

Ingvild Tretteng

Overlevelse og eventuell vekst av *Salmonella* i tørket frukt - en mulig risiko for norske forbrukere

Masteroppgave i Mat og Teknologi

Veileder: Atle Hannisdal og Lisbeth Mehli

Mai 2020

Ingvild Tretteng

Overlevelse og eventuell vekst av *Salmonella* i tørket frukt - en mulig risiko for norske forbrukere

Masteroppgave i Mat og Teknologi
Veileder: Atle Hannisdal og Lisbeth Mehli
Mai 2020

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet
Fakultet for naturvitenskap
Institutt for bioteknologi og matvitenskap



Kunnskap for en bedre verden

Sammendrag

Våren 2019 ble det påvist et sykdomsutbrudd med *Salmonella* i tørket frukt i Norge. Totalt fikk 58 personer påvist salmonellose og det var begge kjønn i alle aldre spredt rundt i hele landet som ble syke. Produktet som ble mistenkt for å være årsaken til utbruddet var en eksotisk fruktblending med ingredienser som tørket ananas, papaya, sultanarosiner, skivet kokos og bananchips. Disse ingrediensene kom fra ulike land, men hadde en fellesnevner i at alle ble pakket i Italia. Fra eksotisk fruktblending ble det påvist to ulike serotyper av *Salmonella*, *S. Agbeni* og *S. Gamaba*.

Dette utbruddet er bakgrunnen for oppgaven som er todelt og består av en mikrobiologisk del og en risikovurdering av tørket frukt. Den mikrobiologiske delen bestod av en kartlegging av ulike produkter av tørket frukt som ble funnet i ulike dagligvarekjeder, helsekostbutikker og andre steder hvor det er salg av tørket frukt, i og rundt Trondheimsområdet. Det ble også utført en belastningsstudie for å evaluere overlevelse av *Salmonella* i tørket frukt. Der ble det benyttet tre serotyper av *Salmonella* i en miks av tørket frukt. Miksen ble inokulert og oppbevart ved to temperaturer (4°C og 21°C) over tre måneder. Serotypene som ble brukt i belastningsstudien var *S. Agbeni*, *S. Gamaba* og *S. Typhimurium* og de tørkede fruktproduktene var *Rosiner XL Mørk*, *Ananasterninger*, *Kokosterninger* og *Mandelkjerner* fra en nasjonal produsent.

Hovedmålet med oppgaven var å få økt kunnskap om forekomst av patogener generelt i tørket frukt, spesielt med tanke på kunnskap om *Salmonella* med henblikk på overlevelse og eventuell vekst. I tillegg til å risikovurdere om det finnes en risiko for norske forbrukere ved å spise tørket frukt.

Resultatene viser at i tørket fruktprodukter kjøpt i dagligvarebutikker var det liten eller ingen vekst av patogener. Resultatene i belastningsstudien viste at ved inokulering av *Salmonella* i ulike typer tørket frukt overlever bakterien i cirka tre måneder, med både lav og høy inokuleringsdose ved 4°C og ved høy inokuleringsdose ved 21°C. Det ble ikke påvist vekst av *Salmonella* i prøvene med lav inokuleringsdose ved 21°C etter cirka tre måneder. Risikovurderingen viser at med det datagrunnlaget som lå til grunn, er det en liten risiko for den norske befolkning å bli syke av *Salmonella* i tørket frukt.

Abstract

There was a foodborne outbreak with *Salmonella* infection in the spring 2019 in Norway. In total 58 persons were diagnosed with salmonellosis. The outbreak was spread throughout the country and both genders of all ages were registered with the disease. The product linked to the outbreak was an exotic fruit mix with ingredients such as dried pineapple, papaya, sultana raisins, sliced coconut, and banana chips. These ingredients came from different countries but had the common denominator of being packaged in Italy. Two different serotypes of *Salmonella*, *S. Agbeni* and *S. Gamaba*, were detected from the exotic fruit mix in this outbreak.

The background for this master's thesis is the outbreak. The thesis is divided in two parts and includes a microbiological part and a risk assessment of dried fruits. The microbiological part consisted of a mapping of various products of dried fruits sold in grocery stores, health food stores and other places where dried fruit can be purchased, was registered in and around the Trondheim area. A challenge study was also performed to evaluate survival of *Salmonella* in dried fruit. There were used three serotypes of *Salmonella* in a mix of dried fruits. The mix was stored over three months in two different temperatures (4°C and 21°C) The serotypes *S. Agbeni*, *S. Gamaba* and *S. Typhimurium* were used in the challenge study. The products of dried fruits used in the challenge study were *Rosiner XL Mørk* (Raisins XL Dark), *Ananasterninger* (Pineapple Cubes), *Kokosterninger* (Coconut Cubes) and *Mandelkjerne* (Almond Kernels) and came from a national manufacturer.

The main goal of this thesis was to gain increased knowledge regarding the general presence of pathogens in dried fruits, especially regarding knowledge of survival and possibly growth of *Salmonella*. And, to perform a risk-assessment whether there is a risk for Norwegian consumers to eat dried fruits.

The results show that in dried fruit products purchased in grocery stores there was little or no growth of pathogens. The results of the study showed that in the case of *Salmonella* in different types of dried fruits, the bacteria survived for approximately three months, with both low and high inoculation dose at 4°C and at high inoculation dose at 21°C. No growth of *Salmonella* was found in samples with a low inoculation dose at 21°C after approximately three months. Based on the data available in this study and the risk-assessment conducted, it is considered small risk of disease caused by *Salmonella* related to the consumption of dried fruits.

Forord

Masteroppgaven er utført høsten 2019 og våren 2020 ved det 2-årige masterprogrammet Mat og Teknologi ved Norges Teknisk-Naturvitenskapelige Universitet (NTNU), Fakultet for Naturvitenskap, Institutt for Bioteknologi og Matvitenskap. Å jobbe med masteroppgaven har vært spennende og til tider utfordrende. På grunn av koronapandemien i midten av mars ble store deler av samfunnet stengt ned. Det var opprinnelig planlagt fire uttak under belastningsstudien, men på grunn av nedstenging av universitetet og laboratoriet, ble det kun utført to uttak. Veiledning under oppgaveskrivingen har derfor foregått på e-post og Skype.

Jeg vil gjerne få takke min hovedveileder Atle Hannisdal, Førstelektor ved Institutt for bioteknologi og matvitenskap. Tusen takk for god hjelp og veiledning gjennom oppgaveutformingen, skriveprosessen og sluttprosessen. Jeg har lært mye om risikovurdering og hvilke utfordringer som kan oppstå i en næringsmiddelbedrift. Det har gitt meg en bekreftelse på at dette er noe jeg kan tenke meg å jobbe videre med.

Jeg ønsker å takke min andre veileder Lisbeth Mehli, Førsteamanuensis ved Institutt for bioteknologi og matvitenskap. Tusen takk for at du har brukt mye tid på meg og gitt av din kunnskap på laboratoriet både i 2019 og 2020 og gjennom hele perioden med oppgaveskriving. Det har vært utrolig spennende å gjennomføre forsøk med tørket frukt, både med kartlegging av patogener og inokulering av *Salmonella*. Laboratoriearbeid er fremdeles noe jeg liker veldig godt. Jeg setter veldig stor pris på at dere begge har vært så mye tilgjengelig på e-post og Skype under skriveprosessen. Det ble litt annerledes enn hva vi hadde sett for oss, men dere har begge bidratt til at jeg ikke har følt på håpløshet under alle restriksjoner og nedstenging av universitetet denne våren.

Jeg vil også takke kvalitetsavdelingen til den nasjonale bedriften jeg har hatt kontakt med under masteroppgaven. Takk for innspill om hvilke produkter jeg skulle bruke under belastningsstudien og takk for god informasjon om produktene og videreføring av kontakt med deres leverandører i utlandet. Det har vært til god hjelp under utformingen av risikovurderingen.

Sist, men ikke minst ønsker jeg å rette en stor takk til familien min som har vært veldig tålmodig med meg og gitt meg mye støtte under hele studieperioden. Jeg ønsker også å takke mine venner og medstudenter for hjelp og støtte under utførelse av masteroppgaven.

Trondheim, mai 2020

Ingvild Tretteng

Innholdsfortegnelse

Sammendrag	V
Abstract	VI
Forord	VII
Innholdsfortegnelse	VIII
Figurer	X
Tabeller	XI
Forkortelser	XII
1 Innledning	1
2 Teori	2
2.1 <i>Salmonella</i>	2
2.1.1 Utvikling av salmonellose og sykdomsforløpet	3
2.1.2 Ulike reservoar til <i>Salmonella</i>	3
2.1.3 Kilder til utbrudd	4
2.1.4 Intrinsiske faktorer som påvirker vekst	4
2.1.5 Ekstrinsiske faktorer som påvirker vekst	5
2.1.6 Metoder som brukes til å påvise vekst av <i>Salmonella</i>	5
2.2 Tørket frukt og mandler	6
2.2.1 Beskrivelse av kokosfrukt og tilhørende tørkeprosess	7
2.2.2 Beskrivelse av ananas og tilhørende tørkeprosess	7
2.2.3 Beskrivelse av rosiner og tilhørende tørkeprosess	8
2.2.4 Beskrivelse av mandler og tilhørende tørkeprosess	8
2.3 Risikovurdering	9
2.3.1 Fareidentifikasjon	9
2.3.2 Farebeskrivelse	9
2.3.3 Eksponeringsvurdering	10
2.3.4 Risikobeskrivelse	11
2.4 Bruk av HACCP og cGMP hos produsenter	11
3 Material og metode	13
3.1 Mikrobielle analyser av patogener i tørket frukt fra dagligvarebutikker	14
3.2 Overlevelse av <i>Salmonella</i> i tørket frukt	15
3.2.1 Vekstkurve <i>Salmonella</i>	15
3.2.2 Mikrobielle analyser og måling av pH og a_w i tørket frukt i belastningsforsøk før inokulering	16
3.2.3 Inokulering av tørket frukt i belastningsforsøk	17
3.2.4 Mikrobiell analyse av belastningsforsøk etter inokulering	18
4 Resultater	19
4.1 Mikrobielle analyser av patogener i ulike produkter av tørket frukt fra dagligvarebutikker	19

4.1.1	Vekst av <i>Salmonella</i> på de ulike produktene	19
4.1.2	Vekst av patogener på de ulike produktene	19
4.1.3	Bildepanel av utføring og utvalg av vekst på de ulike produktene	21
4.2	Overlevelse av en miks av <i>Salmonellaserovarer</i> i tørket frukt.....	22
4.2.1	pH og a_w i tørket frukt	22
4.2.2	Påvist vekst i produktene på X.L.D	22
4.2.3	Vekstkurver for de ulike serotypene i belastningsstudien	22
4.3	Mikrobielle analyser i belastningsstudien	23
4.3.1	Påvist vekst av patogener og aerobe bakterier i tørket frukt	24
4.3.2	Overlevelse av <i>Salmonella</i> i tørket frukt	25
4.3.3	Bildepanel fra første og siste uttak i belastningsstudien.....	27
5	Risikovurdering av <i>Salmonella</i> i tørket frukt i Norge.....	28
5.1	Fareidentifikasjon	28
5.1.1	Registrerte utbrudd av <i>Salmonella</i> i Norge, EU og USA.....	29
5.1.2	Sporbarhet og tilbaketreknings av næringsmidler	31
5.1.3	Mulige farer i verdikjeden til tørket frukt	34
5.2	Farebeskrivelse	41
5.2.1	Sykdom og helsekonsekvenser ved <i>Salmonellautbrudd</i>	41
5.2.2	a_w i tørket frukt.....	41
5.2.3	Vekst og overlevelse av <i>Salmonella</i> i tørket frukt, mandler og nøtter	42
5.3	Eksponeringsvurdering	43
5.4	Risikobeskrivelse	43
6	Diskusjon	45
6.1	Kartlegging av tørket frukt fra dagligvarebutikker og mikrobielle analyser av ulike patogener.....	45
6.2	Overlevelse av <i>Salmonella</i> i tørket frukt	46
6.3	Risikovurdering av <i>Salmonella</i> i tørket frukt i Norge.....	48
7	Konklusjon	50
8	Videre arbeid	51
9	Referanser.....	52

Figurer

Figur 2-1: Flytskjema over taksonomien til <i>Salmonella</i> . Modifisert fra Mackenzie, Palmer, Köster og White (2017).	2
Figur 4-1: Oversikt over produktene i fem ulike diagram med vekst av patogener, kimtall i log 10 CFU/ml med standardavvik. Uttak 1 (grønn), uttak 2 (blå) og uttak 3 (gul). Diagrammet øverst til venstre viser veksten som ble påvist i <i>Husk! Fruktmiks sprøtt & søtt Ananas Tørket</i> (BFMIKS A). Diagrammet øverst til høyre viser veksten som ble påvist i <i>Grønn & Frisk Ananas</i> (BAT). Diagrammet til venstre i midten viser veksten som ble påvist i <i>Husk! Fruktmiks sprøtt & søtt Banan</i> (BFMIKS B). Diagrammet til høyre i midten viser veksten som ble påvist i <i>Grønn & Frisk Banan-chips</i> (BBC). Diagrammet nederst til venstre viser veksten som ble påvist i <i>Grønn & Frisk Mango Tørket</i> (BMT). ...	20
Figur 4-2: Bilde 1 og 2 viser produkter i preanrikingsmedium bufret peptonvann. Bilde 3-10 viser et utvalg av de ulike agarene med vekst. Bilde 3 vekst på X.L.D agar, bilde 5 vekst av <i>Bacillus cereus</i> (blå/turkis), bilde 6 blodagar med hemolyse, bilde 7 <i>Bacillus cereus</i> , bilde 8 <i>Staph 3M™ Petrifilm™ Staph Express Count Plates</i> petrifilm med pålagt 3M™ Petrifilm™ <i>Staph Express Disk</i> , bilde 9 vekst på MLCB og bilde 10 vekst på X.L.D. 21	21
Figur 4-3: Vekstkurvene til <i>S. Gamaba</i> (grønn), <i>S. Typhimurium</i> (svart) og <i>S. Agbeni</i> (mørk blå) i log 10 CFU/ml. Vekstkurvene til <i>S. Gamaba</i> (lys blå), <i>S. Typhimurium</i> (brun) og <i>S. Agbeni</i> (gul) i OD 600.	23
Figur 4-4: Bilde av sterilskap med inokulering av de tørkede fruktene i en miks i sterile bokser.	24
Figur 4-5: Oversikt over vekst av <i>Enterobacteriaceae</i> i log 10 CFU/ml med standardavvik i miksen ved lav og høy inokuleringsdose ved 4°C og 21°C Miks2 lav4 = miks uttak 2 lav inokuleringsdose i 4°C. Miks2 høy4 = miks uttak 2 høy inokuleringsdose i 4°C. Miks2 lav21 = miks uttak 2 lav inokuleringsdose i 21°C. Miks2 høy21 = miks uttak 2 høy inokuleringsdose i 21°C.	24
Figur 4-6: Oversikt over totaltall i log 10 CFU/ml med standardavvik ved vekst av produktene som ble testet i belastningsstudien før og etter inokulering.	25
Figur 4-7: Oversikt over overlevelse av <i>Salmonella</i> i log 10 CFU/ml med standardavvik i første og siste uttak med ulike forhold og inokuleringsdoser i belastningsstudien.	26
Figur 4-8: X.L.D-skåler med <i>Salmonellavekst</i> fra første og siste uttak i belastningsstudien. Bilde 1 og 2 er fra produkt oppbevart ved 4°C med lav og høy inokuleringsdose. Bilde 3 og 4 er fra produkt med lav inokuleringsdose ved RT. Bilde 5 viser vekst på <i>Enterobacteriaceae 3M™ Petrifilm™</i> . På bilde 6 er det ringet rundt ulikt bunnfall av 10 ⁻¹ løsning med miks2 høy og lav inokuleringsdose oppbevart ved 4°C. Bilde 7 og 8 viser ulik type vekst på X.L.D ved siste uttak.	27
Figur 5-1: Antall tilbaketrekninger av frukt og grønt i tidsrommet 2009 til mars 2020 i Norge som skyldtes kontaminasjon av mikrobiologisk agens.	34
Figur 5-2: Verdikjeden til produkter av tørket frukt består av ulike trinn som planting og utvikling av frukt på plantasjene, høsting av frukt, transport av innhøstet frukt til fabrikk, tørking av frukt, lagring av den tørkede frukten, re-pakking av tørket frukt før transport til dagligvarebutikk.	35

Tabeller

Tabell 1: Oversikt over de ulike produktene av tørket frukt, produsenter og butikker som ble registrert i forprosjektet.	13
Tabell 2: Oversikt over Lot.nr., tid, pakkedato og best før dato av de ulike produktene som ble brukt i forsøket.	14
Tabell 3: Oversikt over de ulike serotypene av <i>Salmonella</i> som ble brukt i belastningsstudien. <i>S. Typhimurium</i> ble levert av Culture Collection University Of Gothenburg (CCUG). De andre serotypene ble levert av Veterinærinstituttet.	15
Tabell 4: Oversikt over Lot.nr., tid, pakkedato og best før dato på de utvalgte tørkede produktene fra en nasjonal produsent som ble brukt i belastningsstudien.	16
Tabell 5: Oversikt over produkt, infeksjonsdose, oppbevaringstemperatur under de ulike uttakene. For å skille på hvilke produkt som er hvilke ble det laget forkortelser. Miks1 lav4 = miks uttak 1 lav inokuleringsdose i 4°C. Miks1 høy4 = miks uttak 1 høy inokuleringsdose i 4°C. Miks1 lav21 = miks uttak 1 lav inokuleringsdose i 21°C. Miks1 høy21 = miks uttak 1 høy inokuleringsdose i 21°C. Miks2 lav4 = miks uttak 2 lav inokuleringsdose i 4°C. Miks2 høy4 = miks uttak 2 høy inokuleringsdose i 4°C. Miks2 lav21 = miks uttak 2 lav inokuleringsdose i 21°C. Miks2 høy21 = miks uttak 2 høy inokuleringsdose i 21°C.	17
Tabell 6: Oversikt over hvilke av produktene som hadde vekst på X.L.D og MLCB-agar i de tre uttakene.	19
Tabell 7: Oversikt over pH-, a_w -verdi og temperatur i de tørkede fruktene. pH ble målt i en løsning av tørket frukt bestående av 5g tørket frukt og 20 ml avionisert vann.	22
Tabell 8: Oversikt over vekst på X.L.D og MLCB-agar i belastningsforsøk før inokulering. Produktene er satt opp i tabellen med forkortelser. R1= <i>Rosiner XL Mørk</i> parallell 1, R2= <i>Rosiner XL Mørk</i> parallell 2, A1= <i>Ananasterninger</i> parallell 1, A2= <i>Ananasterninger</i> parallell 2, K1= <i>Kokosterninger</i> parallell 1, K2= <i>Kokosterninger</i> parallell 2, M1= <i>Mandelkjerner</i> parallell 1 og M2= <i>Mandelkjerner</i> parallell 2.	22
Tabell 9: En oversikt over rapporterte tilfeller av patogene bakterier i Norge fra 2000 til mars 2020. Tallene til salmonellose er markert med rød kant. Modifisert fra Folkehelseinstituttet (2020b).	28
Tabell 10: En bearbeidet tabell som inneholder en oversikt over utbrudd av salmonellose i Norge 2000-2019. Oversikten er hentet fra FHI sine sider under utbrudd av salmonellose (Folkehelseinstituttet, 2019d).	30
Tabell 11: Oversikt over tilbaketrekkinger i Norge fra 2009 og til mars 2020. Tabellen viser tilbaketrekningene systematisert i forskjellige næringsmiddelkategorier. I hver næringsmiddelkategori er det angitt hvilken agens eller grunn det er som er årsak til tilbaketrekkningen.	33

Forkortelser

a ^w	Vannaktivitet
A1	Ananasterninger parallell 1
A2	Ananasterninger parallell 2
BAT 1	Bama Grønn & Frisk Ananas tørket parallell 1
BAT 2	Bama Grønn & Frisk Ananas tørket parallell 2
BBC 1	Bama Grønn & Frisk Banan-chips parallell 1
BBC 2	Bama Grønn & Frisk Banan-chips parallell 2
BFMIKS A1	Bama Husk! Fruktmiks sprøtt & søtt Ananas parallell 1
BFMIKS A2	Bama Husk! Fruktmiks sprøtt & søtt Ananas parallell 2
BFMIKS B1	Bama Husk! Fruktmiks sprøtt & søtt Banan parallell 1
BFMIKS B2	Bama Husk! Fruktmiks sprøtt & søtt Banan parallell 2
BHI	Brain Heart Infusion
BMT 1	Bama Grønn & Frisk Mango tørket parallell 1
BMT 2	Bama Grønn & Frisk Mango tørket parallell 2
°C	Grader celsius
CCP	Kritiske kontrollpunkt
CCUG	Culture Collection University of Gothenburg
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CFU	Colony Forming Units
cGMP	current Good Manufacturing Practice
ECDC	European Centers for Disease Control and Prevention
EU	Europeiske union
EØS	Europeiske økonomiske samarbeidsområde
FDA	Food and Drug Administration
FHI	Folkehelseinstituttet
F.Kr.	Før Kristus
FSAI	Food Safety Authority of Ireland
g	Gram
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Point
INC	International Nut and Dried Fruit Council Foundation
Kg	Kilogram
K1	Kokosterninger parallell 1
K2	Kokosterninger parallell 2
LB	Luria Lennox Broth
Log 10	Briggske logaritme
Lot. nr.	Lotnummer, Identifikasjonsnummer til et næringsmiddel
µl	Mikroliter
Miks1 lav4	Miks uttak 1 lav inokuleringsdose 4°C
Miks1 høy4	Miks uttak 1 høy inokuleringsdose 4°C
Miks1 lav21	Miks uttak 1 lav inokuleringsdose 21°C
Miks1 høy21	Miks uttak 1 høy inokuleringsdose 21°C
Miks2 lav4	Miks uttak 2 lav inokuleringsdose 4°C
Miks2 høy4	Miks uttak 2 høy inokuleringsdose 4°C
Miks2 lav21	Miks uttak 2 lav inokuleringsdose 21°C
Miks2 høy21	Miks uttak 2 høy inokuleringsdose 21°C
ml	Milliliter
MLCB	Mannitol Lysine Crystal violet Brilliant green
MSIS	Meldesystem for smittsomme sykdommer
M1	Mandelkjerner parallell 1
M2	Mandelkjerner parallell 2
NaCl	Natriumklorid/Sodium Chloride
NMKL	Nordisk Metodikkomiteé for næringsmidler
Nr.	Nummer

NTNU	Norges Teknisk-Naturvitenskapelige Universitet
OD	Optical Density
PCA	Plate Count Agar
PCR	Polymerase Chain Reaction
pH	potens av Hydrogen
RASFF	Rapid Alert System for Food and Feed
RT	Romtemperatur
RTE	Ready-To-Eat
RV	Rappaport Vassiliadis
R1	Rosiner XL Mørk parallell 1
R2	Rosiner XL Mørk parallell 2
t	Temperatur
TSC	Tryptose Sulphite Cycloserine
TT	Tetrathionate
USA	United States of America
XL	Extra Large
X.L.D	Xylose Lysine Deoxycholate

1 Innledning

Våren 2019 ble det påvist et sykdomsutbrudd med *Salmonella* i tørket frukt. Totalt ble det påvist 58 syke i alle aldre, begge kjønn og spredt rundt i hele landet. Flere av pasientene hadde alvorlige symptomer som førte til innleggelse på sykehus, men ingen dødsfall. Den mistenkte kilden var en eksotisk fruktblending med ingredienser som tørket ananas, papaya, sultanarosiner, skivet kokos og bananchips. Disse ingrediensene kom fra ulike land som Thailand, Tyrkia, Ghana og Filippinene, men hadde en fellesnevner, de ble alle pakket i Italia. I forbindelse med utbruddet ble det påvist to ulike serotyper av *Salmonella*, *S. Agbeni* og *S. Gamaba* (Mattilsynet, 2020a).

Tørket frukt blir importert fra hele verden til Norge (Opplysningskontoret for Frukt og Grønt, 2019). Patogener i tørket frukt er en av årsakene til mange rapporterte utbrudd rundt om i verden, men ikke så ofte i Norge. *Salmonella* finnes sjelden i norskprodusert mat og blant norske husdyr. De fleste nordmenn som får påvist salmonellose, er smittet i utlandet eller er blitt syke av importerte matvarer (Folkehelseinstituttet, 2019b). Sykdomsutbruddet i 2019 har fått Mattilsynet til å igangsette et overvåkings- og kartleggingsprogram av tørket frukt, bær og nøtter for å få bedre kunnskap om produktsegmentene (Mattilsynet, 2020a). Det er et behov for mer kunnskap rundt patogener i tørket frukt etter utbruddet med *Salmonella* i 2019 og dette er bakgrunnen for denne masteroppgaven.

Hovedmålet med oppgaven er å få økt kunnskap om forekomst av patogener generelt i tørket frukt, spesielt med tanke på kunnskap om *Salmonella* med henblikk på overlevelse og eventuell vekst. Er det en risiko for norske forbrukere å spise tørket frukt?

- ▶ Delmål 1: Finnes det patogener i tørket frukt? Kartlegging av de vanligste patogenene som *Enterobacteriaceae*, *Bacillus cereus*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* og kimtall for å se om disse kan forekomme i ulike produkter av tørket frukt?
- ▶ Delmål 2: Evaluere overlevelse og eventuell vekst av *Salmonella* i ulike produkter av tørket frukt fra en nasjonal produsent ved hjelp av en belastningsstudie.
- ▶ Delmål 3: Utføre en risikovurdering av patogener med vekt på *Salmonella* i tørket frukt.

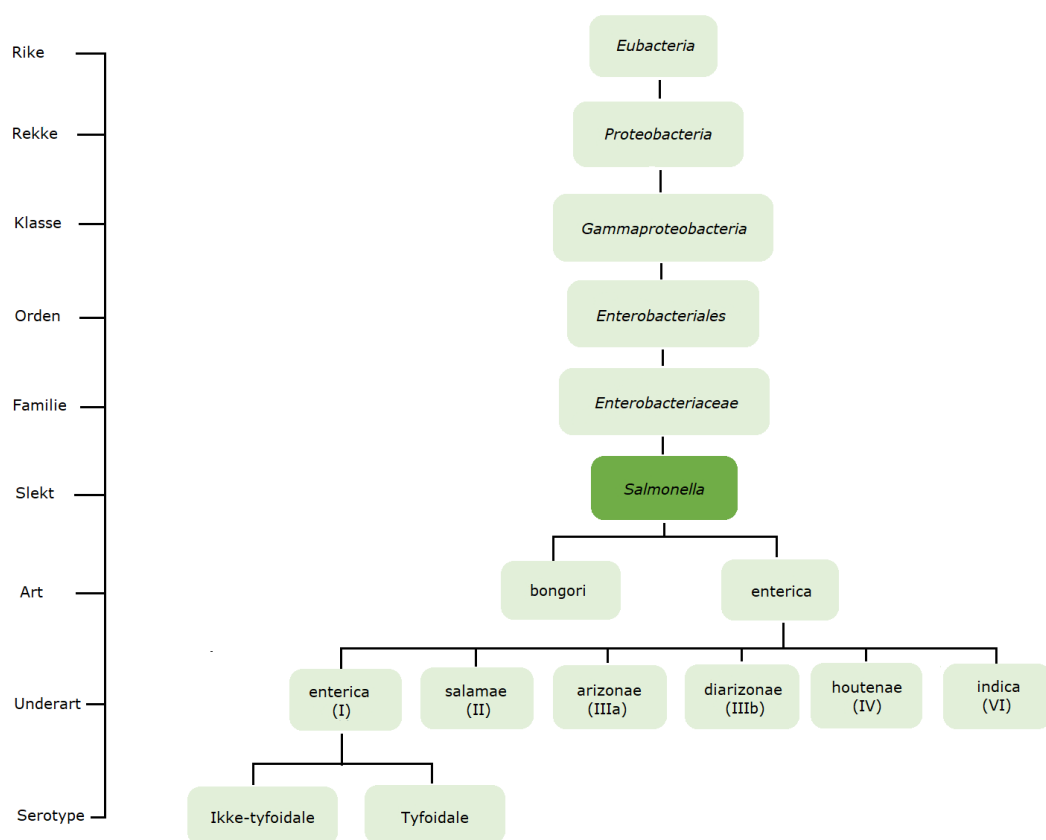
Oppgaven består av en mikrobiologisk del og en risikovurdering av tørket frukt. Den mikrobiologiske delen vil kartlegge ulike tørkede fruktprodukter som finnes ute på markedet i og rundt Trondheimsområdet. Det vil også utføres en belastningsstudie for å evaluere overlevelse av *Salmonella* i tørket frukt.

I denne oppgaven vil tørket frukt, tørket fruktmiks med mandler/nøtter bli definert som tørket frukt. Denne definisjonen gjelder ikke når det blir skrevet om hvert enkelt produkt.

2 Teori

2.1 *Salmonella*

Salmonella spp. er en fakultativ anaerob, gramnegativ og stavformet bakterie som tilhører familien *Enterobacteriaceae* (Bailey, Richardson, Cox & Cosby, 2010, s. 108). Det er i dag over 2500 forskjellige serotyper, men kun to arter av *Salmonella*. De to artene er *Salmonella enterica* og *Salmonella bongori* (Kapperud, 2007, s. 122). Over 99% av serotypene er gruppert i arten *S. enterica*, og de er delt inn i seks underarter (Figur 2-1): *enterica* (I), *salmonae* (II), *arizonae* (IIIa), *diarizonae* (IIIb), *houtenae* (IV) og *indica* (VI) (Ricke, Koo, Foley & Nayak, 2013, s. 112). Disse underartene har ingen taksonomisk status lengre, de blir kun referert til ved sine etablerte artsnavn. Det vil si at for eksempel *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serotype Agbeni blir kun omtalt som *Salmonella* Agbeni (Kapperud, 2007, s. 122). Underarten *enterica* kan deles inn i serotyper som er tyfoidale og ikke-tyfoidale. Typhi, Sendai og Paratyphi A, B eller C er spesialistpatogener som kan refereres som tyfoidale *Salmonella*. Disse er årsaken til enterisk feber som også er kjent som tyfus eller paratyfoidfeber. Eksempler på ikke-tyfoidale *Salmonella* er Typhimurium og Enteritidis. (Gal-Mor, Boyle, Grassl & Gal-Mor, 2014).



Figur 2-1: Flytskjema over taksonomien til *Salmonella*. Modifisert fra Mackenzie, Palmer, Köster og White (2017).

De tre serotypene av *Salmonella* benyttet i denne masteroppgaven er *S. Agbeni*, *S. Gamaba* og *S. Typhimurium*. *S. Agbeni* er en sjelden serotype av *Salmonella*. Det ble kun registrert fem enkelttilfeller av denne bakterien fra 2010-2018 ved Folkehelseinstituttet (FHI). Andre land som Canada, Nederland og USA i henholdsvis 2011, 2017 og 2018 hadde utbrudd rapportert fra denne serotypen. Smittekilden til noen av utbruddene kunne spores til skilpadder og kakemiks, men de fleste smittekildene var ukjente. *S. Gamaba* er også en sjelden serotype som ikke er sett i Norge før. Det er så langt ikke rapportert utbrudd av denne bakterien i andre land heller (Mattilsynet, 2020a). *S. Typhimurium* er den mest påviste serotypen av *Salmonella* fra registrerte utbrudd verden over. Serotypen har et bredt vertsområde og er ofte assosiert med sykdom hos flere arter inkludert mennesker, husdyr, gnagere og fugler (Rabsch et al., 2002).

2.1.1 Utvikling av salmonellose og sykdomsforløpet

Salmonellose er en infeksjon hos mennesker forårsaket av *Salmonella*. Personer smittet med *Salmonella* kan utvikle symptomer som diaré, feber, magekramper og nedsatt allmenntilstand 12 til 72 timer etter infeksjon. Sykdommen varer vanligvis i fire til syv dager og de fleste blir friske uten behandling. Hos noen kan diaréen imidlertid være så alvorlig at pasienten må innlegges. Hos disse pasientene kan infeksjonen spre seg fra tarmen til blodstrømmen og deretter til andre steder på kroppen. Dette kan forårsake død, med mindre pasientene behandles omgående med antibiotika. Eldre, spedbarn og personer med nedsatt immunforsvar har økt sannsynlighet for et alvorlig sykdomsforløp (Bailey et al., 2010, s. 108). Generelt assosieres salmonellose med tre hovedtyper av sykdommer: gastroenteritt, blodforgiftning og tyfoidefeber. Mange serotyper av *Salmonella* har evne til å indusere lokal gastroenteritt hos mennesker og noen husdyr. Når mennesker har inntatt en smittsom dose *Salmonella* er organismer i stand til å kolonisere, formere seg i tynntarmen, invadere og overleve i tarmvev. Dette fører til en inflammatorisk reaksjon fra verten. Gastroenteritt er den dominerende formen for salmonellose forbundet med inntak av kontaminerte næringsmidler. *Salmonella* kan overføres til hele kroppen og infisere organer som lunge, hjerne, lever og nyre som deretter kan forårsake en livstruende infeksjon. I noen tilfeller kan disse infeksjonene føre til kroniske tilstander som leddgikt, endokarditt og langvarig antibiotikabehandling, disse er ofte assosiert med serotypene *S. Typhimurium*, *S. Dublin* eller *S. Choleraesuis* (Ricke et al., 2013, s. 114). Den infektive dosen av *Salmonella* angis ofte som 10^6 bakterier, men det er påvist at bakterien kan forårsake sykdom med langt færre, helt ned til 10^2 bakterier hos de som er i risikogruppen (Kapperud, 2007, s. 132).

2.1.2 Ulike reservoar til *Salmonella*

Det naturlige reservoaret til *Salmonella* er mage-tarmkanal hos dyr, men den er også isolert fra mange andre kilder som for eksempel sjømat, frukt og grønnsaker. Disse kildene blir vanligvis utsatt for *Salmonella* enten ved direkte eller indirekte kontakt med kontaminert fekal materiale. Gjennom historien har *Salmonella* blitt sett på som et patogen av fjørfekjøtt, egg, svin og andre husdyr (Bailey et al., 2010, s. 109). *Salmonella* er en zoonotisk bakterie som kan forekomme i tarmene og andre organer til de fleste ville dyr. Eksempler på slike dyr kan være pattedyr, reptiler, fugler, virvelløse dyr og amfibier. Dyr

kan bli syke av *Salmonella*, men de kan også være friske smittebærere som skiller ut bakterien i feces. Friske smittebærere er en stor kilde til spredning av *Salmonella* i produksjonskjeden for næringsmidler og til miljøet rundt. Bakterien kan overleve i feces i flere år hvis den er tørket eller flere måneder på beiter med gjødsel (Kapperud, 2007, s. 125-126). *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* og *S. Newport* er de hyppigst isolerte serotypene av *Salmonella* fra humane salmonellosetilfeller i USA (Centers for Disease Control and Prevention, 2020b). I Norge er det *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* og *S. Infantis* som er mest utbredt ved de bekreftede salmonellosetilfellene de siste 20 årene (Folkehelseinstituttet, 2019d).

2.1.3 Kilder til utbrudd

Eksponering av *Salmonella* i næringsmidler under foredling kan blant annet skyldes kontaminering ved ulik kontakt i prosessanlegget. Selv om en rekke desinfiseringsmidler er brukt på frukt og grønnsaker, er klor fortsatt den vanligste behandlingen etter høsting for dekontaminering (Bailey et al., 2010, s. 110). *Salmonella*utbrudd kan fortsatt tilskrives forbruk av fjørfe, men utbrudd relatert til Ready-To-Eat (RTE)-produkter og ferske råvarer er årsak til stadig flere utbrudd. *Salmonella*utbrudd i RTE-produkter kan knyttes til ikke tilstrekkelig etterbehandling av produkter. Den viktigste risikofaktoren for mattrygghet forbundet med RTE-produkter som frukt og grønnsaker er at forbrukere spiser produkter uten å tilberede de ytterligere (Ricke et al., 2013, s. 118). Kontaminering av frukt og grønnsaker kan komme fra bruk av ikke-kompostert husdyrgjødsel, ubehandlet kloakk, vanningsvann eller av dyr direkte eller indirekte på plantasjene. Mer geografisk distribusjon har også forårsaket endringer i håndterings- og lagringspraksis for slike produkter. Dette kan igjen påvirke evnen til *Salmonella* å overleve i disse produktene. Kontaminering av *Salmonella* kan forekomme i bedrifter, under transport fra gårdene til prosessanleggene og krysskontaminering i prosessanleggene. Krysskontaminering av produktene kan oppstå under oppsamling, vasking eller emballasje i prosesseringslinjen. Rensemidler som brukes til å dekontaminere overflater til produkt, mangler evnen til å filtrere inn i sprekker og det kan være en måte for *Salmonella* å overleve og spre seg i produkter (Bailey et al., 2010, s. 111-112). I landbruks- og industrielle omgivelser har biofilmdannelse lenge vært ansett som en faktor for å forklare *Salmonellas* ekstreme utholdenhet på overflater (Mackenzie et al., 2017). Forbrukere bør også være oppmerksom på personlig hygiene, som for eksempel å vaske hender og ha hygieniske forhold på kjøkkenet mens de tilbereder næringsmidler. En kombinasjon av tiltak før og etter høsting kan minimere risikoen for menneskelig eksponering av *Salmonella* (Ricke et al., 2013, s. 120).

2.1.4 Intrinsiske faktorer som påvirker vekst

Intrinsiske faktorer som påvirker overlevelse og vekst av *Salmonella* i næringsmidler inkluderer pH, vannaktivitet (a_w), fuktighetsinnhold, næringsinnhold, konkurrerende mikroflora og naturlige/tilsatte antimikrobielle tilsetningsstoffer i næringsmidlet. Veksten av *Salmonella* i sure miljøer har vist seg å være betydelig kraftigere hvis bakterien er blitt eksponert for lavere pH-forhold tidligere. Syrestress kan også utløse forbedret bakteriell motstand mot andre ugunstige miljøforhold. Tilstedeværelsen av *Salmonella* som har økt syretoleranse i næringsmidler øker helsefaren. Dette kan minimere den antimikrobielle

virkingen av magesyre (pH 2,5) og fremme overlevelse av *Salmonella* i fordøyelsessystemet til mennesker. Høye saltkonsentrasjoner har en evne til å forlenge holdbarheten til næringsmidler ved å hemme veksten av endogen mikroflora. Denne bakteriostatiske effekten er resultatet av en reduksjon i a_w . Vekst av *Salmonella* hemmes ved 3 til 4% salt (NaCl) tilsatt, men salttoleransen øker med temperaturer i området fra 10-30°C (Bailey et al., 2010, s. 110). Bakterien kan vokse både aerobt og anaerobt med en temperatur mellom 5 og 48°C. Hvor lav temperatur *Salmonella* kan vokse i varierer med serotype og hvilken type næringsmiddel den formerer seg i. Enkelte serotyper kan overleve og formere seg i temperaturer helt ned mot 2°C (Kapperud, 2007, s. 123).

Lav a_w er en barriere for vekst for mange patogener, inkludert *Salmonella*. a_w er et mål på det frie vannet som er tilgjengelig i næringsmidler for å reagere med andre molekyler og delta i ødeleggelsesreaksjoner ved for eksempel enzymatisk bruning eller mikrobiell vekst. Vann i næringsmidler kan støtte veksten av bakterier, mugg og gjær. Skalaen til a_w strekker seg fra 0-1,0, men de fleste næringsmidler ligger i området 0,2 for veldig tørre næringsmidler til 0,99 for veldig fuktig og ferske næringsmidler. Næringsmidler med lite fuktighet har en a_w på rundt 0,85. Bakterier krever høy mengde fritt vann for å vokse og kan finnes i produkter med så lite som 0,75, men de fleste hemmes ved a_w under 0,91. Ved lavere a_w blir mugg og gjær de viktigste ødeleggelsesorganismene med en minimumsvekst på henholdsvis 0,75 og 0,88. Vekst av mikroorganismer kan begrenses eller forhindres ved å binde vann for å gjøre det utilgjengelig for mikroorganismer ved for eksempel når salt og/eller sukker blandes med næringsmidlet. (Podolak & Black, 2017, s. 1-4).

Salmonella vokser normalt ikke i næringsmidler med en a_w -verdi på mindre enn 0,93 og bakterien har vist seg å kunne overleve ved pH-verdier fra 4,5-9,5, selv om den optimale pH for vekst er 6,5-7,5. De fleste friske frukter har et pH-område fra 1,8-6,7 (Bailey et al., 2010, s. 110).

2.1.5 Ekstrinsiske faktorer som påvirker vekst

Ekstrinsiske faktorer som påvirker overlevelse og vekst av *Salmonella* i næringsmidler inkluderer temperatur, lagringsforhold og emballasje/atmosfære. *Salmonella* kan lett tilpasse seg ekstreme miljøforhold. Varme brukes mye i næringsmiddelproduksjonen for å kontrollere bakteriekvaliteten og trykgheten til sluttproduktene (Bailey et al., 2010, s. 110-111). *Salmonella* er tilpasningsdyktig og kan vokse på de fleste overflater som vegger, tak, gulv, utstyr, innredninger, inntørkede rester av kjøttsaft, blodvann og lignende. Så lenge det er fuktighet og rundt 4°C så trives bakterien (Kapperud, 2007, s. 124).

2.1.6 Metoder som brukes til å påvise vekst av *Salmonella*

For å påvise *Salmonella* i næringsmidler brukes NMKL-metode 71. I denne metoden er det nødvendig med preanriking, selektiv anriking før utsæd på selektivt agarmedium (Kapperud, 2007, s. 124).

Dersom *Salmonella* er til stede i næringsmidler kan populasjonsnivået være lavt og cellene kan bli svekket eller skadet av prosesser som brukes for å produsere det ferdige produktet

ved for eksempel steking, oppvarming eller tørking. Derfor er det første trinnet i metoden å berike prøven i et passende ikke-selektivt medium. Dette trinnet kan gi betingelser for at svekkede celler kan komme seg og multiplisere (Enache, Luce & Lucore, 2017, s. 184-185). Det ikke-selektive mediet kan for eksempel være bufret peptonvann (Kapperud, 2007, s. 124). Det neste trinnet i metoden er å inokulere passende selektive medier for å øke metodens følsomhet. Det er vanligvis to forskjellige medier. De selektive mediene vil fremme veksten av *Salmonella* mens de hemmer veksten av andre konkurrerende organismer. De mest brukte selektive mediene er tetrathionate (TT) buljong og Rappaport - Vassiliadis (RV) medium. Hvert av disse selektive mediene har spesifikke ingredienser som lar dem være selektive. I TT-buljong vil gallesalter og brilliant green hemme grampositive og andre gramnegative organismer. I RV-medium vil malakittgrønt hemme andre organismer enn *Salmonella*. Eventuell vekst fra selektive medier inokuleres på to eller tre forskjellige selektive agarer. Det finnes en rekke selektive agarer som er typisk metodespesifikke og kan inkludere xylose lysine deoxycholate (X.L.D) agar, mannitol lysine crystal violet brilliant green agar (MLCB), vismut sulfitt agar, hektoen enteric agar, xylose lysin tergitol 4 agar, eller dobbeltmodifisert lysin jernagar (Enache et al., 2017, s. 184-185).

2.2 Tørket frukt og mandler

Tørket frukt, mandler og nøtter er RTE-produkter som blir mer populært verden over. Ifølge International Nut & Dried Fruit (2018) (INC) utgjorde verdensproduksjonen av tørket frukt i sesongen 2018/2019 over 3,1 millioner tonn. Dette er ifølge INC en økning på 30% sammenlignet med 2012/13 og en økning på 11% i de siste 5 årene. Rosiner er den mest produserte tørkede frukten i hele verden, og utgjorde 41% av andelen tørket frukt i verden. USA var det landet som produserte mest tørket frukt i sesongen 2018/2019.

Nøtter, mandler og tørket frukt sine samlede tilførselsverdier (beregnet som produksjonen pr. enhetspris, toll betalt ved ankomst til Europa) har fortsatt å øke i et jevnt tempo gjennom det siste tiåret. I 2018/2019 utgjorde den rundt 46,4 milliarder dollar (International Nut & Dried Fruit, 2018).

Frukt og grønnsaker er en viktig del av et sunt og balansert kosthold. Den naturlige mikrobiotaen til frukt og grønnsaker inkluderer vanligvis ikke patogene bakterier, men kan være kontaminert med disse fra mennesker, dyr eller miljøkilder (Ntuli et al., 2017).

Det er to hovedformer av tørket frukt: halvfuktig og tørket frukt. Halvfuktige frukter, for eksempel druer, inneholder naturlig høye nivåer av sukker. Det betyr at de kan konserveres med et høyere fuktighetsinnhold enn de fleste andre tørkede frukter. Halvfuktige frukter kan ha et fuktighetsinnhold så høyt som 25% og konsumeres som de er uten dehydrering. Sukkerinnholdet i andre frukter kan økes ved å bløtlegge fruktene i sukkeroppløsningen før tørking. Disse fruktene er kjent som osmotisk tørket frukt (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2007).

Viktige kvalitetsparametere assosiert med tørkede næringsmiddelprodukter kan være smak, lukt, mikrobiell belastning, næringsstoffer, form, tekstur, a_w , tilsetningsstoffer og konserveringsmidler. Disse parameterne kan ofte påvirke akseptansen av de tørkede

næringsmidlene. Derfor må produsenter av tørkede næringsmidler være spesielt oppmerksomme på overvåking og kontroll av disse parameterne (Perera, 2005).

2.2.1 Beskrivelse av kokosfrukt og tilhørende tørkeprosess

Kokosnøtten er en tropisk frukt som brukes blant annet til mat, drikke, olje, medisin, fiber, tømmer og husholdningsredskaper (Somogyi, Barrett & Hui, 1996, s. 419).

Det er to hovedklassifiseringer av kokostreet: palmer og dvergpalmer.

Palmer er de mest plantede trærne for kommersiell produksjon, og får en høyde på 20-30 meter. De modnes sakte, blomstrer først seks/syv år etter planting. Palmene bærer frukt kontinuerlig i opptil 70 år. De er hardføre og trives med forskjellige jordtyper og varierende miljøforhold. Dvergpalmer blir åtte-ti meter høye etter 20 år. Dvergpalmen begynner å bære frukt i løpet av det tredje året når den er blitt en meter høy. Produktiv levetid er på 30-50 år. Det hvite kjøttet (kopra) er den delen av kokosnøtten som brukes mest til mat. Den er spiselig i alle modningsstadier, som tar opptil 12 måneder. De andre delene som brukes til konsum er melken/vannet og knoppen. Kopra kan dehydreres som en sprø snacks eller bearbeides til kandiserte produkter eller brukes som ingrediens i forskjellige oppskrifter. De tre metodene som brukes til å tørke kopra er soltørking, røyktørking og varmlufttørking. Utørket kopra har et fuktighetsinnhold på 50-55% (Somogyi et al., 1996, s. 420-423).

2.2.2 Beskrivelse av ananas og tilhørende tørkeprosess

Ananas er en frukt som er sammensatt av en stor klynge frukt og blomster. Blomstene blomstrer fra bunnen av frukten og er mer moden enn toppen. Mer enn tre måneder er nødvendig fra blomstring til modning av frukt hos ananas. For best mulig fruktsødme, bør ananas høstes når 1/3 til 2/3 eller mer av skallfargen har skiftet fra grønn til gul farge (Somogyi et al., 1996, s. 337).

Ananas vokser i varmt og fuktig klima og den vokser godt i tropisk og subtropisk klima forutsatt at området er fritt for frost. Når ananas dyrkes i høyder over 1000 meter produseres det mindre frukter med forhøyet syrlighet og kjøttet har en mindre attraktiv farge. Den optimale veksttemperaturen ligger mellom 20 og 30°C. Ananas har god fruktkvalitet på vekststeder som har en kombinasjon av relativt kalde nattemperaturer, solfylte dager og dagtemperaturer fra 21-29,5°C. De beste jordsmonnene for ananasproduksjon er godt drenerte ikke-komprimerte loam som består av leire, sand, humus eller annet organisk materiale, innenfor den første meteren fra overflaten (Hossain, 2016).

Ananas er en tropisk frukt med høye konsentrasjoner av sukker og næringsstoffer. For å forlenge holdbarheten til frukten er det viktig med riktig type tørking. Av de forskjellige tørketeknikkene er konvektiv tørking en av de mest brukte for ananas. Frukten blir eksponert for varm luft i en lang periode som kan føre til delvis eller total nedbrytning av næringsstoffer og endringer i de essensielle sensoriske egenskapene til produktet (Corrêa, Rasia, Mulet & Cárcel, 2017).

2.2.3 Beskrivelse av rosiner og tilhørende tørkeprosess

Druer er blant verdens viktigste fruktprodukter. Ville druer har eksistert så langt tilbake som 35 000 f.Kr. og forbruket av dem stammer fra forhistorisk tid. Druer kan serveres på forskjellige måter, ikke bare som frisk frukt, men også i form av rosiner, syltetøy, juice eller vin. Rosiner er dehydrerte druer og er et produkt med gode ernæringsegenskaper som inneholder karbohydrater, jern, vitaminer, mineraler og fenoler. Høsting av druer skjer i løpet av september måned. Det finnes to metoder for dehydrering av druer som i utgangspunktet blir brukt til å produsere rosiner: soltørking og konvektiv tørking (Benlloch-Tinoco, Carranza-Concha, Camacho & Martínez-Navarrete, 2014). Når de er tørket, blir rosinene hentet fra vinmarkene, lagret i store trekasser. Stilkene og kapslene fjernes før rosinene blir sortert etter størrelse, renses og vasket i vann for å sikre et sunt og trygt sluttprodukt. Druetyper som blir mest brukt til rosinproduksjon er steinfrie Thompson og andre nyere typer som Selma Pete, Fiesta og DOVine. Andre typer rosiner som også blir mye brukt kan være California Golden steinløse, Zante Currant, Muscat, Monnuka og Sultana. (California Raisins, 2020).

2.2.4 Beskrivelse av mandler og tilhørende tørkeprosess

Mandler er spiselige frø fra mandeltreet som stammer fra regioner i Sentral-Asia og dyrkes på ulike steder i verden med tørt og temperert klima. Verdensproduksjonen er fordelt på USA (hovedsakelig California, 37,2%), Spania (11,1%), Australia (7,4%), Iran (5,2%), Marokko (5,1%), Italia (4,6%), og Den syriske arabiske republikken (4,5%). Den gjenværende produksjonen (24,9%) blir produsert i andre land. Mandler brukes i næringsmiddelindustrien til å produsere kaker, sirup, nougat, marsipan og RTE-produkter. Høstede mandler blir avhullet og tørket til vanninnholdet er under 6%. Tørkede mandler kan lagres i flere måneder før de blir brukt i næringsmiddelindustrien. Faktorer som kan påvirke en kontaminering i mandler er skallegenskaper (myke eller harde), insekter, tørkestress og høstingsteknikker som kan spre sopp. Effekten av sortering, blanchering og elektronisk fargesortering kan medvirke til redusering av mikroorganismer i pistasjnøtter, peanøtter og mandler (Zivoli, Gambacorta, Perrone, Solfrizzo & Zivoli, 2014).

Mandler trives i et klima som har milde, våte vintre og varme, tørre somre. Mandler vokser best på loamjord. Denne jordtypen muliggjør god permeabilitet, vannretensjon og rotsone. Når mandeltreet er plantet, tar det tre til fire år før det begynner å produsere nøtter. Mandeltreet har en gjennomsnittlig levetid på 20-25 år. Blomstringstiden for mandeltrær er i perioden fra midten av februar til starten av mars. Mandeltrær har en vekslende vekst, som betyr at en stor avling et år blir fulgt av en mindre avling året etter. Mandler høstes mellom midten av august og oktober og cirka to uker etter den siste vanningen. Før høsting av mandler renser bønder ugress og annet rusk fra jorden. Mandeltrær ristes med spesialiserte høstingsmaskiner slik at mandlene faller til bakken. Tørre forhold er avgjørende for å redusere mugg og mikrobiell kontaminering av mandlene. Når mandlene er klare, høstes de fra bakken og transporteres inn i vogner eller tilhengere (Western Institute for Food Safety & Security, 2016).

2.3 Risikovurdering

Risikovurdering er ifølge Forskrift om endring i og ikrafttredelse av forskrifter om næringsmiddelhygiene og kontroll, Kapittel I Artikkel 3 Andre definisjoner punkt 11, definert som «*en vitenskapelig basert prosess som består av fire trinn: fareidentifikasjon, farebeskrivelse, eksponeringsvurdering og risikobeskrivelse*» (Lovdata, 2010).

En mikrobiell risikovurdering er et verdifullt verktøy for næringsmiddelbedrifter og matforvaltningen. Det innebærer å kunne forstå, redusere og forhindre risiko fra biologisk agens. Biologisk agens som bakterier, sopp, protozoer og virus kan oppstå i næringsmidler og kontaminere ved prosessering av næringsmidler. Økt globalisering i verden kan gi en økende og raskere utvikling av sykdommer og det er viktig for næringsmiddelbedrifter og matforvaltningen å risikovurdere ulike typer agens som kan oppstå (Environmental Protection Agency, 2012).

2.3.1 Fareidentifikasjon

Fareidentifikasjon er en del av prosessen som brukes for å evaluere om en bestemt situasjon, gjenstand, ting og lignende kan potensielt forårsake en uønsket hendelse. Det er første trinn i en risikovurdering. Målet med en fareidentifikasjon er å finne og registrere mulige farer som kan være til stede i en næringsmiddelbedrift (Canadian Centre for Occupational Health and Safety, 2020).

Fare er ifølge Forskrift om endring i og ikrafttredelse av forskrifter om næringsmiddelhygiene og kontroll, Kapittel I Artikkel 3 Andre definisjoner punkt 14, definert som «*en biologisk, kjemisk eller fysisk agens i, eller en tilstand av, næringsmidler eller fôr, som kan ha en helseskadelig virkning*» (Lovdata, 2010).

Fareidentifikasjon vil hovedsakelig være en kvalitativ prosess. Agens kan identifiseres utfra relevante datakilder. Slike kilder kan være hentet fra vitenskapelig litteratur, databaser fra næringsmiddelbedrifter, offentlige etater, relevante internasjonale organisasjoner og eksperter på området. Relevante data fra slike kilder kan være fra kliniske/epidemiologiske studier, overvåking, undersøkelser av egenskaper til mikroorganismer og samspillet mellom deres reservoar og miljø i næringsmidler (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1999).

2.3.2 Farebeskrivelse

Farebeskrivelse er nært knyttet til fareidentifikasjon. Dette er en kvalitativ og/eller kvantitativ beskrivelse av de iboende egenskapene til en agens som kan forårsake uheldige effekter. Den skal om mulig inkludere en doseresponsvurdering og tilhørende usikkerhetsmomenter. Dette avdekker de viktigste helsekonsekvensene som kan oppstå. Farebeskrivelse sier også noe om hvilke faktorer som kan påvirke ulik agens, hvilke risikogrupper og om kroniske eller akutte effekter (Benford, 2017, s. 6).

Dette trinnet gir en beskrivelse av alvorlighetsgraden og varigheten av uheldige effekter ved inntak av en biologisk agens eller dets toksin i næringsmidler.

Det er flere viktige faktorer som må vurderes ved en farebeskrivelse. Disse er relatert til både biologisk agens og verten. I forhold til det biologiske agens er følgende viktig:

- virulensen og smitteevnen til mikroorganismer kan endre seg avhengig av deres interaksjon med verten og miljøet
- genetisk materiale og egenskaper som antibiotikaresistens og virulensfaktorer kan overføres til verten
- lave doser av noen biologiske agens kan i noen tilfeller gi en alvorlig effekt
- egenskapene til et næringsmiddel som kan endre den mikrobielle tilstedeværelsen, for eksempel høyt fettinnhold i et næringsmiddel.
- individuelle vertssensibilitetsegenskaper som alder, graviditet, ernæring, helse og medisineringsstatus, andre infeksjoner, immunstatus og tidligere eksponeringshistorie kan spille inn
(Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1999).

2.3.3 Eksponeringsvurdering

En eksponeringsvurdering er en vurdering av de mengder eller doser som mennesker kan tenkes å bli eksponert for med ulike farer. Eksponeringen karakteriseres med variasjon etter hyppighet, varighet og inntaksvei. I tillegg kan vurderingen inneholde en beskrivelse av den eksponerte gruppen med hensyn til kjønn, alderssammensetning og eventuelle sykdomstilstander (Folkehelseinstituttet, 2019a).

Målet med eksponeringsvurderingen er å bestemme ruten, frekvensen, varigheten og størrelsen av eksponeringen for et biologisk agens i en populasjon. Biologiske agens kan komme fra flere kilder. De kan overføres via flere eksponeringsveier og de kan spres via sekundær overføring. Eksponeringsveier som er relevante for et gitt biologisk agens er situasjonsavhengige og kan påvirkes av de iboende egenskapene til det gitte agens og dets potensielle vert. (Environmental Protection Agency, 2012).

For biologisk agens kan eksponeringsvurderinger være basert på det potensielle omfanget av kontaminering av næringsmidler og på kostholdsdata. Eksponeringsvurdering bør spesifisere hvilke næringsmidler som er aktuelle og inntaksmengde i de fleste tilfeller av akutt sykdom. Ved utførelse av en eksponeringsvurdering har man behov for gode og innholdsrike analyse- og overvåkingsdata. Dette inkluderer eksempelvis kartleggingsdata, sykdomsdata, kostholdsdata og salg-/importdata. Her er det viktig å få med hvilke områder som kan være årsak til kontaminering ved prosessering av næringsmidler. Eksempler på dette kan være hygienisk design, desinfisering av områder som er vanskelig å vaske og temperatur (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1999).

Det må også finnes data som gir informasjon om det biologiske agens er patogen. Da er det viktig med informasjon om hvilken type reservoar næringsmidlet innehar som kan påvirke inntreden av patogenet. Data om regionale forskjeller, etnisitet, atferd og sesong kan også bidra til viktig informasjon ved eksponering av biologisk agens i en populasjon. Dette

inkluderer forbrukers rolle som smittekilde ved kontakt med næringsmidlet og forhold som miljø, tid og temperatur (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1999).

2.3.4 Risikobeskrivelse

Risiko er ifølge Forskrift om endring i og ikrafttredelse av forskrifter om næringsmiddelhygiene og kontroll, Kapittel I Artikkel 3 Andre definisjoner punkt 9, definert som «*en funksjon av sannsynligheten for en helseskadelig virkning og alvorlighetsgraden av denne virkningen som følge av en fare*» (Lovdata, 2010).

Risikobeskrivelse representerer integreringen av fareidentifikasjon, farekarakterisering og eksponeringsvurderingsbestemmelser. Den skal gi et kvalitativt eller kvantitativt estimat av sannsynligheten og alvorlighetsgraden av de skadelige virkningene som kan oppstå i en gitt populasjon, inkludert en beskrivelse av usikkerhetene forbundet med disse estimatene (Skjerve, 2007, s. 351).

Risikobeskrivelse tar de spesifikke identifiserte agens og undersøker sannsynligheten for deres eksistens ved et eksponeringstilfelle. Den kombinerer disse med sannsynligheten for at næringsmidlet inneholder en tilstrekkelig mengde biologisk agens til å forårsake en situasjon. Risikobeskrivelse gir en innsikt i de viktigste funnene, styrkene og svakhetene ved vurderingen, ved at all viktig informasjon samles i en integrert analyse som skal være objektiv, tydelig, konsistent og rimelig (Environmental Protection Agency, 2012).

Usikkerheter om data kan oppstå i evaluering av informasjon hentet fra epidemiologiske og mikrobiologiske studier. Det kan ved biologisk variasjon av det biologiske agens, inkludere forskjeller i virulens som eksisterer i ulike mikrobiologiske populasjoner eller variasjon i mottakelighet hos vertene (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1999).

2.4 Bruk av HACCP og cGMP hos produsenter

Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) er et system som kan bidra til trygge næringsmidler. Ved implementering og bruk av systemet gir produsenter, matserviceaktører og detaljister tillit til at næringsmidlene de produserer, leverer og selger er trygge. HACCP hjelper til med å fatte riktige vurderinger om mattrygghetsspørsmål, fjerner usikkerhet, og sikrer at riktig personell med riktig trening og erfaring tar beslutningene. HACCP er et verktøy som brukes for å redusere risikoen for utrygge næringsmidler i markedet. HACCP er et logisk system basert på forebygging. Når identifikasjon av hvor farene sannsynligvis vil oppstå i prosessen, er det mulig å sette i verk tiltak som er nødvendig for å forhindre at farene påvirker forbruker. HACCP-systemet består av syv prinsipper som skisserer hvordan man skal etablere en HACCP-plan for en bedrift. HACCP-prinsippene har internasjonal aksept. Prinsipp 1 beskriver hvor et sammensatt HACCP-team skal starte. Det skal utformes et flytdiagram over prosesslinjen som inkluderer detaljer i alle trinnene i prosessen, fra råvaremottak til ferdig produkt. Når dette er utformet, identifiserer HACCP-teamet farene som kan oppstå på hvert trinn, vurderer sannsynligheten for at de oppstår og vurderer alvorlighetsgraden av effekten for forbrukeren. I prinsipp 2 skal det opprettes kritiske

kontrollpunkter (CCP) hvor produktets mattrygghet sjekkes. Valg av CCPer baseres på de farer og kontrolltiltak som kommer frem av prinsipp 1. I prinsipp 3 etableres kritiske grenser for kontrolltiltak knyttet til hver identifiserte CCP. Prinsipp 4, her skal det etableres et system for å overvåke kontrollen av CCP. HACCP-teamet bør spesifisere overvåkingskrav for styring av CCPer innenfor sine kritiske rammer. Ved prinsipp 5 etableres korrigerende tiltak som skal iverksettes når overvåking indikerer at en bestemt CCP er utenfor gitte grenser. Å etablere prosedyrer for verifisering for å bekrefte at HACCP-systemet fungerer som det skal er prinsipp 6. Prinsipp 7 består i å etablere dokumentasjon om alle prosedyrer og poster som er passende for disse prinsippene og deres bruk. Registreringer må føres for å demonstrere at HACCP-systemet opererer under kontroll og at passende korrigerende tiltak er iverksatt for eventuelle avvik fra de kritiske grensene. Dette vil gi bevis på trygg produktproduksjon (Mortimore & Wallace, 2013, s. 1-7).

I tillegg til HACCP kan næringsmiddelbedrifter også innføre current Good Manufacturing Practice (cGMP) for å få et sterkere fundament å bygge sin mattrygghet på. Reglene i en cGMP gir uttrykk for hvordan en bedrift skal kunne kontrollere sitt renhold og hygiene. Krav i henhold til cGMP inkluderer personell, anlegg og arealer, hygiene og renhold i anlegg og kontroller, utstyr og redskaper, prosesser og kontroller, lager og distribusjon. Noe cGMP har fokus på er god hygienisk design av utstyr og rengjøring av overflater som ikke så ofte kommer i kontakt med næringsmidler. Det er nødvendig med beskyttelse mot kontaminering av næringsmidler og kontaktflater og å opprettholde en god hygienepraksis. Dette kan gjøres ved proaktive vedlikeholdsprogram og effektiv kontroll av innkommende ingredienser. Reglene legger vekt på utdanning og opplæring for å sikre at de ansatte har kunnskap og/eller erfaring som er nødvendig for å produsere trygge næringsmidler. cGMP ble modifisert i 2005 for å tydeliggjøre at visse bestemmelser som krever beskyttelse mot kontaminering av næringsmidler også krever beskyttelse mot allergener og krysskontaminering (Barach & Dunaif, 2017, s. 30-33).

3 Material og metode

I løpet av sommeren 2019 ble et forprosjekt til masteroppgaven gjennomført. Det gikk ut på å kartlegge alle ulike produkter av tørket frukt som finnes i de ulike dagligvarekjedene, helsekostbutikkene og andre steder hvor tørket frukt blir solgt, i og rundt Trondheimsområdet. Ut ifra denne kartleggingen ble det valgt ut en nasjonal produsent som hadde et stort utvalg og stort volum av produkter. Dersom et produkt skulle bli infisert med patogener, kan et stort volum av produkter bidra til en større risiko for at flere forbrukere blir smittet. I alt 86 ulike produkter ble registrert med 20 ulike produsenter (Tabell 1) Produktene som ble registrerte var rene tørkede frukter, mikser av tørket frukt og nøtter, tørket bær og grønnsaker.

Tabell 1: Oversikt over de ulike produktene av tørket frukt, produsenter og butikker som ble registrert i forprosjektet.

Produkt	Produsent	Butikk
Grønn & Frisk Gøjbær Tørket, Grønn & Frisk Tranebær Tørket og søtet, Grønn & Frisk Soltørket aprikos, Grønn & Frisk Bananchips, Grønn & Frisk Ananas Tørket, Grønn & Frisk Mango Tørket, Tørkede, myke Aprikoser, Tørket Fruktmiks, Grønn & Frisk Kokosflak	Bama	Meny
Soltørkede tomater	Bama	Rema 1000
Fruitmix Exotic & Sweet, Sweet & Salty Delicate & Crunchy, Sundried Apricots Sweet & Juicy, Natural Cacao Dates, Licorice Dates, Banana Chips Sweet & Crispy, Sundried Tomatoes, Apple Chips Sweet & Crunchy	Earth Control	Coop
Coco Loco Tørket, Mango Tørket, Aprikos Soltørket, Banansplitt, Klin kokos, Nøtti Frutti Yoghurt	Den Lille Nøttefabrikken	Coop
Mixit Salt & Sött	Den Lille Nøttefabrikken	Europris
Frukt & Nøttemix På Farten, Nøttemiks Frukt & Bær, Nøttemiks Goji- & Morbær, Frukt & Nøttemix Usaltet, Aprikoser Tørkede – stenfrie, Svsker, Rosiner fra California, Soltørkede Tomater	Rema 1000	Rema 1000
Frysetørkede Bringebær, Frysetørkede Jordbær, Frysetørkede Blåbær, Frysetørket Bær Mix	BioKing	Life
Soltørrede dadler, Soltørrede figner, Søde abrikoser, Mango, Søde Tranebær, Bananchips, Ingefærtern	Urtekram	Sunkost
Just Raspberries, Just Pineapple, Just Fruit Munchies, Just Blueberries, Just Fruit Salad, Just Mango, Just Strawberries, Just Cranberries	Karen's Naturals	Meny
Økologiske Tranebær, Økologiske Aprikoser, Økologiske Jumborosiner, Økologisk Mango	Helios	Life
Tørket Aprikos, Svsker, Grab'n Go gul, Grab'n Go blå, Grab'n Go rød, Rosiner	Eldorado	Kiwi
Økologiske rotgrønnsakschips, Økologiske soft figs, Økologiske soft dates, Økologiske rosiner	Coop Ånglamark	Coop
Mango tørket, Tranebær tørkede, Aprikoser tørkede, Svsker, Nut mix and raisins	Coop	Coop
Organic Raisins, Naturlige Californiske Rosiner, California Korinter	Sun-Maid	Coop
Cantaloupe Melon, Tørkede Kirsebær	Sunrise	Fruktkorga Tahir
Soltørkede Tomater	Sunrise	Kiwi
Soltorkade Fikon, Soltorkade Aprikoser	Saltå Kvarn	Life
yummi mulberries, sweet & spicy ginger	Life	Life
Småsulter Nøtter & Frukt, Småsulter Blåbær & Tranebærbitar	Orkla	Coop
Svsker	Sunswet	Bunnpris
Getrochnete Aprikosen, Torkade Aprikoser	Cilo~glu, Miras	Fruktkorga Tahir
Dried Mango	Sunshine Valley	Coop

3.1 Mikrobielle analyser av patogener i tørket frukt fra dagligvarebutikker

Fire ulike produkter fra samme nasjonale produsent (Tabell 2) ble kjøpt inn fra ulike dagligvarebutikker i tre omganger. Det ble forsøkt å finne ulike Lot.nr., klokkeslett og best før dato for hver omgang.

Tabell 2: Oversikt over Lot.nr., tid, pakkedato og best før dato av de ulike produktene som ble brukt i forsøket.

Produkt	Lot.nr.	Tid	Pakkedato	Best før
Uttak 1:				
Husk! Fruktmiks sprøtt & søtt Ananas	9182	08:20	01.07.19	31.03.20
Grønn & Frisk Ananas Tørket	9247	12:37	04.09.19	31.05.20
Husk! Fruktmiks sprøtt & søtt Banan	9182	08:20	01.07.19	31.03.20
Grønn & Frisk Banan-chips	9235	02:44	23.08.19	30.04.20
Grønn & Frisk Mango Tørket	9198	17:16	17.07.19	31.03.20
Uttak 2:				
Husk! Fruktmiks sprøtt & søtt Ananas	9245	07:37	02.09.19	31.05.20
Grønn & Frisk Ananas Tørket	9179	16:55	28.06.19	29.02.20
Husk! Fruktmiks sprøtt & søtt Banan	9245	07:37	02.09.19	31.05.20
Grønn & Frisk Banan-chips	9270	23:09	27.09.19	31.05.20
Grønn & Frisk Mango Tørket	9233	16:49	21.08.19	30.04.20
Uttak 3:				
Husk! Fruktmiks sprøtt & søtt Ananas	9087	15:49	28.03.19	30.11.19
Grønn & Frisk Ananas Tørket	9179	16:54	28.06.19	29.02.20
Husk! Fruktmiks sprøtt & søtt Banan	9087	15:49	28.03.19	30.11.19
Grønn & Frisk Banan-chips	9266	20:31	23.09.19	31.05.20
Grønn & Frisk Mango Tørket	9271	01:38	28.09.19	31.05.20

Det ble veid ut 10 g av hver type tørket frukt og 90 g peptonvann (1,0 g neutralised bacteriological peptone (LP0034, Oxoid) og 8,5 g Sodium Chloride (27810.295, VWR) per liter avionisert vann) til en 10^{-1} fortykning i en stomacherpose. Dette ble blandet sammen i ett minutt i en stomachermaskin (IUL Masticator Basic). Fra blandingen ble det tatt ut 1 ml stomacherløsning for å lage en fortykningsrekke (NMKL, 2010b, metode 91). De tørkede fruktene ble analysert for *Bacillus cereus* på Brilliance *Bacillus cereus* agar (CM1036, Oxoid) tilsatt Brilliance *Bacillus cereus* Selective Supplement (SR0230, Oxoid) og på blodagarplater som ble kjøpt ferdigstøpt hos Analysesenteret Trondheim, (0,1 ml/fortynning) ved platespredning og inkubert ved 37°C i 24 t +/- 3 t (NMKL, 2010a, metode 67). *Clostridium perfringens* på *perfringens* agar base Tryptose Sulphite Cycloserine (TSC) (CM0587, Oxoid) tilsatt *Perfringens* (TSC) Selective Supplement (SR0088, Oxoid) (1 ml/fortynning) ved platespredning og med innstøpningslokk og inkubert ved 37°C anaerobt i 24 t +/- 3 t (NMKL, 2009b, metode 95). *Staphylococcus aureus* på 3M™ Petrifilm™ *Staph* Express Count Plates (1ml/fortynning) ved platespredning og inkubert ved 37°C i 24 t +/- 3 t og 3M™ Petrifilm™ *Staph* Express Disk (EB6490, 3M og EB6492, 3M) som legges på dagen etter ved positive kolonier og inkubert ved 37°C i 1-3 t (NMKL, 2009a, metode 66). *Enterobacteriaceae* på 3M™ Petrifilm™ *Enterobacteriaceae* Count Plates (EB6420, 3M)

(1ml/fortynning) ved platespredning og inkubert ved 37°C i 24 t +/- 3 t (NMKL, 2005, metode 144). *Salmonella* dag 1 på Buffered Peptone Water (10 g neutralised bacteriological peptone (LP0034, Oxoid), 5 g Sodium Chloride (27810.295, VWR), 3,6 g Disodium hydrogen phosphate (Na₂HPO₄)(231-448-7, Merck) og 1,5 g Potassium dihydrogen phosphate (KH₂PO₄)(231-913-4, Merck) per liter avionisert vann) som en preanriking hvor 25 g tørket frukt ble veid ut i en Scottflasje med 225 ml bufret peptonvann og inkubert ved 37°C i 18t +/- 2 t, dag 2 Rappaport-Vassiliadis Soya Peptone Broth (CM0866, Oxoid) 10 ml anrikingsløsning i rør med 0,1 ml preanrikingsløsning og inkubert ved 42°C i 24 t +/- 3 t, dag 3 X.L.D agar (CM0469, Oxoid) og MLCB agar (CM0783) ved platespredning og inkubert ved 37°C i 24 t +/- 3 t (NMKL, 1999, metode 71). Kimtall på Plate Count agar (PCA) (CM0325, Oxoid) (1 ml/fortynning) ved innstøpning og inkubert ved 30°C i 48 t +/- 3 t (NMKL, 2013, metode 86).

3.2 Overlevelse av *Salmonella* i tørket frukt

Overlevelsessevnen til et patogen i et produkt ved lagring kan studeres i en belastningsstudie i et kontrollert miljø (Anderson, Anderson, Harris & Ocasio, 2017). I belastningsstudien ble lav og høy inokulasjonsdose av en miks av ulike *Salmonella* serotyper tilsatt en miks av tørket frukt lagret i romtemperatur (RT) 21°C og kjølig i 4°C. Uttakene ble utført i løpet av en periode på cirka tre måneder.

3.2.1 Vekstkurve *Salmonella*

Serotypene av *Salmonella* brukt i denne masteroppgaven (Tabell 3) er av *S. Typhimurium* og de to opprinnelige serotypene som ble funnet i eksotisk miks fra utbruddet i 2019. *S. Agbeni* og *S. Gamaba* ble utlevert av Gro Johannessen på Veterinærinstituttet.

Tabell 3: Oversikt over de ulike serotypene av *Salmonella* som ble brukt i belastningsstudien. *S. Typhimurium* ble levert av Culture Collection University Of Gothenburg (CCUG). De andre serotypene ble levert av Veterinærinstituttet.

Serotype	IDnr.	Levert av
<i>S. Typhimurium</i> (4, 5, 12: i: 1, 2)	11732T	CCUG
<i>S. Agbeni</i>	VI61548	Veterinærinstituttet
<i>S. Gamaba</i>	VI61551	Veterinærinstituttet

S. Typhimurium ble levert frysetørket i en ampulle. Brain Heart Infusion (BHI) Broth (CM1135, Oxoid) (1 ml) ble blandet med serotype i ampulle. Det ble overført 100 µl fra ampullen over i rør med 5 ml BHI broth (CM1135, Oxoid) ved platespredning på X.L.D-agar (CM0469, Oxoid) og inkubert ved 37°C i 24 t +/- 3 t. *S. Agbeni* og *S. Gamaba* ble levert som svaberkulturer. Serotypene ble overført på X.L.D-agar (CM0469, Oxoid) ved platespredning og inkubert ved 37°C i 24 t +/- 3 t. Alle tre serotypene ble podet om på X.L.D-agar (CM0469, Oxoid) før måling av absorbans. En podeøse med bakterieløsning ble overført til et rør tilsatt 1 ml Luria Lennox Broth (LB) (10 g Tryptone (LP0042, Oxoid), 5 g Yeast Extract (LP0021, Oxoid) og 5 g Sodium Chloride (27810.295, VWR) per liter avionisert vann) og blandet i en whirlmikser. En podeøse fra dette røret ble overført til nye rør med 5

ml LB. Bakterieløsningen (1 ml) av LB ble pipetert over til en semi mikrokyvette og absorban (600 nm) lest av i spektrofotometer (Shimadazu UV-1700) LB (1 ml) blandes i en fortynningsrekke og 0,1 ml fra hver fortynning ble overført på PCA (CM0325, Oxoid) ved platespredning og inkubert ved 37°C i 24 t +/- 3 t.

3.2.2 Mikrobielle analyser og måling av pH og a_w i tørket frukt i belastningsforsøk før inokulering

Fire ulike produkter ble valgt ut med tanke på ulik pH og ulike konserveringsmidler, fett- og karbohydratsammensetning sammen med representanter fra en nasjonal produsent. Produktene *Rosiner XL Mørk*, *Ananasterninger*, *Kokosterninger* og *Mandelkjerner* (Tabell 4) ble tilsendt fra lager fra den nasjonale produsenten.

Tabell 4: Oversikt over Lot.nr., tid, pakkedato og best før dato på de utvalgte tørkede produktene fra en nasjonal produsent som ble brukt i belastningsstudien.

Produkt	Lot.nr.	Tid	Pakkedato	Best før
Rosiner XL Mørk	9217	19:53	05.08.19	31.05.20
Ananasterninger	9268	06:35	25.09.19	31.05.20
Kokosterninger	9284	07:24	11.10.19	30.06.20
Mandelkjerner	9147	13:12	27.05.19	29.02.20

En miks av produktene ble veid ut med samme mengde frukt, til sammen cirka 45 g i 100 ml sterile bokser med lokk. Til sammen 16 bokser ble veid ut og lagret ved 4°C (8 bokser) og til skap ved RT (21°C, 8 bokser).

Det ble veid ut 10 g av hver type tørket fruktmiks og 90 g peptonvann (1,0 g neutralised bacteriological peptone (LP0034, Oxoid) og 8,5 g Sodium Chloride (27810.295, VWR) per liter avionisert vann) til en 10^{-1} fortynning i en stomacherpose. Dette ble blandet sammen i ett minutt i en stomachermaskin (IUL Masticator Basic). Fra blandingen ble det tatt ut 1 ml stomacherløsning for å lage en fortynningsrekke (NMKL, 2010b, metode 91). De tørkede fruktene ble analysert for *Staphylococcus aureus* på 3M™ Petrifilm™ *Staph* Express Count Plates (1 ml/fortynning) ved platespredning og inkubert ved 37°C i 24 t +/- 3 t og 3M™ Petrifilm™ *Staph* Express Disk (EB6490, 3M og EB6492, 3M) som legges på dagen etter ved positive kolonier og inkubert ved 37°C i 1-3 t (NMKL, 2009a, metode 66).

Enterobacteriaceae på 3M™ Petrifilm™ *Enterobacteriaceae* Count Plates (EB6420, 3M) (1 ml/fortynning) ved platespredning og inkubert ved 37°C i 24 t +/- 3 t (NMKL, 2005, metode 144). kimtall på PCA (CM0325, Oxoid) (0,1 ml/fortynning) ved innstøpning og inkubert ved 30°C i 48 t +/- 3 t (NMKL, 2013, metode 86). *Salmonella* dag 1 på som en preanrikning hvor 25 g tørket frukt ble veid ut i en Scottflaske med 225 ml bufret peptonvann (Buffered Peptone Water (10 g neutralised bacteriological peptone (LP0034, Oxoid), 5 g Sodium Chloride (27810.295, VWR), 3,6 g Disodium hydrogen phosphate (Na₂HPO₄)(231-448-7, Merck) og 1,5 g Potassium dihydrogen phosphate (KH₂PO₄)(231-913-4, Merck) per liter avionisert vann) og inkubert ved 37°C i 18 t +/- 2 t, dag 2 Rappaport-Vassiliadis Soya Peptone Broth (CM0866, Oxoid) 10 ml anrikningsløsning i rør med 0,1 ml

preanrikningsløsning og inkubert ved 42°C i 24 t +/- 3 t, dag 3 X.L.D agar (CM0469, Oxoid) og MLCB agar (CM0783) ved platespredning og inkubert ved 37°C i 24 t +/- 3 t (NMKL, 1999, metode 71).

Tørket frukt ble delt opp i små biter og plassert i en målekopp. Koppen ble plassert i en vannaktivitetmåler (Aqua Lab CX-2).

5 g tørket frukt og 20 ml avionisert vann ble overført til et rør og plassert i en homogeniserer (Ultra-Turrax T25). Den homogeniserte løsningen ble overført til prøvekopp og en pH-elektrode (SJ 113) satt ned i løsningen for å måle pH ved hjelp av et pH-meter (Meter Lab PHM 210).

3.2.3 Inokulering av tørket frukt i belastningsforsøk

For å bestemme inokulasjonsdosene som skulle anvendes i belastningsstudien ble absorpsjons og Colony Forming Units (CFU)/ml avlest i vekstkurven som ble laget for hver av serotypene. Infektiv dose for *Salmonella* ligger mellom 10^2 og 10^6 bakterier (Kapperud, 2007, s. 132). På bakgrunn av dette ble lav dose valgt til $10^3/45$ g og høy dose valgt til $10^6/45$ g (Tabell 5).

Tabell 5: Oversikt over produkt, infeksjonsdose, oppbevaringstemperatur under de ulike uttakene. For å skille på hvilke produkt som er hvilke ble det laget forkortelser. Miks1 lav4 = miks uttak 1 lav inokuleringsdose i 4°C. Miks1 høy4 = miks uttak 1 høy inokuleringsdose i 4°C. Miks1 lav21 = miks uttak 1 lav inokuleringsdose i 21°C. Miks1 høy21 = miks uttak 1 høy inokuleringsdose i 21°C. Miks2 lav4 = miks uttak 2 lav inokuleringsdose i 4°C. Miks2 høy4 = miks uttak 2 høy inokuleringsdose i 4°C. Miks2 lav21 = miks uttak 2 lav inokuleringsdose i 21°C. Miks2 høy21 = miks uttak 2 høy inokuleringsdose i 21°C.

Produkt	Dose	°C	Uttak
Miks1 lav4	10^3	4	1
Miks1 høy4	10^6	4	1
Miks1 lav21	10^3	21	1
Miks1 høy21	10^6	21	1
Miks2 lav4	10^3	4	2
Miks2 høy4	10^6	4	2
Miks2 lav21	10^3	21	2
Miks2 høy21	10^6	21	2

1 podedøse med bakterie fra en X.L.D-skål ble overført i et rør med peptonvann (LP0034, Oxoid). Løsningen (1 ml) ble pipettert over i en semi mikrokyvette og lest av i spektrofotometeret (Shimadzu UV-1700). Dette ble utført flere ganger til absorpsjonsverdien for 10^7 bakterier for hver stamme ble nådd. Det ble regnet ut (Formel 1) 10^3 og 10^6 bakterier ut fra løsningen med 10^7 bakterier.

Formel 1

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

For lav inokuleringsdose ble 0,1 µl av 10^7 løsningen blandet med 999,9 µl peptonvann (LP0034, Oxoid). For å få 0,1 µl til sammen ble 0,03 µl pipettert ut fra hver stamme og blandet. For høy inokuleringsdose ble 100 µl av 10^7 løsningen blandet med 900 µl peptonvann (LP0034, Oxoid). For å få 100 µl til sammen ble 33,3 µl pipettert ut av hver stamme.

Det ble fordelt 1 ml av lav inokuleringsdose (10^3 bakterier) og høy inokuleringsdose (10^6 bakterier) over miksen med tørket frukt i de 100 ml sterile boksene og blandet godt ved håndristing. Boksene ble oppbevart i et sterilskap med lokket av for at miksen skulle tørke. Løkkene ble satt på etter 24 t tørketid og boksene lagret henholdsvis i et mørklagt skap og i en oppbevaringsboks med lokk i et kjøleskap.

3.2.4 Mikrobiell analyse av belastningsforsøk etter inokulering

Sterile bokser med miks av tørket frukt med høy og lav inokuleringsdose, ble hentet ut fra skap og kjøleskap. Det ble veid ut 10 g av miksen og 90 g peptonvann peptonvann (1,0 g neutralised bacteriological peptone (LP0034, Oxoid) og 8,5 g Sodium Chloride (27810.295, VWR) per liter avionisert vann) til en 10^{-1} fortynning i en stomacherpose. Dette ble blandet sammen i ett minutt i en stomachermaskin (IUL Masticator Basic). Fra blandingen ble det tatt ut 1 ml stomacherløsning for å lage en fortynningsrekke (NMKL, 2010b, metode 91). Miksen ble analysert for *Salmonella* på X.L.D-agar (CM0469, Oxoid) (0,1ml/fortynning) ved platespredning (NMKL, 1999, metode 71). *Staphylococcus aureus* på 3M™ Petrifilm™ *Staph* Express Count Plates (1 ml/fortynning) ved platespredning og inkubert ved 37°C i 24 t +/- 3 t og 3M™ Petrifilm™ *Staph* Express Disk (EB6490, 3M og EB6492, 3M) som legges på dagen etter ved positive kolonier og inkubert ved 37°C i 1-3 t (NMKL, 2009a, metode 66). *Enterobacteriaceae* på 3M™ Petrifilm™ *Enterobacteriaceae* Count Plates (EB6420, 3M) (1 ml/fortynning) ved platespredning og inkubert ved 37°C i 24 t +/- 3 t (NMKL, 2005, metode 144). Kimtall på PCA (CM0325, Oxoid) (0,1 ml/fortynning) ved innstøpning og inkubert ved 30°C i 48 t +/- 3 t (NMKL, 2013, metode 86).

4 Resultater

4.1 Mikrobielle analyser av patogener i ulike produkter av tørket frukt fra dagligvarebutikker

4.1.1 Vekst av *Salmonella* på de ulike produktene

Veksten på de to selektive *Salmonella*-agarene på de ulike produktene var varierende ut fra uttakene (Tabell 6). Uttak 2 hadde flest produkter med påvist vekst på agarene X.L.D og MLCB og uttak 3 hadde minst. Det var ingen vekst i noen av parallellene til *Grønn & Frisk Mango tørket* (BMT 11 og 12). Det ble påvist 40% utypisk vekst i prøvene på X.L.D og 43,3% utypisk vekst på MLCB. Alle koloniene var gule og ugjennomsiktige.

Tabell 6: Oversikt over hvilke av produktene som hadde vekst på X.L.D og MLCB-agar i de tre uttakene.

PRODUKT	Uttak 1		Uttak 2		Uttak 3	
	<i>Salmonella</i> X.L.D	<i>Salmonella</i> MLCB	<i>Salmonella</i> X.L.D	<i>Salmonella</i> MLCB	<i>Salmonella</i> X.L.D	<i>Salmonella</i> MLCB
BFMIKS A 1		Vekst	Vekst	Vekst		
BFMIKS A 2		Vekst	Vekst	Vekst		
BAT 1						
BAT 2	Vekst					
BFMIKS B 1	Vekst	Vekst	Vekst	Vekst		
BFMIKS B 2	Vekst	Vekst	Vekst	Vekst		
BBC 1			Vekst	Vekst	Vekst	Vekst
BBC 2	Vekst	Vekst	Vekst	Vekst	Vekst	Vekst
BMT 1						
BMT 2						

4.1.2 Vekst av patogener på de ulike produktene

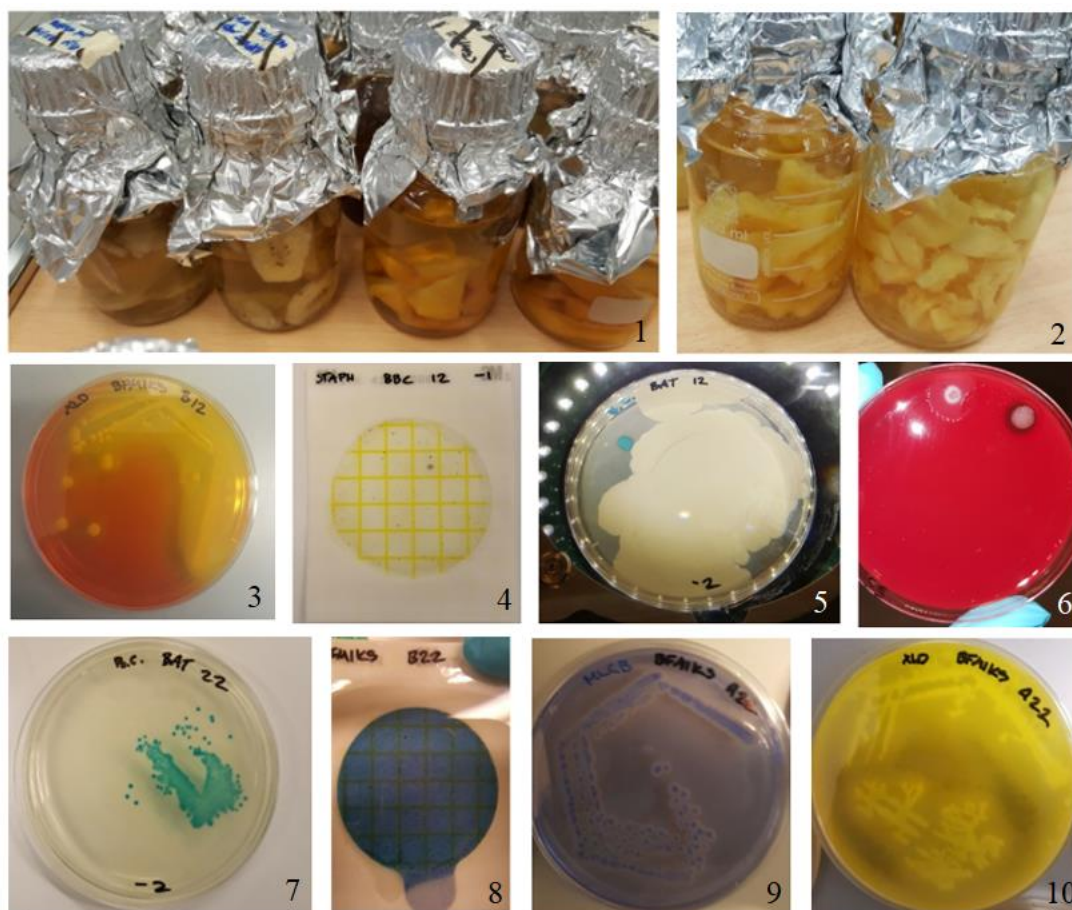
De ulike produktene ble testet for ulike patogener (Figur 4-1). Det ble påvist vekst på PCA, *S. aureus* og blodagar hos *Husk! Fruktmiks sprøtt & søtt Ananas* (BFMIKS A). Uttak 2 hadde mest vekst på PCA på 6,95 log₁₀ CFU/ml. *Grønn & Frisk Ananas Tørket* (BAT) fikk påvist mest vekst av de tørkede fruktproduktene. Uttak 2 hadde mer vekst enn uttak 1 og 3. *Husk! Fruktmiks sprøtt & søtt Banan* uttak 1 og 3 hadde kun vekst på henholdsvis PCA og *S. aureus*, uttak 2 var det eneste uttaket med påvist vekst på *Enterobacteriaceae* 3M™ Petrifilm™. Det var påvist mest vekst på PCA i *Grønn & Frisk Banan-chips* ved alle tre uttakene. Uttak 3 i *Grønn & Frisk Mango Tørket* (BMT 1 og 2) hadde ingen påvist vekst. Ingen av produktene fikk påvist vekst med *C. perfringens*.



Figur 4-1: Oversikt over produktene i fem ulike diagram med vekst av patogener, kimtall i log₁₀ CFU/ml med standardavvik. Uttak 1 (grønn), uttak 2 (blå) og uttak 3 (gul). Diagrammet øverst til venstre viser veksten som ble påvist i Husk! Fruktmiks sprøtt & søtt Ananas Tørket (BFMIKS A). Diagrammet øverst til høyre viser veksten som ble påvist i Grønn & Frisk Ananas (BAT). Diagrammet til venstre i midten viser veksten som ble påvist i Husk! Fruktmiks sprøtt & søtt Banan (BFMIKS B). Diagrammet til høyre i midten viser veksten som ble påvist i Grønn & Frisk Banan-chips (BBC). Diagrammet nederst til venstre viser veksten som ble påvist i Grønn & Frisk Mango Tørket (BMT).

4.1.3 Bildepanel av utføring og utvalg av vekst på de ulike produktene

Bilde 1 og 2 (Figur 4-2) i bildepanelet viser preanrikningsmediet som er det første av tre trinn ved påvisning av *Salmonella* i de ulike tørkede fruktene. I bilde 3, 9 og 10 er det påvist vekst på de to selektive *Salmonella*-agarene X.L.D (rød/gul) og MLCB (blå/lilla). Bilde 4 viser vekst på *Staph* 3M™ Petrifilm™ *Staph* Express Count Plates og bilde 8 viser petrifilmen med pålagt 3M™ Petrifilm™ *Staph* Express Disk. Bilde 5 og 7 viser ulik vekst på Brilliance *Bacillus cereus*. På bilde 6 er det to ulike former for vekst på en blodagarskål. Blodagar blir brukt for å få hemolytiske bakterier fra slektene *Streptococcus* og *Staphylococcus* som lyserer til å vokse opp (Universitetet i Oslo, 2017). Hemolyse er den blanke og gjennomsiktige ringen rundt bakterien til høyre på bilde 6.



Figur 4-2: Bilde 1 og 2 viser produkter i preanrikningsmedium bufret peptonvann. Bilde 3-10 viser et utvalg av de ulike agarene med vekst. Bilde 3 vekst på X.L.D agar, bilde 5 vekst av *Bacillus cereus* (blå/turkis), bilde 6 blodagar med hemolyse, bilde 7 *Bacillus cereus*, bilde 8 *Staph* 3M™ Petrifilm™ *Staph* Express Count Plates petrifilm med pålagt 3M™ Petrifilm™ *Staph* Express Disk, bilde 9 vekst på MLCB og bilde 10 vekst på X.L.D.

4.2 Overlevelse av en miks av *Salmonellas* serovarer i tørket frukt

4.2.1 pH og a_w i tørket frukt

De tørkede fruktene som ble brukt i belastningsstudien ble analysert og de hadde ulike pH- og a_w -verdier (Tabell 7). *Rosiner XL Mørk* hadde den laveste pH-verdien av fruktene på pH 3,87 fulgt av *Ananasterner* på 4,30. *Kokosterner* og *Mandelkjerner* hadde omtrent lik pH-verdi på 6,23 og 6,38. *Rosiner XL Mørk* og *Mandelkjerner* hadde den laveste a_w -verdien med 0,367 og 0,312. *Ananasterner* og *Kokosterner* hadde en forholdsvis høy a_w -verdi på 0,495 og 0,451.

Tabell 7: Oversikt over pH-, a_w -verdi og temperatur i de tørkede fruktene. pH ble målt i en løsning av tørket frukt bestående av 5g tørket frukt og 20 ml avionisert vann.

Frukt	pH	a_w	°C
Rosiner XL Mørk	3.87	0.367	20.6
Ananasterner	4.30	0.495	22.2
Kokosterner	6.23	0.451	21.6
Mandelkjerner	6.38	0.312	22.0

4.2.2 Påvist vekst i produktene på X.L.D

Produktene ble testet for vekst av *Salmonella* før inokulering på de selektive agarene X.L.D og MLCB (Tabell 8). Det ble påvist utypisk vekst i 50% av prøvene. Det var gule og gjennomsiktige kolonier på X.L.D-skålene.

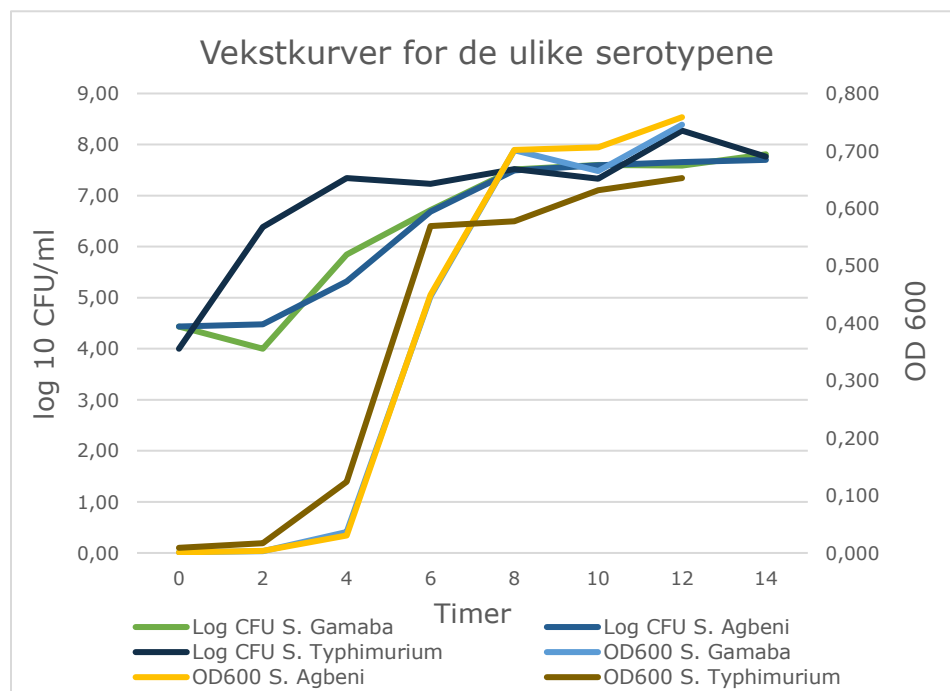
Tabell 8: Oversikt over vekst på X.L.D og MLCB-agar i belastningsforsøk før inokulering. Produktene er satt opp i tabellen med forkortelser. R1= *Rosiner XL Mørk* parallell 1, R2= *Rosiner XL Mørk* parallell 2, A1= *Ananasterner* parallell 1, A2= *Ananasterner* parallell 2, K1= *Kokosterner* parallell 1, K2= *Kokosterner* parallell 2, M1= *Mandelkjerner* parallell 1 og M2= *Mandelkjerner* parallell 2.

Produkt	X.L.D	MLCB
R1		
R2		
A1		
A2		
K1	Vekst	Vekst
K2	Vekst	Vekst
M1	Vekst	Vekst
M2	Vekst	Vekst

4.2.3 Vekstkurver for de ulike serotypene i belastningsstudien

Vekstkurvene (Figur 4-3) til de ulike serotypene i masteroppgaven ble brukt for å finne absorbans til 10^7 bakterier, som var utgangspunktet til å lage den lave og høye inokuleringsdosen i belastningsstudien. Måten det ble lest av på var å finne etter hvor mange timer strekene til de ulike serotypene (log 10 CFU/ml) var kommet til ved 7,00 log

10 CFU/ml. For *S. Gamaba* (grønn strek) var det etter litt over 6 t, for *S. Typhimurium* (svart strek) var det etter cirka 3 t og for *S. Agbeni* (mørk blå strek) var det også etter litt over 6 t. For å finne absorbans ble det trukket en linje fra disse strekene ned til strekene til samme serotype som indikerte Optical Density (OD) ved 600 nm og deretter ble linjen trukket ut til den loddrette skalaen på høyre side (OD 600) og lest av. Absorbans til *S. Gamaba* lå på 0,500, til *S. Typhimurium* lå den på 0,100 og *S. Agbeni* lå den på 0,550.



Figur 4-3: Vekstkurvene til *S. Gamaba* (grønn), *S. Typhimurium* (svart) og *S. Agbeni* (mørk blå) i log 10 CFU/ml. Vekstkurvene til *S. Gamaba* (lys blå), *S. Typhimurium* (brun) og *S. Agbeni* (gul) i OD 600.

4.3 Mikrobielle analyser i belastningsstudien

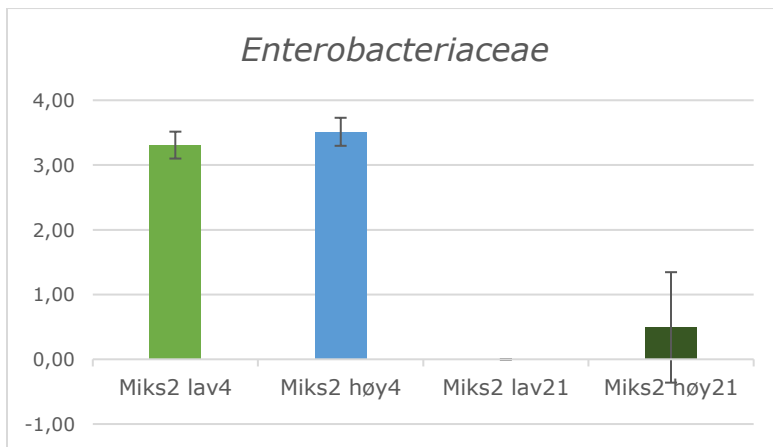
Rosiner XL Mørk, Ananasterninger, Kokosterninger og *Mandelkjerner* fra den nasjonale produsenten ble lagret i sterile bokser i en miks med lav og høy inkuleringsdose med 10^3 bakterier og 10^6 (Figur 4-4). Bilde ble tatt like før inkulering av produktene.



Figur 4-4: Bilde av sterilskap med inokulering av de tørkede fruktene i en miks i sterile bokser.

4.3.1 Påvist vekst av patogener og aerobe bakterier i tørket frukt

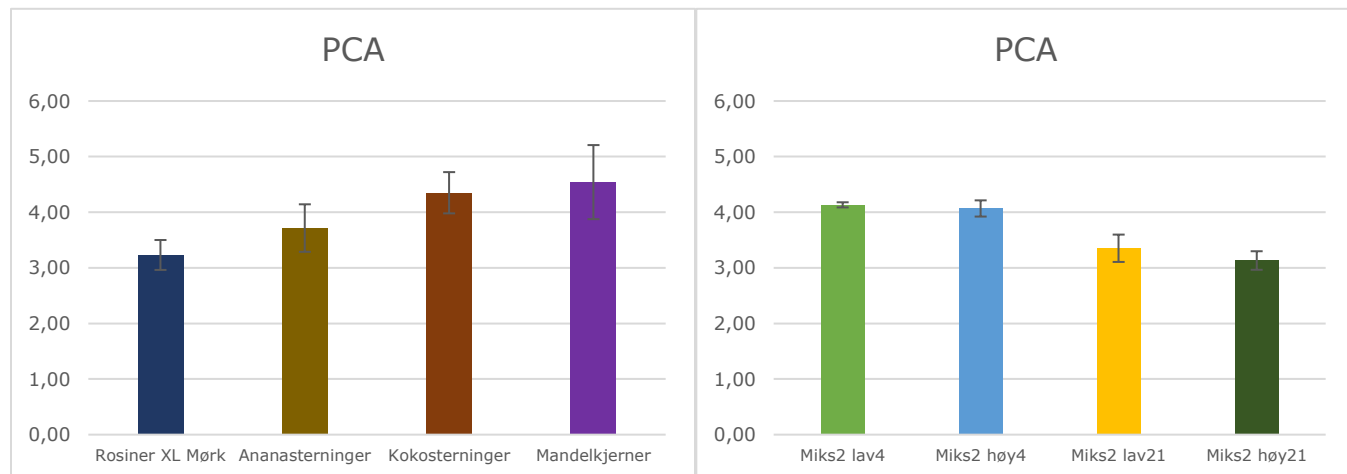
Produktene som ble brukt i belastningsstudien ble testet for ulike patogener og totaltall både før og etter inokulering av *Salmonellamiksen*. Det ble ikke påvist *S. aureus* på noen av produktene verken før eller etter inokulering. Det ble heller ikke påvist vekst av *Enterobacteriaceae* før inokulering. Etter inokulering ble det påvist *Enterobacteriaceae* (Figur 4-5) i miksen i uttak 2 med lav og høy inokuleringsdose oppbevart i 4°C og i miksen med høy inokuleringsdose oppbevart i RT (21°C).



Figur 4-5: Oversikt over vekst av *Enterobacteriaceae* i log₁₀ CFU/ml med standardavvik i miksen ved lav og høy inokuleringsdose ved 4°C og 21°C Miks2 lav4 = miks uttak 2 lav inokuleringsdose i 4°C. Miks2 høy4 = miks uttak 2 høy inokuleringsdose i 4°C. Miks2 lav21 = miks uttak 2 lav inokuleringsdose i 21°C. Miks2 høy21 = miks uttak 2 høy inokuleringsdose i 21°C.

Det var kun vekst på PCA på de ulike produktene før inokulering (Figur 4-6). *Mandelkjerner* hadde størst vekst på totaltall med 4,54 log₁₀ CFU/ml, men det var jevn vekst ved alle

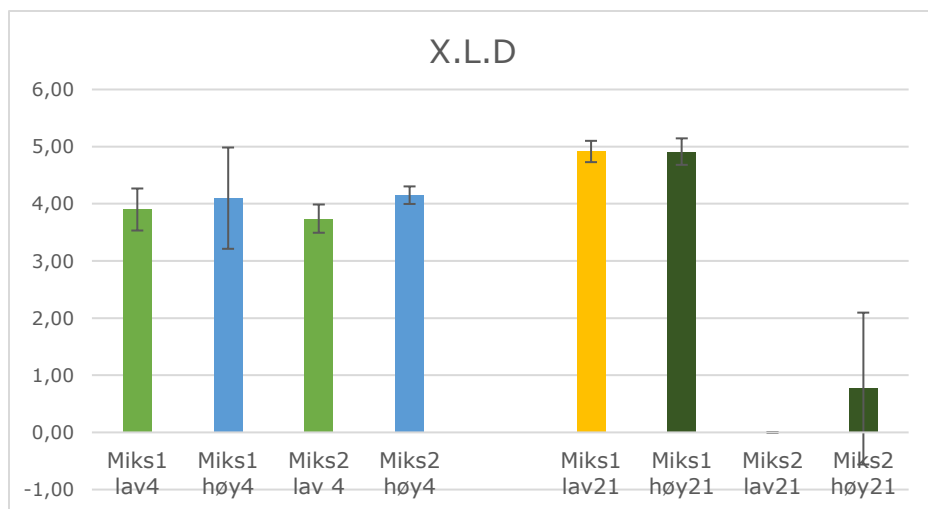
produktene. Det ble påvist vekst av totaltall på alle parallellene i de to uttakene etter inokulering.



Figur 4-6: Oversikt over totaltall i log 10 CFU/ml med standardavvik ved vekst av produktene som ble testet i belastningsstudien før og etter inokulering.

4.3.2 Overlevelse av *Salmonella* i tørket frukt

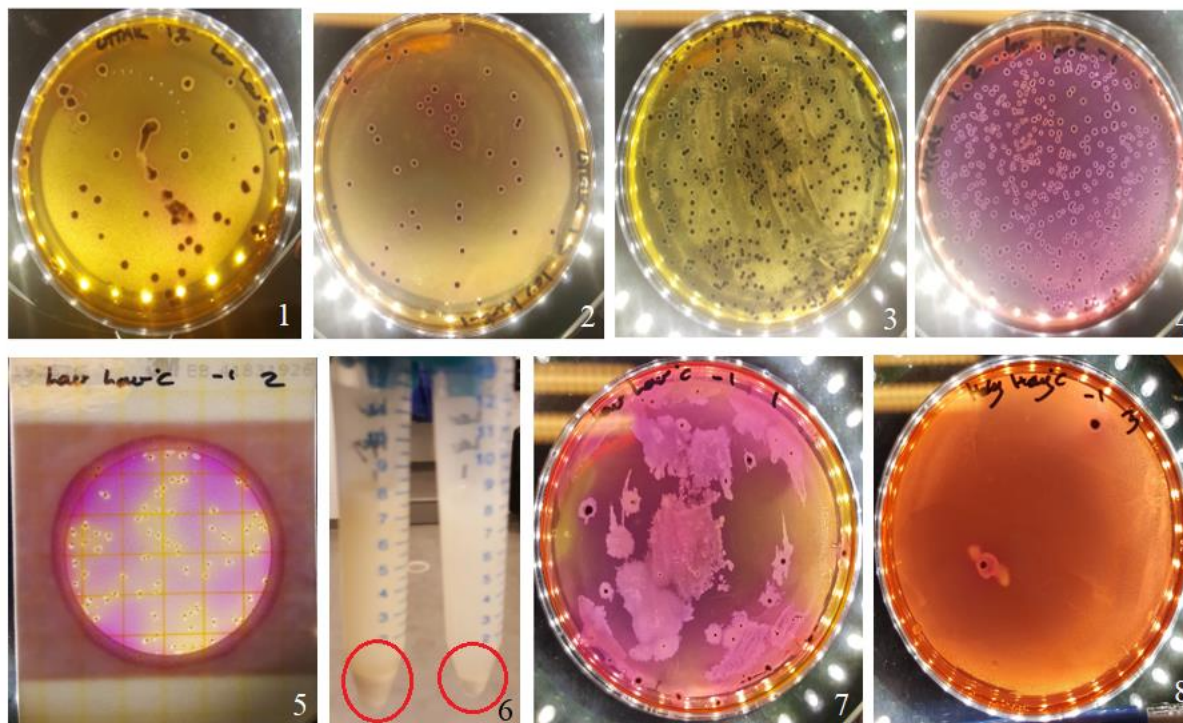
I belastningsstudien analyseres det på overlevelse av *Salmonella* i miks med tørket frukt over tid (Figur 4-7). I begge uttakene ble det analysert på tre paralleller fra samme boks, men figuren viser gjennomsnittsveksten av parallellene. Det var liten forskjell på veksten av *Salmonella* i miksene i begge uttak som ble oppbevart på 4°C uansett inokuleringsdose. Veksten til miksen ved første uttak var lik ved 21°C ved begge inokuleringsdoser. Det var ingen vekst av *Salmonella* i miksen i siste uttak med lav inokuleringsdose oppbevart i 21°C (miks2 lav21). *Salmonella* har overlevd i parallell 3 i miksen med høy inokuleringsdose oppbevart i 21°C (miks2 høy21). Det var stor forskjell på veksten av *Salmonella* i første uttak i miksene oppbevart ved 21°C og i siste uttak oppbevart ved samme temperatur.



Figur 4-7: Oversikt over overlevelse av *Salmonella* i log 10 CFU/ml med standardavvik i første og siste uttak med ulike forhold og inokuleringsdoser i belastningsstudien.

Bildepanelet viser ulik vekst av *Salmonella* på X.L.D fra uttak 1 (bilde 1-4) i belastningsstudien (Figur 4-8). Typisk vekst av *Salmonella* på X.L.D er ifølge Oxoid (2020b), røde kolonier med svart senter. Veksten på de ulike bildene varierer, men alle koloniene var svarte med en klar sone rundt. Alle bildene er tatt fra 10^{-1} fortynning, men med ulik oppbevaring. De to bildene til venstre viser vekst fra miks1 lav4 og de to bildene til høyre viser vekst fra miks1 lav21. Bildene viser at det er god overlevelse av *Salmonella* i produktene etter uttak 1. Bilde 5 viser påvist vekst av *Enterobacteriaceae* på 3M™ Petrifilm™. Koloniene hadde en rosa kjerne med luftboble og gul sone rundt. På bilde 6 er det ringet rundt ulikt bunnfall i rør med 10^{-1} fortynning fra en stomacherpose med Miks2 høy4 (venstre ring) og Miks2 lav4 (høyre ring). Bilde 7 og 8 viser ulik vekst fra siste uttak.

4.3.3 Bildepanel fra første og siste uttak i belastningsstudien



Figur 4-8: X.L.D-skåler med *Salmonellavekst* fra første og siste uttak i belastningsstudien. Bilde 1 og 2 er fra produkt oppbevart ved 4°C med lav og høy inokuleringsdose. Bilde 3 og 4 er fra produkt med lav inokuleringsdose ved RT. Bilde 5 viser vekst på *Enterobacteriaceae* 3M™ Petrifilm™. På bilde 6 er det ringet rundt ulikt bunnfall av 10⁻¹ løsning med miks2 høy og lav inokuleringsdose oppbevart ved 4°C. Bilde 7 og 8 viser ulik type vekst på X.L.D ved siste uttak.

5 Risikovurdering av *Salmonella* i tørket frukt i Norge

5.1 Fareidentifikasjon

Patogener som *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Campylobacter*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Cronobacter*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* og aflatoksinproduserende muggsopp er eksempler på mikrobiell agens som kan vokse i næringsmidler med lite fuktighet (Podolak & Black, 2017, s. 6). Våren 2019 ble det identifisert *Salmonella* i tørket frukt etter et utbrudd i Norge (Mattilsynet, 2020a). *Salmonella* tåler tørre omgivelser og kan derfor overleve i lange perioder i næringsmidler med lite fuktighet (Podolak & Black, 2017, s. 1). Nøtter, frø og tørket frukt blir ofte konsumert rå eller brukt som ingredienser når man tilbereder RTE-produkter, noe som betyr at de ikke mottar tilstrekkelig varmebehandling for å drepe patogener (Food Safety Authority of Ireland, 2018). De tørkede fruktproduktene brukt i belastningsstudien er tilsatt tilsetningsstoffer. Ingredienslisten til *Ananasterninger* inneholder sukker, surhetsregulerende middelet sitronsyre og konserveringsmiddelet svoveldioksid. *Rosiner XL Mørk* inneholder solsikkeolje. *Kokosterninger* inneholder hvetestivelse, glukosefruktosesirup, sukker, dekstrose og fortykningsmidlene xantangummi og johannesbrødkjernemel. *Mandelkjerner* hadde ingen tilsetningsstoffer ifølge ingredienslisten. Disse ingrediensene kan ha en påvirkning på det mikrobielle agens. Konserveringsmidlene brukes for å forlenge næringsmidlenes holdbarhet ved å beskytte mot vekst av patogener. Surhetsregulerende midler endrer eller styrer næringsmidlenes pH. (Mattilsynet, 2012).

Meldesystem for smittsomme sykdommer (MSIS) gir en oversikt over registrerte patogener i Norge (Folkehelseinstituttet, 2020b). Her kan man velge ut ønskede patogener og hvilke årstall man ønsker for så å få frem en tabell over registrerte utbrudd (Tabell 9). Tabellen viser en oversikt over registrerte utbrudd med ulike patogener i Norge fra 2000 til mars 2020. Det har ligget ganske stabilt rundt 1000-1500 tilfeller av salmonellose hvert år siden 2000, men allerede nå (mars) er det rapportert inn 194 tilfeller i 2020.

Tabell 9: En oversikt over rapporterte tilfeller av patogene bakterier i Norge fra 2000 til mars 2020. Tallene til salmonellose er markert med rød kant. Modifisert fra Folkehelseinstituttet (2020b).

Sykdom	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Botulisme	1	-	1	6	1	6	2	-	-	-	1	-	-	8	4	13	1	2	1	1	-
Campylobacteriose	2318	2903	2160	2297	2301	2632	2588	2835	2875	2848	2681	3004	2933	3291	3386	2307	2342	3883	3669	4154	379
E. coli EHEC	7	15	14	18	15	18	53	26	23	115	51	49	75	103	151	221	239	406	494	477	76
E. coli-enteritt	20	28	25	31	30	43	83	85	134	339	247	223	185	136	255	275	232	901	883	1042	170
Listeriose	18	16	21	16	23	14	27	50	34	31	22	21	30	21	29	18	19	17	24	27	4
MRSA	63	118	150	208	228	470	630	604	658	818	909	1060	1204	1483	1867	2234	2534	2569	2567	2474	428
Salmonellose	1474	1905	1499	1526	1586	1490	1803	1649	1942	1234	1366	1290	1372	1362	1118	928	866	992	962	1094	194
Shigellose	136	194	123	129	155	165	137	148	134	153	132	163	77	104	93	85	83	115	102	133	18
Tyfoidefeber	15	17	15	11	14	21	20	29	16	10	16	15	13	10	7	7	16	12	23	13	3
Yersiniose	133	114	100	80	97	125	86	71	50	61	53	60	43	56	211	76	57	67	105	85	13

Salmonella har evnen til å overleve under ugunstige betingelser som i lave temperaturer helt ned mot 2°C, i høye temperaturer opp mot 48°C, pH mellom 3,8 og 9,5 og kan oppformerer i næringsmidler med lav a_w . *Salmonella* er i stand til å overleve i tørkede produkter i flere måneder eller år (Bailey et al., 2010, s. 109-110). Derfor er dette den største mikrobielle agens i tørket frukt selv om tabellen viser at salmonellose kun er det tredje mest registrerte tilfellet av patogener i Norge.

Den nødvendige infeksjonsdosen av *Salmonella* som skal til for å forårsake sykdom hos mennesker er rapportert til å variere mellom ulike serotyper, fra 10^2 til 10^6 bakterier (Kapperud, 2007, s. 132). Dette betyr at man kan bli syk dersom man inntar så lite som 100 bakterier i et infisert produkt.

5.1.1 Registrerte utbrudd av *Salmonella* i Norge, EU og USA

Av de 22 registrerte utbruddene av *Salmonella* fra 2000 til 2020 i Norge (Tabell 10) ble det påvist kun ett utbrudd hvor årsaken var tørket frukt. I fire av utbruddene ble det ikke funnet noen årsak. Tabellen viser at de fleste av årsakene til utbrudd var bearbeidede utenlandske næringsmidler. Dette viser at *Salmonella* kan overleve ulike varmebehandlingstrinn og ulik temperatur. Tabellen viser også at noen av årsakene til utbrudd var lett bedervelige næringsmidler som salater og spirer. I slike produkter vil *Salmonella* få gode vekstvilkår siden disse produktene ofte spises rå av forbruker uten noen form for oppvarming først.

Det er vanlig å finne *Salmonella* i kylling, fjørfekjøtt og egg og dersom produkter ikke varmebehandles godt nok før de forlater fabrikk, er sjansen stor for at man kan få salmonellose av å spise produktene (Veterinærinstituttet, 2020). I 2001 ble det registrert 23 tilfeller av salmonellose med mistanke om mangelfull varmebehandling av egg om bord på et cruiseskip.

Tabell 10: En bearbejdet tabell som inneholder en oversikt over utbrudd av salmonellose i Norge 2000-2019. Oversikten er hentet fra FHI sine sider under utbrudd av salmonellose (Folkehelseinstituttet, 2019d).

Serotype	År	Verifiserte tilfeller	Årsak
S. Typhimurium	2000	30	Pinnsvin
S. Enteritidis	2001	23	Mangelfull varmebehandling av egg på cruiseskip
S. Livingstone	2001	44	Frossen fiskegrateng
S. Typhimurium DT104	2001	-	Tyrkisk godteri
S. Typhimurium	2002	44	-
S. Infantis	2004	70	-
S. Thompson	2004	19	Ruccolasalat
S. Typhimurium DT104	2005	5	Frossen kjøttdeig
S. Typhimurium og S. Infantis	2005	-	Italiensk salami
S. Kedougou	2006	62	Salami
S. Typhimurium	2007	38	Catering
S. Typhimurium	2007	4	Spansk spekepølse
S. Welteverden	2007	19	Alfalfaspirer
S. Java	2007	10	Spinat
S. Java	2008	10	Kielfergen
S. Typhimurium	2008	10	Svensk kjøttdeig
S. Napoli og S. Poona	2010	10 av hver	-
S. Mikawashima	2012	13	-
S. Coeln	2013	26	Salatblanding
S. Typhimurium	2017	21	Serveringssted Gardermoen
S. Enteritidis	2018	16	Krydder
S. Agbeni og S. Gamaba	2019	58	Eksotisk tørket fruktmiks

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) kunne i 2003/2004 rapportere om et utbrudd av *S. Enteritidis* i mandler i USA og Canada med 29 registrerte syke i begge land (Centers for Disease Control and Prevention, 2004). I rapporten til Food Safety Authority of Ireland (2018) (FSAI), rapporteres det at i løpet av 2015 fikk Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) inn 70 varsler for patogener i nøtter, nøtteprodukter og frø. Totalt 69 varsler kom fra *Salmonella* i sesamfrø (64), nigellafrø (1), melonfrø (1), tahini (1), pinjekjerner (1) og ristede hakkede hasselnøtter (1). 61 av 69 varsler om *Salmonella* i 2015 kom fra nøtter og frø som stammer fra India. Siden 2002 har seks varsel om næringsmidler relatert til *Salmonella* blitt rapportert. Fem av varslene var på grunn av *Salmonella* i sesamfrø og ett varsel på grunn av *Salmonella* i peanøtter. Utbrudd av salmonellose, *E. coli* og botulisme er alle rapportert i RTE-nøtter, frø og tørket frukt eller i næringsmidler som bruker disse produktene som ingredienser. Utbruddene var knyttet til inntak av et bredt spekter av kontaminerte rå eller bearbejdede produkter, for eksempel mandler, peanøtter, hasselnøtter, uttørket kokosnøtt, sesamfrø, pinjekjerner, pistasjnøtter, cashewnøtter og anis. FSAI-rapporten nevnte også at CDC rapporterte i 2015 om et utbrudd av *S. Paratyphi* knyttet til et nøttesmørpålegg som berørte 10 personer. I tillegg til to utbrudd i 2016 og 2017. Det ene utbruddet kom av *S. Montevideo* og *S. Seftenberg* og berørte elleve personer

hvorav to ble innlagt på sykehus og årsaken var pistasjnøtter. Det andre utbruddet ble funnet ved en utbruddsundersøkelse i Hellas hvor en epidemiologisk analytisk studie fant en sammenheng mellom infeksjon med en *Salmonella* serotype med den antigene formelen 11: z41: enz15 i sesamfrøprodukter. Utbruddet i 2017 var et utbrudd av *S. Typhimurium* som berørte fem personer i Oregon i USA knyttet til kontaminerte rå hasselnøtter (Food Safety Authority of Ireland, 2018).

CDC har en oversikt over alle utbrudd forårsaket av *Salmonella* mellom 2006 og 2019. Det var til sammen 82 utbrudd, av disse var det 27 utbrudd fra frukt og grønnsaker og 7 knyttet til nøtteprodukter. Av de 27 utbruddene fra frukt og grønnsaker ble det registrert ett tilfelle av tørket frukt, tørket kokos og et hvor det var revet kokos i frosset tilstand (Centers for Disease Control and Prevention, 2020b). I 2019 kunne CDC melde om at en tørket fruktmiks med honningmelon, cantaloupe melon og ananas fra New Jersey ble tilbaketrasket fra markedet på grunn av potensielt funn av *Salmonella*. I februar 2020 ble et tørket fruktprodukt fra New Jersey årsak til et utbrudd av *S. Javiana*, 165 ble syke og 75 av disse ble innlagt på sykehus (Centers for Disease Control and Prevention, 2020a).

I en rapport fra European Centers for Disease Control and Prevention (ECDC) er det en tabell med oversikt over utbrudd av salmonellose i EU-land mellom 2013 og 2017. I rapporten kommer det frem at 30 land rapporterte inn 94 570 tilfeller, hvorav 92 649 ble klassifisert som bekreftet. Antall varsler i EU/EØS per 100 000 innbyggere var 19,6, noe lavere enn i 2016 og den laveste satsen i femårsperioden 2013–2017. De høyeste varslingsratene ble rapportert av Tsjekia og Slovakia hvor det var over 100 tilfeller per 100 000 innbyggere. Den laveste satsen ble rapportert av Portugal med 4,5 tilfeller per 100 000 innbyggere. Andel innenlandske og reiseassosierte saker varierte mellom land, der den høyeste andelen fra 95% til 100% ble rapportert i fra Sør- og Mellom-Europa. De fire nordiske landene (Finland, Island, Norge og Sverige) rapporterte den høyeste andelen reiserelaterte saker, fra 64–76%. Blant de 8 596 reiseassosierte sakene med kjent informasjon om sannsynlig smitteland, var Thailand, Spania, Tyrkia og India de hyppigst rapporterte reisemålene. Rapporten kunne fortelle at av utbruddene hvor serotyper ble bekreftet var *S. Enteritidis* assosiert med kontaminerte egg fra Polen, et utbrudd av *S. Agona* knyttet til forbruket av morsmelkerstatning, et utbrudd av *S. Enterica* opprinnelig påvist i Hellas, koblet noen av utbruddstilfellene til en sesampasta produsert av en gresk produsent. Sesamfrøene som ble brukt til produksjon av sesampasta ble sporet tilbake til et vestafrikansk land (European Centre for Disease Prevention and Control, 2017).

5.1.2 Sporbarhet og tilbaketreknings av næringsmidler

Salmonellose er meldingspliktig og må rapporteres til MSIS ved Folkehelseinstituttet. Det skal meldes ifra dersom *Salmonella* er blitt påvist ved overføring fra dyr til mennesker, overføring fra person til person, eksponering for en felles kilde, konsum av et næringsmiddel, vann der serotyper av *Salmonella* er påvist, eller eksponering for andre smitteførende faktorer i miljøet (Folkehelseinstituttet, 2020a).

Næringsmidler skal ikke omsettes dersom de ikke er trygge. Utrygge næringsmidler som har kommet ut på markedet skal trekkes tilbake. I Matloven § 6 tredje ledd står det at

«virksomheten skal umiddelbart iverksette nødvendige tiltak for å forebygge, redusere eller eliminere eventuelle skadevirkninger, herunder stanse omsetning og iverksette tilbaketrekking fra markedet» (Lovdata, 2004).

For å sikre tilbaketrekking av næringsmidler må næringsmidlene kunne spores. Sporbarhet i verdikjeden handler om å kunne følge og dokumentere et ledd tilbake og et ledd fram i næringskjeden. For alle næringsmidler skal det kunne dokumenteres hvem bedriften har kjøpt fra, solgt til og hva som er kjøpt eller solgt. Det er også god praksis å kunne dokumentere når og hvor mye produkt bedriften har kjøpt eller solgt (Mattilsynet, 2020b). I Matlovsforordningen artikkel 19 første ledd står det at *«næringsmidler, fôr, dyr bestemt til næringsmiddelproduksjon og alle andre stoffer som er bestemt til eller kan forventes å bli iblandet et næringsmiddel eller et fôr, skal kunne spores i alle ledd i produksjon, bearbeiding og distribusjon»* (Lovdata, 2008).

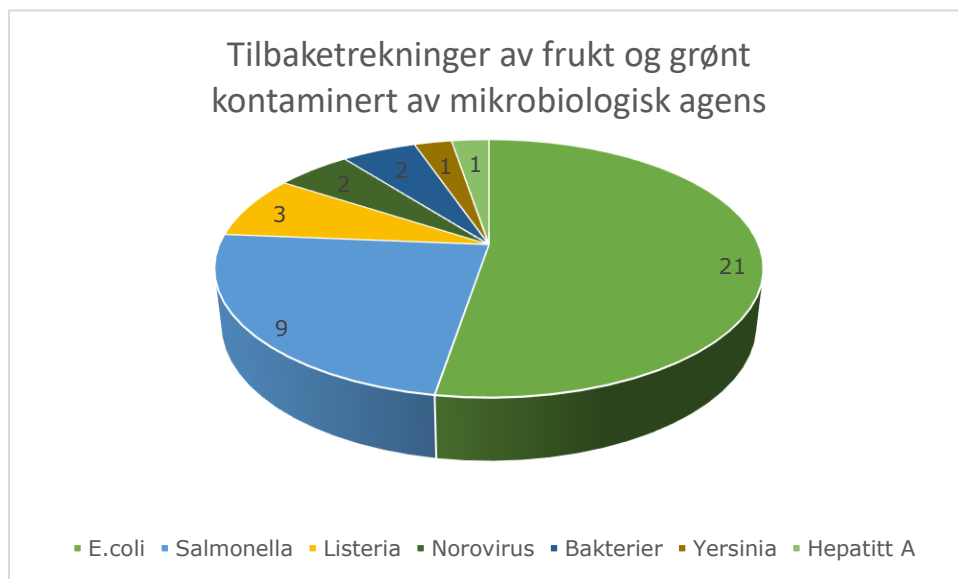
Matportalen har en oversikt over antall tilbaketrekninger som ble registrert i Norge fra 2009 og frem til begynnelsen av 2020 (Matportalen, 2020). Matportalens opplysninger gir en kort forklaring på hvorfor produktene ble trukket tilbake. Disse opplysningene er bearbeidet og satt sammen i Tabell 11. Tilbaketrekningene er systematisert i forskjellige næringsmiddelkategorier og i hver næringsmiddelkategori er det angitt hvilken agens eller grunn som er årsak til tilbaketrekningen. Tabellen viser at det ble registrert 117 tilbaketrekninger av til sammen 340 tilbaketrekninger hvor årsaken var mikrobiologisk agens. Det var 43 tilbaketrekninger som skyldtes kjemisk innhold ved eksempelvis høyt innhold av plantevernmidler og 93 tilbaketrekninger i kategorien allergi, her med tanke på feilmerking og mangelfull merking av allergener. I legemiddel/helsefare var det 12 tilbaketrukkete produkter hvor dette gjaldt kun tabletter og proteinpulver. Feilmerking med tanke på feil produkt hadde 13 tilbaketrekninger, fremmedlegemer karakterisert som annet materiale enn næringsmiddel funnet i produktet, hadde 28 tilbaketrekninger. Kvalitetsavvik der produktet ikke hadde rett kvalitet som for eksempel dårlig farge eller lukt, hadde 14 tilbaketrekninger og til slutt var det 20 tilbaketrekninger i kategorien annet, eksempelvis genmodifiserte produkter.

Tabell 11: Oversikt over tilbaketrekkinger i Norge fra 2009 og til mars 2020. Tabellen viser tilbaketrekningene systematisert i forskjellige næringsmiddelkategorier. I hver næringsmiddelkategori er det angitt hvilken agens eller grunn det er som er årsak til tilbaketrekkingen.

	Mikro- biologisk	Kjemisk	Allergi	Legemiddel/ helsefare	Feilmerking	Fremmed- legemer	Kvalitets- avvik	Annet
Kjøtt	17	0	13	0	1	5	3	2
Fisk og skalldyr	18	5	8	2	1	1	2	0
Frukt og grønt	39	15	8	0	1	4	1	6
Bær	5	0	0	0	0	0	0	0
Tørket frukt og bær	3	2	5	0	0	1	0	0
Ost	7	0	0	0	0	2	1	0
Krydder	4	1	4	1	0	1	0	0
Nøtter	4	1	0	1	1	1	1	0
Sjokolade og godteri	2	0	14	0	2	5	0	1
Saus og lignende	7	3	7	1	0	1	0	3
Drikke	4	1	2	0	3	2	3	2
Korn og pasta	3	4	15	0	3	2	0	2
Melk	2	2	2	0	0	2	1	1
Annet	2	9	2	7	0	0	2	2
Kjeks/ kaker og brød	1	0	13	0	1	1	0	1
Sum	117	43	93	12	13	28	14	20

I kategorien tørket frukt og bær var det tre tilbaketrekkinger med mikrobiologisk agens som årsak, hvorav to tilbaketrekkinger var forårsaket av *Salmonella*. Det ble i kategorien frukt og grønnsaker registrert 39 av 117 tilbaketrekkinger med mikrobiologisk agens. Dette var ubehandlet/rå frukt og grønnsaker. Av disse igjen var ni forårsaket av *Salmonella* (Figur 5-1). I kategorien nøtter (Tabell 11) ble det registrert fire tilbaketrekkinger av mikrobiologisk agens. Ingen av disse var forårsaket av *Salmonella* og ingen av disse var mandler. Det var pistasjnøtter og peanøtter som var trukket tilbake med mugg og aflatoksiner som mikrobiologisk agens. I kategorien for krydder ble det registrert fire

tilbaketrekninger forårsaket av mikrobiologisk agens. En av disse var gurkemeie og ble trukket tilbake på grunn av mistanke om *Salmonella*, de resterende var for mugg og *Listeria*.



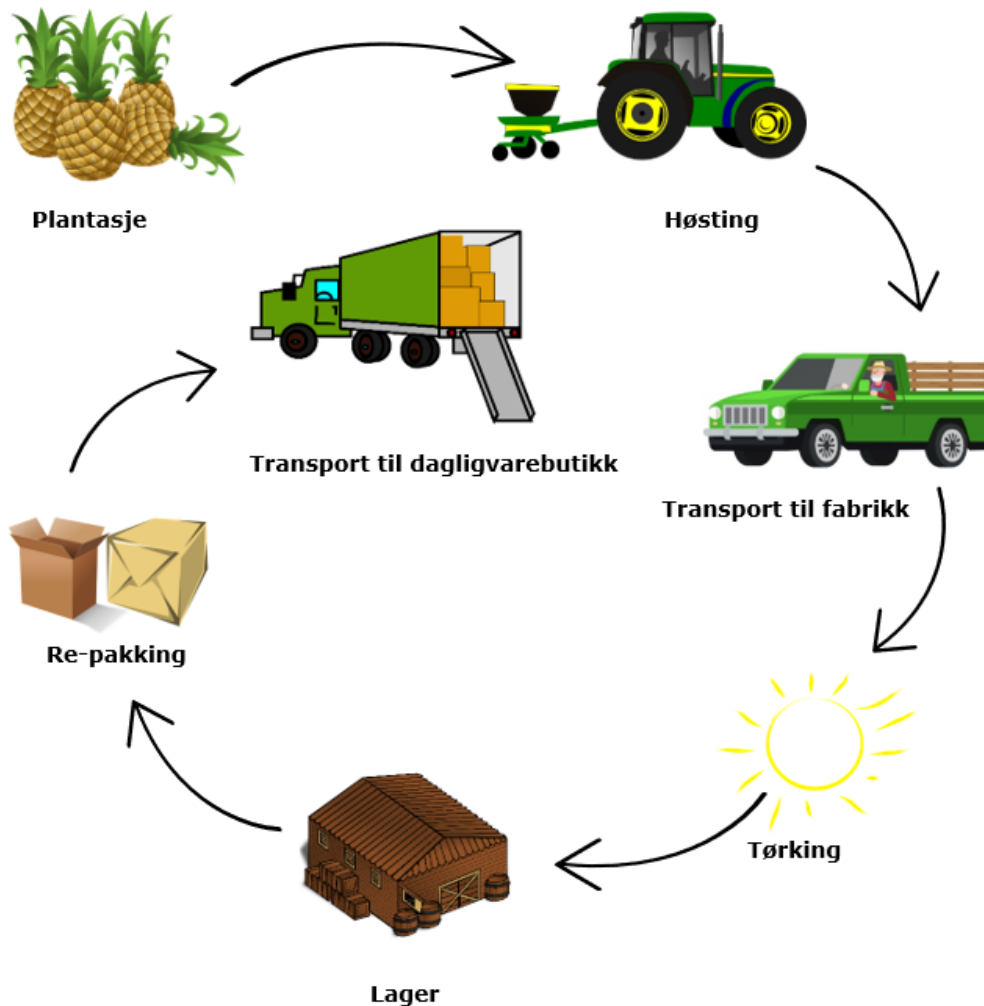
Figur 5-1: Antall tilbakekninger av frukt og grønt i tidsrommet 2009 til mars 2020 i Norge som skyldtes kontaminasjon av mikrobiologisk agens.

Alle produktene som ble testet i denne studien kom fra samme nasjonale produsent. Denne nasjonale produsenten har vært behjelpelig med informasjon om hvordan deres sporing av produkter foregår.

Det første som må være på plass når det er mistanke om at produkt er kontaminert er informasjon om hvilket produkt, Lot.nr. og pakkedato. Med denne informasjonen kan man finne ut fra hvilken batch produktet kommer fra. Når batchen er lokalisert kan man finne ut hvor stor mengde det er snakk om. Flere batcher kan ha samme produksjonsdato og er det snakk om tilbaketrekking av produktet er det viktig å få informasjon om hvor stort omfanget er, om produktet er hos produsent eller er ute i butikk. Det er viktig å få sperret av produktet slik at det ikke kommer ut til forbruker, før videre sporing. Ved videre sporing blir lagerleverandøren av det spesifikke produktet kontaktet. Det er leverandøren som har informasjon om hvilket land produktet kommer fra og hvilken mindre leverandør som råmaterialet kommer fra. Informasjon fra denne leverandøren kan være dato for høsting, tørking og transport til lagerleverandør. I tillegg ved mistanke om mikrobiell kontaminering av produktet kan informasjon om hvilken tørkemethode som er blitt brukt være av interesse (Mail fra leverandør i Italia datert 22.04.20).

5.1.3 Mulige farer i verdikjeden til tørket frukt

Nøtter, frø og tørket frukt kan være kontaminert med patogener under vekst, høsting eller prosessering. Det blir da viktig å få en oversikt over verdikjeden (Figur 5-2) til tørket frukt for å kunne vurdere hvilke agens som kan forekomme.



Figur 5-2: Verdikjeden til produkter av tørket frukt består av ulike trinn som planting og utvikling av frukt på plantasjene, høsting av frukt, transport av innhøstet frukt til fabrikk, tørking av frukt, lagring av den tørkede frukten, re-pakking av tørket frukt før transport til dagligvarebutikk.

En rekke kilder kan kontaminere disse produktene. Dette kan være kilder som:

- Kontaminert vann brukt til vanning eller til å påføre plantevernmidler og soppdrepende midler.
- Kloakk fra mennesker eller dyr brukt som gjødsel.
- Husdyr- eller villdyrkontakt med avlingen.
- Kontaminert vann som brukes til å vaske avlingen etter høsting.
- Kontaminert utstyr som brukes til å vaske, behandle eller pakke avlingen.
- Kontaminerte kjøretøyer, kasser eller lagringsområder brukt i distribusjon.
- Krysskontaminering under tørking.
- Krysskontaminering under tilberedning av næringsmidler eller i hjemmet.

(Food Safety Authority of Ireland, 2018).

Vann

Vann brukes hovedsakelig til vanning av planter og kvaliteten vil variere avhengig av om det er overflatevann eller drikkevann. Vann kan være en kilde til kontaminering med mikroorganismer. Overflatevann fra bekker og innsjøer kan være kontaminert med patogene protozoer, bakterier og virus. Overføringen av matbårne patogene mikroorganismer fra vann til frukt og grønnsaker vil avhenge av vanningsteknikk og organisme. Tryggheten til behandlet avløpsvann avhenger av effektiviteten og påliteligheten av behandlingene for å inaktivere patogener. Kraftig regn og vind kan gi andre muligheter for overføring av mikroorganismer fra jord til planteflater (Scientific Committee on Food, 2002).

Kloakk og gjødsel

Husdyrgjødsel er en åpenbar kilde til patogener gjennom kontaminert jord, vann, avlinger, dyr og mennesker sitt avrenningsvann fra gjødselarealer og vanningsvann som inneholder husdyrgjødsel. Mange infeksjonsutbrudd har vært assosiert med vann eller næringsmidler inkludert bearbejdet frukt og grønnsaker, direkte eller indirekte kontaminert med husdyrgjødsel. Krysskontaminering av råvarer fra husdyrgjødsel eller feil kompostert husdyrgjødsel som brukes på gårder kan være en kilde til kontaminering av patogener. Selv om konkurranse med jordmikroorganismer og ugunstige miljøforhold kan redusere antall patogener, er det lite informasjon om i hvilken grad disse patogenene kan overleve i gjødselendret jordsmonn eller i jord irrigert med kontaminert vann (Scientific Committee on Food, 2002).

I studien Islam et al. (2004) er det testet tre forskjellige typer kompost og vanningsvann. Dette ble inokulert med en stamme av *Salmonella* Typhimurium ved henholdsvis 10^7 CFU og 10^5 CFU. Dette for å se om *Salmonella* overlevde i jord, kompost, i vanningsvann og også om bakterien kunne overføres til gulrøtter og reddiker dyrket i disse kontaminerte jordsmonnene. *Salmonella* overlevde i jordprøver i 203-231 dager og ble påvist etter at frø ble sådd i henholdsvis 84 og 203 dager på både reddiker og gulrøtter. Overlevelse av *Salmonella* på grønnsaker og jordprøver i kontaminert vanningsvann var lik de som ble observert for kompost. Derfor kan både kontaminert gjødselkompost og vanningsvann spille en viktig rolle i å kontaminere jord og rotgrønnsaker med *Salmonella* i flere måneder.

Kontaminering av jord

Plantasjeborden er et rikt reservoar for en rekke mikroorganismer og den ikke-patogene floraen er viktig for mineralisering av planter i miljøet. Egenskaper hos denne floraen kontaminerer frukt og grønnsaker og kan forårsake skader under transport og lagring av produkter, og derved utsette dem for ytterligere mikrobielt angrep. I tillegg er jord et reservoar for patogene organismer fra mennesker og dyr. Disse kan finnes i jorden på grunn av vanning og befruktning med husdyrgjødsel. Fekal opprinnelse til disse gjødslingene indikerer imidlertid en potensiell risiko for kontaminering av virus, bakterier og parasitter som er patogene for mennesker. Bakteriearter av *Enterobacteriaceae* som *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *E. coli* samt *Campylobacter* kan finnes i tarmsystemet til et bredt spekter av husdyr og ville dyr (Scientific Committee on Food, 2002).

Salmonella og andre patogener og sykdommer er blitt identifisert i en rekke skadedyr, inkludert edderkopper, fluer, slanger, kakerlakker, gnagere, flaggermus, katter, hunder og fugler. Å etablere ingredienshåndteringsmetoder for å minske risikoen for at disse kommer inn i anlegget og å utløse indikatorer for økt skadedyraktivitet, er med på å gi beskyttelse for anlegg og næringsmidler (Grasso-Kelley, Kataoka & Lucore, 2017, s. 49).

Høsting og prosessering

Høsting av frukt og grønnsaker inkluderer håndtering, lagring, transport og rengjøring. Under denne praksis kan det oppstå forhold som fører til krysskontaminering av produktene fra andre landbruksmaterialer eller fra arbeidere. Miljøforhold og transporttid vil også påvirke produktets hygieniske kvalitet før bearbeiding eller forbruk. Dårlig håndtering kan skade ferskvarer, noe som gjør produktet mottakelig for vekst/overlevelse av ødeleggelses- og patogene mikroorganismer. Denne skaden kan også oppstå under emballasje og transport. Tilstedeværelsen av kuttete og skadede overflater gir en mulighet for kontaminering, vekst av mikroorganismer og inntrengning i plantevev. Mangel på passende hygiene og renholdsanlegg i produksjonsområdet kan potensielt skape et hygienisk problem. Dette ser ut til å være spesielt viktig når det gjelder overføring av enteriske virus og bakterier. Rent, godt designet og vedlikeholdt utstyr er mindre sannsynlig å forårsake skade på ferske råvarer og innføre ødeleggelses- og patogene mikroorganismer. Skitne lagringsfasiliteter og tilstedeværelse av gnagere, fugler og insekter kan øke risikoen for kontaminering med matbårne patogener (Scientific Committee on Food, 2002).

Den første vasken av frukt og grønnsaker ved innhøsting fjerner mye av jord og smuss som henger fast på overflaten. Imidlertid bør det erkjennes at vask også kan være en kilde til mikrobiell kontaminering. Selv om vasking brukes, er effektiv vasking og dekontaminering av ferdig frukt og grønnsaker vanskelig. Det har vist seg at effekten av vasking ved å redusere antall bakterier som er til stede, er liten med reduksjoner på 0,1-10 enheter. Ulike desinfeksjonsmidler kan brukes for å redusere den mikrobielle belastningen på frukt og grønnsaker. Trygghetsvurderinger av disse stoffene og de juridiske kravene til slike behandlinger må imidlertid også tas med i betraktning. Hensikten med å bruke disse midlene er å kontrollere patogener i planter og næringsmiddel eller ødeleggelsesorganismer. Effekten av desinfeksjonsmidler ved kontaminasjon av næringsmidler avhenger av mange faktorer inkludert konsentrasjonen som brukes, behandlingstid, temperatur, pH og følsomheten til de mikrobielle organismene. Klor er den viktigste forbindelsen som brukes til desinfisering av ferske råvarer. Bruken av klor sikrer imidlertid ikke eliminering, men en effektiv reduksjon i patogennivåer (Scientific Committee on Food, 2002).

Å kutte, skive, skrelle og rive skader beskyttelsesoverflatene på planten eller frukten. Det er forskjellige konsekvenser for mattrygghet knyttet til denne behandlingen. Under vasking vil noen mikroorganismer bli fjernet fra produktet, næringsstoffer vil bli tilgjengelige, og patogener kan spres fra kontaminerte deler til ukontaminerte deler. Skive- og kuttemaskiner kan være potensielle kontamineringskilder, siden de vanligvis kan ha utilgjengelige steder inne i maskinen hvor bakterier kan vokse og disse er vanskelig å vaske. Tilstedeværelsen av avskårne overflater gir en økt overflate for kontaminering og vekst og tillater mikrobiell infiltrasjon. Å utsette frukt og grønnsaker for forskjellige typer

kutting har vist seg å resultere i en seks til sju ganger økning i mikrobielle tall (Scientific Committee on Food, 2002).

Tørking

Tørking er en av metodene som brukes til å bevare frukt ved dehydrering hvor mikroorganismer ikke kan vokse og reaksjonshastigheten bremser. Tørkemethodene som brukes for de tørkede fruktene brukt i denne masteroppgaven var soltørking og tørketunnel med varmluft (Mail fra leverandør i Italia datert 22.04.20).

Naturlig soltørking av frukt praktiseres fremdeles stort sett uendret fra antikken i mange tropiske og subtropiske land. Denne metoden er den billigste og brukes med suksess ved blant annet drueproduserende land. Ved åpen soltørking kan en del av solstrålingen trenge gjennom frukten og bli absorbert i selve produktet, generere varme i det indre av frukten så vel som på dens overflate og dermed øke varmeoverføringen. Fruktenes solstråleopptak er en viktig faktor i direkte soltørking. I denne metoden spres frukten i et tynt lag på bakken. Den blir snudd med intervaller for å få et jevnt tørket produkt. Tørketiden som kreves varierer. For naturlige druer er det 20 dager, for forbehandlede druer (kjemisk eller fysisk forbehandling og blansjering for å fjerne vokslaget) er åtte til ti dager og for kokos fem til syv dager. I denne metoden kan det være rom for kontaminering av de tørkede fruktene. Direkte eksponering for intens solstråling kan også føre til fargeforringelse. De uventede værforholdene kan forverre situasjonen ytterligere (Jairaj, Singh & Srikant, 2009).

Åpen soltørking av frukt dekket med en plastfilm er en utviklet metode. I denne metoden er frukt spredt på en plattform dekket med en gjennomsiktig plastfilm, slik at den beskyttes mot kontaminering til en viss grad og værrisikoen reduseres. Den vendes manuelt med intervaller for jevn tørking. I dette tilfellet blir tørketiden redusert med en dag. Kvaliteten på eksempelvis rosiner er mye bedre i forhold til når de tørkes uten en gjennomsiktig plastfilm. Soltørking der luft varmes opp av solenergi, er det mest levedyktige alternativet for de fleste utviklingsland. Det er viktig å kontrollere temperaturen for å øke effektiviteten til tørkesystemet. I soltørking brukes solenergi som enten den eneste kilden til den nødvendige varmen eller som en supplementskilde. Soltørkingsmetoder brukt til tørking av ulike typer frukt er stort sett klassifisert i direkte eller indirekte solstråling. I den direkte typen soltørking blir frukt utsatt direkte for solstråling eller en kombinasjon av direkte solstråling samt reflektert stråling. I den indirekte typen soltørking eksponeres ikke frukten direkte for solstråling, men luft oppvarmet med solstråling får strømme gjennom den. I den blandede typen av soltørking blir frukt utsatt for solstråling og varm luft får også strømme gjennom den. I den naturlige sirkulasjonsmodusen blir luft oppvarmet og sirkulert gjennom frukten naturlig med kraft eller som et resultat av vindtrykk eller en kombinasjon av begge deler. I tvungen sirkulasjonsmodus sirkuleres oppvarmet luft gjennom frukten ved hjelp av motoriserte vifter eller pumper (Jairaj et al., 2009, s. 431; Somogyi et al., 1996, s. 420-423).

For kokosnøtter må de delte nøttene tappes og legges på bakken med den åpne siden vendt mot solen etter vask med kaldt rent vann, for å forhindre utvikling av mugg. Etter to dager kan kjøttet fjernes fra skallet og tørkes ytterligere i tre til fem dager. I stedet for å plassere nøttene direkte på bakken, blir det anbefalt bruk av stativer, skur eller betonggulv med et

bevegelig belegg. Åtte timer med soltørking med lav luftfuktighet er tilstrekkelig til å fjerne halvparten av fuktigheten som må bort før produktet er kommersielt tørt. Ovnstørking følger etter denne forbehandlingen (Somogyi et al., 1996, s. 420-423).

Mandlene soltørkes ferdig i treet og når de er klare høstes de fra bakken, transporteres inn i vogner eller tilhengere som brukes til å transportere mandler til en huller/skreller. Både mandler med skall og mandelkjerner skilles og graderes før de pakkes og sendes ut på markedet eller videre til bearbeiding. Mandler lagres vanligvis i kasser ved 24°C i et temperaturisolert lager (Western Institute for Food Safety & Security, 2016).

Å tørke frukt på bakken i solen har flere ulemper. Det kan gi dårlige produkter på grunn av regn, vind, fuktighet, støv, tap av råvarer på grunn av fugler og dyr eller ødelegge høstede avlinger ved nedbrytning, insekter og sopp. Videre er prosessen arbeidskrevende og krever et stort område for å spre fruktene til tørk. Soltørking er en vanlig jordbruks- og landbruksprosess i mange land, spesielt der utetemperaturen når 30°C eller høyere. Videre kan enhver direkte eksponering for solen i løpet av dager med høy temperatur forårsake herding av frukten, der det utvikles et hardt skall på utsiden av produktene og fanger fuktighet inni dem (A. Sharma, Chen & Vu Lan, 2009).

Ananas modnes ikke og smaken forbedres ikke på noen måte etter at den er plukket. Derfor er det viktig å bearbeide frukten så snart som mulig etter høsting for å minimere forringelse. Høsting av frukt kan skje manuelt eller halvmechanisert. Mengden frukt som er lagret i mottaksområdet bør være minimal og et system må være utarbeidet for å behandle den eldste frukten først, samtidig som en blanding av størrelser opprettholdes. Frukten må vaskes før den behandles. Den endelige vaskingen gjøres ved hjelp av spray med klorert vann. Bløtlegging av frukten før sprayvask er fordelaktig (Somogyi et al., 1996, s. 338-340). Siden ananas veldig lett blir forslått og ikke kan lagres over lengre perioder, er utformingen av lagringsanlegget viktig (Somogyi et al., 1996, s. 342).

Skrelt og utkjernet ananas kan skives, tilsettes sulfat og tørkes ned til 15-20% fuktighet i tørketunnel. Det brukes relativt lav luftinntakstemperatur på cirka 65°C. Ananasbiter blir delvis tørket ved osmose i sukkeropløsning, hvor resterende tørking kan fullføres i en vakuamtørker (Brennan, 1994, s. 168).

I tørketunnel blir ananas tørket på brett som er stablet og som er programmert til å bevege seg semi-kontinuerlig gjennom en isolert tunnel. Ulike typer luftstrøm brukes avhengig av produktet. Frukt og grønnsaker tørkes vanligvis til 15-20% fuktighet i en 20 meter tunnel. Den delvis tørkede frukten blir ofte sendt i en vakuamtørker for videre tørking. Denne muligheten til å tørke store mengder næringsmidler på relativt kort tid gjør at tørketunnel blir mye brukt ved tørking av ananas (Fellows, 2009, s. 511).

Transport, lagring og pakking

Den ferdige frukten legges i poser og andre transittenheter og fraktes med lastebil til pakkeriet. Når den ankommer overføres frukten til pakkeriet og deretter lagres den i containere og bokser som er tildekket i et lager med god ventilasjon i omgivelsestemperatur. Det er mye manuelt arbeid som brukes til å transportere og pakke

produktene før og etter prosessering. Gaffeltruckkjørere, kvalitetsteknikere, sorterere og linjedirektører er involvert i pakkeprosessen. De tørkede fruktene kommer fra ulike land og det varierer om pakkeriene har flere produkter som pakkes på pakkelinjen per dag. For rosiner og mandler pakkes kun disse produktene på pakkelinjen, mens det blir pakket fire ulike ananasprodukter på pakkelinjen i løpet av dagen. Felles for produktene er at de blir pakket i kasser på 10 kg med polyetylenposer og plassert i containere. Den tørkede frukten blir transportert i forseglede containere som blir levert til havn for å bli lastet med skip og sendt til kunde. Ved ankomst blir varene overført til leverandør med lastebil (Mail fra leverandør i Italia datert 22.04.20).

Krysskontaminering og hygiene ved re-pakking av produkter

Riktig hygienisk utforming, regulering og utforming av lokaler og rom er avgjørende for å sikre at inntreden av patogener i bedrifter blir redusert. I bedrifter som behandler og pakker næringsmidler med lite fuktighet, bør tørre prosesseringsområder utformes for å forhindre vekst og minimere sannsynligheten for at et patogen blir etablert. Råstoffhåndtering, forbehandling og andre områder som vedlikeholdsområder, avfallsområder og toalettanlegg bør inndeles i rene og urene soner (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2018). Den dårlige hygieniske utformingen av utstyr kan ofte være årsaken til disse problemene. Det må legges vekt på riktig design av utstyr og nyttige anbefalinger i denne forbindelse samt retningslinjer for validering av utstyrets renhold. Riktig hygienisk utforming og riktig vedlikehold av utstyr er avgjørende for å unngå rekontaminering. Noen patogener kan bli etablert i prosesseringsmiljøet og finne nisjer der de kan overleve i lange perioder. Sprekker i gulv og vegger, grensesnitt, hule strukturer i produksjonsbygningen eller i utstyr kan danne slike nisjer. Mangelfullt eller tilsmusset emballasjemateriale kan også være ansvarlig for å tillate rekontaminering under re-pakking av produkter. (Reij, Den Aantrekker & Ilsi Europe Risk Analysis in Microbiology Task, 2004).

Dårlig hygienisk design, vedlikehold og renhold av maskiner i tørket frukt kan bidra til kontaminering av *Salmonella* og andre patogener. Hvis ingredienser ikke re-pakkes eller lagres på en tilstrekkelig måte fungerer de potensielt som en kilde til patogen kontaminering for bearbejdede ferdigprodukter (Carrasco, Morales-Rueda & García-Gimeno, 2012). Hygienekravene til de ansatte som prosesserer de tørkede fruktene i masteroppgaven følger cGMPs og er i tråd med Food and Drug Administration (FDA)-standarder. Før personalet går inn i prosesseringsrommet skifter de til rent tøy og bytter sko. De får også utlevert passende utstyr som hodeplagg, hansker, hørselsvern, skjeggbind og masker. Deretter går de til en vaskestasjon hvor de vasker og desinfiserer hendene (Mail fra leverandør i Italia datert 22.04.20).

Krysskontaminering av næringsmidler i hjemmet

Ikke alle forbrukere har tilstrekkelig kunnskap til hygienisk håndtering av næringsmidler på eget kjøkken (Norges Miljø- og Biovitenskapelige Universitet, 2019). En av de vanligste årsakene til matforgiftning i hjemmet er utilstrekkelig oppvarming eller for sen nedkjøling av næringsmidler, lagring av næringsmidler ved høy kjøletemperatur og utilfredsstillende renhold. Ikke alle forbrukere bytter redskap mellom ulike råvarer og rå/behandlende næringsmiddel. Det er også usikkerhet rundt hygiene og vasking av hender før håndtering av ulike råvarer og etter toalettbesøk (Matportalen, 2019).

5.2 Farebeskrivelse

5.2.1 Sykdom og helsekonsekvenser ved *Salmonellautbrudd*

Personer som får påvist salmonellose utvikler symptomer som diaré, feber, magekramper og nedsatt allmenntilstand. Dette skjer 12 til 72 timer etter at infeksjonen inntreffer. Sykdommen varer vanligvis i fire til syv dager og de fleste blir friske uten behandling (Bailey et al., 2010, s. 108). Salmonellose kan gi tre hovedtyper av sykdom som gastroenteritt, blodforgiftning og tyfoidefeber. I noen tilfeller kan infeksjonen fra salmonellose føre til mer kroniske tilstander som leddgikt eller endokarditt, som ofte er assosiert med serotypene *S. Typhimurium*, *S. Dublin* eller *S. Choleraesuis* (Ricke et al., 2013, s. 114).

De som er i risikogruppen er eldre, spedbarn og personer med nedsatt immunforsvar og disse gruppene har størst sannsynlighet for å utvikle en alvorlig sykdom av salmonellose (Bailey et al., 2010, s. 108). Immunsystemet spiller en viktig rolle i å fjerne patogener fra menneskekroppen, noe som påvirker mulige helseeffekter. Barn, nyfødte, eldre og gravide er immunologisk forskjellige fra friske voksne. Barn og eldre anses vanligvis som mer mottakelige på grunn av umodenhet eller andre mulige svakheter i immunforsvaret og redusert evne til å komme seg. Spedbarn har ikke vært utsatt for det store spekteret av mikrobielle stressorer som er nødvendig for å gi beskyttelse. Atferd som påvirker eksponeringsmønstre, kan også være relatert til alder. Små barn tilbringer de to første årene nær bakken hvor de kryper eller leker. Avhengighet av hender for å bevege seg, aktivitet til munn og å spise med hender i motsetning til bruk av redskaper øker muligheten for eksponering og inntak av patogene mikroorganismer sammenlignet med mer modne individer (Environmental Protection Agency, 2012).

I rapporten til ECDC er det en figur som viser en oversikt over fordeling etter alder og kjønn av salmonellosetilfeller per 100 000 innbyggere i EU 2017. Den høyeste varslingsraten for salmonellose ble observert blant spebarn og små barn mellom null og fire år, med 94,1 tilfeller per 100 000 innbyggere. Hyppigheten hos små barn var nesten tre ganger høyere enn hos eldre barn og åtte ganger så høy som hos voksne mellom 25 og 64 år (European Centre for Disease Prevention and Control, 2017).

I Norge har FHI en oversikt over hvilken aldersgruppe som er blitt mest utsatt ved registrerte salmonelloseutbrudd. De fleste som ble syke mellom 2011 og 2018 var i aldersgruppen 20-49 (399) og de over 50 (365). Det var færre barn som ble syke enn voksne. Barn under 1 år registrerte 26 tilfeller, 1-9 år hadde 87 tilfeller og 10-19 år hadde 84 registrerte tilfeller mellom 2011 og 2018 (Folkehelseinstituttet, 2019c).

5.2.2 a_w i tørket frukt

Lav a_w er en barriere for vekst for mange patogener, inkludert *Salmonella*. Vann i næringsmidler som ikke er bundet til andre molekyler kan støtte veksten av bakterier, mugg og gjær. a_w er en indikator på stabilitet med hensyn til mikrobiell vekst, biokjemiske reaksjonshastigheter og fysiske egenskaper (Podolak & Black, 2017, s. 1-4).

Salmonella vokser normalt ikke i næringsmidler med en a_w -verdi lavere enn 0,93. I frisk frukt og grønnsaker ligger verdien fra 0,95-1,00 (Bailey et al., 2010, s. 110). Den tørkede frukten som ble brukt i masteroppgaven lå alle rundt 0,3-0,4.

I artikkelen til Mattick et al. (2001) ble det påvist at varmetoleransen for celler i lav a_w -medium justert med glukose-fruktose eller sukrose ble økt ved temperaturer $>70^\circ\text{C}$, mens det motsatte ble observert for temperaturer under 65°C . Det vil si at *Salmonella* tåler varmebehandling over 70°C bedre i næringsmidler med høyt sukkerinnhold. I tillegg binder sukker vann i næringsmidler og a_w senkes. Denne informasjonen kan være avgjørende for næringsmiddelprodusenter, spesielt med tanke på utformingen av viktige dødelighetstrinn som kan brukes under produksjon. Siden både *Kokosterninger* og *Ananasterninger* inneholdt tilsatt sukker kan disse produktene være mer motagelig for *Salmonella* også etter tørkingen.

5.2.3 Vekst og overlevelse av *Salmonella* i tørket frukt, mandler og nøtter

Som nevnt tidligere er *Salmonella* i stand til å overleve i tørkede produkter i flere måneder eller år (Bailey et al., 2010, s. 111) Dette samstemmer med resultatene i belastningsstudien i denne masteroppgaven. *Salmonella* kan overleve i tørkede fruktprodukter og i mandler når den først er etablert i produktet. Den overlever i ulik temperatur som både i 4°C og 21°C i en lengre periode og i produkter med en a_w mellom 0,3 og 0,4. Resultatene viser at *Salmonella* overlever best ved 4°C etter cirka tre måneder, mens det kommer an på mengden inokulerte bakterier om den overlever ved 21°C i like lang tid.

I studien til Center for Food Safety (2014) ble det sett på *Salmonellas* evne til å overleve på tørket frukt som påvirket av forhold som ble brukt til å dyrke celler før inokulering, inokulasjonsmetode og lagringstemperatur etter inokulering. Det ble påvist at *Salmonella* med en startpopulasjon på 6,57-7,01 log 10 CFU/ml, overlevde på inokulerte tyttebær, daddelpasta, rosiner og jordbær ved en lagringstemperatur på 25°C i henholdsvis 21, 84, 21 og 42 dager. Den overlevde også ved 4°C på tyttebær, daddelpasta og rosiner i åtte måneder og på jordbær i seks måneder.

I studien til L. R. Beuchat, Heaton og Beuchat (1975) overlevde *Salmonella* 32 uker i pekannøtter ved temperaturer på -18 , -7 , 5 og 21°C . Det ble testet med tre ulike serotyper i både hele og delte pekannøtter. Veksten til *S. Typhimurium*, *S. Seftenberg* og *S. Anatum* ved 21°C var lavere enn ved de andre temperaturene. Hele pekannøtter hadde bedre overlevelse av de tre serotypene ved 21°C enn for delte pekannøtter. Overlevelsen ved de andre temperaturene var større i delte enn ved hele pekannøtter.

I studien til Uesugi, Danyluk, Harris og Uesugi (2006) overlevde *Salmonella* 175 dager (cirka seks måneder) i mandler ved alle temperaturene. Hele mandelkjerner ble inokulert med *Salmonella* Enteritidis fagtype 30 til 7,1 eller 8,0 log 10 CFU/mandel.

5.3 Eksponeringsvurdering

Etter utbruddet av *Salmonella* i eksotisk miks i 2019 ønsket Mattilsynet å kartlegge om *Salmonella* er til stede i produkter som tørket frukt, bær og nøtter. Derfor satte Mattilsynet i gang et overvåkings- kartleggingsprogram (Mattilsynet, 2020a). I overvåkingsprogrammet ble det tatt ut 166 prøver, hvor hver prøve ble analysert for to parallelle analyser av *Salmonella*. Samtlige 330 analyseresultater var negative. Antall prøver er foreløpig for lave til å si noe om tilstanden for hele det norske markedet, derfor vil Mattilsynet også i 2020 ta prøver av spiseferdige tørkede produkter som nøtter, tørkede frukt og bær for å få mer data.

I FSAI sin rapport fra 2018, testet de 890 prøver med RTE-nøtter, frø og tørket frukt i perioden 31. oktober til 1. desember i 2015. Av disse prøvene fant de to prøver som inneholdt *Salmonella*. De utilfredsstillende prøvene var nigellafrø og malte mandler fra India som ble importert til Irland via en britisk grossist. *S. Elomrane* og *S. Mikawasima* ble isolert (Food Safety Authority of Ireland, 2018). Disse produktene over ble også trukket tilbake i Norge vist i Tabell 11 under kategoriene tørket frukt og bær, krydder og nøtter.

I totaloversikten 2018 er det laget en oversikt over salg av tørket frukt og nøtter i Norge mellom 2010 og 2018. I 2018 var tallet på 14,5 tonn totalt for nøtter og tørket frukt. Dette tallet har gått litt opp og ned på de åtte årene, men er stort sett stabilt rundt 14-15 tonn. Tabellen viser også kg per person, og i 2018 lå denne på 2,73 kg. Norge importerte over 537 000 tonn frisk frukt og grønnsaker i 2018 (Opplysningskontoret for Frukt og Grønt, 2019).

I rapporten til Helsedirektoratet (2019) hadde forbruket av grønnsaker, frukt og bær økt betydelig over tid, men økningen fortsatte ikke de senere årene. I perioden 2008–2018 økte forbruket av grønnsaker fra 74 til 78 kg. Forbruket av frukt og bær gikk ned fra 94 til 87 kg/person per år. Fra 2017–2018 har både forbruket av grønnsaker, frukt og bær gått noe ned (Helsedirektoratet, 2019). Denne trenden ser man igjen i totaloversikten 2018. I kartleggingen av tørkede fruktprodukter som ble gjort i masteroppgaven ble det registrert et stort utvalg av produkter. Disse produktene varierte i størrelser og porsjoner. Et stort utvalg kan føre til stor spredning av agens hvis den først er til stede.

Resultatene i denne studien viser at det opprinnelig var lite eller ingen vekst av patogener i de tørkede fruktproduktene som ble analysert. Dette resultatet samsvarer med resultatene fra rapporten til Mattilsynet (2020a).

5.4 Risikobeskrivelse

Sannsynligheten for å bli syk av *Salmonella* i tørket frukt er liten. Det er kun påvist ett utbrudd i Norge på grunn av *Salmonella* i tørket frukt (Tabell 10). Det er også relativt få tilbakemeldinger av tørket frukt og bær i Norge som skyldes mikrobiologisk agens (Tabell 11). Analyseresultater og andre data tyder så langt på at sannsynligheten for å finne kontaminerte produkter i det norske markedet, er liten. Det er ikke blitt tatt så mange

analyser av dette til nå, men Mattilsynet følger opp etter utbruddet våren 2019. De vil komme til å utføre flere analyser av tørket frukt i Norge det kommende året og over et lengre tidsrom (Mattilsynet, 2020a). Analyser fra andre land eksempelvis Irland, viser også at det er liten sannsynlighet for å finne *Salmonella* i tørket fruktprodukter (Food Safety Authority of Ireland, 2018). Likevel skjer det utbrudd av *Salmonella* i ulike tørket fruktprodukter og RTE-produkter rundt om i verden.

Kontaminering av *Salmonella* i tørket frukt kan foregå i alle ledd i verdikjeden. Det brukes mye håndkraft ved høsting, lagring, prosessering og pakking av disse produktene (Mail fra leverandør i Italia datert 22.04.20). Ved dårlig håndhygiene kan dette være en årsak til rekontaminering av produkter etter varmebehandlingstrinnet. Under soltørking av produkter kan det også forekomme kontaminering. Det at produkter ligger på bakken for å tørke, kan føre til at ville dyr og insekter kan få tilgang til frukten og kontaminere den (A. Sharma et al., 2009). Tørket frukt kan også kontamineres under prosesseringen. Kontakt mellom produkt og maskindeler kan føre til kontaminering. Rengjøring av maskin og deler kan være ufullstendig, det kan finnes områder som er vanskelig å komme til og det kan være sprekker i rør hvor bakterier kan vokse (Reij et al., 2004). Et annet område i verdikjeden hvor tørket frukt kan bli kontaminert er ved re-pakking av produkter. Den tørkede frukten blir ofte sendt til et eget pakkeri for re-pakking. Det å åpne opp ferdigpakkede produkter for å pakke de til en fruktmiks kan skje ved flere pakkelinjer inne i produksjonslokalet. Ofte blir det pakket flere typer tørket frukt på samme linje per dag (Mail fra leverandør i Italia datert 22.04.20). Ved en rekontaminering på et eller flere av produktene kan dette få konsekvenser for flere produkter og omfanget på et utbrudd kan bli stort.

En salmonelloseinfeksjon kan som nevnt føre til gastroenteritt, blodforgiftning eller tyfoidefeber og sykehusinnleggelse. I noen tilfeller kan salmonellose føre til kroniske tilstander som leddgikt eller endokarditt (Ricke et al., 2013, s. 114). Innleggelse på sykehus på grunn av salmonellose skjer ikke så ofte og det kommer an på hvor stor mengde bakterier som er inntatt og hvilken serotype som er kilden til sykdommen. Ulike serotyper gir ulik sykdom (Gal-Mor et al., 2014). Det er eldre, spebarn og personer med nedsatt immunforsvar som er i risikogruppen og det er disse som har størst sannsynlighet for å utvikle de mer alvorlige sykdommene av salmonellose (Bailey et al., 2010, s. 108). Det er slike alvorlige utfall som dette som gjør at det er viktig å overvåke situasjonen av *Salmonella* i tørkede fruktprodukter ved analyseprogram som blant annet Mattilsynet har satt i gang.

Det er ikke mange som utvikler alvorlig sykdom ved salmonellose. Personer som ikke er i risikogruppen og som får påvist salmonellose, får symptomer som diaré, feber, magekramper og nedsatt almenntilstand. De har sykdommen i kroppen i fire til syv dager og de aller fleste blir friske av seg selv uten noe form for behandling (Bailey et al., 2010, s. 108).

6 Diskusjon

Et av delmålene i denne masteroppgaven hadde til hensikt å øke kunnskapen om forekomst og overlevelse av patogener generelt i tørket frukt, spesielt med tanke på kunnskap om *Salmonella*. To av *Salmonella* serotypene som ble brukt i belastningsstudien var de opprinnelige serotypene som ble identifisert i *Salmonella* utbruddet i det tørkede fruktproduktet eksotisk miks, våren 2019. Den mikrobiologiske delen av oppgaven er utgangspunkt for utførelsen av risikovurderingen i delmål 3. Der ble det vurdert at det er liten risiko for norske forbrukere å spise tørket frukt.

6.1 Kartlegging av tørket frukt fra dagligvarebutikker og mikrobielle analyser av ulike patogener

Kartleggingsprosessen over ulike produkter av tørket frukt blant annet i dagligvarebutikker registrerte 86 produkter og 20 ulike produsenter. Disse produktene var kun rene tørkede frukter og fruktmikser. Müslibarer, frokostblandinger og andre sammensatte produkter ble unntatt studien på grunn av omfanget. Det ble tatt kontakt med ulike nasjonale produsenter for å lodde interessen om prosjektet. Mangel på interesse fra produsenter førte til at utvalget av tørket frukt fra dagligvarebutikker ble bestemt ut fra sortimentet til butikkene og ikke fra preferanser fra produsent. Samme type produkt ble analysert på tre ulike uttak, men med ulik Lot.nr, klokkeslett og best før dato med tre ukers mellomrom. Produktene ble kjøpt i ulike dagligvarebutikker. Grunnet kort tid mellom uttak og lite rullering i dagligvarebutikkene, ble uttak 2 og 3 for *Grønn & Frisk Ananas Tørket* analysert med samme Lot.nr. og med klokkeslett med ett minutt ulikhet.

Resultatene viser at det finnes lite eller ingen vekst av patogener i de tørkede fruktproduktene kjøpt i dagligvarebutikker. Det var stor variasjon i standardavvikene til disse resultatene, noe som skyldes store forskjeller mellom parallellene. På skålene med Brilliance *Bacillus cereus* var det forskjellige typer kolonier. De blå/turkise koloniene som ble påvist kunne være *B. cereus* (Oxoid, 2020a). Det ble ikke funnet mye vekst av *B. cereus* i denne studien, kun i liten mengde på et produkt (BAT). *B. cereus* er ikke vanlig i tørket frukt, men i denne studien til Witthuhn, Engelbrecht, Joubert og Britz (2005) ble det påvist noen kolonier med *Bacillus* i svsker. Det ble funnet vekst av *Staphylococcus aureus* på alle de tørkede fruktproduktene. De rødfiolette koloniene som ble påvist på 3M™ Petrifilm™ *Staph* Express Count Plates i denne studien kunne være *S. aureus*, *S. hyicus* eller *S. intermedius*. Ved svarte eller blågrønne påviste kolonier ble 3M™ Petrifilm™ *Staph* Express Disk lagt på og inkubert i 1-3 t ved 37°C. Koloniene kunne også være *S. aureus*, *S. hyicus* eller *S. intermedius* (3M, 2020b) ved endring av farge etter pålagt disk. Det er ikke funnet andre studier som har påvist *S. aureus* i tørket frukt, men i Mehta, Soni, Satpathy og Gupta (2014) og Opara, Al-Ani og Al-Shuaibi (2009) ble bakterien påvist i ekstrakter av svsker og tørket granateple. I studien til Witthuhn et al. (2005) ble det funnet vekst av *Staphylococcus* i rosiner. Det ble ikke funnet mye av *Enterobacteriaceae* i de ulike tørkede fruktene i denne studien, men i studiene til AlAskari, Kahouadji, Khedid, Charof og Mennane (2012) og S. Sharma, Chandra, Mishra og Kakkar (2008) er bakterien påvist i rosiner. Det meste av veksten på PCA i denne oppgaven så ut til å være mugg og gjær, noe som kan

være normalt å finne på langtidsholdbare produkter og tørket frukt, mandler og nøtter (Tournas, Niazi & Kohn, 2015). Det ble ikke påvist *Salmonella* i de tørkede fruktproduktene kjøpt i dagligvarebutikker. Det var ingen typiske kolonier som vokste opp på X.L.D-skålene. Koloniene var gule og ugjennomsiktige, dette kunne være *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Serratia* og ikke *Salmonella*. *Salmonella* og *Edwardsiella* har røde kolonier med svarte sentre (Oxoid, 2020b). Dette kunne ha blitt bekreftet med sekvensering av kolonier i denne oppgaven, men det ble ikke utført grunnet nedstenging som følge av koronapandemien hvor det var ingen tilgang til laboratoriet. I en prosjektoppgave som ble utført i samarbeid med denne masteroppgaven ble det utført sekvensering av denne typen av kolonier. Her på ulike tørkede fruktprodukter ble det i prosjektoppgaven bekreftet slekter som blant annet *Pantoea*, *Klebsiella*, *Enterobacteriaceae* og *Enterobacter* (Jacobsen, 2019). Det ble ikke påvist vekst av *Salmonella* i produktene kjøpt fra dagligvarebutikker i denne studien, det er i overensstemmelse med resultater fra en tilsynsrapport av Mattilsynet (2020a) hvor de testet 166 prøver av ulike typer tørkede fruktprodukter fra dagligvarebutikker i Norge. I samme rapport påviste Mattilsynet *Salmonella* kun i 10 av de mistenkte prøvene som ble testet under utbruddet i 2019. Imidlertid Witthuhn et al. (2005) har påvist *Salmonella* i kommersielle rosiner og svsker i Sør-Afrika.

6.2 Overlevelse av *Salmonella* i tørket frukt

En nasjonal produsent meldte sin interesse på slutten av 2019 og kom med innspill på hvilke produkter som kunne være av interesse for dem i en belastningsstudie. Det kom også frem at å bruke de samme serotypene som ble påvist i utbruddet 2019 var av interesse. Den nasjonale produsenten var behjelpelig med innkjøp av produktene *Rosiner XL Mørk*, *Ananasterninger*, *Kokosterninger* og *Mandelkjerner*, og tilgang til de faktiske utbruddsisolatene ble gitt gjennom samarbeid med FHI og Veterinærinstituttet.

S. Typhimurium var den siste av serotypene brukt i studien fordi den er en av de mest utbredte serotypene ved de bekreftede salmonellosetilfellene de siste 20 årene i Norge (Folkehelseinstituttet, 2019d). Luria Broth (LB) ble benyttet som medium for å lage vekstkurver, slik som i studien til Calo, Park, Baker og Ricke (2015). Forskjellen på Bertani som studien Calo et al. (2015) bruker og Lennoxvarianten som brukes i denne oppgaven er mengde NaCl. Bertani brukte 10 g mens Lennox brukte 5 g (MacWilliams & Liao, 2006). Det ble besluttet å bruke Lennoxvarianten fordi tilsetning av 3-4% NaCl kan hemme veksten til *Salmonella* (Bailey et al., 2010, s. 110). PCA ble brukt som vekstmedium for utplating av ulike *Salmonella* serotyper på grunn av at det er et ikke-selektivt medium og er lettere å telle antall kolonier på enn X.L.D. Optical Density (OD) og CFU/ml ble lest av i vekstkurven for de ulike serotypene og utgangspunktet for å finne lav og høy inokuleringsdose ble bestemt til 10^7 bakterier. Årsaken var at veksten til serotypene hadde kommet i eksponentiellfasen og det var lett å finne et punkt på OD-kurven, for så å lese av til hvilken absorbansverdi 10^7 lå på. En fellesløsning med en miks av tre *Salmonella* serotyper ble lagd med lik mengde av hver serotype blandet sammen i løsningen. Det ble brukt 0,1 µl av 10^7 løsningen blandet med 999,9 µl peptonvann for lav inokuleringsdose og at 0,03 µl pipettert ut fra hver stamme og blandet. Pipetten (10 µl) som var tilgjengelig kunne ikke justeres lenger ned enn til 0,06 µl, derfor ble mengden fra 10^7 løsningen litt mer enn 0,1 µl. Med så

lite volum er det lett å få unøyaktigheter. Ved nærmere ettertanke burde det blitt tatt ut et større volum enn det ble for å være helt sikker på at riktig mengde av bakterieløsningen ble overført. Et slikt volum kunne for eksempel vært 1 µl i 10 ml. Det hadde også vært en bedre løsning og plate ut inokuleringsløsningen på X.L.D for å se om det var blitt overført bakterier til løsningen. Dette var noe som ikke ble utført.

Inokuleringen i denne studien besto av 1 ml bakterieløsning tilsatt fruktmiksen i den sterile boksen, blandet og satt til tørk i sterilskap. For å være sikker på at inokuleringsløsningen fikk tørke ble boksene med tørket frukt satt i et sterilskap uten lokk i 24 t slik som mandlene i studien til Uesugi et al. (2006). I ettertid av forsøket kan det diskuteres om dette var den riktige metoden å inokulere på grunn av usikkerhet om de tørkede fruktene ble godt nok kontaminert med inokuleringsdosen. Ved uttak av 10 ml av stomacherløsningen kan det være mulighet for at den ikke inneholdt *Salmonella*. Dette kan være en mulig årsak til at *Salmonella* ikke hadde overlevd i de fleste prøvene tatt fra miks2 lav21 og miks2 høy21. I studien til Larry R. Beuchat, Mann og Beuchat (2014) ble det brukt to ulike metoder som forstøving og innblanding med sand i en miks med fem serotyper, for inokulering av tørkede fruktprodukter. I en annen studie av Uesugi et al. (2006) ble det brukt en metode hvor en bakterieløsning ble inkubert i 24 t og skrapet av bakterieceller fra en agarplate dagen etter hvor celler ble overført til en løsning (25 ml av 0.1% pepton) i sterile 50 ml sentrifugerør. Det er mulig at disse utprøvde metodene kunne ha vært bedre å bruke ved inokulering av de tørkede fruktprøvene enn den som ble brukt i denne studien.

Preanrikingstrinnet og anrikingstrinnet i (NMKL, 1999, metode 71) for analysing av *Salmonella* ble fjernet. Trinnene brukes for å være sikre på at prøven er beriket med *Salmonella* og de kan gi betingelser for at svekkede celler kan komme seg og multiplisere (Enache et al., 2017, s. 184-185). Det ble ikke påvist vekst av *Salmonella* i de tørkede fruktproduktene i uttaket før inokulering, derfor ble bestemt at de to trinnene kunne fjernes. I stedet for disse trinnene kunne det blitt brukt colony PCR for å bekrefte veksten av de ulike serotypene av *Salmonella*, men dette ble ikke utført på grunn av nedstenging av universitetet og laboratoriet under koronapandemien. Det ble antatt at det ikke var behov for å gjennomføre disse trinnene siden *Salmonella* allerede var inokulert i prøvene, og hensikten var å evaluere overlevelse i produktene og ikke om produktene inneholdt *Salmonella*. Med tanke på resultatet i siste uttak der overlevelse av *Salmonella* i miksene oppbevart i RT var liten eller ikke til stede, burde muligens de to trinnene som ble fjernet, blitt gjennomført likevel. Det kan diskuteres om overlevelsen av *Salmonella* i miksene hadde vært større dersom hele analysen i (NMKL, 1999, metode 71) hadde blitt gjennomført.

Fra en annen pågående masteroppgave ved NTNU som arbeider med de samme tørkede fruktene, ble hvert enkelt produkt inokulert med kun en serotype i hver boks ved RT. Her ble det også brukt lav og høy inokuleringsdose med *S. Typhimurium* og *S. Agbeni*. Resultatene viser at det er påvist vekst av *S. Agbeni* på *Kokosterninger* og *Mandelkjerner*. *S. Agbeni* overlever i 61 dager både ved lav og høy inokuleringsdose på *Kokosterninger*, 33 dager på *Mandelkjerner* med lav inokuleringsdose og 61 dager ved høy inokuleringsdose. Det er ikke påvist vekst av *S. Typhimurium* på noen av produktene verken med lav eller høy inokuleringsdose, (Maja S. Jacobsen, personlig kommunikasjon, 18.05.20). Ut fra disse

resultatene kan det antas at veksten på miksene fra studien i denne oppgaven er fra *S. Agbeni* og *S. Gamaba*. Resultatene fra den andre masteroppgaven viser også at overlevelse av *Salmonella* i produktene med lav inokuleringsdose var kortere i RT enn det som kom fram i resultatene fra denne masteroppgaven, hvor det ble påvist ingen vekst etter cirka tre måneder.

Koloniene på X.L.D-skålene hadde varierende utseende fra første til siste uttak i belastningsstudien. På grunn av koronapandemien ble det ikke gjennomført colony PCR eller sendt inn DNA til sekvensering. Dette kunne ha gitt svar på hvilke av serotypene *S. Agbeni* og *S. Gamaba* som vokste på skålene og om det var en av serotypene som overlevde bedre på den tørkede fruktmiksen ved 4°C og 21°C.

Det ble besluttet å analysere på *Enterobacteriaceae*, *S. aureus* og totaltall på siste uttak av belastningsstudien. Det ble ikke påvist vekst på *S. aureus* noe som var forventet siden de tørkede fruktene ikke fikk påvist dette ved analysene før inokulering. Totaltallet før og etter inokulering var omtrent likt. Noe annet som var forventet, var at det ble påvist vekst av *Enterobacteriaceae*. *Salmonella* tilhører familien *Enterobacteriaceae* (Bailey et al., 2010, s. 108) og ved inokulering av denne bakterien ville det være forventet en vekst av *Enterobacteriaceae*. Antall vekst på 3M™ Petrifilm™ *Enterobacteriaceae* Count Plates samsvarte med antall vekst på X.L.D-skålene. Veksten som vokste på 3M™ Petrifilm™ *Enterobacteriaceae* Count Plates hadde røde kolonier med gule soner og med gassbobler som er i overensstemmelse med kolonier av *Enterobacteriaceae* hos 3M (2020a).

Resultatene i denne studien viser at *Salmonella* overlever i tørket frukt oppbevart ved 4°C uansett inokuleringsdose og 21°C med høy inokuleringsdose i cirka tre måneder, noe resultatene i studiene til Larry R. Beuchat et al. (2014), Center for Food Safety (2014) og Uesugi et al. (2006) også viser.

Lengden på belastningsstudien kunne med fordel vært lengre enn tre måneder og det hadde vært bra med flere uttak mellom de uttakene som ble utført. Det var planlagt to uttak til, men på grunn av uforutsette årsaker som venting på serotyper, produkter og koronapandemien var det fint å få gjennomført to uttak.

6.3 Risikovurdering av *Salmonella* i tørket frukt i Norge

Formålet med risikovurderingen var å undersøke om det er en risiko for norske forbrukere å spise tørket frukt med tanke på kontaminering av *Salmonella*. Risiko vil det alltid være siden tørket frukt er RTE-produkter som ikke trenger varmebehandling for å spises (Food Safety Authority of Ireland, 2018). Det reises mer, matvanene forandres og det importeres mer mat nå enn før (Folkehelseinstituttet, 2019b). Av 14,5 tonn importert tørket frukt og nøtter til Norge i løpet av ett år, ble det i fjor vår (2019) rapportert ett utbrudd av *Salmonella* (Folkehelseinstituttet, 2019d; Opplysningskontoret for Frukt og Grønt, 2019). Dette var det første tilfellet av *Salmonella* i tørket frukt som er blitt registrert i Norge.

Sannsynligheten for å finne kontaminerte produkter i det norske markedet, er liten. Det finnes få analyser av *Salmonella* i tørket frukt til nå. Mattilsynet startet en kartlegging om

Salmonella kan være til stede i produkter som tørket frukt, bær og nøtter i 2019 etter utbruddet samme år. De vil utføre flere analyser på dette i Norge det kommende året og fremover. Det ble ikke påvist *Salmonella* i noen av prøvene til Mattilsynet (Mattilsynet, 2020a). Resultatene fra denne studien fant heller ingen eller lite vekst av patogener i de tørkede fruktproduktene som ble testet fra dagligvarebutikker. Som nevnt i delkapittel 6.1 ble ikke vekst på prøvene sendt til verifisering, derfor er det usikkert om det ble funnet patogener i prøvene. Det ble ikke påvist typisk *Salmonellavekst* i disse prøvene. I belastningsstudien ble det observert at overlevelse av *Salmonella* etter cirka tre måneder i fruktmiks kan ved 4°C være høy. Ved 21°C kommer det an på inokuleringsdosen om *Salmonella* overlever eller ikke. Den pågående masteroppgaven ved NTNU viser samme resultat (Maja S. Jacobsen, personlig kommunikasjon, 18.05.20) som nevnt i delkapittel 6.2. Resultatene fra begge masteroppgavene viser at *Salmonella* kan overleve i ulike tørkede fruktprodukter.

Tørket frukt er en stor kategori og det finnes enkelte produkter det er utført flere studier på enn andre. Tidligere studier har undersøkt overlevelse i rosiner (Center for Food Safety, 2014) og mandler (Uesugi et al., 2006), men det er ikke funnet studier for ananas og kokos. Det finnes mye teori om *Salmonella* og en del data knyttet til utbrudd. Mye av informasjonen som omhandler årsak og smittekilde til utbruddene er mangelfulle. Innenfor de tilgjengelige kostholdsdataene for Norge er det lite informasjon om årlig inntak av årlig mengde fruktprodukter. Totaloversikten 2018 ga en indikasjon på hvor mange tonn som importeres, men ikke hvor mye av dette som konsumeres. FHI har en aldersoversikt fra 2011-2018 over hvilken aldersgruppe som har registrert flest salmonelloseutbrudd. Den sier ingenting om hvilke produkt disse har blitt syke av. Derfor er det vanskelig å si noe om hvem som er mest utsatt når det kommer til tørkede fruktprodukter. Det finnes lite registrert data som omhandler risiko for å bli syk fra konsum av tørket frukt. Å basere en risikovurdering på lite data kan føre til en upresis vurdering. Det hadde vært ønskelig med mer data om sporbarheten og om hele tørkeprosessen til de tørkede fruktene i denne masteroppgaven. Å få mer overvåkings- og analysedata fra det norske markedet og kontaminasjon av *Salmonella* og andre patogener kunne gitt en mer presis risikovurdering.

7 Konklusjon

Delmålene i oppgaven gikk ut på å kartlegge om de vanligste patogener kan finnes i tørket frukt, om *Salmonella* kan overleve i tørket frukt og om det er en risiko for norske forbrukere å spise tørkede fruktprodukter.

Resultatene fra denne studien viser at de tørkede fruktproduktene som er kjøpt i dagligvarebutikker er av god mikrobiologisk kvalitet. Ved inokulering av *Salmonella* i ulike typer tørket frukt ble det funnet at bakterien overlever i cirka tre måneder, uansett inokuleringsdose ved 4°C. Høy inokuleringsdose var nødvendig for overlevelse ved 21°C. Det ble ikke funnet vekst av *Salmonella* i prøvene med lav inokuleringsdose ved 21°C etter cirka tre måneder.

Kun ett utbrudd av *Salmonella* i tørket frukt er blitt registrert i Norge. Risikovurderingen i denne oppgaven viser at med det datagrunnlaget som ble lagt til grunn, er det en liten risiko for at den norske befolkning blir syke av *Salmonella* ved inntak av tørkede fruktprodukter.

8 Videre arbeid

Som nevnt i diskusjonen pågikk belastningsstudien i cirka tre måneder. *Salmonella* kan overleve lenge i tørket frukt og derfor kan det være lurt å kjøre en belastningsstudie som er lengre enn tre måneder. Da kan man finne ut hvor lenge *Salmonella* kan overleve i tørket frukt ved 4°C og 21°C. Koloniene som blir påvist bør sendes inn til verifisering og det kan være lurt å kjøre en colony PCR for å finne ut hvilke serotyper som overlever. I en forlengelse av forsøket kan det være interessant å se mer på molekylærbiologien til *Salmonella*. Det kan også kjøres belastningsstudie med *Salmonella* i andre typer næringsmidler for å sammenligne evnen til overlevelse og å bruke andre serotyper.

Når det gjelder risiko ved inntak av tørket frukt så er det først og fremst et større overvåkingsprogram angående *Salmonella* i disse produkttypene som kan gi mer informasjon slik at en konklusjon kan bli sikrere. Flere prøver over et lengre tidsrom ville vært å foretrekke.

9 Referanser

- 3M. (2020a). Interpretation Guide *Enterobacteriaceae*. Hentet fra <https://multimedia.3m.com/mws/media/2362480/petrifilm-enterobacteriaceae-interpretation-guide.pdf>
- 3M. (2020b). Interpretation guide *Staphylococcus aureus*. Hentet fra <https://multimedia.3m.com/mws/media/2412800/petrifilm-staph-express-interpretation-guide.pdf>
- AlAskari, Galal, Kahouadji, Azzeddine, Khedid, Khadija, Charof, Réda & Mennane, Zakaria. (2012). Physicochemical and microbiological study of "raisin", local and imported (Morocco). *Middle-East Journal of Scientific Research*, 11(1), 1-6.
- Anderson, David, Anderson, Nathan, Harris, Linda J. & Ocasio, Wilfredo. (2017). Validation Requirements in Heat-Processed Low-Moisture Foods. I *Control of and Other Bacterial Pathogens in Low Moisture Foods* (s. 149-173). Chichester, UK: Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
- Bailey, Stan, Richardson, L. Jason, Cox, Nelson A. & Cosby, Douglas E. (2010). *Salmonella. I Pathogens and Toxins in Foods: Challenges and Interventions* (s. 108-118). Washington, D.C.: Washington, D.C.: ASM Press.
- Barach, Jeffrey T. & Dunaif, George E. (2017). Regulatory Requirements for Low-Moisture Foods – The New Preventive Controls Landscape (FSMA). I *Control of Salmonella and Other Bacterial Pathogens in Low-Moisture Foods* (s. 29-39). Chichester, UK: Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
- Benford, Diane J. (2017). *Chapter 1 - Risk Assessment of Chemical Contaminants and Residues in Food* (Second Edition. utg.)Elsevier Ltd.
- Benlloch-Tinoco, M., Carranza-Concha, J., Camacho, M. M. & Martínez-Navarrete, N. (2014). *Chapter 22 - Production of Raisins and its Impact on Active Compounds* Elsevier Inc.
- Beuchat, L. R., Heaton, E. K. & Beuchat, L. R. (1975). *Salmonella* survival on pecans as influenced by processing and storage conditions. *Applied microbiology*, 29(6), 795-801. <https://doi.org/10.1128/AEM.29.6.795-801.1975>
- Beuchat, Larry R., Mann, David A. & Beuchat, Larry R. (2014). Survival of *Salmonella* on dried fruits and in aqueous dried fruit homogenates as affected by temperature. *Journal of food protection*, 77(7), 1102-1109. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-549>
- Brennan, J. G. (1994). *Food dehydration : a dictionary and guide*. Oxford: Butterworth-Heinemann.
- California Raisins. (2020). The California Raisins Industry. Hentet fra <https://calraisins.org/about/the-raisin-industry/>
- Calo, Juliany Rivera, Park, Si Hong, Baker, Christopher A. & Ricke, Steven C. (2015). Specificity of *Salmonella* Typhimurium strain (ATCC 14028) growth responses to *Salmonella* serovar-generated spent media. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 50(6), 422-429. <https://doi.org/10.1080/03601234.2015.1011962>
- Canadian Centre for Occupational Health and Safety. (2020). What is hazard identification? Hentet fra https://www.ccohs.ca/oshanswers/hsprograms/hazard_identification.html

- Carrasco, Elena, Morales-Rueda, Andrés & García-Gimeno, Rosa María. (2012). Cross-contamination and recontamination by *Salmonella* in foods: A review. *Food Research International*, 45(2), 545-556. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.11.004>
- Center for Food Safety. (2014). Survival of *Salmonella* on Dried Fruits. Hentet fra Centers for Disease Control and Prevention. (2004). Outbreak of *Salmonella* Serotype Enteritidis Infections Associated with Raw Almonds- United States and Canada, 2003-2004. Hentet fra <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5322a8.htm>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2020a). Outbreak of *Salmonella* Infections Linked to Cut Fruit. Hentet fra <https://www.cdc.gov/salmonella/javiana-12-19/index.html>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2020b). Reports of selected *Salmonella* outbreak investigations. Hentet fra <https://www.cdc.gov/salmonella/outbreaks.html>
- Corrêa, J. L. G., Rasia, M. C., Mulet, A. & Cárcel, J. A. (2017). Influence of ultrasound application on both the osmotic pretreatment and subsequent convective drying of pineapple (*Ananas comosus*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 41, 284-291. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.04.002>
- Enache, Elena, Luce, Shaunti & Lucore, Lisa. (2017). Test methods for *Salmonella* in low-moisture foods. I *Control of Salmonella and other bacterial pathogens in low-moisture foods*. Hoboken, New Jersey: Wiley Blackwell.
- Environmental Protection Agency. (2012). Microbial Risk Assessment Guideline: Pathogenic Microorganisms with Focus on Food and Water. Hentet fra <https://www.epa.gov/sites/production/files/2013-09/documents/mra-guideline-final.pdf>
- European Centre for Disease Prevention and Control. (2017). *Salmonellosis Annual epidemiological report for 2017*. Hentet fra <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/salmonellosis-annual-epidemiological-report-2017.pdf>
- Fellows, P. J. (2009). *Food processing technology : principles and practice* (3rd ed. utg.). Cambridge, England ;, Boca Raton, Florida: Woodhead Publishing : CRC Press.
- Folkehelseinstituttet. (2019a). Eksponeering for helsefarlige kjemikalier. Hentet fra <https://www.fhi.no/nettpub/kjemikalier/eksponeering-for-helsefarlige-kjemikalier2/>
- Folkehelseinstituttet. (2019b). Mat- og vannbårne infeksjoner. Hentet fra <https://www.fhi.no/nettpub/hin/smitte/mat-og-vannbarne-infek/>
- Folkehelseinstituttet. (2019c). Salmonellose - veileder for helsepersonell. Hentet fra <https://www.fhi.no/nettpub/smittevernveilederen/sykdommer-a-a/salmonellose---veileder-for-helsepe/>
- Folkehelseinstituttet. (2019d). Utbrudd av salmonellose. Hentet fra <https://www.fhi.no/sv/utbrudd/oversikt-over-storre-utbrudd/utbrudd-av-salmonellose/>
- Folkehelseinstituttet. (2020a). Meldingskriterier for sykdommer i meldingssystemet for smittsomme sykdommer (MSIS). Hentet fra <https://www.fhi.no/publ/2017/meldingskriterier-for-sykdommer-i-msis/>
- Folkehelseinstituttet. (2020b). MSIS-statistikk. I. Hentet fra <http://www.msis.no/>

- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (1999). Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk assessment Hentet fra <http://www.fao.org/3/y1579e/y1579e05.htm>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2007). Dried fruit. Hentet fra <http://www.fao.org/3/a-au111e.pdf>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2018). *Codex Alimentarius International Food Standards* Hentet fra http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXC%2B75-2015%252FCXC_075e.pdf
- Food Safety Authority of Ireland. (2018). Survey Of The Microbiological Safety Of Pre-Packaged Ready-To-Eat Nuts Seeds And Dried Fruit (15Ns1). I: Zenodo.
- Gal-Mor, Ohad, Boyle, Erin C., Grassl, Guntram A. & Gal-Mor, Ohad. (2014). Same species, different diseases: how and why typhoidal and non-typhoidal *Salmonella* enterica serovars differ. *Frontiers in microbiology*, 5, 391-391. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00391>
- Grasso-Kelley, Elizabeth M., Kataoka, Ai & Lucore, Lisa. (2017). Potential sources and risk factors. I *Control of Salmonella and other bacterial pathogens in low-moisture foods*. Hoboken, New Jersey: Wiley Blackwell.
- Helsedirektoratet. (2019). *Utviklingen i norsk kosthold 2019* (IS-2866). Hentet fra https://www.helsedirektoratet.no/rapporter/utviklingen-i-norsk-kosthold/Utviklingen%20i%20norsk%20kosthold%202019%20-%20Kortversjon.pdf/_/attachment/inline/aff8abec-7eb3-4b19-98a6-7358d500da48:f6bdf858604dc30399e7ae9a9d815c4658365243/Utviklingen%20i%20norsk%20kosthold%202019%20-%20Kortversjon.pdf
- Hossain, M.F. (2016). World pineapple production: An overview.(Report). *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 16(4), 11443. <https://doi.org/10.18697/ajfand.76.15620>
- International Nut & Dried Fruit. (2018). *Nuts & dried fruits statistical yearbook 2018/2019*. Hentet fra https://www.nutfruit.org/files/tech/1553521370_INC_Statistical_Yearbook_2018.pdf
- Islam, Mahbub, Morgan, Jennie, Doyle, Michael P., Phatak, Sharad C., Millner, Patricia & Jiang, Xiuping. (2004). Fate of *Salmonella* enterica Serovar Typhimurium on Carrots and Radishes Grown in Fields Treated with Contaminated Manure Composts or Irrigation Water. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(4), 2497. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.4.2497-2502.2004>
- Jacobsen, Maja S. (2019). Fordypningsprosjekt. I.
- Jairaj, K. S., Singh, S. P. & Srikant, K. (2009). A review of solar dryers developed for grape drying. *Solar Energy*, 83(9), 1698-1712. <https://doi.org/10.1016/j.solener.2009.06.008>
- Kapperud, Georg. (2007). *Salmonella*. I Per Einar Granum (Red.), *Matforgiftning : næringsmiddelbårne infeksjoner og intoksikasjoner* (3. utg. utg.). Kristiansand: Høyskoleforl.
- Lovdata. (2004). Lov om matproduksjon og mattrygghet. Hentet fra <https://lovdata.no/dokument/NL/lov/2003-12-19-124>

- Lovdata. (2008). Forskrift om allmenne prinsipper og krav i næringsmiddelregelverket (matlovsforskriften) Hentet fra https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2008-12-22-1620/KAPITTEL_1-2-1-2-4#a19
- Lovdata. (2010). Forskrift om endring i og ikraftredelse av forskrifter om næringsmiddelhygiene og kontroll Hentet fra https://lovdata.no/dokument/LTI/forskrift/2010-02-19-316/KAPITTEL_1-6#KAPITTEL_1-6
- Mackenzie, Keith D., Palmer, Melissa B., Köster, Wolfgang L. & White, Aaron P. (2017). Examining the Link between Biofilm Formation and the Ability of Pathogenic Strains to Colonize Multiple Host Species. *Frontiers in veterinary science*, 4, 138. <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00138>
- MacWilliams, Maria P & Liao, Min K. (2006). Luria broth (lb) and Luria agar (la) media and their uses protocol. *ASM MicrobeLibrary. American Society for Microbiology*.
- Matportalen. (2019). Kjøkkenhygiene. Hentet fra https://www.matportalen.no/matsmitte_og_hygiene/tema/kjokkenhygiene/
- Matportalen. (2020). Tilbaketrekkinger. Hentet fra <https://www.matportalen.no/verktoy/tilbaketrekkinger/>
- Mattick, K. L., Jorgensen, F., Wang, P., Pound, J., Vandeven, M. H., Ward, L. R., ... Humphrey, T. J. (2001). Effect of Challenge Temperature and Solute Type on Heat Tolerance of *Salmonella* Serovars at Low Water Activity. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(9), 4128. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.9.4128-4136.2001>
- Mattilsynet. (2012). Klassebetegnelser for tilsetningsstoffer-definisjoner. Hentet fra https://www.mattilsynet.no/mat_og_vann/tilsatte_stoffer/tilsetningsstoffer/klassebetegnelser_for_tilsetningsstoffer__definisjoner.4587
- Mattilsynet. (2020a). *Mikrobiologisk kontroll av Salmonella i tørket frukt, tørkede bær og nøtteblandinger på det norske markedet* Hentet fra https://www.mattilsynet.no/mat_og_vann/smitte_fra_mat_og_drikke/bakterier_i_mat_og_drikke/rapport_salmonella_i_torket_frukt_torkede_baer_og_notteblandinger_paa_det_norske_markedet_2019.37566/binary/Rapport%20-%20Salmonella%20i%20tørket%20frukt,%20tørkede%20bær%20og%20nøtteblandinger%20på%20det%20norske%20markedet%202019
- Mattilsynet. (2020b). *Veileder om sporbarhet for næringsmidler*. Hentet fra https://www.mattilsynet.no/om_mattilsynet/gjeldende_regelverk/veiledere/veileder_om_sporbarhet_for_naeringsmidler.37448/binary/Veileder%20om%20sporbarhet%20for%20næringsmidler
- Mehta, Sanchi, Soni, Neha, Satpathy, Gouri & Gupta, Rajinder K. (2014). Evaluation of nutritional, phytochemical, antioxidant and antibacterial activity of dried plum (*Prunus domestica*). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(2).
- Mortimore, Sara & Wallace, Carol. (2013). *Haccp* (3 ed. utg.)Germany: Springer Verlag.
- NMKL. (1999). NMKL-metode 71. *Salmonella*. Bestemmelser i næringsmidler. . I(5 utg.).
- NMKL. (2005). NMKL-metode 144. *Enterobacteriaceae*. Bestemmelser i næringsmidler og fôr. I(3 utg.).
- NMKL. (2009a). NMKL-metode 66. Koagulasepositive stafylokokker. Bestemmelse i næringsmidler. I(5 utg.).
- NMKL. (2009b). NMKL-metode 95. *Clostridium perfringens*. Bestemmelse i næringsmiddel, fôr og miljøprøver. I(5 utg.).

- NMKL. (2010a). NMKL-metode 67. Presumptiv *Bacillus cereus*. Bestemmelse i næringsmidler. I(6 utg.).
- NMKL. (2010b). NMKL-metode 91. Prøveutaking og forbehandling av næringsmidler og fôrstoffer til kvantitativ mikrobiologisk undersøkelse. I(6 utg.).
- NMKL. (2013). NMKL-metode 86. Aerobe mikroorganismer. Bestemmelse i næringsmidler ved 37 °C, 30 °C, 25 °C, 20 °C, 17/7 °C eller 6,5 °C etter kolonitallmetoden. I(5 utg.).
- Norges Miljø- og Biovitenskapelige Universitet. (2019). *KUNMAT2 - Kunnskapsnotat om mattrygghet i næringsmiddelindustrien*. Hentet fra <https://www.nmbu.no/download/file/41503>
- Ntuli, Victor, Chatanga, Peter, Kwiri, Raphael, Gadaga, Henry Tendekayi, Jephris, Gere, Matsepo, Taole & Portia, Potloane Rethabile. (2017). Microbiological quality of selected dried fruits and vegetables in Maseru, Lesotho. *African Journal of Microbiology Research*, 11(5), 185-193. <https://doi.org/10.5897/AJMR2016.8130>
- Opara, Linus U, Al-Ani, Majeed R & Al-Shuaibi, Yusra S. (2009). Physico-chemical properties, vitamin C content, and antimicrobial properties of pomegranate fruit (*Punica granatum L.*). *Food and Bioprocess Technology*, 2(3), 315-321.
- Opplysningskontoret for Frukt og Grønt. (2019). Totaloversikten 2018. I. Hentet fra <https://www.frukt.no/globalassets/materiell/totaloversikten/totaloversikten-2018.pdf>
- Oxoid. (2020a). Dehydrated culture media Brilliance cereus agar. Hentet fra http://www.oxid.com/uk/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM1036&org=9&c=uk&lang=EN
- Oxoid. (2020b). Dehydrated culture media X.L.D. Hentet fra http://www.oxid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0469&c=UK&lang=EN
- Perera, Conrad O. (2005). Selected Quality Attributes of Dried Foods. *Drying Technology*, 23(4), 717-730. <https://doi.org/10.1081/DRT-200054180>
- Podolak, Richard & Black, Darryl G. (2017). Introduction and overview. I *Control of Salmonella and other bacterial pathogens in low-moisture foods*. Hoboken, New Jersey: Wiley Blackwell.
- Rabsch, Wolfgang, Andrews, Helene L., Kingsley, Robert A., Prager, Rita, Tschape, Helmut, Adams, L. Garry & Baumler, Andreas J. (2002). *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium and Its Host-Adapted Variants. *Infection and Immunity*, 70(5), 2249. <https://doi.org/10.1128/IAI.70.5.2249-2255.2002>
- Reij, M. W., Den Aantrekker, E. D. & ILSI Europe Risk Analysis in Microbiology Task Force. (2004). Recontamination as a source of pathogens in processed foods. I(bd. 91, s. 1-11).
- Ricke, Steven C, Koo, Ok-Kyung, Foley, Steven & Nayak, Rajesh. (2013). *Salmonella*. I(s. 112-137). Oxford: Oxford: John Wiley & Sons.
- Scientific Committee on Food. (2002). *Risk profile on the microbiological contamination of fruits and vegetables eaten raw*. Hentet fra https://pdfs.semanticscholar.org/ea2d/378e964ea9876645f849a7d7a58136ec6eef.pdf?_ga=2.229195228.139749368.1583594499-587517732.1583594499
- Sharma, Atul, Chen, C. R. & Vu Lan, Nguyen. (2009). Solar-energy drying systems: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 13(6-7), 1185-1210. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2008.08.015>

- Sharma, Sapna, Chandra, Prachi, Mishra, Chetna & Kakkar, Poonam. (2008). Microbiological Quality and Organochlorine Pesticide Residue in Commercially Available Ready-To-Eat Raisins. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 81(4), 387-392. <https://doi.org/10.1007/s00128-008-9506-6>
- Skjerve, Eystein. (2007). Mikrobiologisk risikovurdering. I Per Einar Granum (Red.), *Matforgiftning : næringsmiddelbårne infeksjoner og intoksikasjoner* (3. utg. utg.). Kristiansand: Høyskoleforl.
- Somogyi, Laszlo P., Barrett, Diane M. & Hui, Y. H. (1996). *Processing fruits : science and technology : Vol. 2 : Major processed products* (bd. Vol. 2). Lancaster, Pa: Technomic.
- Tournas, V. H., Niazi, N. S. & Kohn, J. S. (2015). Fungal Presence in Selected Tree Nuts and Dried Fruits. *Microbiology Insights*, 8(8). <https://doi.org/10.4137/MBI.S24308>
- Uesugi, Aaron R., Danyluk, Michelle D., Harris, Linda J. & Uesugi, Aaron R. (2006). Survival of *Salmonella* enteritidis phage type 30 on inoculated almonds stored at -20, 4, 23, and 35 degrees C. *Journal of food protection*, 69(8), 1851-1857. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.8.1851>
- Universitetet i Oslo. (2017). Bakterietelling. Hentet fra <https://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/b/bakterietelling.html>
- Veterinærinstituttet. (2020). *Salmonella*. Hentet fra <https://www.vetinst.no/sykdom-og-agens/salmonella>
- Western Institute for Food Safety & Security. (2016). Almonds. Hentet fra https://www.wifss.ucdavis.edu/wp-content/uploads/2016/10/Almonds_PDF.pdf
- Witthuhn, R. C., Engelbrecht, S., Joubert, E. & Britz, T. J. (2005). Microbial content of commercial South African high-moisture dried fruits. *Journal of Applied Microbiology*, 98(3), 722-726. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02500.x>
- Zivoli, Rosanna, Gambacorta, Lucia, Perrone, Giancarlo, Solfrizzo, Michele & Zivoli, Rosanna. (2014). Effect of almond processing on levels and distribution of aflatoxins in finished products and byproducts. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(24), 5707-5715. <https://doi.org/10.1021/jf5018548>

