bepalingen</i>	7
1.3. <i>Methode</i>	7
2. Definitie & Afkortingen	7
3. Inleiding	8
3.1. <i>Listeria monocytogenes</i>	8
3.2. <i>Boter</i>	8
3.3. <i>Context adviesaanvraag</i>	9
4. FAVV gegevens over <i>Listeria monocytogenes</i> in rauwmelkse boter	10
5. Evaluatie van het onderzoeksproject over <i>Listeria monocytogenes</i> in rauwmelkse hoeveboter	10
5.1. <i>Doelstelling van het onderzoeksproject</i>	10
5.2. <i>Proefopzet van het onderzoeksproject</i>	11
5.3. <i>Resultaten van het onderzoeksproject</i>	11
6. Effect van productieprocessen op (het groeipotentieel van) <i>Listeria monocytogenes</i> in rauwmelkse hoeveboters	16
7. Het effect van pH op het groeipotentieel van <i>Listeria monocytogenes</i> in rauwmelkse hoeveboters	17
8. Onzekerheden	18
9. Conclusies	20
10. Aanbevelingen	21
<i>Referenties</i>	23
<i>Leden van het Wetenschappelijk Comité</i>	25
<i>Belangenconflict</i>	25
<i>Dankbetuiging</i>	25
<i>Samenstelling van de werkgroep</i>	26
<i>Hoorzitting</i>	26
<i>Wettelijk kader</i>	26
<i>Disclaimer</i>	26
Bijlage 1: Voedselveiligheidscriteria voor <i>Listeria monocytogenes</i> volgens Verordening (EG) Nr. 2073/2005	27
Bijlage 2: FAVV gegevens uit het analyseprogramma van <i>Listeria monocytogenes</i> in rauwmelkse boter in België voor de periode 2008-2018.....	29
<i>Bijlage 3: Ruwe data houdbaarheidstesten</i>	30
<i>Bijlage 4: pH-range binnen het marktonderzoek</i>	36

Samenvatting

Advies 11-2019 van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het FAVV over het groeipotentieel van *Listeria monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboter

Context & Vraagstelling

Het Wetenschappelijk Comité kon in het advies 09-2016 geen uitspraak doen over het groeipotentieel van *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) in alle types hoeveboter in België op basis van de op dat moment voorhanden zijnde gegevens. Er werd aanbevolen om onderzoek uit te voeren naar de grenswaarden voor groei van *L. monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboters bij verschillende combinaties van pH en a_w (of zoutgehalte) en waarbij rekening gehouden wordt met “worst case” scenario’s. Intussen werden nieuwe gegevens verzameld op basis van een wetenschappelijke studie uitgevoerd op rauwmelkse hoeveboters in Wallonië. Het Wetenschappelijk Comité werd gevraagd om het groeipotentieel van *L. monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboter opnieuw te evalueren.

Methode

Op basis van nieuwe wetenschappelijke kennis en data (o.a. de resultaten van het onderzoeksproject “Etude du potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre au lait cru en Wallonie – Université de Liège - Gembloux Agro-Bio Tech, 2018”) en op basis van expertopinie, heeft het Wetenschappelijk Comité het groeipotentieel van *L. monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboter beoordeeld.

Resultaten

Er bestaat een grote variatie in de productieprocessen van rauwmelkse hoeveboters en in de karakteristieken van de rauwmelkse hoeveboters. De potentiële uitgroei van *L. monocytogenes* wordt beïnvloed door o.a. de pH-waarde en de snelheid van verzuring. Over het algemeen blijkt uit de aangeleverde houdbaarheidstesten dat de kans op groei van *L. monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboters klein is. Echter, de “worstcase” omstandigheden (pH), aanbevolen in het advies 09-2016, werden niet afgedekt in de uitgevoerde houdbaarheidstesten.

Conclusie

Op basis van de beschikbare gegevens stelt het Wetenschappelijk Comité vast dat in rauwmelkse hoeveboters de kans op uitgroei van *L. monocytogenes* klein is indien de pH-waarde daalt tot $<5,2$ tijdens de eerste 10 uur van het productieproces. Indien de pH-waarde nog aanzienlijk lager daalt tijdens de eerste 10 uur van het productieproces (bijvoorbeeld naar 4,7) zal het risico op groei van *L. monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboter nagenoeg nihil zijn. Het uitvoeren van een goed HACCP plan waarbij de pH daling tijdens het productieproces wordt opgevolgd is belangrijk, zodat de operator er zich kan vergewissen dat er een voldoende pH daling optreedt tijdens het productieproces. Op basis van de houdbaarheidstesten kan de groei van *L. monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboter met

hogere pH-waarden (> pH 5,2) echter niet worden uitgesloten. Wat betreft ‘zachte boters’, d.w.z. boter zonder of met beperkte verzuring geproduceerd van zachte room die geen biologische rijping heeft ondergaan, besluit het Wetenschappelijk Comité dat de productieprocessen potentiële risico’s inhouden omdat ze uitgroei van *L. monocytogenes* toelaten gezien de trage en soms eerder beperkte verzuring die optreedt in het begin van het productieproces.

Het Wetenschappelijk Comité kan dus geen algemene uitspraak doen over het groeipotentieel van *L. monocytogenes* in alle rauwmelkse hoeveboters geproduceerd in België. Bovendien blijven aandacht voor GMP procedures tijdens het productieproces en het vermijden van postcontaminatie tijdens rijping of bewaring van hoeveboter twee essentiële vereisten voor het afleveren van een veilig product aan de consument.

Aanbevelingen

Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan om pH controles tijdens het productieproces van rauwmelkse hoeveboters op te nemen in de HACCP procedures. Er wordt eveneens aanbevolen om producenten bewust te maken van de potentiële risico’s geassocieerd met rauwmelkse producten. Daarnaast blijft een correcte communicatie naar de consument, in het bijzonder naar de risicogroepen, over de potentiële risico’s van rauwmelkse producten een aandachtspunt. Er wordt aanbevolen om indien mogelijk tellingen uit te voeren of geschatte aantallen te bepalen voor *L. monocytogenes* in toekomstige houdbaarheidsstudies. Ten slotte wordt er voorgesteld om een definitie van de term ‘zachte boter’ toe te voegen aan de sectorgids.

Summary

Advice 11-2019 of the Scientific Committee established at the FASFC on the growth potential of *Listeria monocytogenes* in raw milk homestead butter

Background & Terms of reference

In its Advice 09-2016 the Scientific Committee was unable to make a statement on the growth potential of *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) for all types of raw milk homestead butter in Belgium based on data which were then available. It was recommended to investigate the limits for growth of *L. monocytogenes* in raw milk homestead butter at different combinations of pH and a_w (or salt content) while taking into account the « *worst case* » scenarios. In the meantime, new data were collected on the basis of a scientific study carried out on raw milk homestead butter in Wallonia. The Scientific Committee was asked to re-evaluate the growth potential of *L. monocytogenes* in raw milk homestead butter.

Method

Based on new scientific knowledge and data (including the results of the study entitled "Etude du potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre au lait cru en Wallonie") as well as based on expert opinion, the Scientific Committee has assessed the growth potential of *L. monocytogenes* in raw milk homestead butter.

Results

There exists a large variation in the production processes of raw milk homestead butter and in the characteristics of raw milk homestead butter. The potential growth of *L. monocytogenes* is influenced by factors such as pH value and the rate of acidification. In general, the supplied durability studies show that the chance of growth of *L. monocytogenes* in raw milk homestead butter is small. However, the « *worst case* » conditions (pH), recommended in Advice 09-2016, were not covered in the performed durability studies.

Conclusions

Based on the available data the Scientific Committee states that the risk of *L. monocytogenes* growth in raw milk homestead butter is low if the pH drops below 5,2 after the first 10 hours of the production process. If the pH value drops even considerably lower during the first 10 hours of the production process (for example to 4,7), the risk of growth of *L. monocytogenes* in raw milk homestead butter will be further reduced. It is important to implement a good HACCP plan in which the pH drop is monitored during the production process, so the operator can ensure that a sufficient pH drop occurs during the production process. However, based on the durability studies, the growth of *L. monocytogenes* in raw milk homestead butter with high pH values (> pH 5,2) cannot be excluded. With regard to "mild" butters, i.e. butter without or with limited acidification produced from mild cream that has not undergone a biological maturation, the Scientific Committee concludes that the production processes present potential risks because they allow the growth of *L. monocytogenes* due to the slow and sometimes rather limited acidification that occurs in the beginning of the production process. The Scientific Committee can therefore not make a general statement about the growth potential of *L. monocytogenes* in all raw milk homestead butter produced in Belgium. Moreover, attention to GMP procedures during the production process and the avoidance of post-contamination during ripening

or storage of homestead butter remain two essential requirements for delivering a safe product to the consumer.

Recommendations

The Scientific Committee recommends to include pH controls during the production process of raw milk homestead butter in the HACCP procedures. It is also recommended to make producers aware of the potential risks associated with certain processes. In addition, proper communication with the consumer, in particular with the risk groups, about the potential risks of raw milk products is a point of attention. A recommendation is made to perform counts or determine the estimated numbers of *L. monocytogenes* whenever possible in future durability studies. Finally, the addition of a definition for the term "mild butter" to the sector guide is proposed.

1. Referentietermen

1.1. Vraagstelling

Het Wetenschappelijk Comité wordt verzocht een advies te formuleren over de mogelijke groei van *L. monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboter in België, rekening houdend met:

- de resultaten van het onderzoeksproject “Etude du potentiel de croissance de *L. monocytogenes* dans le beurre au lait cru en Wallonie—Université de Liège - Gembloux Agro-Bio Tech, 2018”
- en eventuele nieuwe gegevens uit de wetenschappelijke literatuur ten opzichte van SciCom advies 09-2016

1.2. Wettelijke bepalingen

Verordening (EG) Nr. 2073/2005 van de Commissie van 15 november 2005 inzake microbiologische criteria voor levensmiddelen.

1.3. Methode

Het Wetenschappelijk Comité heeft de aangeleverde studie met betrekking tot *L. monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboter, evenals de resultaten van het analyseprogramma van het FAVV geëvalueerd. Op basis van nieuwe wetenschappelijke kennis en data en op basis van expertopinie, heeft het Wetenschappelijk Comité de mogelijke groei van *L. monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboter beoordeeld.

2. Definities & Afkortingen

AIDS	<i>Acquired immune deficiency syndrome</i>
FAVV	Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen
GMP	Goede productiepraktijken (<i>Good Manufacturing Practices</i>)
EU	Europese Unie
HACCP	Gevarenanalyse en kritische beheerspunten (<i>Hazard Analysis and Critical Control Points</i>)
HIV	Humaan immuundeficiëntievirus (AIDS-virus)
kve	Kolonievormende eenheden (CFU, <i>Colony Forming Unit</i> in het Engels)
MPN	<i>Most Probable Number</i> methode
SciCom	Het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het FAVV

Overwegende de besprekingen tijdens de werkgroepvergaderingen (inclusief de hoorzitting met de betrokken experten) van 18 februari en 17 mei 2019 en de plenaire zittingen van het Wetenschappelijk Comité van 22 maart 2019, 24 mei 2019 en 21 juni 2019,

geeft het Wetenschappelijk Comité het volgend advies:

3. Inleiding

3.1. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes is een grampositieve, facultatief anaerobe, niet-sporevormende bacterie die kan groeien bij koelkast temperaturen (ANSES, 2011; FDA, 2013). In het algemeen is groei van *L. monocytogenes* mogelijk onder de volgende omstandigheden : een temperatuur tussen -2°C en 45°C, een pH tussen 4,0 en 9,6 en een a_w -waarde tussen 0,92 en 1,00 (of 0,9 met glycerol) (ANSES, 2011). Deze bacteriën komen wijdverspreid voor in het milieu en zijn gekend voor hun persistentie in voedselproductie-omgevingen. De meest frequente transmissieroute van *L. monocytogenes* naar de mens is via voeding. Maar in zeldzame gevallen is directe overdracht eveneens mogelijk, bijvoorbeeld tussen een zwangere vrouw en haar foetus. *L. monocytogenes* is eveneens verantwoordelijk voor een bekende zoönose, listeriosis.

De infectiedosis en de dosis-responsrelatie van *L. monocytogenes* is variabel naargelang de betrokken stam, de betrokken voedselmatrix en de gevoeligheid van de gastheer (FDA, 2013). Een infectie met *L. monocytogenes* kan verschillende ziektebeelden veroorzaken bij de mens. De infectie kan zich namelijk manifesteren als een zelden voorkomende niet-invasieve gastro-intestinale ziekte of als een ernstigere invasieve ziekte, welke kan leiden tot sepsis en meningitis. Bepaalde bevolkingsgroepen zijn gevoeliger voor het ontwikkelen van een ernstige vorm van listeriosis namelijk zwangere vrouwen, oudere personen (> 80 jaar), personen met een verzwakt immuunsysteem, zoals bv. personen geïnfecteerd met HIV of personen welke chemotherapie ondergaan en personen die maagzuurremmers innemen (; Goulet *et al.*, 2012; HGR/ SciCom, 2016). De incubatietijd voor ziektes veroorzaakt door *L. monocytogenes* is variabel van enkele uren tot 2-3 dagen voor gastro-enteritis tot 3 dagen – 3 maanden voor de ernstige invasieve ziektes (FDA, 2013). Deze invasieve vorm van ziekte wordt gekenmerkt door ernstige symptomen en een hoog sterftcijfer. Het sterftcijfer in 2017 binnen de EU was 13,8% voor de 1633 gerapporteerde gevallen met een gekende afloop. Bovendien was er in Europa gedurende de periode 2008-2017 een stijgende trend voor het aantal listeriose gevallen (EFSA, 2018).

3.2. Boter

Boter is, volgens het Koninklijk besluit van 6 mei 1988 betreffende boter en boterproducten, een halfvast voedingsvet, overwegend samengesteld uit een emulsie van het type water-in-olie, uitsluitend bekomen uit room, melk of uit derivaten en bijproducten ervan en uitsluitend bereid door het karnen, door concentratie of door recombinatie. Daarnaast stelt hetzelfde besluit dat boter bestaat uit ten minste 80% botervet, maximaal 16% water, maximaal 2% vetvrije droge stof en maximaal 1,5% zout (in het geval van gezouten boter).

Boter wordt standaard gemaakt door het karnen van gerijpte room. De room kan een fysische en/of biologische rijping ondergaan. Bij fysische rijping wordt de room onderworpen aan een gecontroleerde koeling zodanig dat het melkvet de gewenste kristalstructuur krijgt. Tijdens de biologische rijping zorgen de melkzuurbacteriën, die natuurlijk aanwezig zijn of toegevoegd worden onder de vorm van fermenten, voor een verzuring van de room. Meestal worden beide soorten rijping gecombineerd vóór het karnen. In België wordt er echter ook een soort boter gemaakt van zachte room die geen biologische rijping heeft ondergaan. De pH van dergelijke 'zachte' boters zal hoger zijn ten opzichte van boters met een biologische rijping tijdens het productieproces.

In het kader van dit dossier wordt specifiek rauwmelkse hoeveboter bestudeerd, d.w.z. boter geproduceerd op basis van rauwe melk op een hoeve. De *L. monocytogenes* contaminatie van rauwmelkse hoeveboter kan gebeuren via een contaminatie van de rauwe melk (Magdalenic, 1993). Contaminatie van rauwe melk kan gebeuren tijdens de melkwinning of ten gevolge van een subklinische mastitis. Ook kan een omgevingscontaminatie de oorzaak zijn van een *L. monocytogenes* contaminatie zowel van de melk voor de productie van de boter als van de boter tijdens of na het productieproces. De melk gebruikt bij de start van het productieproces kan reeds enkele dagen oud zijn en uitgroei van *L. monocytogenes* is mogelijk gedurende de gekoelde opslag van de melk. In het geval van rauwmelkse boter is er geen verhittingsstap welke mogelijke aanwezige *L. monocytogenes* kan afdoden. Uitgroei van *L. monocytogenes* kan gebeuren tijdens het productieproces en eventueel erna, afhankelijk van de productkarakteristieken. Indien *L. monocytogenes* aanwezig is in rauwmelkse boter is het dus belangrijk om een inschatting te kunnen maken van de eventuele verdere uitgroei tijdens de houdbaarheidsperiode van het product.

De enige uitbraak die in de internationale literatuur werd gerapporteerd ten gevolge van de consumptie van met *L. monocytogenes* gecontamineerde boter vond plaats in Finland in 1999 (Lyytikäinen et al., 2000; Maijala et al., 2001). De meerderheid van de gevallen waren immunodeficiënte en gehospitaliseerde personen en in de stalen genomen in het kader van het uitbraakonderzoek werden hoofdzakelijk lage aantallen *L. monocytogenes* (<100 kve/g) gedetecteerd.

3.3. Context adviesaanvraag

Volgens de wetgeving (Verordening (EG) Nr. 2073/2005) is het criterium voor *L. monocytogenes* in levensmiddelen afwezigheid in 25g of <100 kve/g (Bijlage 1). Producten met $\text{pH} \leq 4,4$ of $a_w \leq 0,92$, of $\text{pH} \leq 5,0$ en $a_w \leq 0,94$ en producten met een houdbaarheidstermijn korter dan vijf dagen worden zonder meer beschouwd als levensmiddelen welke geen groei van *L. monocytogenes* toestaan en vallen onder het criterium <100 kve/g. Andere categorieën producten kunnen ook in deze categorie worden ingedeeld indien dit gerechtvaardigd kan worden aan de hand van wetenschappelijke elementen. Een limiet van 100 kve/g kan eveneens gehanteerd worden indien de producent tot tevredenheid van de bevoegde autoriteiten kan aantonen dat het product gedurende de hele houdbaarheidstermijn aan de grenswaarde van 100 kve/g zal voldoen. Momenteel dienen producenten van rauwmelkse hoeveboter dit op individueel niveau te bewijzen, wat niet evident is voor de producenten die rauwmelkse boter slechts op kleine schaal produceren.

In het verleden werden reeds 11 houdbaarheidstesten met *L. monocytogenes* uitgevoerd in rauwmelkse hoeveboter, waarover het Wetenschappelijk Comité zich reeds heeft uitgesproken in het advies 09-2016 (SciCom, 2016b). In dit advies werd echter gesteld dat er onvoldoende informatie beschikbaar was om een uitspraak te doen over het groeipotentieel van *L. monocytogenes* in alle types

rauwmelkse hoeveboter in België. Om tegemoet te komen aan de vraag van het Wetenschappelijk Comité voor extra gegevens (houdbaarheidstesten en/of provocatietesten), werd een studie uitgevoerd door het Laboratorium voor "Kwaliteit en veiligheid van agro-voedingsproducten" (Université de Liège - Gembloux Agro-Bio Tech, 2018). Deze studie hield rekening met de aanbevelingen afkomstig van de adviezen 02-2016 en 09-2016 met betrekking tot het bestuderen van groei van *L. monocytogenes*. Op basis van de resultaten van de studie wordt het Wetenschappelijk Comité gevraagd om, indien mogelijk, de conclusies van het advies 09-2016 te herzien en een uitspraak te doen over de potentiële groei van *L. monocytogenes* in alle rauwmelkse hoeveboters.

4. FAVV gegevens over *Listeria monocytogenes* in rauwmelkse boter

Voor de periode 2008-2018 zijn de FAVV gegevens met betrekking tot *L. monocytogenes* detectie en tellingen in rauwmelkse boters beschikbaar (Bijlage 2). Deze gegevens zijn niet enkel afkomstig van rauwmelkse hoeveboters, maar van alle rauwmelkse boters. De gegevens van *L. monocytogenes* in rauwmelkse boters zijn afkomstig vanuit zowel Wallonië als Vlaanderen. In het verleden (voor 2010) werden er enkel tellingen uitgevoerd, maar gezien het criterium 'afwezigheid in 25g' het enige wettelijke criterium is indien de operator niet kan aantonen dat de limiet van 100 kve/g niet zal worden overschreden gedurende de ganse houdbaarheidsstermijn, werd er overgeschakeld naar detectie. De operatoren beschikken meestal niet over de nodige bewijzen met betrekking tot eventuele groei van *L. monocytogenes* in hun producten. Omwille van deze reden zijn er in het analyseprogramma van de laatste jaren dus weinig tellingen uitgevoerd.

Voor het analyseprogramma (periode 2008-2018) wordt in het totaal een prevalentie van *L. monocytogenes* van 14,0 % gevonden op 479 stalen waarop een detectie werd uitgevoerd (indien het criterium van afwezigheid in 25 g werd gehanteerd). De aanwezigheid van *L. monocytogenes* werd in een aanzienlijk deel van de rauwmelkse boters aangetoond en is dus een reële bezorgdheid. Het Wetenschappelijk Comité merkt op dat er in de praktijk weinig stalen met >100 kve/g *L. monocytogenes* gerapporteerd worden. Het FAVV beschikt enkel over twee waarnemingen van >100 kve/g *L. monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboter, namelijk 240 kve/g en 810 kve/g, van analyses afkomstig uit extra onderzoek, bijvoorbeeld naar aanleiding van een klacht, buiten het analyseprogramma.

Ter conclusie, een contaminatie met *L. monocytogenes* in rauwmelkse boter is niet uitzonderlijk. Wanneer dit voorkomt liggen de resultaten vaak onder de limiet van 100 kve/g, maar overschrijdingen boven de limiet van 100 kve/g kunnen voorkomen.

5. Evaluatie van het onderzoeksproject over *Listeria monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboter

De doelstelling, de proefopzet en de resultaten van het onderzoeksproject worden hieronder samengevat.

5.1. Doelstelling van het onderzoeksproject

De bedoeling van het onderzoeksproject was om aanvullende wetenschappelijke gegevens aan te leveren teneinde op sectorniveau de groeimogelijkheden van *L. monocytogenes* in de verschillende

types rauwmelkse hoeveboter op de markt te documenteren. De belangrijkste doelstellingen waren om (i) de verschillende productieprocessen en fysicochemische eigenschappen van rauwmelkse hoeveboters in Wallonië in kaart te brengen en (ii) de mogelijkheid tot groei van *L. monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboters te onderzoeken.

5.2. Proefopzet van het onderzoeksproject

Bij de start van het onderzoek werden 211 producenten in Wallonië gecontacteerd voor een beschrijvende enquête en 148 producenten hebben deze beantwoord.

Vervolgens werden de karakteristieken van rauwmelkse hoeveboter op de markt in Wallonië in kaart gebracht. Er werden 144 loten getest afkomstig van 64 producenten. Analyses werden uitgevoerd om de pH, a_w -waarde en waterdispersie-index (Water-test) te bepalen en informatie over het gebruik van zout en fermenten en het seizoen werd bijgehouden.

Aansluitend werden houdbaarheidstesten uitgevoerd op verschillende loten rauwmelkse hoeveboter met een natuurlijke contaminatie van *L. monocytogenes* welke werden geïdentificeerd via autocontrole of via het FAVV analyseprogramma. De houdbaarheidstesten werden uitgevoerd tussen juni 2016 en februari 2018. Om de houdbaarheidsperiode van alle rauwmelkse hoeveboters af te dekken tijdens de studie werd een houdbaarheid van 30 dagen voorop gesteld. Bij ontvangst (maximaal 14 dagen na productie) en bij einde houdbaarheid (30 dagen na productie) werden 30 analyses per lot uitgevoerd voor *L. monocytogenes*. Elk monster werd geanalyseerd voor de aanwezigheid/afwezigheid van *L. monocytogenes* (met behulp van de Vidas LMO II test) en in geval van aanwezigheid van *L. monocytogenes* werd een telling uitgevoerd (ISO 11290-2). Daarnaast werden eveneens metingen uitgevoerd bij ontvangst en op einde houdbaarheid voor pH en a_w . Tijdens de studie werd de koudeketen bewust onderbroken (van 7°C naar 12°C na 7 dagen), om de “worst case” condities van opslag bij de consument na te bootsen.

Ten slotte werden er simulaties van groei van *L. monocytogenes* uitgevoerd met Combase en Sym’Previs voor de “worst case” condities uit de houdbaarheidstesten.

5.3. Resultaten van het onderzoeksproject

Resultaten van de enquête

Aangezien er variatie is in de productieprocessen, o.a. rijpingstijd van de room, de temperatuur tijdens de rijping, het gebruik van fermenten en zout, kunnen deze niet herleid worden tot één algemeen geldend productieproces. De meerderheid van de producenten (68%) blijkt geen fermenten te gebruiken. Een aantal producenten laten de botervorming gebeuren via een proces van spontane eiwitdestabilisatie, van de melkcaseïnes, zonder of met beperkte verzuring, een proces dat meerdere dagen in beslag neemt bij een lage temperatuur. Men noemt de boter die zo verkregen wordt ‘zachte boter’. De meerderheid van de producenten (50 van de 61) geven een houdbaarheid van 3 weken of minder aan hun producten.

Tabel 1. Resultaten van 20 houdbaarheidsstudies voor *Listeria monocytogenes* (Lm) met rauwmelkse hoeveboters

ID	Gezouten	Fermenten	pH ^a op		a _w op		Aanwezig	Aanwezig	N ≥ 100	N ≥ 100
			Dontvangst	Deinde	Dontvangst	a _w op Deinde	Lm/25g op Dontvangst (n=30)	Lm/25g op Deinde (n=30)	kve/g Lm op Dontvangst	kve/g Lm op Deinde
EV_01	ja	ja	5,02 ± 0,06	4,93 ± 0,05	0,97	0,95	4	2	0	0
EV_02	nee	ja	4,72 ± 0,06	4,53 ± 0,02	0,93	0,97	25	0	0	0
EV_03	nee	ja	4,62 ± 0,13	4,16 ± 0,04	0,94	0,97	1	0	0	0
EV_04	nee	nee	5,49 ± 0,22	4,61 ± 0,05	0,96	0,98	12	1	0	0
EV_05	ja	nee	5,40 ± 0,17	5,27 ± 0,08	0,98	0,96	23	1	0	0
EV_06	nee	nee	6,12 ± 0,04	5,54 ± 0,04	0,97	0,98	28	25	0	0
EV_07	ja	nee	4,60 ± 0,09	4,67 ± 0,06	0,97	0,97	21	1	0	0
EV_08	nee	ja	4,72 ± 0,14	4,55 ± 0,11	0,95	0,96	24	2	0	0
EV_09	ja	nee	4,60 ± 0,08	4,53 ± 0,07	0,97	0,97	22	0	0	0
EV_10	ja	nee	5,42 ± 0,04	5,35 ± 0,04	0,96	0,96	19	17	0	0
EV_11	nee	nee	5,42 ± 0,27	4,79 ± 0,03	0,98	0,99	29	30	28	16
EV_13	nee	nee	4,54 ± 0,05	4,33 ± 0,02	1,00	0,98	12	0	0	0
EV_14	ja	nee	5,40 ± 0,06	5,38 ± 0,05	0,95	0,94	23	18	0	0
EV_15	ja	nee	4,88 ± 0,08	4,74 ± 0,06	0,97	0,96	7	0	0	0
EV_16	nee	nee	5,20 ± 0,09	4,94 ± 0,04	0,99	0,98	30	30	30	30
EV_17	ja	ja	5,20 ± 0,19	4,92 ± 0,05	0,97	0,97	15	1	0	0
EV_18	nee	nee	5,50 ± 0,15	5,20 ± 0,06	0,98	0,98	30	30	2	0
EV_19	nee	nee	5,85 ± 0,10	5,47 ± 0,11	0,99	0,98	30	23	0	0
EV_20	nee	nee	4,67 ± 0,10	4,40 ± 0,13	0,98	0,98	22	24	0	0
EV_21	nee	nee	4,83 ± 0,07	4,56 ± 0,04	0,99	0,99	21	6	0	0

ID: identificatienummer van de houdbaarheidstesten

Dontvangst: Dag van de eerste analyse, bij ontvangst (maximaal 14 dagen na productie)

Deinde: Productiedag + 30 dagen (einde houdbaarheid)

^a Gemiddelde ± standaardafwijking; (n = 3 of 5, vermeld in bijlage 3)

Marktonderzoek: karakteristieken van rauwmelkse hoeveboter in Wallonië

De geobserveerde pH en a_w range was respectievelijk 4,25 – 6,50 en 0,91 – 1,00. Het gebruik van fermenten onder geschikte omstandigheden zorgt normaliter voor een pH-daling. Bij een spontane fermentatie is de kans groter dat deze pH-daling minder uitgesproken zal zijn. Van de 10 rauwmelkse boters met een pH-waarde < 4,4 zijn er 5 geproduceerd zonder fermenten. Het is dus mogelijk om lagere pH waarden te verkrijgen zonder het gebruik van fermenten. De a_w -waarde van boter kan variëren, afhankelijk van of het in de winter of de zomer wordt geproduceerd. De hogere a_w -waarden van de rauwmelkse hoeveboters zijn in theorie gunstig voor de groei van *L. monocytogenes*. De waterdispersie-index voldoet voor de meerderheid van de geobserveerde gevallen niet en is dus gunstig voor de groei van micro-organismen.

Houdbaarheidstesten

Er werden 20 houdbaarheidstesten voor *L. monocytogenes* uitgevoerd, waarvan 17 met <100 kve/g bij aanvang van het experiment. Voor deze 17 houdbaarheidstesten had aan het einde van de houdbaarheidsperiode geen enkel monster een telling van meer dan 100 kve/g. Voor drie houdbaarheidstesten (EV_11, EV_16 en EV_18) waren er bij de start van het experiment tellingen van >100 kve/g, deze loten zijn dus hoe dan ook niet geschikt om op de markt te brengen. Deze loten werden alle drie geproduceerd zonder de toevoeging van zout of fermenten (Tabel 1). Het is mogelijk dat een contaminatie met hoge aantallen *L. monocytogenes* van de rauwe melk en een groei vooraleer een lage pH werd bereikt via spontane fermentatie aan de basis ligt van dit resultaat. Alle resultaten van de uitgevoerde analyses zijn beschikbaar in bijlage 3.

In de aangeleverde studie werd een houdbaarheidstest uitgevoerd op een boter met een pH van maximaal 6,12, terwijl er producten met hogere pH waarden op de markt aanwezig zijn (hoogste waarde in het marktonderzoek was een pH van 6,50). Omwille van deze reden is het Wetenschappelijk Comité van mening dat de “worst case” omstandigheden niet worden afgedekt op basis van de uitgevoerde houdbaarheidstesten. Conclusies met betrekking tot het groeipotentieel van *L. monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboters zijn dus enkel mogelijk mits inachtneming van bepaalde randvoorwaarden.

Op basis van de analyses uitgevoerd bij ontvangst (maximaal 14 dagen na productie) en op einde houdbaarheid (productiedag + 30 dagen) werd het groeipotentieel (δ) bepaald. De berekening van het groeipotentieel gebeurde op basis van de mediaan van de 30 uitgevoerde analyses (EURL, 2014), maar dit werd als minder geschikt beoordeeld voor wetenschappelijke studies rond houdbaarheidstesten met natuurlijk gecontamineerde loten. Alternatief werd op initiatief van het Wetenschappelijk Comité het groeipotentieel berekend op basis van de extreme waarden van de tellingen, als het verschil tussen de minimumwaarde op dag van ontvangst en de maximumwaarde op het einde van de houdbaarheid, zoals beschreven door Uyttendaele *et al.* (2018). Deze aanpak wordt eveneens beschreven in de standaard ISO 20976-1 "Microbiologie van de voedselketen - Deel 1: Uitdagingsproeven om de groeivraag, lag-tijd en de maximale groeisnelheid". De resultaten van deze berekeningen van het groeipotentieel zijn te vinden in tabel 2. Voor de berekening van het groeipotentieel werden de volgende veronderstellingen gemaakt: een telling met <10 kve/g werd gelijkgesteld aan 9 kve/g (= 0,95 \log_{10}/g) en afwezigheid in 25g werd gelijkgesteld aan 1 kve/25g (= 0,04 kve/g of -1,40 \log_{10}/g).

Over het groeipotentieel van *L. monocytogenes* staat in het document "EURL Lm Technisch document voor het uitvoeren van houdbaarheidsonderzoeken naar *L. monocytogenes* in kant-en-klare levensmiddelen" het volgende (EURL, 2014):

- Als $\delta > 0,5 \log_{10} \text{ kve/g}$, dan staat het voedsel de ontwikkeling van *L. monocytogenes* toe (categorie 1.2 van EG-verordening 2073/2005);
- Als $\delta < 0,5 \log_{10} \text{ kve/g}$, dan staat het voedsel de ontwikkeling van *L. monocytogenes* niet toe (categorie 1.3 van EG-verordening 2073/2005).

Het groeipotentieel berekend op basis van het mediaan verschil was nooit meer dan $0,0 \log_{10} \text{ kve/g}$. Als het groeipotentieel berekend werd op basis van het verschil in extreme waarden waren er twee studies met een groeipotentieel hoger dan $0,5 \log_{10} \text{ kve/g}$, namelijk EV_06 en EV_18 (Tabel 2).

Voor de houdbaarheidsstudie EV_18 is het groeipotentieel berekend uit de extreme waarden van de tellingen namelijk $0,83 \log_{10} \text{ kve/g}$. Bij ontvangst van het product waren er twee monsters met tellingen van $>100 \text{ kve/g}$, maar ook twee monsters met tellingen van $<10 \text{ kve/g}$. Deze verscheidenheid tussen de tellingen is een indicatie dat het lot heterogeen gecontamineerd was. De pH van het staal EV_18 was bij ontvangst $5,50 \pm 0,15$ en op het einde van de houdbaarheid $5,20 \pm 0,06$.

Voor studie EV_06 was er geen enkele telling met $>100 \text{ kve/g}$. Maar op het einde van de houdbaarheid was er één telling van 50 kve/g , waar bij aanvang van de studie alle tellingen $<10 \text{ kve/g}$ waren. Bovendien is het groeipotentieel mogelijks een onderschatting, gezien dat $<10 \text{ kve/g}$ gelijkgesteld werd aan 9 kve/g maar in praktijk de contaminatie lager kan zijn. De pH van het staal EV_6 was bij ontvangst $6,12 \pm 0,04$ en op het einde van de houdbaarheid $5,54 \pm 0,04$. Gezien de lage initiële contaminatie (30 tellingen van $<10 \text{ kve/g}$) en het groeipotentieel van $0,75 \log_{10} \text{ kve/g}$ op basis van de extreme waarden, oordeelt het Wetenschappelijk Comité dat deze houdbaarheidsstudie het groeipotentieel van *L. monocytogenes* in deze hoeveboter aantoont. Mogelijks kan dit resultaat ook gelden voor andere hoeveboters met vergelijkbare pH. Er dient opgemerkt te worden dat dit de enige houdbaarheidsstudie was met een pH-waarde hoger dan 6.

Tabel 2. Groeipotentieel voor de 20 houdbaarheidsstudies voor *Listeria monocytogenes* met rauwmelkse hoeveboters

ID	Groeipotentieel berekend op basis van het mediaan verschil			Groeipotentieel berekend op basis van het verschil in extreme waarden		
	tellingen ^b (log ₁₀ kve/g) op D _{ontvangst}	tellingen ^b (log ₁₀ kve/g) op D _{einde}	δ (log ₁₀ kve/g)	tellingen ^c min (log ₁₀ kve/g) op D _{ontvangst}	tellingen ^c max (log ₁₀ kve/g) op D _{einde}	δ (log ₁₀ kve/g)
EV_01	-1,40	-1,40	0,00	0,95	0,95	0,00
EV_02	1,00	-1,40	-2,40	0,95	-1,40	-2,35
EV_03	-1,40	-1,40	0,00	0,95	-1,40	-2,35
EV_04	-1,40	-1,40	0,00	0,95	0,95	0,00
EV_05	0,95	-1,40	-2,35	0,95	0,95	0,00
EV_06	0,95	0,95	0,00	0,95	1,70	0,75
EV_07	0,95	-1,40	-2,35	0,95	0,95	0,00
EV_08	0,95	-1,40	-2,35	0,95	0,95	0,00
EV_09	0,95	-1,40	-2,35	0,95	-1,40	-2,35
EV_10	0,95	0,95	0,00	0,95	0,95	0,00
EV_11	2,62	2,00	-0,62	2,52	2,20	-0,32
EV_13	-1,40	-1,40	0,00	0,95	-1,40	-2,35
EV_14	1,00	0,95	-0,05	0,95	0,95	0,00
EV_15	-1,40	-1,40	0,00	0,95	-1,40	-2,35
EV_16	2,60	2,23	-0,37	2,38	0,95	-1,43
EV_17	-0,22	-1,40	-1,18	0,95	0,95	0,00
EV_18	1,60	1,30	-0,30	0,95	1,78	0,83
EV_19	0,95	0,95	0,00	0,95	0,95	0,00
EV_20	0,95	0,95	0,00	0,95	0,95	0,00
EV_21	0,95	-1,40	-2,35	0,95	1,00	0,05

ID: identificatienummer van de houdbaarheidstesten

Dontvangst: Dag van de eerste analyse, bij ontvangst (maximaal 14 dagen na productie)

Deinde: Productiedag + 30 dagen (einde houdbaarheid)

Tellingen: Tellingen van *L. monocytogenes*

δ: groeipotentieel

Combase en Sym'Previus

Volgens de simulaties uitgevoerd met de Combase Predictor en Sym'Previus is groei van *L. monocytogenes* mogelijk met de productkarakteristieken van de houdbaarheidsstudies EV_11 (pH = 5,42 en $a_w = 0,98$, initiële contaminatie $2,51 \pm 0,74 \log_{10}$ kve/g) en EV_13 (pH = 4,5 en $a_w = 1,00$, initiële contaminatie $0,0 \log_{10}$ kve/g) rekening houdend met een temperatuurstoring na 7 dagen (van 8 °C tot 12 °C). Voor de simulatie van EV_13 treedt groei op na ca. 200 uur. Voor studie EV_11 was er vanaf de start van de simulatie groei mogelijk. Dit in tegenstelling tot de observaties dat er geen groei was in deze houdbaarheidstesten. Het is dus belangrijk om te onthouden dat dit gaat om simulaties teneinde een "worst case" scenario na te bootsen, die vaak gebaseerd zijn op gegevens in laboratoriummedia, gecorrigeerd voor pH, a_w en temperatuur maar geen rekening houden met groei-inhiberend effect ten

^b mediaanwaarden (n = 30) met tellingen <10 kve/g = 9 kve/ en afwezigheid / 25g = 1 kve/ 25g of 0,04 kve/g

^c extreme waarden van de tellingen (minimum op D_{ontvangst}, maximum op D_{einde}), met tellingen <10 kve/g = 9 kve/g en afwezigheid / 25g = 1 kve/ 25g of 0,04 kve/g

gevolge van aanwezigheid van competitieve microbiota of bijvoorbeeld gerelateerd aan de activiteit van antimicrobiële componenten die mogelijks aanwezig zijn (bvb. melkzuur gevormd door melkzuurbacteriën).

6. Effect van productieprocessen op (het groeipotentieel van) *Listeria monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboters

De inhibitie van de groei van ongewenste bacteriën zoals *L. monocytogenes* is afhankelijk van o.a. competitie met melkzuurbacteriën en een snelle pH-daling tijdens het productieproces. De definitie van boter bevat echter geen informatie met betrekking tot de parameter pH of het gebruik van fermenten en de productieprocessen van rauwmelkse hoeveboters zijn heel variabel. Slechts een minderheid van de producenten in Wallonië maakt gebruik van industriële fermenten, waar de andere producenten de voorkeur geven aan een spontane fermentatie. In het geval van spontane fermentatie, is er onzekerheid over het verloop van de fermentatie.

Actalia, een technisch onderzoeksinstituut gericht op de ondersteuning van de voedingssector in Frankrijk, beoordeelde de pH evolutie tijdens een fermentatieproces van boter (Actalia, 2016). Voor dit productieproces was de starttemperatuur 30°C waarna de temperatuur geleidelijk daalde ten gevolge van opslag in een gekoelde ruimte (15°C). Er werden pH-metingen uitgevoerd tijdens een productieproces van boter met fermenten waarbij een duidelijke pH-daling waargenomen werd tijdens de eerste 10 uur van het productieproces (vanaf ca. pH 6,5 tot ca. 4,9). Op basis van deze observatie is het Wetenschappelijk Comité van mening dat een goed werkende fermentatie zorgt voor een snelle pH-daling binnen de eerste 10 uur van het productie proces.

Om de mogelijke groei van *L. monocytogenes* te verhinderen is het belangrijk dat de pH tijdens het productieproces van boter zo snel mogelijk een zo laag mogelijke pH bereikt. Momenteel zijn bedrijven echter niet verplicht om standaard pH-metingen uit te voeren in het kader van hun autocontrole. Voor rauwmelkse hoeveboters raadt het Wetenschappelijk Comité daarom aan om de pH te meten 10 uur na de start van de fermentatie als controle van het correct verloop van de fermentatie.

Het gebruik van fermenten biedt echter geen garantie voor een snelle pH-daling tijdens de productie of een lage pH van het eindproduct. Bijvoorbeeld de data van het marktonderzoek toont aan dat een eindproduct met een pH van 6 mogelijk is, ondanks het feit dat de producent fermenten gebruikt. Dit was wellicht het gevolg van het feit dat bij deze producent de geïnoculeerde melk in de frigo bewaard werd waardoor de fermenten niet naar behoren hun functie konden uitoefenen. Het gebruik van fermenten staat dus niet garant voor een voldoende verzuring, dit is eveneens afhankelijk van het productieproces gebruikt door de producent. Adequate HACCP plannen en GMP procedures dienen dus gevolgd te worden tijdens het productieproces.

Het Wetenschappelijk Comité stelt vast dat er meerdere types rauwmelkse hoeveboter bestaan en dat 'zachte boter' moet worden beschouwd als een ander product ten opzichte van een gefermenteerde goed verzuurde boter. Boter die geproduceerd wordt zonder (of met een beperkte) verzuring en die dus een hogere pH heeft kan worden beschouwd als 'zachte boter'. Bij de productie van 'zachte' boter is de botervorming gebaseerd op een destabilisatie van de melkeiwitten ten gevolge van een bewaring bij lage temperatuur. Gezien *L. monocytogenes* bij lage temperatuur (tot -2°C) kan uitgroeien is dit een bijzonder risicovol productieproces wanneer men start van rauwe melk. Het Wetenschappelijke Comité is van mening dat dit procedé niet volledig te controleren is via een HACCP-plan. De producten

afkomstig van deze procedés dienen als risicovol voor aanwezigheid en uitgroei van *L. monocytogenes* beschouwd te worden en kunnen daarom nooit deel uitmaken van een eventuele versoepeling van de wettelijke normen voor *L. monocytogenes*.

De producenten dienen eveneens gewaarschuwd te worden dat productieprocessen met geen of weinig verzuring een risico vormen voor de aanwezigheid van (verhoogde aantallen) *Listeria monocytogenes* in rauwmelkse boters.

7. Het effect van pH op het groeipotentieel van *Listeria monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboters

Er is in de geëvalueerde studie geopteerd om te werken met houdbaarheidstesten van natuurlijk gecontamineerde boters die goed gedocumenteerd zijn in het dossier. Dit was zeer nuttig en heeft veel inzicht opgeleverd omtrent het gedrag van *L. monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboter. De bedenking wordt echter gemaakt dat de in praktijk vastgestelde “worst case” omstandigheden niet werden afgedekt met de uitgevoerde houdbaarheidstesten. Dit werd nochtans aanbevolen in het advies SciCom 09-2016. Er werd maar één houdbaarheidstest uitgevoerd voor rauwmelkse hoeveboter met een pH hoger dan 6 en er werd in dit geval een potentiële groei van *L. monocytogenes* waargenomen. Het Wetenschappelijk Comité kan op basis van deze gegevens niet uitsluiten dat er groei kan optreden van *L. monocytogenes* in boters met gelijkaardige eigenschappen. Voor deze subcategorie van boters met hogere pH-waarden kunnen geen conclusies gemaakt worden op basis van de houdbaarheidstesten. Daarnaast werd er een groei waargenomen in de studie EV_18 voor boter met pH 5,5 bij ontvangst en 5,2 op einde houdbaarheid. Voor de houdbaarheidstesten uitgevoerd met boters met een bij ontvangst van pH 5,2 (EV_16 en EV_17) of lager werd er geen groei geobserveerd.

Op basis van een nota^d werd vastgesteld dat er in Frankrijk voor rauwmelkse hoeveboter op basis van koeienmelk een versoepeling van de norm voor *L. monocytogenes* wordt voorzien. Deze versoepeling is echter enkel van toepassing op boters met de volgende fysisch-chemische parameters aan het einde van het productieproces: pH < 4,7; watergehalte < 16%; Houdbaarheid: ≤ 22 dagen, en met een bewaartemperatuur ≤ 8 °C. De gegevens van de Franse studie waarop deze versoepeling werd gebaseerd werden niet ter beschikking gesteld van het Wetenschappelijk Comité.

Indien natuurlijke of toegevoegde fermenten zorgen voor een voldoende snelle verzuring tijdens het productieproces, kan rauwmelkse hoeveboter beschouwd worden als een laag risicoproduct met betrekking tot het groeipotentieel van *L. monocytogenes*, op voorwaarde dat goede HACCP plannen en GMP procedures toegepast worden tijdens het productieproces. Op basis van de beschikbare gegevens stelt het Wetenschappelijk Comité dat het risico op groei van *L. monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboter klein is indien de pH-waarde daalt tot <5,2 tijdens de eerste 10 uur van het productieproces. Indien de pH-waarde nog lager is (bijvoorbeeld 4,7) zal het risico op groei van *L. monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboter nagenoeg nihil zijn. De pH-daling is afhankelijk van o. a. de temperatuur-tijdcombinaties gebruikt tijdens het fermentatieproces. Bij hogere temperaturen zal er een snellere pH-daling zijn t.o.v. wanneer het proces plaatsvindt in gekoelde omstandigheden.

^d Note ANPLF / ARVD / AVDPL HN du 23 septembre 2018 sur la base du rapport Actalia Ferlis-Réa

Uit het marktonderzoek blijkt dat de meerderheid van de operatoren minstens één lot hadden met een eindproduct met een pH < 5,2 (Bijlage 4). Voor de operatoren waarvoor meerdere loten beschikbaar waren hadden slechts 28,6% (8 van de 28 operatoren) eindproducten waarvan de pH altijd lager was dan 5,2. Er is dus een aanzienlijke variatie tussen de verschillende loten geproduceerd door een producent. Omwille van deze reden dienen operatoren pH-metingen uit te voeren op elke lot en kunnen de metingen niet geëxtrapoleerd worden naar andere loten.

8. Onzekerheden

Er zijn verschillende onzekerheden die bij dit advies in acht moeten genomen worden :

- Er is een grote variatie in de productieprocessen van rauwmelkse hoeveboters en in de karakteristieken (o.a. pH) van de rauwmelkse hoeveboters. De kans op groei van *L. monocytogenes* is dus niet noodzakelijk hetzelfde voor alle rauwmelkse hoeveboters in België. Bovendien werden de “worst case” condities niet afgedekt met de uitgevoerde houdbaarheidstesten.
- Bij de berekening van het groeipotentieel werden er een aantal aannames gedaan. De berekening van het groeipotentieel van *L. monocytogenes* gebeurde op basis van de volgende veronderstellingen: <10 kve/g werd gelijkgesteld aan 9 kve/g en afwezig in 25g werd gelijkgesteld aan 1 kve/25g (= 0,04 kve/g).

Het Wetenschappelijk Comité merkt op dat de veronderstelling dat <10 kve/g gelijk is aan 9 kve/g mogelijks kan leiden tot een onderschatting van het groeipotentieel. Immers, als er tijdens een houdbaarheidstest een stijging is van minder dan 10 kve/g naar een telbaar resultaat is de startconcentratie onzeker. Indien de initiële concentratie lager is dan 9 kve/g bijvoorbeeld 1 kve/g dan kan het groeipotentieel meer dan 1 log hoger zijn in vergelijking met de berekening welke werd gebruikt in dit advies (zie tabel 3).

Bijvoorbeeld in het concrete geval van studie EV_06 (< 10 kve/g -> 50 kve/g) betekent deze meetonzekerheid het volgende:

9 kve/g -> 50 kve/g = 0,74 log ₁₀ groei	} > 2 log ₁₀ verschil mogelijk in de berekening van het groeipotentieel
5 kve/g -> 50 kve/g = 1,00 log ₁₀ groei	
1 kve/g -> 50 kve/g = 1,70 log ₁₀ groei	
0,5 kve/g -> 50 kve/g = 2,00 log ₁₀ groei	
0,1 kve/g -> 50 kve/g = 2,70 log ₁₀ groei	

Tabel 3. Herberekening groeipotentieel voor de 20 houdbaarheidsstudies voor *Listeria monocytogenes* met rauwmelkse hoeveboters

		Groeipotentieel berekend op basis van het verschil in extreme waarden	
		Assumptie: <10 kve/ g = 9 kve/g Assumptie bij einde houdbaarheid: afwezigheid / 25g = 1 kve/ 25g of 0,04 kve/g	Assumptie bij ontvangst: <10 kve/ g = 1 kve/g Assumpties bij einde houdbaarheid: <10 kve/ g = 9 kve/g, afwezigheid / 25g = 1 kve/ 25g of 0,04 kve/g
ID	pH op Dontvangst	pH op D_{einde}	δ (log₁₀ kve/g)
EV_01	5,02 ± 0,06	4,93 ± 0,05	0,00
EV_02	4,72 ± 0,06	4,53 ± 0,02	-2,35
EV_03	4,62 ± 0,13	4,16 ± 0,04	-2,35
EV_04	5,49 ± 0,22	4,61 ± 0,05	0,00
EV_05	5,40 ± 0,17	5,27 ± 0,08	0,00
EV_06	6,12 ± 0,04	5,54 ± 0,04	0,75
EV_07	4,60 ± 0,09	4,67 ± 0,06	0,00
EV_08	4,72 ± 0,14	4,55 ± 0,11	0,00
EV_09	4,60 ± 0,08	4,53 ± 0,07	-2,35
EV_10	5,42 ± 0,04	5,35 ± 0,04	0,00
EV_11	5,42 ± 0,27	4,79 ± 0,03	-0,32
EV_13	4,54 ± 0,05	4,33 ± 0,02	-2,35
EV_14	5,40 ± 0,06	5,38 ± 0,05	0,00
EV_15	4,88 ± 0,08	4,74 ± 0,06	-2,35
EV_16	5,20 ± 0,09	4,94 ± 0,04	-1,43
EV_17	5,20 ± 0,19	4,92 ± 0,05	0,00
EV_18	5,50 ± 0,15	5,20 ± 0,06	0,83
EV_19	5,85 ± 0,10	5,47 ± 0,11	0,00
EV_20	4,67 ± 0,10	4,40 ± 0,13	0,00
EV_21	4,83 ± 0,07	4,56 ± 0,04	0,05

ID: identificatienummer van de houdbaarheidstesten

pH-waarden : Gemiddelde ± standaardafwijking

Dontvangst: Dag van de eerste analyse, bij ontvangst (maximaal 14 dagen na productie)

D_{einde}: Productiedag + 30 dagen (einde houdbaarheid)

Tellingen: Tellingen van *L. monocytogenes*

δ: groeipotentieel

Het Wetenschappelijk Comité wil er op wijzen dat de realiteit niet noodzakelijk overeenkomt met de “worst-case”. Maar omwille van de niet-telbare resultaten <10 kve/g is er een marge van 2 log₁₀ waarbinnen onzekerheid bestaat. Voor dit advies werd er uitgegaan van een kwalitatieve inschatting van het risico op basis van de beschikbare gegevens.

- Voor de houdbaarheidsstudies werd er gewerkt met natuurlijke contaminaties. Deze kunnen echter een heel heterogene en lage contaminatie vertonen. Omwille van deze reden werden er altijd 30 stalen per lot geanalyseerd.

- De melk gebruikt bij de start van het productieproces van rauwmelkse hoeveboter is niet altijd vers, maar kan reeds enkele dagen oud zijn. Gedurende de gekoelde opslag van de melk is uitgroei van *L. monocytogenes* reeds mogelijk. In het geval van rauwmelkse boter is er geen verhittingsstap welke mogelijke aanwezige *L. monocytogenes* zal afdoden.

9. Conclusies

De aanbevelingen geformuleerd in de vorige adviezen 02-2016 en 09-2016 met betrekking tot studies naar de groei van *L. monocytogenes* werden goed opgevolgd in de aangeleverde studie. De resultaten van deze houdbaarheidstesten kunnen dus geëxtrapoleerd worden naar andere loten van hetzelfde type boter. Er werd echter een grote variabiliteit in de productieprocessen en de eigenschappen van rauwmelkse hoeveboters aanwezig op de markt vastgesteld. In de houdbaarheidsstudies werden de “worst case” condities niet afgedekt, waardoor een algemene uitspraak met betrekking tot het groeipotentieel van *L. monocytogenes* niet mogelijk is op basis van de beschikbare gegevens. Daarnaast wordt er vastgesteld dat er maar één houdbaarheidstest werd uitgevoerd met rauwmelkse hoeveboter met een pH hoger dan 6 waarvoor groei van *L. monocytogenes* niet kon worden uitgesloten. Daarnaast besluit het Wetenschappelijk Comité dat procedés voor de productie van ‘zachte’ boters potentiële risico’s inhouden omdat ze uitgroei van *L. monocytogenes* toelaten tijdens het langdurige productieproces bij lage temperatuur.

De pH is een belangrijk aandachtspunt met het oog op de microbiologische veiligheid van rauwmelkse hoeveboter. Het dient te worden benadrukt dat het verzuren tijdens een korte periode dient te gebeuren, zodat er een snelle pH-daling plaatsvindt en de uitgroei van micro-organismen bij de start van de productie wordt beperkt. Het is daarnaast belangrijk dat er goede HACCP plannen en GMP procedures toegepast worden tijdens het productieproces. Op basis van de beschikbare gegevens stelt het Wetenschappelijk Comité dat het risico op groei van *L. monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboter klein is indien de pH-waarde daalt tot <5,2 tijdens de eerste 10 uur van het productieproces. Indien de pH-waarde nog aanzienlijk lager is (bijvoorbeeld 4,7) zal het risico op groei van *L. monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboter nagenoeg nihil zijn. Om dit te kunnen aantonen dienen operatoren pH-metingen uit te voeren op elk lot, gezien metingen niet geëxtrapoleerd kunnen worden naar andere loten.

Dit dossier behandelt slechts één aspect met betrekking tot de risico-inschatting van rauwmelkse boters, namelijk het groeipotentieel van *L. monocytogenes*, en dient als dusdanige geïnterpreteerd te worden.

Het Wetenschappelijk Comité wil de aandacht vestigen op het feit dat er altijd een risico verbonden is aan rauwmelkse producten, omwille van potentiële contaminatie met *L. monocytogenes* of andere pathogenen. De rauwe melk zelf kan potentieel gecontamineerd zijn met *L. monocytogenes*. Het is bijvoorbeeld mogelijk dat een koe subklinische mastitis heeft waardoor *L. monocytogenes* in de melk rechtstreeks wordt uitgescheiden. Het gevolg is, dat zelfs met in acht name van goede productiepraktijken er een risico bestaat op besmetting, inherent aan het gebruik van rauwe melk. Rauwmelkse producten dienen altijd als een potentieel risico beschouwd te worden voor bepaalde risicogroepen, kwetsbaar voor *L. monocytogenes* infectie, waaronder zwangere vrouwen, patiënten met kanker (met speciale aandacht voor bloedkanker), met immuunziekten (reuzencelarteritis, reumatoïde artritis, AIDS, colitis ulcerosa, ziekte van Crohn), bij onderdrukking van het

immuunsysteem in het kader van een medische behandeling (orgaantransplantatie, gebruik van immunosuppressiva), die hemodialyse ondergaan, die lijden aan levercirrose, en die maagzuurremmers gebruiken (HGR/ SciCom, 2016).

Ten slotte wil het Wetenschappelijk Comité benadrukken dat operatoren altijd dienen te streven naar een afwezigheid van *L. monocytogenes* in hun producten. Dus zelfs in het geval van het hanteren van een limiet van maximum 100 kve/g, dient de detectie van *L. monocytogenes* aanleiding te zijn voor corrigerende maatregelen en extra controle op de implementatie van GMP en HACCP in het productieproces.

10. Aanbevelingen

In het kader van dit advies geeft het Wetenschappelijk Comité de volgende aanbevelingen:

- Opnemen van pH controles in de HACCP procedures tijdens het productieproces van rauwmelkse hoeveboters, ter controle van het goed verloop van een voldoende snelle verzuring. Het Wetenschappelijke Comité beveelt aan om ten laatste 10 uur na de start van de fermentatie de pH te controleren, met als streefdoel pH <5,2. De bepaling van de pH moet strikt worden uitgevoerd en de gemeten waarde dient nauwkeurig te zijn tot op 0,1. Corrigerende maatregelen dienen genomen te worden indien het productieproces afwijkend verloopt. Rauwmelkse hoeveboters met pH > 5,2 vormen potentieel een verhoogd risico voor de groei van *L. monocytogenes*.
- De producenten bewust maken van de potentiële risico's geassocieerd met bepaalde procedés. Productieprocessen met weinig tot geen verzuring en/of gebaseerd op een tragere spontane fermentatie vormen een potentieel hoger risico voor de verdere uitgroei van *L. monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboters. In melk welke enkele dagen bewaard werd voor de start van het productieproces van rauwmelkse hoeveboter kan reeds uitgroei van *L. monocytogenes* gebeurd zijn.
- Een correcte communicatie naar de consument is een aandachtspunt. Zo wordt in een EFSA advies productinformatie en consumentenbewustzijn naar voor geschoven als een extra punt van aandacht voor alle voedingsproducten (EFSA, 2017). Het is reeds verplicht om de vermelding 'bereid met rauwe melk' op etiketten van producten op basis van rauwe melk te plaatsen. Daarnaast is het aangeraden dat de operatoren de consument nog verder informeren over de mogelijke risico's van rauwmelkse producten bijvoorbeeld door de infobrochure van het Wetenschappelijk Comité met betrekking tot rauwe melk ter beschikking te stellen (SciCom, 2014). Rauwmelkse producten dienen altijd als een potentieel risico beschouwd te worden voor bepaalde risicogroepen (HGR/ SciCom, 2016).
- Het zou een meerwaarde zijn om over exacte tellingen te beschikken, want omwille van de detectielimiet (<10 kve/g) bij de huidige gebruikte methode is er onzekerheid over de berekening van het groeipotentieel. In nieuwe studies met lage contaminatieniveaus is het gebruik van de *Most Probable Number* (MPN) methode een optie om ook voor lage aantallen (< 10 kve/g) geschatte aantallen te bepalen ('geschat' is indicatief voor het feit dat MPN niet kan beschouwd worden als exacte telling maar eerder een telresultaat onderhevig aan een grotere onzekerheid dan een telplaatmethode).
- De term 'zachte boter' is niet duidelijk gedefinieerd en verschillende interpretaties zijn mogelijk. Het is aan te raden om een definitie toe te voegen in de sectorgids G-034

(Autocontrolegids voor de productie en verkoop van zuivelproducten op het landbouwbedrijf)
om verwarring te vermijden.

- De conclusies en aanbevelingen uit dit advies dienen opgenomen te worden in de sectorgids G-034.

Voor het Wetenschappelijk Comité,
De Voorzitter,

Prof. Dr. E. Thiry (Get)
Brussel, 05/07/2019

Referenties

- Actalia (2016). Challenge-test sur *Listeria monocytogenes* : L'exemple concret du beurre au lait cru. Beschikbaar online: <http://diversiferm.be/wp-content/uploads/2015/11/Challenge-test-sur-listeria-monocytogenes-lexemple-concret-du-beurre-au-lait-cru-web.pdf>
- ANSES (2011). Data sheet on foodborne biological hazards : "*Listeria monocytogenes*". Beschikbaar online: <https://www.anses.fr/en/system/files/MIC2011sa0171Fi.pdf>
- EFSA (2017). Hazard analysis approaches for certain small retail establishments in view of the application of their food safety management systems. *EFSA Journal*. 15(3):4697. doi: 10.2903/j.efsa.2017.4697
- EFSA (2018). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSA Journal*. 16(12), e05500. doi: 10.2903/j.efsa.2018.5500
- EURL (2014). EURL Lm TECHNICAL GUIDANCE DOCUMENT for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Version 3 – 6 June 2014
- FDA (2013). Bad Bug Book. Handbook of Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins. Beschikbaar online: <http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodSafety/Foodbornellness/FoodbornellnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/UCM297627.pdf>.
- Goulet V., Hebert M., Hedberg C., Laurent E., Vaillant V., De Valk H., Desenclos J.-C. (2012). Incidence of Listeriosis and Related Mortality Among Groups at Risk of Acquiring Listeriosis, *Clinical Infectious Diseases*, 54 (5), 652–660.
- HGR/SciCom (2016). Gemeenschappelijk advies HGR Nr 9311 en SciCom 21-2016 Aanbevelingen inzake de problematiek van listeriose bij specifieke en kwetsbare doelgroepen. Beschikbaar online: http://www.afsca.be/wetenschappelijkcomite/adviezen/2016/ documents/Advies21-2016_SciCom2016-12Listeriose.pdf
- International Commission on Microbiological Specification for Food (ICMFS) (2005). Microorganisms in food 6: Microbial ecology of food commodities. p. 508-516. doi: 10.1007/0-387-28801-5
- Lyytikäinen O., Autio T., Maijala R., Ruutu P., Honkanen-Buzalski T., Miettinen M., Hatakka M., Mikkola J., Anttila V.-J., Johansson T., Rantala L., Aalto T., Korkeala H., Siitonen A. (2000). An Outbreak of *Listeria monocytogenes* Serotype 3a Infections from Butter in Finland. *JID* 181, 1838–1841.
- Magdalenic B. (1993). Značaj nalaza *Listeria monocytogenes* u mlijeku i mliječnim proizvodima, *Mljekarstvo* 43 (I) 11 —21.
- Maijala R., Lyytikäinen O., Johansson T., Autio T., Aalto T., Haavisto L., Honkanen-Buzalski T. (2001). Exposure of *Listeria monocytogenes* within an epidemic caused by butter in Finland. *International Journal of Food Microbiology*, 70, 97-109.
- SciCom (2014). Informatiebrochure voor de consument : Rauwe melk verhitten vóór consumptie! Beschikbaar online: http://www.afsca.be/wetenschappelijkcomite/publicaties/brochures/ documents/rauwemelk_web_NL_16_08_2015.pdf
- SciCom (2016a). Advies 02-2016 betreffende provocatietesten en houdbaarheidstesten voor *Listeria monocytogenes* in kaas (dossier SciCom 2015/17). Beschikbaar online:

http://www.favvafsa.fgov.be/wetenschappelijkcomite/adviezen/2016/ documents/Advies02-2016Listeriamonocytogenes_website.pdf

SciCom (2016b). Advies 09-2016 van het Wetenschappelijk Comité van het FAVV van 20 mei 2016 over de groei van *Listeria monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboter (dossier SciCom 2016/06).

Beschikbaar

online:

http://www.afsca.be/wetenschappelijkcomite/adviezen/2016/ documents/Advies09-2016_Liseriaboter.pdf

Université de Liège - Gembloux Agro-Bio Tech (2018). Etude du potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre au lait cru en Wallonie.

Uyttendaele M., De Loy-Hendrickx A., Vermeulen A., Jacxsens L., Debevere J., Devlieghere F. (2018). Microbiological Guidelines: Support for Interpretation of Microbiological Test Results of Foods. Brugge: die Keure.

Voor­stel­ling van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het FAVV

Het Wetenschappelijk Comité is een advies­or­gaan ingesteld bij het Belgisch Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen (FAVV) dat **onafhankelijk wetenschappelijk advies** verschaft met betrekking tot risicobeoordeling en risicobeheer in de voedselketen en dit op vraag van de gedelegeerd bestuurder van het FAVV, de Minister die bevoegd is voor de voedselveiligheid of op eigen initiatief. Het Wetenschappelijk Comité wordt administratief en wetenschappelijk ondersteund door de Staf­directie voor Risicobeoordeling van het Agentschap.

Het Wetenschappelijk Comité bestaat uit 22 leden die benoemd zijn bij koninklijk besluit op basis van hun wetenschappelijke expertise in domeinen die te maken hebben met de veiligheid van de voedselketen. Het Wetenschappelijk Comité kan bij de voorbereiding van een advies beroep doen op externe deskundigen die geen lid zijn van het Wetenschappelijk Comité. Net als de leden van het Wetenschappelijk Comité dienen zij in staat te zijn om onafhankelijk en onpartijdig te kunnen werken. Om de onafhankelijkheid van de adviezen te waarborgen worden potentiële belangen­con­flikten transparant beheerd.

De adviezen zijn gebaseerd op een wetenschappelijke beoordeling van de vraag­stel­ling. Zij vertolken het standpunt van het Wetenschappelijk Comité dat in consensus is genomen op basis van risicobeoordeling en de bestaande kennis over het onderwerp.

De adviezen van het Wetenschappelijk Comité kunnen **aanbevelingen** bevatten voor het controle­beleid van de voedselketen of voor de belanghebbende partijen. De opvolging van de aanbevelingen voor het beleid behoort tot de verantwoordelijkheid van de risicomangers.

Vragen over een advies kunnen gericht worden aan het secretariaat van het Wetenschappelijk Comité: Secretariaat.SciCom@favv.be.

Leden van het Wetenschappelijk Comité

Het Wetenschappelijk Comité is samengesteld uit de volgende leden:

S. Bertrand^e, M. Buntinx, A. Clinquart, P. Delahaut, B. De Meulenaer, N. De Regge, S. De Saeger, J. Dewulf, L. De Zutter, M. Eeckhout, A. Geeraerd, L. Herman, P. Hoet, J. Mahillon, C. Saegerman, M.-L. Scippo, P. Spanoghe, N. Speybroeck, E. Thiry, T. van den Berg, F. Verheggen, P. Wattiau^f

Belangen­con­flict

Er werden geen belangen­con­flikten gemeld.

Dankbetuiging

Het Wetenschappelijk Comité dankt de Staf­directie voor Risicobeoordeling en de leden van de werkgroep voor de voorbereiding van het ontwerp­advies. Het Wetenschappelijk Comité dankt eveneens J. Dewulf en M.-L. Scippo voor de ‘deep reading’ van het advies.

^e lid tot maart 2018

^f lid tot juni 2018

Samen­stelling van de werkgroep

De werkgroep was samengesteld uit:

Leden van het Wetenschappelijk Comité: L. De Zutter (verslaggever), A. Geeraerd, L. Herman, C. Saegerman
Externe experts: V. Delcenserie (ULiège), M. Polet (Sciensano), A. Rajkovic (UGent), M. Uyttendaele (UGent)
Dossierbeheerder: K. Feys

De activiteiten van de werkgroep werden opgevolgd door volgende leden van de administratie (als waarnemers): V. Cantaert (FAVV)

Hoorzitting

V. Patz, A. Lainé en J. De Laubier (ULiège Gembloux Agro-Bio Tech) werden als uitvoerder van het onderzoeksproject uitgenodigd in een hoorzitting om toelichting te verschaffen over de bekomen resultaten. De hoorzitting vond plaats op 18 februari 2019.

Wettelijk kader

Wet van 4 februari 2000 houdende oprichting van het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, inzonderheid artikel 8;

Koninklijk besluit van 19 mei 2000 betreffende de samenstelling en de werkwijze van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen;

Huishoudelijk reglement, bedoeld in artikel 3 van het koninklijk besluit van 19 mei 2000 betreffende de samenstelling en de werkwijze van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, goedgekeurd door de Minister op 8 juni 2017.

Disclaimer

Het Wetenschappelijk Comité behoudt zich, te allen tijde, het recht voor dit advies te wijzigen indien nieuwe informatie en gegevens ter beschikking komen na de publicatie van deze versie.

Bijlage 1: Voedselveiligheidscriteria voor *Listeria monocytogenes* volgens Verordening (EG) Nr. 2073/2005

Levensmiddelencategorie	Micro-organismen/toxinen en metabolieten	Bemonsteringsschema ⁽¹⁾		Grenswaarden ⁽²⁾		Referentie analyse-methode ⁽³⁾	Stadium waarvoor het criterium geldt
		n	c	m	M		
1.1 Kant-en-klare zuigelingenvoeding en kant-en-klare voeding voor medisch gebruik (4)	<i>Listeria monocytogenes</i>	10	0	Afwezig in 25 g		EN/ISO 11290-1	Producten die in de handel zijn gebracht, voor de duur van de houdbaarheidstermijn
1.2 Kant-en-klare levensmiddelen die als voedingsbodem voor <i>L. monocytogenes</i> kunnen dienen, met uitzondering van zuigelingenvoeding en voeding voor medisch gebruik	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 kve/g ⁽⁵⁾		EN/ISO 11290-2 ⁽⁶⁾	Producten die in de handel zijn gebracht, voor de duur van de houdbaarheidstermijn
		5	0	Afwezig in 25 g ⁽⁷⁾		EN/ISO 11290-1	Voordat het levensmiddel de directe controle van de exploitant van een levensmiddelenbedrijf die het geproduceerd heeft, heeft verlaten
1.3 Kant-en-klare levensmiddelen die niet als voedingsbodem voor <i>L. monocytogenes</i> kunnen dienen, met uitzondering van zuigelingenvoeding en voeding voor medisch gebruik ⁽⁴⁾ ⁽⁸⁾	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 kve/g		EN/ISO 11290-2 ⁽⁶⁾	Producten die in de handel zijn gebracht, voor de duur van de houdbaarheidstermijn

⁽¹⁾ n = aantal deelmonsters waaruit het monster bestaat; c = aantal deelmonsters met waarden groter dan m of tussen m en M.

⁽²⁾ Voor de punten 1.1 tot en met 1.3 geldt m = M.

⁽³⁾ De recentste uitgave van de norm gebruiken.

⁽⁴⁾ Regelmatige testen betreffende dit criterium zijn onder normale omstandigheden niet zinvol voor de volgende kant-en-klare levensmiddelen:

- kant-en-klare levensmiddelen die een warmtebehandeling of andere be- of verwerking hebben ondergaan waarmee *Listeria monocytogenes* wordt geëlimineerd, wanneer na deze behandeling geen herbesmetting kan optreden, bv. producten die in hun eindverpakking een warmtebehandeling hebben ondergaan;
- verse, ongesneden en onverwerkte groenten en fruit, met uitzondering van gekiemde zaden;
- brood, biscuits en soortgelijke producten;
- water in flessen of pakken, frisdranken, bier, cider, wijn, gedistilleerde dranken en soortgelijke producten;

- suiker, honing en zoetwaren, met inbegrip van cacao- en chocoladeproducten;
- levende tweekleppige weekdieren.

⁽⁵⁾ Dit criterium is van toepassing als de producent tot tevredenheid van de bevoegde autoriteiten kan aantonen dat het product gedurende de hele houdbaarheidstermijn aan de grenswaarde van 100 kve/g zal voldoen. De exploitant kan intermediaire grenswaarden tijdens het proces vaststellen, die zo laag moeten zijn dat de grenswaarde van 100 kve/g aan het eind van de houdbaarheidstermijn niet wordt overschreden.

⁽⁶⁾ 1 ml inoculum wordt uitgeplaat op een petrischaal van 140 mm diameter of op drie petrischalen van 90 mm diameter.

⁽⁷⁾ Dit criterium geldt voor producten voordat zij de directe controle van de exploitant van het levensmiddelenbedrijf die ze geproduceerd heeft, hebben verlaten, indien die exploitant niet tot tevredenheid van de bevoegde autoriteiten kan aantonen dat het product gedurende de hele houdbaarheidstermijn aan de grenswaarde van 100 kve/g zal voldoen.

⁽⁸⁾ Producten met $\text{pH} \leq 4,4$ of $a_w \leq 0,92$, producten met $\text{pH} \leq 5,0$ en $a_w \leq 0,94$ en producten met een houdbaarheidstermijn korter dan vijf dagen worden zonder meer in deze categorie ingedeeld. Andere categorieën producten kunnen ook in deze categorie worden ingedeeld indien daar wetenschappelijke redenen voor zijn.

Bijlage 2: FAVV gegevens uit het analyseprogramma van *Listeria monocytogenes* in rauwmelkse boter in België voor de periode 2008-2018

	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	Eindtotaal
<i>Listeria monocytogenes</i> (detectie)			46	26	36	19	82	13	109	79	69	479
Aanwezig in 25g			4	1	3	4	9	6	13	16	11	67
Afwezig in 25g			42	25	33	15	73	7	96	63	58	412
<i>Listeria monocytogenes</i> (telling)	194	185	110	99	83	108	14	51	6	1	9	860
<10 kve/g	190	176	96	90	76	97	13	47	6	1	8	800
10 kve/g		2										2
<40 kve/g	2	2	1	1		2						8
<100 kve/g [§]	2	5	13	8	6	9	1	4			1	49
<1000 kve/g ^h					1							1
Eindtotaal	194	185	156	125	119	127	96	64	115	80	78	1339

[§] Voor de stalen met de vermelding <100 kve/g heeft het laboratorium vaak de volgende opmerking vermeld “niet interpreteerbaar resultaat, volgens ISO 7218:2007 punt 10.3.2.4.3.3”. Mogelijks waren er geen duidelijke kolonies zichtbaar op de petri-platen van de eerste verdunningen, waardoor er geen exacte telling kon worden uitgevoerd.

^h Na navraag over dit staal met de vermelding < 1000 kve/g, blijkt dat de gegevens hieromtrent niet meer beschikbaar zijn bij het laboratorium. Gezien het staal als conform werd gemarkeerd is het mogelijks een typefout (<100 kve/g).

Bijlage 3: Ruwe data houdbaarheidstesten

ID	code producteur	utilisation de ferments	utilisation de sel	date de production		paramètres physico-chimiques						<i>Listeria monocytogenes</i>					
						pH			Aw	teneur en sel (% NaCl)		wator	<i>Lmo</i> /25g	<i>Lmo</i> ufc/g			
EV_1		oui	oui	27-06-16	JO	5,08	4,99	4,98	0,969	0,19			—	26 X absence 4 X présence	4 X < 10		
					JDLC	4,93	4,98	4,89	0,947	0,15			—	28 X absence 2 X présence	2 X <10		
EV_2	B12	oui	non	16-07-16	JO	4,79	4,68	4,69	0,929	0,52			—	5 X absence 25 X présence	9 X < 10 4 X 10 5 X 20 5 X 30 2 X 40		
					JDLC	4,53	4,54	4,51	0,967	0,44			—	30 X absence	/		
EV_3	B11	non	non	31-10-16	JO	4,53	4,51	4,80	4,72	4,54	0,941	< 0,025		—	29 X absence 1 X présence	1 X <10	
					JDLC	4,14	4,12	4,12	4,22	4,18	0,973	< 0,025		—	30 X absence	/	
EV_4		non	non	01-02-17	JO	5,61	5,60	5,57	5,56	5,10	0,96	0,03	0,03	0,03	1-1	18 X absence 12 X présence	9 X < 10 1 X 10 2 X 20
					JDLC	4,67	4,58	4,61	4,56	4,65	0,98	0,02	0,03	0,02	—	29 X absence 1 X présence	1 X < 10
EV_5		non	oui	30-01-17	JO	5,38	5,31	5,31	5,30	5,70	0,98	1,33	1,29	1,43	1-1 et 1-2A	7 X absence 23 X présence	23 X < 10
					JDLC	5,25	5,22	5,24	5,22	5,40	0,96	1,16	1,19	1,23	—	29 X absence 1 X présence	1 X < 10

ID	code producteur	utilisation de ferments	utilisation de sel	date de production		paramètres physico-chimiques								<i>Listeria monocytogenes</i>			
						pH					Aw	teneur en sel (% NaCl)			wator	<i>Lmo</i> /25g	<i>Lmo</i> ufc/g
EV_6		non	non	03-02-17	JO	6,13	6,13	6,15	6,14	6,05	0,97	0,02	0,01	0,02	2A-2B	2 X absence 28 X présence	28 X < 10
					JDLC	5,55	5,52	5,53	5,49	5,60	0,98	0,02	0,02	0,02	—	5 X absence 25 X présence	23 X < 10 1 X 10 1 X 50
EV_7	B25	non	oui	17-03-17	JO	4,57	4,53	4,54	4,59	4,75	0,97	0,63	0,69	0,63	1-1	9 X absence 21 X présence	21 X < 10
					JDLC	4,68	4,64	4,66	4,60	4,75	0,97	0,66	0,64	0,65	—	29 X absence 1 X présence	1 X < 10
EV_8	B09	oui	non	07-03-17	JO	4,55	4,77	4,60	4,76	4,90	0,95	0,92	1,05	0,97	1-1	6 X absence 24 X présence	24 X < 10
					JDLC	4,50	4,49	4,50	4,49	4,75	0,96	0,85	0,89	0,90	—	28 X absence 2 X présence	2 X < 10
EV_9	B02	non	oui	27-03-17	JO	4,56	4,57	4,56	4,57	4,75	0,97	0,33	0,37	0,27	1-1	8 X absence 22 X présence	22 X < 10
					JDLC	4,48	4,51	4,52	4,51	4,65	0,97	0,41	0,35	0,33	—	30 X absence	/
EV_10	B24	non	oui	06-04-17	JO	5,42	5,37	5,40	5,48	5,45	0,96	0,78	0,68	0,71	1-1	11 X absence 19 X présence	19 X < 10
					JDLC	5,40	5,33	5,30	5,38	5,35	0,96	0,52	0,52	0,51	—	13 X absence 17 X présence	17 X < 10

ID	code producteur	utilisation de ferments	utilisation de sel	date de production		paramètres physico-chimiques						<i>Listeria monocytogenes</i>					
						pH					Aw	teneur en sel (% NaCl)			wator	<i>Lmo</i> /25g	<i>Lmo</i> ufc/g
EV_11		non	non	08-05-17	J0	5,63	5,44	5,57	5,51	4,95	0,98	0,05	0,04	0,06	1-1	1 X absence 29 X présence	2 X 330 4 X 340 1 X 350 1 X 370 1 X 380 2 X 400 2 X 410 2 X 420 1 X 440 2 X 460 1 X 470 2 X 480 1 X 510 1 X 540 2 X 560 2 X 590 1 X 600 1 X 650
					JDLC	4,82	4,75	4,78	4,82	4,80	0,99	0,06	0,05	0,05	—	0 X absence 30 X présence	1 X 50 3 X 70 4 X 80 6 X 90 2 X 100 6 X 110 3 X 120 3 X 130 1 X 150 1 X 160

ID	code producteur	utilisation de ferments	utilisation de sel	date de production		paramètres physico-chimiques							<i>Listeria monocytogenes</i>				
						pH					Aw	teneur en sel (% NaCl)			wator	<i>Lmo</i> /25g	<i>Lmo</i> ufc/g
EV_12		non	non	20-05-17	JO	4,73	4,62	4,65	4,65	4,85	0,97	0,70	0,75	0,85	1-1	30 X absence	/
					JDLC												
EV_13		non	non	08-06-17	JO	4,47	4,55	4,52	4,61	4,55	1,00	0,06	0,05	0,06	1-1	18 X absence 12 X présence	12 X < 10
					JDLC	4,36	4,31	4,31	4,31	4,35	0,98	0,05	0,05	0,05	—	30 X absence	/
EV_14		non	oui	06-09-17	JO	5,46	5,4	5,41	5,42	5,3	0,95	0,75	0,82	0,92	1-2A	7 X absence 23 X présence	12 X 10 7 X 20 3 X 30 1 X 40
					JDLC	5,34	5,35	5,36	5,45	5,4	0,94	0,8	0,93	0,97	—	12 X absence 18 X présence	18 X < 10
EV_15		non	oui	08-03-18	JO	4,91	4,78	4,85	4,99	4,85	0,97	0,98	1,02	1,06	1-1	23 X absence 7 X présence	6 X < 10 1 X 10
					JDLC	4,69	4,72	4,7	4,74	4,85	0,96	1,01	1	1	—	30 X absence	/
EV_16		non	non	13-02-18	JO	5,2	5,22	5,26	5,26	5,05	0,99	0,03	0,03	0,03	1-1	30 X présence	4 X 240 3 X 350 4 X 360 9 X 400 10 X 440
					JDLC	4,92	4,91	4,94	4,92	5	0,98	0,02	0,02	0,03	—	30 X présence	9 X 120 2 X 150 7 X 170 8 X 180 4 X 190

ID	code producteur	utilisation de ferments	utilisation de sel	date de production		paramètres physico-chimiques								<i>Listeria monocytogenes</i>			
						pH					Aw	teneur en sel (% NaCl)			wator	<i>Lmo</i> /25g	<i>Lmo</i> ufc/g
EV_17		oui	oui	26-02-18	J0	5,19	5,3	4,96	5,47	5,1	0,97	0,31	0,34	0,26	2A-2A	15 X absence 15 X présence	7 X < 10 3 X 10 5 X 20
					JDLC	4,91	4,9	4,87	4,94	5	0,97	0,31	0,27	0,27	—	29 X absence 1 X présence	1 X < 10
EV_18		non	non	18-01-18	J0	5,58	5,61	5,53	5,55	5,25	0,98	0,03	0,02	0,02	1-1	30 X présence	2 X < 10 4 X 10 6 X 20 10 X 40 2 X 50 4 X 60 1 X 110 1 X 120
					JDLC	5,15	5,17	5,21	5,19	5,3	0,98	0,02	0,02	0,03	—	30 X présence	6 X < 10 6 X 10 10 X 20 2 X 40 6 X 60
EV_19	B07	non	non	27-03-18	J0	5,88	5,89	5,8	5,96	5,7	0,99	0,03	0,03	0,03	4-4	30 X présence	30 X < 10
					JDLC	5,38	5,4	5,44	5,47	5,65	0,98	0,02	0,03	0,02	—	7 X absence 23 X présence	23 X < 10
EV_20		non	non	14-04-18	J0	4,59	4,68	4,61	4,64	4,85	0,98	0,03	0,02	0,03	1-1	8 X absence 22 X présence	11 X < 10 8 X 10 3 X 20
					JDLC	4,31	4,33	4,32	4,42	4,61	0,98	0,03	0,03	0,03	—	6 X absence 24 X présence	24 X < 10

ID	code producteur	utilisation de ferments	utilisation de sel	date de production		paramètres physico-chimiques							<i>Listeria monocytogenes</i>				
						pH					Aw	teneur en sel (% NaCl)			wator	<i>Lmo</i> /25g	<i>Lmo</i> ufc/g
EV_21		non	non	23-04-18	J0	4,73	4,88	4,83	4,82	4,9	0,99	0,03	0,02	0,02	1-1	9 X absence 21 X présence	13 X < 10 8 X 10
					JDLC	4,58	4,61	4,54	4,56	4,51	0,99	0,02	0,02	0,02	—	24 X absence 6 X présence	5 X < 10 1 x 10

Bijlage 4: pH-range binnen het marktonderzoek

Marktonderzoek

61 operatoren: 144 monsters

61 operatoren : 33 operatoren met 1 lot; 28 operatoren met min. 2 loten (max. 7 loten)

Randvoorwaarde pH <5,8

33 operatoren (1 lot):	30 (90,9%) voldoen
28 operatoren (meerdere loten):	26 (92,9%) voldoen voor min. 1 lot
	17 (60,7%) voldoen voor alle loten

Randvoorwaarde pH <5,56 (Q75 marktonderzoek)

33 operatoren (1 lot):	30 (90,9%) voldoen
28 operatoren (meerdere loten):	24 (85,7%) voldoen voor min. 1 lot
	13 (46,4%) voldoen voor alle loten

Randvoorwaarde pH <5,2

33 operatoren (1 lot):	28 (84,8%) voldoen
28 operatoren (meerdere loten):	22 (78,5%) voldoen voor min. 1 lot
	8 (28,6%) voldoen voor alle loten

Randvoorwaarde pH <5

33 operatoren (1 lot):	27 (81,8%) voldoen
28 operatoren (meerdere loten):	13 (46,4%) voldoen voor min. 1 lot
	5 (17,9%) voldoen voor alle loten

Randvoorwaarde pH <4,7

33 operatoren (1 lot):	18 (54,5%) voldoen
28 operatoren (meerdere loten):	18 (64,3%) voldoen voor min. 1 lot
	1 (3,6%) voldoen voor alle loten