

ADVIES 08-2020

Betreft:

**Groeipotentieel van *Listeria monocytogenes*
in Belgische hoevekazen**

(SciCom 2019/21)

Wetenschappelijk advies goedgekeurd door het Wetenschappelijk Comité op 20 maart 2020.

Sleutelwoorden:

Listeria monocytogenes, Belgische hoevekazen, groei, houdbaarheidstest, provocatietest

Key terms:

Listeria monocytogenes, Belgian homestead cheeses, growth, durability study, challenge test

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. Definities & Afkortingen	7
3. Inleiding	8
4. Evaluatie van het studieproject over <i>L. monocytogenes</i> in Belgische hoevekazen.....	9
4.1. <i>Doelstelling van het studieproject</i>	9
4.2. <i>Proefopzet van het studieproject</i>	9
4.3. <i>Resultaten van het studieproject</i>	10
5. Aanbevelingen toekomstige studies met betrekking tot het groeipotentieel van <i>L. monocytogenes</i> in levensmiddelen	16
6. Algemene bemerkingen	17
7. Onzekerheden	17
8. Conclusies	18
9. Aanbevelingen	19
<i>Referenties</i>	21
<i>Leden van het Wetenschappelijk Comité</i>	23
<i>Belangenconflict</i>	23
<i>Dankbetuiging</i>	23
<i>Samenstelling van de werkgroep</i>	24
<i>Wettelijk kader</i>	24
<i>Disclaimer</i>	24
Bijlage 1: Voedselveiligheidscriteria voor <i>Listeria monocytogenes</i> volgens Verordening (EG) Nr. 2073/2005	25

Samenvatting

Advies 08-2020 van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het FAVV over het groeipotentieel van *Listeria monocytogenes* in Belgische hoevekazen

Context en Vraagstelling

Het Wetenschappelijk Comité (SciCom) gaf in het advies 02-2016 aanbevelingen voor het uitvoeren van provocatietesten en houdbaarheidstesten voor *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) in kaas. Op basis van deze aanbevelingen werd er een wetenschappelijke studie uitgevoerd met als doel gegevens van Belgische hoevekazen te verzamelen. Het Wetenschappelijk Comité werd gevraagd om het groeipotentieel van *L. monocytogenes* in Belgische hoevekazen te evalueren.

Methode

Op basis van nieuwe wetenschappelijke kennis en data (o.a. de resultaten van het studieproject “Etude du potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* dans les fromages produits par les producteurs fermiers, 2019”) en op basis van expertopinie, heeft het Wetenschappelijk Comité het groeipotentieel van *L. monocytogenes* in Belgische hoevekazen (verse kazen, zachte kazen en halfharde kazen) beoordeeld.

Resultaten

De productieprocessen van Belgische hoevekazen en hun karakteristieken werden in kaart gebracht met behulp van een enquête bij 142 producenten en een marktonderzoek van 65 diverse Belgische hoevekazen. Vervolgens werd de groei van *L. monocytogenes* in 32 Belgische hoevekazen bestudeerd door middel van provocatietesten. Voor verse kazen werd er geen groei van *L. monocytogenes* geobserveerd. Voor de categorie zachte kazen was er groei van *L. monocytogenes* bij 7 van de 8 kazen. Voor de halfharde kazen werd er veel variatie geobserveerd voor het groeipotentieel van *L. monocytogenes*. Er werden houdbaarheidstesten uitgevoerd voor vijf Belgische hoevekazen die van nature gecontamineerd waren met *L. monocytogenes*, telkens op één lot. Enkel voor feta werd er geen groei gedetecteerd in deze houdbaarheidstest.

Conclusie

Op basis van de beschikbare gegevens stelt het Wetenschappelijk Comité vast dat in verse kazen (Belgische hoevekazen) de kans op uitgroei van *L. monocytogenes* klein is, indien de pH-waarde daalt tot minder dan 5,0 tegen het einde van het productieproces. Op basis van de provocatietesten kan de groei van *L. monocytogenes* in zachte kazen en halfharde kazen niet worden uitgesloten. Zachte kazen zijn een gekend risicoproduct. Halfharde kazen houden een potentieel risico in voor groei van *L. monocytogenes* en het groeipotentieel moet geval per geval beoordeeld worden. De houdbaarheidstest met feta vertoont geen groei van *L. monocytogenes*. Één houdbaarheidstest is echter onvoldoende om te concluderen dat alle fetakazen een laag risicoproduct zijn.

Bovendien blijven een correcte implementatie van goede productiepraktijken (GMP) en een adequate gevarenanalyse en beheer van kritische controlepunten in het productieproces (HACCP) essentieel, met als doel het streven naar afwezigheid van *L. monocytogenes* (per 25g) in Belgische hoevekaas (bij voorkeur monsternamen van meerdere eenheden, nl. n=5) voor het afleveren van een veilig product aan de consument.

Aanbevelingen

Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan om pH controles op het einde van het productieproces van verse kazen (Belgische hoevekazen) op te nemen in de HACCP procedures als controlemaatregel, zodat de operator er zich van kan vergewissen dat er een voldoende pH daling is opgetreden tegen het einde van het productieproces. Er wordt aanbevolen om in toekomstige houdbaarheidsstudies met lage initiële concentraties van *L. monocytogenes* (< 10 kve/g) ook semi-kwantitatieve gegevens te verzamelen door isolatie uit te voeren op kleinere hoeveelheden zoals 10 g en 1 g of het Meest Waarschijnlijk Aantal (of 'Most Probable Number') te bepalen van *L. monocytogenes*. Ten slotte wordt er voorgesteld om waar mogelijk voor houdbaarheidstesten een initieel contaminatieniveau van < 1000 kve/g *L. monocytogenes* te hanteren ten einde het groeipotentieel op een efficiënte wijze te kunnen inschatten.

Summary

Advice 08-2020 of the Scientific Committee established at the FASFC on the growth potential of *Listeria monocytogenes* in Belgian homestead cheese

Background and terms of reference

In its advice 02-2016, the Scientific Committee (SciCom) made recommendations for carrying out challenge and durability tests for *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) in cheese. On the basis of these recommendations, a scientific study was carried out in order to collect data from Belgian homestead cheeses. The Scientific Committee was asked to evaluate the growth potential of *L. monocytogenes* in Belgian homestead cheeses.

Method

Based on new scientific knowledge and data (including the results of the study project "Étude du potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* dans les fromages produits par les producteurs fermiers, 2019") and based on expert opinion, the Scientific Committee has assessed the growth potential of *L. monocytogenes* in Belgian homestead cheeses (fresh cheeses, soft cheeses and semi-hard cheeses).

Results

The production processes of Belgian homestead cheeses and their characteristics were examined by means of a survey of 142 producers and a market study of 65 different Belgian homestead cheeses. Subsequently, the growth of *L. monocytogenes* in 32 Belgian homestead cheeses was studied by means of challenge tests. No growth of *L. monocytogenes* was observed for fresh cheeses. For soft cheeses, there was growth of *L. monocytogenes* in 7 out of 8 cheeses. For the semi-hard cheeses, much variation was observed for the growth potential of *L. monocytogenes*. Durability tests were carried out on five Belgian farm cheeses which were naturally contaminated with *L. monocytogenes*, each on one batch. Only for feta, no growth was detected in this durability test.

Conclusions

Based on the available data, the Scientific Committee concludes that in fresh cheeses (Belgian homestead cheeses) the risk of *L. monocytogenes* growth is low if the pH value drops below 5,0 by the end of the production process.

Based on the challenge tests, the growth of *L. monocytogenes* in soft cheeses and semi-hard cheeses cannot be excluded. Soft cheeses are a known risk product. Semi-hard cheeses present a potential risk for growth of *L. monocytogenes* and the growth potential should be assessed on a case-by-case basis. The durability test with feta shows no growth of *L. monocytogenes*. However, a single durability test is not sufficient to conclude that all feta cheeses are a low risk product.

In addition, a correct implementation of Good Manufacturing Practices (GMP) and an adequate Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) remain essential, with the aim of striving for the absence of *L. monocytogenes* (in 25g) in Belgian homestead cheese (preferably sampling several units n=5) for the delivery of a safe product to the consumer.

Recommendations

The Scientific Committee recommends that pH controls at the end of the production process of fresh cheeses (Belgian homestead cheeses) are included in the HACCP procedures as a control measure, so that the operator can ensure that a sufficient pH reduction has occurred at the end of the production process. It is recommended that in future durability studies with low initial concentrations of *L. monocytogenes* (< 10 cfu/g) also semi-quantitative data are collected by carrying out isolations on smaller quantities such as 10 g and 1 g or by determining the Most Probable Number of *L. monocytogenes*. Finally, for durability tests it is proposed to use, when possible, an initial contamination level below 1000 cfu/g *L. monocytogenes* in order to be able to effectively assess the growth potential.

1. Referentietermen

1.1. Vraagstelling

Het Wetenschappelijk Comité wordt verzocht een advies te formuleren over de mogelijke groei van *L. monocytogenes* in hoevekazen geproduceerd in België, en meer specifiek gericht op de vraag of bepaalde categorieën kazen kunnen worden ingedeeld in de categorie van kant-en-klare levensmiddelen die de groei van *L. monocytogenes* niet ondersteunen, rekening houdend met de resultaten van het studieproject “Etude du potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* dans les fromages produits par les producteurs fermiers, 2019”.

Daarnaast wordt het Wetenschappelijk Comité verzocht om methodologische aanbevelingen te formuleren voor eventueel toekomstige studies met betrekking tot het groeipotentieel van *L. monocytogenes* in levensmiddelen.

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 het groeipotentieel van *L. monocytogenes* in Belgische hoevekazen geëvalueerd. Op basis van wetenschappelijke data en expertopinie, heeft het Wetenschappelijk Comité de mogelijke groei van *L. monocytogenes* in hoevekazen, geproduceerd in België, beoordeeld.

2. Definities & Afkortingen

δ	Groeipotentieel
a_w	Wateractiviteit
EU	Europese Unie
FAVV	Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen
GMP	Goede productiepraktijken (<i>Good Manufacturing Practices</i>)
HACCP	Gevarenanalyse en beheer van kritische controlepunten (<i>Hazard Analysis and Critical Control Points</i>)
HIV	Humaan immuundeficiëntievirus (AIDS-virus)
HGR	Hoge Gezondheidsraad
Ph	Zuurtegraad
Kve	Kolonievormende eenheden (CFU, <i>Colony Forming Unit</i> in het Engels)
MPN	Meest waarschijnlijke aantal (<i>Most Probable Number</i>) methode

SciCom	Het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het FAVV
--------	--

Overwegende de besprekingen tijdens de werkgroepvergaderingen van 25 oktober 2019 en 11 december 2019 en de plenaire zittingen van het Wetenschappelijk Comité van 20 december 2019 en 20 maart 2020,

geeft het Wetenschappelijk Comité het volgend advies:

3. Inleiding

L. monocytogenes is een pathogene bacterie die wijdverspreid voorkomt in het milieu, inclusief in voedselproductie-omgevingen. *L. monocytogenes* kan groeien bij een temperatuur tussen -2°C en 45°C, m. a. w. ook tijdens een bewaring in de koelkast (ANSES, 2011). Een infectie met *L. monocytogenes*, ten gevolge van het consumeren van gecontamineerde levensmiddelen, kan verschillende ziektebeelden veroorzaken bij de mens. Het ziektebeeld kan variëren van een milde gastro-intestinale ziekte tot een ernstigere invasieve ziekte, welke kan leiden tot sepsis en meningitis met een potentiële dodelijke afloop. In 2018 waren er binnen de EU 2549 bevestigde gevallen, met een sterftcijfer van 15,6% voor de 1469 gerapporteerde gevallen met een gekende afloop. Bovendien was er in Europa gedurende de periode 2008-2018 een stijgende trend van het aantal listeriosegevallen. *Listeria* infecties werden het vaakst gemeld in de leeftijdsgroep ouder dan 64 jaar en in het bijzonder in de leeftijdsgroep ouder dan 84 jaar. De leeftijdsgroep ouder dan 64 jaar vertegenwoordigt een gestaag stijgend aandeel in het aantal listeriosegevallen in de EU: 56,0% in 2008, 69,1% in 2018. Het sterftcijfer bedroeg in 2018 respectievelijk 16,2% en 17,9% in de leeftijdsgroep ouder dan 64 jaar en ouder dan 84 jaar (EFSA en ECDC, 2019). Doordat de kans op diverse ziektebeelden stijgt bij oudere personen, kan een vertekend beeld ontstaan alsof de toenemende leeftijd geassocieerd is met *L. monocytogenes* infecties. Er bestaat echter slechts een indirecte associatie van leeftijd met *L. monocytogenes* infecties (HGR/ SciCom, 2016). De kans op ziekte is afhankelijk van meerdere factoren waaronder de infectiedosis, de virulentie van de betrokken stam, de betrokken voedselmatrix en de gevoeligheid van de gastheer (FDA, 2013). Bepaalde bevolkingsgroepen hebben een hoger risico op *L. monocytogenes* infecties, namelijk zwangere vrouwen en personen met onderliggende medische condities. Een verhoogd risico (> 100 maal) op *L. monocytogenes*-infecties is geassocieerd met meerdere vormen van kanker (voornamelijk bloedkankers), immuunziekten (reuzencelarteritis, reumatoïde artritis, AIDS, colitis ulcerosa, ziekte van Crohn), immuunsuppressie in het kader van een medische behandeling (orgaantransplanten, gebruik van immunosuppressiva), hemodialyse, levercirrose en gebruik van maagzuurremmers (Goulet *et al.*, 2012; HGR/ SciCom, 2016).

De criteria voor *L. monocytogenes* in levensmiddelen (afwezigheid in 25 g of <100 kve/g) zijn vastgelegd in de Verordening (EG) Nr. 2073/2005 (bijlage 1). 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 beschouwd als levensmiddelen welke de groei van *L. monocytogenes* niet ondersteunen en vallen onder het criterium <100 kve/g. Een limiet van 100 kve/g kan eveneens gehanteerd worden voor

producten die de groei van *L. monocytogenes* wél ondersteunen 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 hoeveproducenten dit op individueel niveau per product aan te tonen, wat niet evident is voor producenten met een beperkte productie.

In dit dossier wordt er specifiek gekeken naar het groeipotentieel van *L. monocytogenes* in diverse hoevekazen, geproduceerd in België. Zachte kazen zijn een gekend risicoproduct voor listeriose (HGR/SciCom, 2016). In het verleden vonden er al meerdere uitbraken van collectieve voedseltoxi-infecties plaats die werden veroorzaakt door de aanwezigheid van *L. monocytogenes* in kaas, waarbij zowel kaas op basis van rauwe melk als kaas op basis van gepasteuriseerde melk betrokken waren (Gould *et al.*, 2014). In dit dossier wordt er op basis van de studie “Etude du potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* dans les fromages produits par les producteurs fermiers”, uitgevoerd door het consortium Quality Partner s.a., ULiège – Gembloux Agro-Bio Tech, ULiège – FMV, ILVO, het groeipotentieel van *L. monocytogenes* in diverse types Belgische hoevekazen geëvalueerd.

4. Evaluatie van het studieproject over *L. monocytogenes* in Belgische hoevekazen

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

4.1. Doelstelling van het studieproject

De bedoeling van het studieproject was om wetenschappelijke gegevens aan te leveren teneinde de groeimogelijkheid van *L. monocytogenes* in diverse Belgische hoevekazen te kunnen beoordelen. De belangrijkste doelstellingen waren om (i) de verschillende productieprocessen en fysicochemische eigenschappen van hoevekazen geproduceerd in België in kaart te brengen, (ii) de mogelijkheid tot groei van *L. monocytogenes* in deze Belgische hoevekazen te onderzoeken en (iii) om op basis daarvan voor de verschillende categorieën Belgische hoevekazen een beter inzicht te verschaffen over de toepasbare criteria voor *L. monocytogenes* uit de Verordening (EG) nr. 2073/2005.

4.2. Proefopzet van het studieproject

Bij de start van het onderzoek werd een enquête uitgevoerd bij 142 Vlaamse en Waalse producenten om de in België geproduceerde kaassoorten in kaart te brengen en om hun productieproces te beschrijven.

Vervolgens werden 65 kazen geselecteerd voor een verdere opvolging. Hierbij werd informatie over het productieproces verzameld en werden verschillende parameters, o.a. de pH en temperatuur in verschillende productiestadia, gemeten. Aan het einde van het productieproces werden de 65 betrokken kazen geanalyseerd.

Ten slotte werd de groei van *L. monocytogenes* bestudeerd door middel van provocatietesten (artificiële contaminatie) en houdbaarheidstesten (natuurlijke contaminatie). De groei van *L. monocytogenes* in 32 Belgische hoevekazen werd bestudeerd door partijen kaas te enten en de tellingen tussen de eerste en de laatste dag van bewaring te vergelijken. Daarnaast werden vijf houdbaarheidstesten uitgevoerd op diverse types kaas met een natuurlijke contaminatie van *L.*

monocytogenes, afkomstig van één producent. Voor de houdbaarheidstesten werden tellingen uitgevoerd op de dag van ontvangst en op de laatste dag van bewaring.

4.3. Resultaten van het studieproject

Resultaten enquête

Er hebben 142 producenten (32 Vlaamse en 110 Waalse) deelgenomen aan een enquête. Het aantal verschillende geïdentificeerde kazen was 424, waarvan 326 geproduceerd in Wallonië en 96 geproduceerd in Vlaanderen. Er zijn verschillen i.v.m. in de productie tussen de regio's (Vlaanderen en Wallonië).

- In Vlaanderen had meer dan 70% van de producenten meer dan 20 jaar ervaring t.o.v. 36% in Wallonië.
- In Wallonië wordt de meerderheid (79%) van de geïdentificeerde kazen rechtstreeks van verse melk gemaakt, terwijl in Vlaanderen 60% van de geïdentificeerde kazen gemaakt worden vertrekkende van gekoelde melk uit een tank.
- In het algemeen worden de meerderheid van de Belgische hoevekazen geproduceerd op basis van rauwe melk (87%). Maar de Vlaamse producenten gebruiken vaker gepasteuriseerde melk (42,9% van het aantal geïdentificeerde kazen) t.o.v. de Waalse producenten (3,0% van het aantal geïdentificeerde kazen) bij de productie van de diverse kazen.
- De kaasproductie in Vlaanderen gebeurt in meer dan 80% van de gevallen met volumes hoger dan 100 liter per lot, tegenover 49% in Wallonië.
- 92% van de producenten geeft aan starterculturen toe te voegen. Alle Vlaamse producenten geven aan melkzuurbacteriën als startercultuur toe te voegen, wat niet altijd het geval is bij Waalse producenten.

Bij 56% van de onderzochte kazen was er een periode van melkrijping, d.w.z. een periode startend na de toevoeging van de starterculturen en gedurende dewelke de melk gaat aanzuren op een biologische manier voordat er stremsel wordt toegevoegd. Stremsel werd in 94,9% van de kazen toegevoegd. Voor de productie van 4% van de onderzochte kazen werden geen starterculturen of stremsel toegevoegd, deze categorie bevat o. a. specifieke kazen zoals ricotta, mozzarella of mascarpone. Niemand van de ondervraagde operatoren gaf aan een organisch zuur toe te voegen om de verzuring van de melk te versnellen, dit is eerder een industriële praktijk.

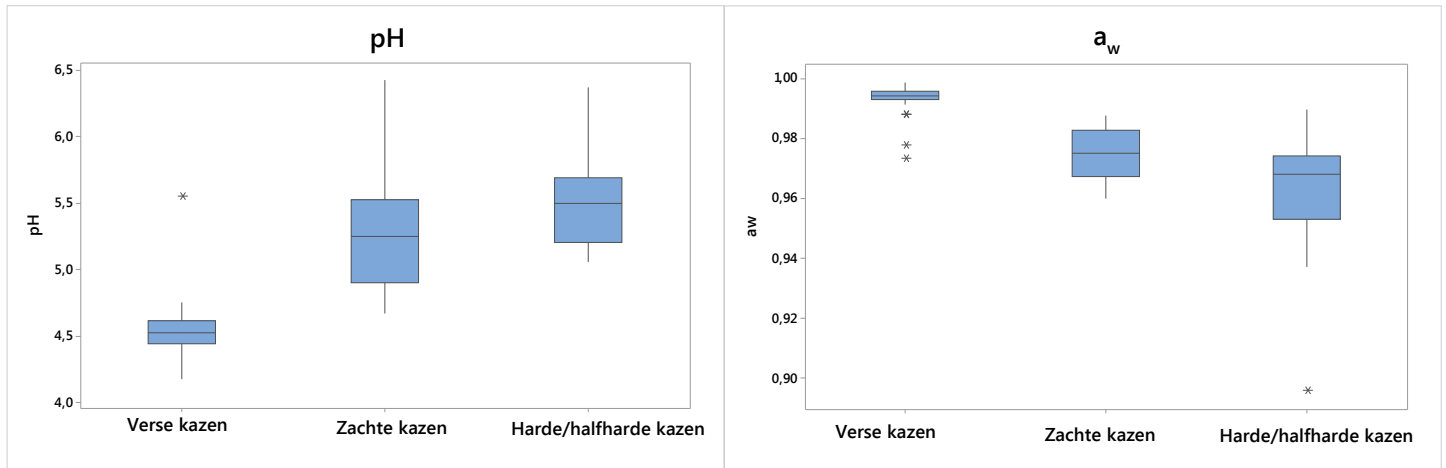
Gegevens marktonderzoek

Op basis van gegevens uit de enquête werden 65 kazen geselecteerd voor een verdere opvolging van de productie. Aan het einde van het productieproces werden de betrokken producten geanalyseerd. Slechts één kaas had voldoende lage pH- en a_w -waarden om uitsluitend op basis van deze twee parameters te kunnen garanderen dat *L. monocytogenes* niet kan groeien conform de criteria van de Verordening (EG) Nr. 2073/2005.

De gegevens van de eindproducten werden ingedeeld op basis van de drie belangrijkste technologische categorieën (verse kazen, zachte kazen en harde/halfharde kazen). De fysisch-chemische kenmerken van verse kazen lijken redelijk homogeen. Met uitzondering van één uitschieter (pH = 5,5) zijn alle pH-waarden lager dan 4,75 (Figuur 1). In het algemeen zijn verse kazen dus zuur in combinatie met een hoge a_w -waarde (Tabel 1). De geobserveerde pH-waarden liggen tamelijk dicht in de buurt van de

limieten voor groei/geen groei (limiet $\text{pH} \leq 4,4$) vastgelegd in de wetgeving (Verordening (EG) Nr. 2073/2005). Voor de categorie harde/halfharde kazen waren de a_w -waarden van de meeste kazen hoog ($> 0,92$), dit toonde aan dat deze kazen behoren tot de categorie halfharde kazen en niet tot de categorie harde kazen (Figuur 1).

Figuur 1. pH en a_w -waarden (weergegeven als boxplots) geobserveerd tijdens het marktonderzoek van



de Belgische hoevekazen voor verse kazen, zachte kazen en harde/halfharde kazen

Tabel 1. Beschrijvende statistieken voor pH en a_w -waarden geobserveerd tijdens het marktonderzoek van de Belgische hoevekazen voor verse kazen, zachte kazen en harde/halfharde kazen

Type	N	Parameter	Gemiddelde	SD	Minimum	Q1	Mediaan	Q3	Maximum
Verse kazen	25	pH	4,6	0,2	4,2	4,4	4,5	4,6	5,5
		a_w	0,99	0,01	0,97	0,99	0,99	0,99	1
Zachte kazen	17	pH	5,3	0,5	4,7	4,9	5,3	5,5	6,4
		a_w	0,98	0,01	0,96	0,97	0,97	0,98	0,99
Halfharde / harde kazen	22	pH	5,5	0,3	5,1	5,2	5,5	5,7	6,4
		a_w	0,96	0,02	0,89	0,95	0,96	0,97	0,99

N: aantal geanalyseerde kazen, SD: standaardafwijking, Q1: eerste kwartiel, Q3: derde kwartiel

Op basis van de verzamelde gegevens ontwikkelden de uitvoerders van het studieproject een tool voor de classificatie van de Belgische hoevekazen. De gegevens werden verdeeld in drie sets, namelijk verse, zachte en harde/halfharde kazen. Ter illustratie, brie en Herve kazen zijn zachte kazen, terwijl Gouda een halfharde kaas is en parmezaanse kaas behoort tot de harde kazen. Er werden 3, 3 en 6 clusters geïdentificeerd respectievelijk voor verse, zachte en harde/halfharde kazen. Naast deze clusters werden 2 extra groepen (kaas met karnemelk en blauwgeaderde kaas) gevormd die elk slechts één kaas bevatten omwille van hun volledig verschillende productiemethode t.o.v. van de andere clusters. Deze indeling gebaseerd op gedetailleerde statistische analyses van de fysisch-chemische parameters wijkt niet af van de classificaties die gewoonlijk in kaasmakerijen worden gebruikt op basis van de verschillende productietechnologieën. Het gebruik van fysisch-chemische parameters biedt dus geen toegevoegde waarde bij de indeling van deze producten in vergelijking met indelingen op basis van de verschillende technologieën.

Gegevens provocatietesten

Vervolgens werd de groei van *L. monocytogenes* in 32 Belgische hoevekazen bestudeerd door middel van provocatietesten (Tabel 2). De indeling van de kazen in de categorieën verse kazen, zachte kazen en harde/halfharde kazen is gebaseerd op het productieproces van deze kazen. De huidige versie van de « EURL Lm technical guidance document for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods », berekent het groeipotentieel op basis van mediane tellingen. Het Wetenschappelijk Comité heeft een herberekening uitgevoerd van het groeipotentieel 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, naar analogie met het SciCom advies 11-2019 over het groeipotentieel van *L. monocytogenes* in rauwmelkse boters. Dit om de *worst-cases* in rekening te kunnen brengen. Deze herberekende resultaten zijn ook in tabel 2 weergegeven.

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, 2019):

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

Verse kazen

Voor verse kazen zijn er gegevens beschikbaar voor 12 kazen (12 provocatietesten met 1 lot, waarvan 10 op basis van rauwe melk) en werd er geen groei van *L. monocytogenes* waargenomen. De houdbaarheidsperiode varieerde van 7 tot 19 dagen voor de geselecteerde verse kazen. Het Wetenschappelijk Comité merkt op dat de maximale pH-waarde geobserveerd bij aanvang van de provocatietesten 4,93 was. Dit wil zeggen dat de worst case condities niet afgedekt werden, gezien er bij het marktonderzoek een maximale pH van 5,5 gedetecteerd werd. Er kan dus enkel binnen bepaalde grenswaarden een uitspraak gedaan worden over het risico op groei van *L. monocytogenes*. Op basis van de beschikbare gegevens is het Wetenschappelijk Comité van mening dat het risico op groei van *L. monocytogenes* laag is voor verse kazen met een pH lager dan 5,0 op het einde van productie.

Zachte kazen

Voor zachte kazen werd in de meerderheid van de provocatietesten (7/8) groei van *L. monocytogenes* waargenomen. In de provocatietesten CT19 en CT29 was er zelfs een heel hoge uitgroei (3 - 5 log kve/g). De hoge pH-waarden van deze producten, gemeten in de kern, kunnen een verklaring zijn voor de geobserveerde groei van *L. monocytogenes*. Blijkbaar is ook de aanwezigheid van competitieve microbiota (vooral melkzuurbacteriën worden verwacht aanwezig te zijn ten gevolge van fermentatieproces) niet voldoende om de uitgroei van *L. monocytogenes* te verhinderen. Het Wetenschappelijk Comité beschouwt deze categorie als risicovol voor de groei van *L. monocytogenes*. Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat verdere provocatietesten voor dit type product in het algemeen weinig nuttig zijn, gezien zachte kazen een gekend risicoproduct zijn voor listeriose (HGR/ SciCom, 2016). Verschillende studies toonden reeds aan dat *L. monocytogenes* kan groeien in zachte

kazen (Lahou en Uyttendaele, 2017; Boon *et al.*, 2015, D'Amico *et al.*, 2008). Daarnaast werden er al meerdere uitbraken van listeriose gelinkt aan consumptie van verschillende types zachte kaas (Jackson *et al.*, 2018; Amato *et al.*, 2017; McIntyre *et al.*, 2015). Bovendien was er voor de meerderheid van de provocatietesten een groei van meer dan 2 log kve/g, dus zelfs met een laag initieel contaminatieniveau zal op het einde van de houdbaarheidsperiode de limiet van 100 kve/g overschreden worden. Verder werd er veel variatie waargenomen in de resultaten van de provocatietesten van de verschillende loten voor één type kaas. Een beoordeling geval per geval is echter mogelijk indien een producent op basis van eigen data kan aantonen dat voor een bepaalde kaas geen groei tot 100 kve/g op einde houdbaarheid zal plaatsvinden. Dit was bijvoorbeeld het geval voor provocatietest CT1.

halfharde kazen

Het Wetenschappelijk Comité merkt op dat de a_w -waarden van de kazen hoog zijn ($> 0,92$) en dat de kazen gebruikt voor de provocatietesten dus behoren tot de categorie halfharde kazen. In het studieproject werden geen provocatietesten uitgevoerd op harde kazen.

Voor de categorie halfharde kazen werd veel variatie waargenomen tussen de producten, maar eveneens tussen loten van éénzelfde kaas. Dit toont aan dat een staalname op kaas van meerdere loten noodzakelijk is om een correct beeld te krijgen van het groeipotentieel in een product. Ander wetenschappelijk onderzoek toonde eveneens aan dat er een grote variabiliteit bestaat m.b.t. het groeipotentieel van *L. monocytogenes* zowel tussen als binnen diverse loten van eenzelfde type kaas (Lahou en Uyttendaele, 2017). Omwille van de variabiliteit binnen eenzelfde lot is het aan te raden om het groeipotentieel te berekenen op basis van de extreme waarden van de replicaten in plaats van op basis van de mediane waarden, wat geleid heeft tot de resultaten in tabel 2.

Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat bepaalde subcategorieën (bv. kaas gedompeld in bier of lactose-arme kaas) op vlak van het microbiologisch risico weinig verschillen t.o.v. gelijkaardige kazen zonder deze behandeling. Verschillende factoren (pH, a_w , temperatuur, enz.) hebben een impact op het groeipotentieel van *L. monocytogenes* in halfharde kazen. Een studie toonde reeds aan dat in gouda kaas niet-gedissocieerd melkzuur een belangrijke factor is, met een inhiberend effect op groei van *L. monocytogenes* (Wemmenhove *et al.*, 2018).

De kans op groei van *L. monocytogenes* is minder uitgesproken ten opzichte van de categorie zachte kazen, maar het is niet mogelijk om op een gestructureerde manier minder risicovolle producten af te bakken. Deze categorie houdt een potentieel risico in voor groei van *L. monocytogenes* en het groeipotentieel moet daarom geval per geval beoordeeld worden. Indien een producent op drie verschillende productieloten kan aantonen dat er geen groei van *L. monocytogenes* mogelijk is in het geval van natuurlijke contaminatie of door middel van provocatietesten kan dit product beschouwd worden als een product met een laag risico. Iedere producent dient dit wel afzonderlijk te bevestigen per kaassoort.

Tabel 2. Resultaten van 32 provocatietesten voor *L. monocytogenes* met Belgische hoevekazen

	N° CT	Type melk	Groeipotentieel berekend op basis van het mediaan verschil			Groeipotentieel berekend op basis van het verschil in extreme waarden			pH J0			pH DLC			houdbaarheid (dagen)
			δLot1	δLot2	δLot3	δLot1	δLot2	δLot3	Lot1	Lot2	Lot3	Lot1	Lot2	pLot3	
Verse kazen	CT2	R	-1,04			-0,43			4,47 - 4,48			4,32 - 4,40			19
	CT9	R	-1,43			-0,92			4,36 - 4,37			4,35 - 4,38			7
	CT22	R	-1,16			-0,30			4,47 - 4,49			4,50 - 4,57			10
	CT24	R	-0,68			-0,63			4,43			4,45 - 4,49			10
	CT28	R	-0,48			0,00			4,44 - 4,45			4,53 - 4,54			10
	CT3	R	-0,95			-0,60			4,42 - 4,45			4,52 - 4,54			14
	CT5	P	-0,53			-0,52			4,41			5,15 - 5,28			16
	CT10	R	-1,59			-1,44			4,47			4,99 - 5,23			12
	CT6	P	-1,04			-0,43			4,42 - 4,93			4,67 - 4,87			10
	CT13	R	-0,95			-0,54			4,32 - 4,34			4,64 - 6,32			15
	CT16	R	-1,19			-1,08			4,32 - 4,37			4,37 - 4,74			8
	CT17	R	-1,05			-0,95			4,28 - 4,30			4,42 - 4,52			14
	Zachte kazen	CT1	R	-0,68	-0,99	-1,05	-0,30	0,18	-0,35	5,35 - 5,58	5,11 - 5,21	5,45 - 5,82	7,15 - 7,30	6,2	6,27 - 6,87
CT27		R	0,83	1,59	-0,14	1,47	2,24	2,15	5,24 - 5,28	5,42 - 5,48	5,37 - 5,93	5,85 - 5,92	6,49 - 6,73	6,34 - 6,75	30
CT30		R	1,04	2,68	-0,30	1,80	2,93	0,15	5,70 - 5,92	5,46 - 5,67	5,17 - 5,29	6,88 - 7,55	6,58 - 7,94	6,66 - 6,89	30
CT31		R	1,29	2,16	1,33	1,90	2,68	1,39	5,58 - 5,83	5,56 - 5,70	5,86 - 6,05	7,69 - 7,80	7,58 - 7,63	7,47 - 7,70	40
CT19		P	4,70	3,35	2,20	4,98	3,54	5,31	6,65 - 7,09	6,51 - 6,91	5,64 - 6,14	6,65 - 7,09	7,62 - 7,90	7,62 - 7,71	30
CT29		R	4,44	4,45	3,84	4,52	5,35	5,28	5,60 - 5,64	6,36 - 6,69	5,76 - 5,81	7,34 - 7,40	7,74 - 7,86	7,33 - 7,51	30
CT8		R	0,93	-0,68	-0,20	1,05	1,03	0,83	4,55 - 5,03	5,21 - 7,01	4,73 - 5,13	6,05 - 7,00	6,44 - 7,80	5,54 - 5,96	28
CT20		R	1,53	1,33	0,70	1,63	1,53	1,19	5,54 - 6,11	5,68 - 5,82	5,56 - 5,62	7,35 - 7,71	6,32 - 7,15	6,02 - 7,45	30
Halfharde kazen	CT4	P	-1,49	-0,74	-0,89	-1,36	-0,30	-0,82	5,82 - 6,09	5,76 - 5,97	5,84 - 6,00	5,86 - 6,23	5,74 - 5,87	5,87 - 5,92	21
	CT7	P	-0,12	-0,38	-0,07	0,30	0,77	0,04	5,52 - 5,81	5,84 - 5,87	5,74 - 5,80	5,93 - 6,10	5,82 - 5,84	5,80 - 5,86	30
	CT11	P	-1,13	-0,60	-0,23	-0,64	-0,07	0,04	5,83 - 5,90	5,84 - 5,89	5,85 - 6,02	6,08 - 6,81	5,89 - 5,95	6,11 - 6,22	21
	CT18	R	1,19	-0,90	-0,18	1,23	0,10	0,28	5,88 - 5,96	6,01 - 6,11	6,01 - 6,08	6,04 - 6,22	6,02 - 6,26	6,11 - 6,15	21
	CT12	R	-0,35	-0,41	0,08	-0,13	0,04	0,04	5,60 - 5,71	5,77 - 5,85	5,78 - 5,81	5,65 - 5,88	5,74 - 6,10	5,81 - 5,86	14
	CT32	R	-0,52	0,12	-0,41	-0,10	0,33	0,06	5,81 - 6,10	5,88 - 5,92	5,59 - 5,77	5,84 - 6,42	6,05 - 6,09	5,79 - 5,84	14
	CT14	R	-0,48			-0,46			5,36 - 5,43			5,39 - 5,47			21
	CT15	R	0,04	-0,94	0,93	0,50	-0,70	1,38	5,95 - 5,99	5,91 - 5,94	5,78 - 5,91	6,16 - 6,40	5,76 - 6,10	5,90 - 6,03	14
	CT21	R	-0,27	-0,48	-0,20	0,87	0,10	0,24	5,50 - 5,67	5,64 - 5,78	5,85 - 5,94	/	/	5,92 - 6,52	21
	CT23	R	-0,53			0,46			5,56 - 5,71			5,63 - 5,70			30
	CT26	R	-0,37	-0,05	0,23	-0,22	0,28	0,70	5,75 - 5,91	5,83 - 6,00	5,83 - 6,00	5,96 - 6,09	5,9 - 6,03	5,94 - 6,04	14
CT25	R	-0,05	-0,08	-0,12	0,35	2,76	1,18	5,59 - 5,69	5,45 - 5,98	5,09 - 5,49	6,45 - 6,96	6,74 - 6,92	5,81 - 6,02	21	

N° CT: nummer van de provocatietest (*challenge test*), Type melk: R (rauwe melk), P (gepasteuriseerde melk), J0: Dag van de eerste analyse (bij ontvangst), DLC: einde houdbaarheid

Houdbaarheidstesten

Alle partijen kaas die tijdens de houdbaarheidstesten werden bestudeerd, zijn afkomstig van één enkele producent en werden geproduceerd tussen 8 en 13 februari 2019. Dit zijn de enige natuurlijke contaminaties van *L. monocytogenes* die werden aangetroffen in de loop van het studieproject. De producent stelde na het gebruik van schapenmelk voor de productie van verschillende soorten kaas vast dat de melk besmet was met *L. monocytogenes*. Na onderzoek is gebleken dat de besmetting werd veroorzaakt door één enkel schaap in de kudde. Naast schapen, kan ook bij runderen en geiten een (sub)klinische mastitis infectie de oorzaak zijn van de aanwezigheid van *L. monocytogenes* in de melk (Addis *et al.*, 2019; Fthenakis *et al.*, 1998; Jensen *et al.*, 1996; Bourry *et al.*, 1995).

Het Wetenschappelijk Comité merkt op dat er bij aanvang van de houdbaarheidstesten reeds hoge concentraties *L. monocytogenes* werden waargenomen (2,5 - 7 log₁₀ kve/g). Deze loten zijn ongeschikt voor consumptie. Om de groei van *L. monocytogenes* te bestuderen hebben lagere initiële concentraties, rond 100 kve/g, een voorkeur. Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan om bij natuurlijk gecontamineerde loten bij voorkeur enkel loten met een contaminatieniveau van < 1000 kve/g op te nemen in de verdere opvolging. Immers bij een te hoog initieel contaminatieniveau kan de pathogeen mogelijks een te dominante positie innemen, waardoor interferentie kan optreden met de van nature aanwezige begeleidende microbiota in de kaas, waardoor de bekomen resultaten niet meer relevant zijn voor loten met een occasioneel laag contaminatieniveau (< 100 kve/g). Daarnaast kunnen hoge aantallen (zeker indien > 6-7 log₁₀ kve/g) erop wijzen dat de maximale concentratie reeds bereikt werd en de cellen in de stationaire fase zitten. Bovendien zijn concentraties van 6-7 log₁₀ kve/g niet representatief voor wat redelijkerwijs verwacht kan worden qua initieel contaminatieniveau bij een natuurlijke occasionele contaminatie. Dit aandachtspunt stelt zich vooral gezien het feit dat deze houdbaarheidstesten worden uitgevoerd om in de toekomst eventueel gebruik te kunnen maken van het criterium <100 kve/g op het einde van productie, dit gaat dus over contaminaties van minder dan 2 log₁₀ kve/g.

Het groeipotentieel berekend op basis van de mediane waarden toont dat er geen groei is van *L. monocytogenes* voor alle houdbaarheidstesten. Indien er echter gebruik gemaakt wordt van de extreme waarden, d.w.z. de minimale waarde bij aanvang van het experiment en de maximale waarde op einde houdbaarheid, voor de berekening van het groeipotentieel wordt er wél groei waargenomen voor vier van de vijf houdbaarheidstesten (Tabel 3). Voor de houdbaarheidstest met feta werd geen groei van *L. monocytogenes* waargenomen. Eén houdbaarheidstest is echter onvoldoende om te concluderen dat alle fetakazen een laag risicoproduct zijn. Er moeten houdbaarheidstesten uitgevoerd worden op minstens drie verschillende natuurlijk gecontamineerde loten om de resultaten van deze houdbaarheidstesten te kunnen interpreteren in kader van de natuurlijk te verwachten variaties in microbiologische en fysicochemische samenstelling bij diverse loten van hetzelfde type kaas (SciCom, 2016).

Tabel 3. Resultaten van 5 houdbaarheidstesten voor *L. monocytogenes* met Belgische hoevekazen

Type kaas	Mediaan J0 (log kve/g)	Mediaan DLC (log kve/g)	δ (mediane waarden)	Minimum J0 (log kve/g)	Maximum DLC (log kve/g)	δ (extreme waarden)	pH J0	pH DLC
Feta	2,44	0,95	-1,49	2,1	2,3	0,22	5,17 - 5,28	5,27 - 5,36
Zachte kaas met schimmelkorst	7,84	7,89	0,05	6,8	8,5	1,68	6,12 - 6,95	6,24 - 6,25
Zachte kaas met gewassen korst	6,7	6,64	-0,06	5,9	7	1,11	6,77 - 7,04	6,52 - 7,59
Blauw geaderde kaas	7,59	7,28	-0,31	5,6	8,2	2,61	7,45 - 7,46	7,9 - 7,93
Halfharde niet gekookte kaas	4,6	4,81	0,2	2,8	6,4	3,67	5,69 - 5,72	6,88 - 7,07

J0: Dag van de eerste analyse (bij ontvangst), DLC: einde houdbaarheid

5. Aanbevelingen toekomstige studies met betrekking tot het groeipotentieel van *L. monocytogenes* in levensmiddelen

- De aanbevelingen uit het SciCom advies 02-2019 omtrent het uitvoeren van provocatietesten en houdbaarheidstesten voor *L. monocytogenes* in kaas moeten ook voor toekomstige studies naar het groeipotentieel van *L. monocytogenes* in aanmerking worden genomen.
- Er bestaat een grote variabiliteit m.b.t. het groeipotentieel van *L. monocytogenes* zowel tussen als binnen diverse loten van eenzelfde type kaas (Lahou en Uyttendaele, 2017). Omwille van de variabiliteit binnen eenzelfde lot is het aan te raden om het groeipotentieel te berekenen op basis van de extreme waarden van de replicaten in plaats van op basis van de mediane waarden. Op deze manier wordt er gekeken naar een "worst case" situatie. Indien er een uitspraak gedaan wordt over een groep van producten, is dit zeker relevant om toe te passen.
- Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan om voor houdbaarheidstesten op natuurlijk gecontamineerde loten enkel loten met een initieel contaminatieniveau lager dan 1000 kve/g in aanmerking te nemen. Bij een te hoog initieel contaminatieniveau kan de pathogeen mogelijks een te dominante positie innemen, waardoor interferentie kan optreden met de van nature aanwezige begeleidende microbiota in de kaas, waardoor de bekomen resultaten niet meer relevant zijn. Daarnaast kunnen hoge aantallen erop wijzen dat de maximale concentratie reeds bereikt werd en de cellen in de stationaire fase zitten.
- Een lage initiële concentratie houdt een meetonzekerheid in omwille van de detectielimiet (<10 kve/g) bij de huidige gebruikte methode. Deze onzekerheid kan leiden tot een marge van > 2 log bij het bepalen van het groeipotentieel. In het geval van houdbaarheidstesten met een lage initiële contaminatie (< 10 kve/g) van *L. monocytogenes*, beveelt het Wetenschappelijk Comité aan om betere inschattingen te maken van de initiële contaminatie door isolaties uit te voeren op kleinere hoeveelheden (10 g, 1 g). Of alternatief dient er gebruik gemaakt te

worden van de *Most Probable Number* (MPN) methode 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). Op deze manier kan de onzekerheid bij het bepalen van het groeipotentieel worden verkleind.

- Wanneer provocatietesten of houdbaarheidstesten worden uitgevoerd om het groeipotentieel van *L. monocytogenes* voor een groep producten (bv. verse kazen) te bepalen, moeten er zo veel mogelijk "worst case" producten getest worden.

6. Algemene bemerkingen

- Het is moeilijk om tot algemene conclusies te komen over het groeipotentieel van *L. monocytogenes*, omdat kaas een dynamisch natuurlijk product is dat hoge aantallen, diverse en actieve competitieve microbiota bevat en de microbiologische contaminatie heterogeen kan zijn in/op of doorheen het product. Kazen zijn gefermenteerde producten en zijn minder te standaardiseren qua eigenschappen dan andere producten met een verlengde houdbaarheid die gekoeld bewaard worden zoals vb. gekookte versneden vleesproducten, gerookte vis, sandwich-spreads, enz. In Belgische hoevekazen is er vaak een moeilijk te voorspellen samenspel van verschillende factoren die het groeipotentieel van *L. monocytogenes* beïnvloeden, dit omwille van de variabiliteit in productkarakteristieken (pH, a_w , competitieve microbiota...) ten gevolge van mindere standaardisatie op producentniveau. Er bestaat tevens een grote variabiliteit m.b.t. het groeipotentieel van *L. monocytogenes* zowel tussen als binnen diverse loten van eenzelfde type kaas (Lahou en Uyttendaele, 2017).
- Belgische hoevekazen, in het bijzonder zachte en halfharde kazen, zijn mogelijks risicovolle producten voor bepaalde risicogroepen van consumenten, zoals zwangere vrouwen en personen met bepaalde onderliggende medische condities.
- Een contaminatie met *L. monocytogenes* kan verschillende oorzaken hebben. Een contaminatie van de rauwe melk kan gebeuren tijdens de melkwinning of ten gevolge van een (sub)klinische mastitis, zelfs bij één dier uit de kudde. Een omgevingscontaminatie kan een *L. monocytogenes* contaminatie veroorzaken van zowel de melk voor de productie van de kaas als van de kaas tijdens of na het productieproces. Ook het versnijden van de producten na productie kan leiden tot een contaminatie.
- Het nastreven van goede hygiëne tijdens het productieproces blijft een belangrijke aanbeveling. Daarnaast dient de koudketen zo goed mogelijk gerespecteerd te worden en kruiscontaminaties met *L. monocytogenes* te worden vermeden. Een correcte implementatie van goede productiepraktijken (GMP) en Gevarenanalyse en Beheersing van de Kritische Controlepunten (HACCP), met een streven naar afwezigheid van *L. monocytogenes* in kaas, zijn essentieel om veilige producten op de markt te kunnen brengen (FAVV, 2012).

7. Onzekerheden

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

- Er is een grote variatie in de productieprocessen van hoevekazen en in de karakteristieken (o.a. pH) van de verschillende types Belgische hoevekazen. De kans op groei van *L. monocytogenes* is dus niet hetzelfde voor alle hoevekazen geproduceerd in België. Bovendien werden de “worst case” condities niet afgedekt met de uitgevoerde provocatietesten.
- In het studieproject werden geen provocatietesten uitgevoerd op harde kazen. Voor de categorie harde/halfharde kazen waren de a_w -waarden van de kazen hoog ($> 0,92$), dit toonde aan dat deze kazen behoren tot de categorie ‘halfharde kazen’. Op basis van de gegevens van het studieproject kan het Wetenschappelijk Comité dus geen uitspraak doen over Belgische hoevekazen van de categorie ‘harde kazen’.
- De houdbaarheidsstudies gebeurden op basis van natuurlijke contaminaties. Deze toonden echter hoge initiële contaminatieniveaus. Deze hoge startconcentraties zijn niet ideaal om het groeipotentieel van *L. monocytogenes* te bestuderen. Enerzijds kan de pathogeen mogelijks een te dominante positie innemen, waardoor interferentie kan optreden met de van nature aanwezige begeleidende microbiota in de kaas, waardoor de bekomen resultaten niet meer relevant zijn. Anderzijds kunnen hoge aantallen erop wijzen dat de maximale concentratie reeds bereikt werd en de cellen in de stationaire fase zitten. Daarnaast zijn deze concentraties niet representatief voor natuurlijke contaminaties (< 100 kve/g) in producten die eventueel nog op de markt kunnen gebracht worden, indien er voldoende bewijs is geleverd dat *L. monocytogenes* niet groeit in deze producten.
- Bij de berekening van het groeipotentieel werd er een aanname gedaan. De berekening van het groeipotentieel van *L. monocytogenes* gebeurde op basis van de volgende veronderstelling: <10 kve/g werd gelijkgesteld aan 9 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. 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 die werd gebruikt in dit advies. Voor deze studie waren de startconcentraties voldoende hoog, maar dit zou een probleem kunnen zijn indien er studies worden uitgevoerd op kazen met natuurlijke besmettingen met een lage startconcentratie (<10 kve/g).

8. Conclusies

Belgische hoevekazen omvatten diverse producten met verschillende productkarakteristieken. Het groeipotentieel van *L. monocytogenes* in Belgische hoevekazen kan enkel beoordeeld worden indien er voldoende gegevens beschikbaar zijn voor een bepaalde subcategorie van deze kazen.

Voor verse kazen, met een pH-waarde lager dan 5,0 op het einde van productie, wordt het risico op uitgroei van *L. monocytogenes* als laag ingeschat. Zachte kazen zijn een hoog risicoproduct voor de uitgroei van *L. monocytogenes* en verder onderzoek naar het groeipotentieel van *L. monocytogenes* in deze kazen wordt als weinig nuttig beoordeeld. Voor de categorie halfharde kazen wordt er veel variatie waargenomen waardoor deze categorie als potentieel risicoproduct dient beschouwd te worden en geval per geval beoordeeld moet worden. Samenvattend zijn Belgische hoevekazen, in het bijzonder zachte en halfharde kazen, mogelijks risicovolle producten voor bepaalde risicogroepen van

consumenten, zoals zwangere vrouwen en personen met bepaalde onderliggende medische condities (bijvoorbeeld bij verminderde immunocompetentie).

De houdbaarheidstest met feta vertoonde geen groei van *L. monocytogenes*. Eén houdbaarheidstest is echter onvoldoende om te concluderen dat alle fetakazen een laag risicoproduct zijn. Er moeten altijd houdbaarheidstesten of provocatietesten uitgevoerd worden op minstens drie onafhankelijke loten om de resultaten over het groeipotentieel van *L. monocytogenes* te kunnen extrapoleren naar andere loten van hetzelfde type kaas (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* in lagere aantallen (hetzij aanwezigheid per 25g, hetzij 10-99 kve/g bij uitvoering van een telling) aanleiding te zijn voor corrigerende maatregelen en extra controle op de implementatie van GMP en HACCP in het productieproces.

9. Aanbevelingen

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

- Opnemen van pH controles in de HACCP procedures voor het productieproces van Belgische hoevekazen van het type verse kaas, ter controle van het goed verloop van het productieproces indien de limiet van 100 kve/g voor *L. monocytogenes* wordt gehanteerd. Het Wetenschappelijke Comité beveelt aan om op het einde van de productie de pH te controleren van ieder lot, met als streefdoel een pH lager dan 5,0. De bepaling van de pH moet strikt worden uitgevoerd en de gemeten waarde dient nauwkeurig te zijn tot op een tiende van een eenheid (0,1). Corrigerende maatregelen dienen genomen te worden indien het productieproces afwijkend verloopt. Belgische verse hoevekazen met een pH hoger dan 5,0 vormen een potentieel verhoogd risico voor de groei van *L. monocytogenes*.
- Eén houdbaarheidstest is onvoldoende om conclusies uit te trekken met betrekking tot het groeipotentieel van *L. monocytogenes*. Om de resultaten te kunnen extrapoleren naar andere loten van hetzelfde type kaas dienen minimaal twee extra houdbaarheidstesten of provocatietesten te worden uitgevoerd. Wanneer provocatietesten of houdbaarheidstesten worden uitgevoerd om het groeipotentieel van *L. monocytogenes* voor een groep producten te bepalen, moeten er zo veel mogelijk "worst case" producten getest worden.
- Voor houdbaarheidstesten op natuurlijk gecontamineerde loten dienen enkel loten met een initieel contaminatieniveau van lager dan 1000 kve/g van *L. monocytogenes* in aanmerking te worden genomen.
- In het geval van houdbaarheidstesten met een lage initiële contaminatie (< 10 kve/g) van *L. monocytogenes*, beveelt het Wetenschappelijk Comité aan om isolaties op kleinere hoeveelheden uit te voeren (10 g, 1 g) of om gebruik te maken van de *Most Probable Number* (MPN) methode om geschatte aantallen te bepalen. Op deze manier kan de onzekerheid bij het bepalen van het groeipotentieel worden verkleind.

- In de huidige situatie van relatief weinig standaardisatie op producentenniveau verdient het aanbeveling om bepaalde groepen consumenten, gezien hun onderliggende medische conditie, te informeren in verband met het mogelijk risicovol zijn van zachte en halfharde hoevekazen.
- Hoeveproducenten van rauwmelkse kazen moeten zich bewust zijn van het feit dat (sub)klinische mastitis veroorzaakt door *L. monocytogenes* zelfs bij één dier in de kudde kan leiden tot hoge concentraties van *L. monocytogenes* in de melk die gebruikt wordt voor de kaasproductie. Er wordt aangeraden dat deze hoeveproducenten extra aandacht besteden aan de bestrijding van (sub)klinische mastitis bij hun dieren.

Voor het Wetenschappelijk Comité,
De Voorzitter,

Prof. Dr. E. Thiry (Get.)
Brussel, 24/03/2020

Referenties

- Addis M. F., Cubeddu T., Pilicchi Y., Rocca S., Piccinini R. (2019). Chronic intramammary infection by *Listeria monocytogenes* in a clinically healthy goat - a case report. *BMC veterinary research* 15(1), 229
- Amato E., Filipello V., Gori M., Lomonaco S., Losio M. N., Parisi A., Huedo P., Knabel S.J., Pontello M. (2017). Identification of a major *Listeria monocytogenes* outbreak clone linked to soft cheese in Northern Italy - 2009-2011. *BMC Infectious Diseases* 17:342
- ANSES (2011). Data sheet on foodborne biological hazards : "*Listeria monocytogenes*". Beschikbaar online: <https://www.anses.fr/en/system/files/MIC2011sa0171Fi.pdf>
- Boon N., Uyttendaele M., Roume H. (2015). FAVV Studieproject SP 2015-04: Verkennende studie betreffende de toepassing van metagenoomanalyse als hulpmiddel bij de bewaking van de voedselveiligheid van zachte rauwmelkse kazen. Beschikbaar online: http://www.favv.be/professionelen/publicaties/studieprojecten/documents/FAVVStudieprojectSP2015-04_metagenomicssamenvatting_V3_NL-1.pdf
- Bourry A., Poutrel B., Rocourt J. (1995). Bovine mastitis caused by *Listeria monocytogenes*: characteristics of natural and experimental infections. *Journal of Medical Microbiology* 43, 125-132
- D'Amico D. J., Druart M. J., Donnelly C. W. (2008). 60-day aging requirement does not ensure safety of surface-mold-ripened soft cheeses manufactured from raw or pasteurized milk when *Listeria monocytogenes* is introduced as a postprocessing contaminant. *Journal of Food Protection* 71(8), 1563 - 1571
- EFSA, ECDC (2019). The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. *EFSA Journal*. 17(12):5926
- EURL (2019). EURL Lm TECHNICAL GUIDANCE DOCUMENT for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Version 3 – 6 June 2014 - Amendment 1 of 21 February 2019
- FAVV (2012). Autocontrole­gids voor de productie en verkoop van zuivel­producten op het landbouw­bedrijf. Beschikbaar online: http://www.favv.be/autocontrole-nl/gidsen/distributie/g034/documents/G-034_V1_23-07-2012_NL.pdf
- FDA (2013). Bad Bug Book. Handbook of Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins. Beschikbaar online: <http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodborneIllnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/UCM297627.pdf>.
- Fthenakis G.C., Saratsis Ph., Tzora A., Linde K. (1998) Naturally occurring subclinical ovine mastitis associated with *Listeria monocytogenes*. *Small Ruminant Research* 31, 23-27
- Gould L. H., Mungai E., Behravesh C. B., 2014. Outbreaks Attributed to Cheese: Differences Between Outbreaks Caused by Unpasteurized and Pasteurized Dairy Products, United States, 1998-2011. *Foodborne Pathogens and Disease* 11(7), 545-551.
- 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

Jackson K.A., Gould L.H., Hunter J.C., Kucerova Z., Jackson B. (2018). Listeriosis outbreaks associated with soft cheeses, United States, 1998–2014. *Emerging Infectious Diseases* 24(6), 1116–1118

Jensen N.E., Aarestrup F.M., Jensen J., Wegener H.C. (1996). *Listeria monocytogenes* in bovine mastitis. Possible implication for human health. *International Journal of Food Microbiology* 32, 209-216

Lahou E., Uyttendaele M. (2017). Growth potential of *Listeria monocytogenes* in soft, semi-soft and semi-hard artisanal cheeses after post-processing contamination in deli retail establishments. *Food Control* 76, 13-23

McIntyre L., Wilcott L., Naus M. (2015). Listeriosis outbreaks in British Columbia, Canada, caused by soft ripened cheese contaminated from environmental sources. *BioMed Research International*, 2015:131623

SciCom (2016). Advies 02-2016 van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het FAVV van 19 februari 2016 betreffende provocatietesten en houdbaarheidstesten voor *Listeria monocytogenes* in kaas (dossier SciCom 2015/17). Beschikbaar online: http://www.favvafsca.fgov.be/wetenschappelijkcomite/adviezen/2016/_documents/Advies02-2016Listeriamonocytogenes_website.pdf

SciCom (2019). Advies 11-2019 van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het FAVV van 21 juni 2019 over Groeipotentieel van *Listeria monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboter (dossier SciCom 2018/17). Beschikbaar online: http://www.afsca.be/wetenschappelijkcomite/adviezen/2019/_documents/Advies11-2019_SciCom2018-17_listeriaauwmelkseboter.pdf

Wemmenhove E., van Valenberg H.J.F., van Hooijdonk A.C.M., Wells-Bennik M.H.J., Zwietering M.H. (2018). Factors that inhibit growth of *Listeria monocytogenes* in nature-ripened Gouda cheese: a major role for undissociated lactic acid. *Food Control* 84, 413-418

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 belangenconflicten 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^a, 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^b

Belangenconflict

Omwille van een belangenconflict nam L. Herman niet deel aan de beraadslagingen bij de goedkeuring van het advies.

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 T. van den Berg voor de 'deep reading' van het advies.

^a lid tot maart 2018

^b lid tot juni 2018

Samenstelling van de werkgroep

De werkgroep was samengesteld uit:

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

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

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.