



Notat

Desinfektion af svært tilgængelige områder

Generelle anbefalinger ved rengøring og desinfektion af svært tilgængelige steder samt beskrivelser af alternative metoder til desinfektion

Marts 2019
Proj.nr. 2006255
Version 1
SKW/MTOS/CCH/MT

Sofia Wiberg, Marie Tøstesen og Claus Hindborg Kristensen

Baggrund

Sammendrag

I projektet 'Desinfektion af svært tilgængelige områder' var det overordnede formål at samle og bidrage med konkret, målrettet viden og vejledning om alternative løsninger til skumbaserede desinfektionsmetoder.

For at det skulle være muligt at vurdere, hvilke udfordringer og behov der var med hensyn til desinfektion af de svært tilgængelige områder, blev områder udvalgt, kortlagt og analyseret i en baselineundersøgelse. Formålet med baselineundersøgelsen var at undersøge udvalgte fokusområder samt at afdekke særlige behov i forhold til desinfektion (og rengøring). Derudover blev der udført analyser for at kortlægge, hvordan den daglige mikrobiologiske belastning så ud. Målet var at indsamle oplysninger om specifikke udfordringer i de udvalgte områder, og hvilke rengørings- og desinfektionskrav og -behov der var. De udvalgte områder blev valgt på baggrund af, at de var vanskelige at desinficere (og rengøre) tilstrækkeligt, og hvor alternative metoder til skumdesinfektion (og rengøring) ville være relevant.

I hvert område blev forureningsgraden vurderet efter produktion/før rengøring samt efter rengøring/før produktionens opstart. Derudover blev bakteriologiske prøver udtaget. Ud fra dette blev den bakteriologiske belastning beregnet i de svært tilgængelige områder. Behovet for en eventuel alternativ rengøring og desinfektionsmetode blev evalueret, og kriterier for denne alternative rengørings- og desinfektionsmetode blev drøftet.

De overordnede resultater fra baselineundersøgelsen er samlet i dette notat. Derudover indeholder notatet beskrivelser og vurderinger af relevante alternative desinfektionsteknologier til slagteri- og forædlingsindustrien.

Formål

Indledning

Formålet med dette notat er at præsentere en kort generisk rapport med generelle anbefalinger ved rengøring og desinfektion af svært tilgængelige steder baseret på baselineundersøgelser foretaget hos forskellige industrielle kødproducenter. Dernæst gives et overblik over alternative metoder til desinfektion i kødindustrien, der kan hjælpe med at give virksomhederne et bedre grundlag for at vurdere samt fra- og tilvælge alternative metoder til industriel desinfektion.

Generelle anbefalinger og konklusioner

Konklusioner fra baselineundersøgelser

Steder, som ofte giver rengøringsmæssige udfordringer, kan være hjul, vanger til transportbånd, lukkede steder, der ender blindt, steder med dårlig vedligehold eller lamelbånd. Det er mere kritisk, hvis der er høje kimtal efter rengøring i områder, der er produktberørende, fx lamelbånd, end på steder, der ikke er produktberørende, fx hjul.

Det anbefales, at man sikrer, at der er stativer eller lignende, hvor man kan placere løse dele under rengøring.

Man bør være opmærksom på hjemmelavede svejseløsninger, herunder at der ikke dannes "blinde ender", hvor snavs og produktrester ikke er mulige at rense ud.

Nogle produktionssteder kan være svært tilgængelige og alligevel blive rene, men pga. manglende tilgængelighed tager rengøringen mange ressourcer og tilsvarende lang tid.

Nogle maskiner og udstyr er nemmere at rengøre, hvis de kører under rengøring. Det er imidlertid ikke altid, dette kan lade sig gøre af sikkerhedsmæssige grunde.

Et lavt startniveau af bakterier (før rengøring) kan tyde på, at den daglige rengøring generelt udføres tilfredsstillende.

Steder, hvor der genereres varme, giver gunstige vækstbetingelser for bakterier og kræver ekstra opmærksomhed. Især i skærende værktøjer, hvor friktionen kan skabe varme.

Hvis det er muligt at ændre placeringen af svært tilgængeligt udstyr, kan dette gøre det mere tilgængeligt for rengøring.

Hvis der vælges CIP-rengøring af et svært tilgængeligt område, er det vigtigt, at man sikrer, at CIP bliver gennemført på en tilfredsstillende måde. Både placering af dyser, vandtryk og hastighed er vigtige parametre at tage højde for.

Det kan være en god idé at overveje frekvensrengøring i områder, hvor der er køling, fx frosttemperaturer, da dette mindsker risikoen for bakterievækst ved daglig optøning.

Alternative teknologier og metoder

Før desinfektion er det essentielt at gøre rent for at fjerne organisk materiale, der måtte sidde fast på produktionsudstyr og overflader. Hvis en grundig rengøring ikke har fundet sted, er desinfektion nytteløs, da produktrester vil inaktivere desinfektionspræparatet, og potentielle skadelige og fordærvende mikroorganismer vil stadig være til stede. Generelt så fjernes 90-95% af de tilstedeværende mikroorganismer ved en grundig rengøring (Asselt, A.J. & Giffel, M.C., 2005).

Desinfektion foretages efter rengøring, hvor alt snavs/organisk materiale er fjernet fra overflader og udstyr. Ved desinfektion forstås, at udstyrsdele, lokaler, overflader, redskaber m.v. behandles på en sådan måde, at patogener fjernes eller uskadeliggøres i et sådant omfang, at der ikke kan forekomme dekontamination i produktionen af fødevarer ved kontakt med det desinficerede.

Selv efter en grundig rengøring kan overflader og de svært tilgængelige områder stadig være dækket af en film, som kan indeholde patogene bakterier og sporer. Via desinfektionen reduceres eller elimineres antallet af disse til et acceptabelt niveau. Derfor er det vigtigt, at der forud er foretaget en tilstrækkelig rengøring, da desinfektionen ellers er nytteløs.

Den nødvendige behandling for at opnå en effektiv desinfektion kan variere i forskellige produktionsmiljøer og er derfor situationsspecifik. Det afhænger desuden af hvilke typer samt antallet af mikroorganismer.

Hvis alle bakterier dræbes under desinfektionen – og dermed udgør en 100% sikker desinfektion – betegnes det som sterilisation, hvilket ikke er målet for rengøring og desinfektion.

I dag anvendes primært skumbaseret desinfektion i kødindustrien, men der præsenteres løbende nye, alternative og innovative løsninger til desinfektion af både udstyrsdele og lokaler. Den enkelte virksomhed kan have svært ved at skabe sig et overblik over mulighederne, effekterne og de reelle mulige gevinster ved disse metoder. Alternative desinfektionsmetoder dækker bredt og inkluderer både fysiske, kemiske og biologiske metoder.

Ud fra eksisterende viden samt nyere forskningsartikler, workshops og konferencer er der udvalgt relevante alternative og innovative desinfektionsmetoder, som præsenteres i denne oversigtsrapport.

<i>Formål</i>	Formålet med afsnittet er at beskrive og vurdere desinfektionsteknologier til slagteri- og forædlingsindustrien samt at give virksomhederne et bedre grundlag til at vurdere, fra- og tilvælge alternative metoder til industriel desinfektion.
<i>Krav til metoderne</i>	<p>Metoder til desinfektion (rengøring) af produktionsområder skal sikre en hurtig og effektiv reduktion/eliminering af mikroorganismer.</p> <p>Metoderne må ikke beskadige maskinelt udstyr og produktberørende flader og må ikke danne eller efterlade sundhedsskadelige komponenter. Derudover skal de være godkendt i henhold til lovgivningen, accepteret af brugere og være cost effektive.</p>
<i>Fokus</i>	<p>Teknologierne, der indgår, kan være fysiske, kemiske og biologiske.</p> <p>Fokus i rapporten er:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Virkningsmetode (princip) • Effekt • Vurdering i forhold til relevans for kødindustrien
<i>Generelt</i>	<p>Lovgivning</p> <p>Desinfektionsmidlerne skal være godkendt af Fødevarestyrelsen. Endvidere er der krav til mærkning og opbevaring af disse midler. Godkendelsen bliver lavet ud fra et estimat af effekt, og om rester af disse produkter kan forurene fødevarer under produktion. Kun produkter, der har en tilstrækkelig teknologisk virkning og ikke medfører en sundhedsrisiko, bliver godkendt. Produkter skal have en officiel godkendelse fra Fødevarestyrelsen, før de må markedsføres i Danmark (Fødevarestyrelsens hjemmeside, 2019). Kravene til disse produkter bliver i fremtiden mere omfattende, og Miljøstyrelsen vil gradvist overtage rollen som den godkendende myndighed for disse produkter.</p>
<i>Mærkning af godkendte produkter</i>	Mærkning af godkendte produkter skal følge Bekendtgørelse nr. 134 af 11/02/2013. I §6 "Mærkning" står der, at desinfektionsmidler godkendt af Fødevarestyrelsen skal være mærket på emballagen med ordene: "Desinfektionsmiddel godkendt af Fødevarestyrelsen under journalnummer (journalnummer anføres)". Samt "om produktet virker (baktericid, fungicid eller baktericid og fungicid)".
<i>Biocidforordningen</i>	Desinfektionsmidlets aktive stoffer skal være godkendt efter biocidforordningen, eller som minimum være under review under biocidforordningen til at blive anvendt i desinfektionsmidler. Den nuværende liste over optagne aktive stoffer, bilag I til Biociddirektivet, er elektronisk tilgængelig. Listen indeholder de stoffer, der er godkendt i henhold til Direktiv 98/8/EF (Biociddirektivet) og Forordning (EU) nr. 528/2012. Forordningen om biocidholdige produkter (Fødevarestyrelsens hjemmeside, 2019).

Kemiske metoder

Pereddikesyre (PAA)

Princip

Pereddikesyre er peroxidet af eddikesyre og danner frie radikaler, der reagerer med lipoproteiner i bakteriers celle- og cytoplasmamembraner samt ødelægger enzymer og nedbryder DNA. Stoffet er mere aktivt ved lavere koncentrationer mod en lang række mikroorganismer sammenlignet med fx hydrogenperoxid. PAA har en skarp, syrlig lugt, og den bedste effekt opnås ved lavt pH. PAA bruges sjældent som enkeltkomponent, men indgår i syreholdige desinfektionsmidler og ofte i kombination med hydrogenperoxid og eddikesyre, da disse er mere stabile (Lianou A. et al., 2012).

Effekt

Forsøg har vist, at *L. monocytogenes* og *L. innocua*, der havde bundet sig til rustfri stålchips (2 x 2,5 cm), blev reduceret med 3 log cfu/cm² efter 30 sekunders påvirkning af PAA 25 ppm (temperatur ikke oplyst). Tilsvarende blev der på aluminiumschips opnået en reduktion på 2 log enheder (Mertz et al., 2015). Den samme reduktion blev opnået med QAC, 10 ppm.

Vurdering

PAA har en god drabseffekt. Desinfektion af udstyr med PAA er sædvanligvis i form af et syreholdigt middel, hvor det indgår som en komponent. Uanset om det anvendes som enkeltkomponent eller i et desinfektionsmiddel, skal behandlet udstyr/overflader efterskylles med vand. PAA's kraftige lugt kan virke generende i fødevareproduktioner, hvilket kan være et incitament til, at det ikke vælges som det foretrukne desinfektionsmiddel.

Andre organiske syrer

Princip

Organiske syrer er enten naturlige eller fremstillet ved kemisk syntese og er allerede anvendt som ingredienser i en række fødevarer og drikkevarer som fødevaretilsætningsstof til konservering, antioxidant, pH-regulering eller som aromastoffer (EU-forordning 1333/2008 og EU-forordning 1334/2008). Citronsyre, eddikesyre og mælkesyre er meget hyppigt anvendt i fødevarerindustrien. Effekter mod mikroorganismer omfatter bl.a. beskadigelse af cytoplasmamembran, osmotisk stress, hæmning af vigtige synteser og har oxiderende virkning. Syrerne har effekt mod en bred vifte af bakterier dyrket under varierende temperaturer. Ulemperne er den høje kostpris samt korrosionsegenskaberne på produktionsudstyr (Meireles et al., 2016).

Effekt

Der er lavet en række studier, som tester effekten af forskellige syrer i forbindelse med dekontaminering på fødevarer. Meireles et al. (2016) omtaler følgende reducerende resultater:

- 1 log cfu/cm² reduktion af *L. monocytogenes* på salat med citronsyre 5x10³ og 1x10⁴ ppm citronsyre i 1-5 minutter.
- 5x10³ til 1x10⁴ ppm eddikesyre (20°C i 2 til 5 minutter) reducerede *E. coli* og *L. monocytogenes* med henholdsvis 2,2 og 1,3 log cfu/g

- 5×10^3 til 1×10^4 ppm mælkesyre (20°C i 2 til 5 minutter) reducerede *E. coli* og *L. monocytogenes* med henholdsvis 2,8 og 2,1 log cfu/g
- 120 ppm pereddikesyre reducerede total kim med 1,2 log cfu/g på icebergssalat
- 40 ppm pereddikesyre i 5 min. reducerede *S. Typhimurium* med 0,99 log cfu/g på salat
- En række syrer, alle testet 1×10^4 ppm i 10 minutter mod *E. coli*, *S. Typhimurium* og *L. monocytogenes* på frisk salat, opnår følgende reduktioner: 0,93-1,52 log cfu/g (propionsyre), 1,13-1,74 log cfu/g (eddikesyre), 1,87-2,54 log cfu/g (mælkesyre), 2,32-2,98 log cfu/g (æblesyre) og 1,85-2,86 log cfu/g (citronsyre).

Taylor et al. (2018) omtaler pilotstudier udført af Smithfield Foods, som fandt, at tilsætning af eddikesyre og citronsyre i stedet for laktat og acetat undertrykte væksten af *L. monocytogenes*. Ligeledes fandt man, at 0,6% tørret eddike kunne kontrollere væksten af patogener tilstrækkeligt til at erstatte højtryksbehandling (HPP) i saltreducerede skinker (begge upublicerede data). Dog skal det pointeres, at 0,6% eddike vil give en kraftig bismag på produktet og anses ikke for værende muligt at anvende.

I hurdleprojektet, lavet på Slagteriernes Forskningsinstitut, blev det undersøgt, hvilke hurdler der havde en effekt på bl.a. *Listeria monocytogenes*. I forsøget podede man pølser med 10^4 cfu/g og tilsatte laktat og acetat. Ved anvendelse af hurdlerne laktat og acetat i mængderne 2% og 0,5% sammen med MA-pakning var det muligt at hæmme væksten af *Listeria monocytogenes* i op til 4 uger. Kontrolgrupperne voksede til 10^8 cfu/g, imens hurdlegrupperne blev på 10^4 cfu/g. Hurdlerne var lige så effektive ved realistisk kølekædeforløb med periodiske temperatursvingninger, som de var ved 5°C og 10°C (Lauridsen, L., 1998).

Vurdering

I de fleste af de omtalte studier omfatter forsøgene med dekontaminering og desinfektion fødevarer og ikke procesudstyr og overflader.

En mulig ulempe er, at rester kan ændre smag, hvis de overføres til produktet, og det påvirker det sensoriske udtryk. Den optimale antimikrobielle effekt afhænger af temperaturen, og hvilken syre der anvendes. Denne effekt kan være meget forskellig, afhængig af hvilken syre der anvendes. Generelt stiger den antimikrobielle effekt i takt med temperaturen og koncentrationen. Ulempen ved dette er den hårdere korrosionseffekt på produktionsudstyr (Lianou, A. et al., 2012).

På grund af kostprisen for syrerne kan det løbe op i høje omkostninger, og selvom det er svage syrer, kan de være hårde ved procesudstyret (korrosive). Anvendelsen af sure rengøringsmidler øger slitagen på udstyret, og det producerede spildevand kræver efterfølgende neutralisering.

<i>Princip</i>	<p>Hydrogenperoxid (H₂O₂)</p> <p>Hydrogenperoxid (brintoverilte) danner frie radikaler •OH, som reagerer med og ødelægger essentielle cellekomponenter (cellemembraner, proteiner, enzymer og DNA). Effekt er afhængig af koncentration, pH og temperatur (Meireles et al., 2016). Hydrogenperoxid er effektiv til at fjerne biofilm fra udstyr. Effekten skyldes de frie radikaler, som reagerer med biofilmmatricen (Wirtanen, G. & Salo, S., 2003).</p>
<i>Effekt</i>	<p>H₂O₂ er blevet testet på forskellige stammer af <i>L. monocytogenes</i>, bl.a. kliniske stammer og miljøisolater. Listeria var bundet i biofilm på glasmikrofiberfiltre (2,5 x 2,5 cm) og blev behandlet med 6% H₂O₂ i 10 minutter ved 25°C. Dette medførte en reduktion på 1 log cfu/filter for kliniske stammer og 1-3 log enheder for miljøisolater. Med 10% H₂O₂ blev der opnået reduktioner på 2-4 og 6-9 log enheder for kliniske hhv. miljøstammer (Yun et al., 2012).</p> <p>Det blev konkluderet, at drabseffekten af H₂O₂ afhænger af den enkelte listeriestamme, og at kliniske stammer er mere robuste over for H₂O₂ end miljøstammer. Forskel i følsomheden skyldes sandsynligvis de enkelte stammers evne til at producere katalase og/eller akkumulere enzymet i biofilm (Yun et al., 2012).</p>
<i>Vurdering</i>	<p>Effekten af H₂O₂ afhænger af, om bakterierne er katalasepositive, samt i hvilket omfang de kan producere katalase. Bakterier, som producerer dette enzym, kan nedbryde H₂O₂.</p> <p>H₂O₂ bruges hovedsageligt i kombination med PAA og fx eddikesyre i syreholdige desinfektionsmidler. Her opnås en form for synergieffekt mellem H₂O₂ og PAA, idet PAA kan inaktivere bakteriernes katalase (Lianou et al., 2012).</p> <p>H₂O₂ er billigt, men effekten varierer afhængig af florasammensætningen. Det virker ikke mod katalasepositive bakterier. H₂O₂ har begrænset effekt ved tilstedeværelse af organisk materiale og kan virke korrosivt mod udstyr pga. høje brugskoncentrationer.</p> <p>På trods af, at de anvendte koncentrationer er høje, er det et miljøvenligt desinfektionsmiddel, da det hurtigt nedbrydes til vand og ilt i nærvær af katalase fra bakterierne (Meireles et al., 2016).</p>
<i>Princip</i>	<p>Klordioxid</p> <p>Klordioxid (ClO₂) kan laves på to måder, syre + "NaCl" eller NaCl + klorgas. Produktet findes i både flydende og gasform. ClO₂ er kraftigt oxiderende med en meget bred biocidaktivitet mod en lang række mikroorganismer (Lianou et al., 2012).</p> <p>Virksomheden af klordioxid indebærer forstyrrelse af cellens proteinsyntese og kan gennemtrænge cellemembranen og derved inhibere metaboliske funktioner i cellen (Meireles et al., 2016).</p>

Effekt

Meireles et al. (2016) omtaler diverse studier, som har opnået reduktioner af patogener med klordioxid. Bl.a. kunne *B. cereus* i en biofilm på rustfrit stål reduceres med 4,4 log cfu ved at tilsætte 200 mikrogram klordioxid/ml.

L. monocytogenes biofilm kunne reduceres med 4,1 log cfu pr. plade med en 5% opløsning af klordioxid i 10 minutter.

Effekten virker til at være på samme niveau som natriumhypoklorit angående virkningstid, men reduktionerne kan opnås ved lavere koncentration.

Vurdering

Klordioxid har en højere oxidationskapacitet end natriumhypoklorit og reagerer ikke med nitrogen eller ammoniak, som medfører dannelse af skadelige biprodukter. Klordioxid er mindre korrosiv end klor og har lavere reaktivering med organisk masse (Meireles et al., 2016).

Klordioxid vurderes af Asselt, A.J. et al. (2005) til at være 2,5 gange mere oxidativ end natriumhypoklorit og er effektiv mod både bakterier, vira og sporer.

Ulemperne omfatter, at den maksimalt tilladte koncentration er lav (3 ppm). Klordioxid er ustabil, idet klor nedbrydes til gas ved temperaturer over 30°C, når det er eksponeret til lys. Dette kan føre til farlige situationer, da høje koncentrationer af klorgas er eksplosive. Derfor skal det opbevares køligt uden eksponering for sollys for at være stabilt. (Asselt, A.J. et al., 2005).

Elektrolyseret oxiderende vand

Princip

Elektrolyseret vand (EOW) er et klorholdigt desinfektionsmiddel, der er fremstillet ved elektrolyse af en saltvandsopløsning. Når saltholdigt vand udsættes for elektrolyse, dannes der aktivt klor, der har en virkning på bakterier (Bertelsen, 2017). Klorforbindelser oxiderer cellemembranen, proteiner samt enzymer og inhiberer DNA-syntesen i patogene bakterier. Klorholdige midler kan give lugtgener.

Der findes forskellige anlæg (fabrikater) til fremstilling af EOW, og størrelsen varierer fra større anlæg til mindre apparater i en sprayflaske. Princippet er ens for alle anlæg, hvor der laves en 'stamopløsning', som fortyndes med almindeligt vand til den bestemte koncentration. Desværre mister opløsningerne deres virkning relativt hurtigt (Bertelsen, 2017). Fødevarestyrelsens godkendelse af EOW til desinfektion af udstyrsoverflader er derfor også betinget af, at brugsopløsningen anvendes samme dag, som den er fremstillet.

EOW kan anvendes i forskellige pH-områder, som er inddelt og navngivet derefter:

- Syreelektrolyseret vand (AcEOW, pH 2-3)
- Neutral elektrolyseret vand (NEOW, pH 6-8)
- Basisk elektrolyseret vand (AiEOW, pH 10-13)

NEOW er mindre aggressiv mod materialer i kontakt med fødevarer og er mere stabil end AcEOW, da klor henfalder ved lavt pH (Meireles et al., 2016).

Effekt

Forsøg har vist, at elektrolyseret oxiderende vand med et indhold på 20-60 ppm frit klor virker lige så effektivt på bakterier som andre antibakterielle midler med et klorindhold på 200 ppm (Bertelsen, 2017).

AcEOW har en bedre drabseffekt end AiEOW, men en kombination af AcEOW og AiEOW har vist den bedste effekt. Test mod *E. coli* på plastoverflader, der blev behandlet med AcEOW i 20 minutter ved 35°C, viste, at *E. coli* blev reduceret med 8 log enheder pr. 100 cm². På glas og rustfrit stål var reduktionen mere end 6 log enheder pr. 50 cm² efter 1 minuts behandling med AcEOW ved 23°C (Møretrø et al., 2012).

Sánchez et al. (2012) testede drabseffekten af NEOW over for biofilmbundne *L. monocytogenes* på rustfri ståloverflader (2,5 x 2,5 cm). Efter 10 minutters behandling med NEOW ved 30°C var der en drabseffekt på 4,5 log-enheder. Studiet konkluderer, at NEOW har antimikrobielle egenskaber.

Arevalos-Sanchez et al. (2013) testede NEOW med 70 ppm fri klor på biofilm med *L. monocytogenes* på rustfrit stål. Resultaterne viste, at *L. monocytogenes* var komplet inaktiveret efter 3 min. virkningstid.

Ligeledes fandt Kim et al. (2001) reduktion af *L. monocytogenes* på rustfrit stål svarende til 9 log cfu/cm² efter 5 min. behandling med EOW med 56 ppm fri klor, og Deza et al. (2005) fandt ved desinfektion af rustfrit stål og glas med NEOW indeholdende 63 ppm fri klor en reduktion på 6 log/cm² (*L. monocytogenes*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* og *E. coli*) efter 1 min.

Vurdering

EOW bliver betragtet som en miljøvenlig metode, der ikke giver arbejdsmiljøgener og ikke er korrosiv, fordi EOW er fremstillet ud fra salt og vand, og som efter brug nedbrydes til vand. Så man kan argumentere for, at de dokumenterede effekter og fordelene (klimavenlig, ufarlig at håndtere, ingen problemer med spillevandshåndtering, godkendt af FDA i 2013 (200 ppm)) giver anledning til at undersøge kostpris for etablering af EOW i situationer, hvor der ønskes at reducere klor. EOW indeholder natriumhypoklorit, dog i meget mindre koncentration end i blegemiddel. Brug af klorholdige midler vurderes normalt ikke egnet til pause-/intervalrengøring, da det kræver efterskyl med vand og efterfølgende aftørring/udtørring af behandlede overflader. Der er dog en lang række ulemper ved teknologien, som gør, at den ikke er så udbredt:

- Teknologien mister sine antimikrobielle egenskaber hurtigt, hvis der ikke er kontinuerlig tilførsel af Cl_2 , H^+ og HOCl ved elektrolyse
- Reduktionen i koncentrationen af klor over tid nedsætter den antimikrobielle egenskab over tid
- Irritation for operatører pga. stærkt lugtende gas i anlæg kørende med ($\text{pH} < 5$)
- Irritation af hænderne, og korrosion forårsaget af frit klor
- Formindsket antimikrobiel virkning ved uacceptabel opbevaring og tilstedeværelse af organisk materiale på udstyr (Rahman, S.M.E et. al., 2016, Wang et al., 2018).

Det vides heller ikke, hvor reaktive de frie klorforbindelser er, hvis de kommer i kontakt med kødprodukter.

Fordi EOW-opløsningerne mister deres virkning relativt hurtigt, er det nødvendigt at investere i et anlæg for at kunne få fyldestgørende og nok effektivt elektrolyseret vand. Investeringsomkostninger, service- og vedligeholdelsesudgifter til elektrolysegenerator og -anlæg er ukendte og afhænger igen af behovet i forskellige produktionsmiljøer. Metoden er forholdsvis ny og uetableret og kan derfor have en økonomisk ramme, som er uacceptabel.

Helrumsdesinfektion

DeconX

Princip

DeconX er en teknologi til desinfektion af lokaler. I et mobilt anlæg fremstilles en "tør tåge", der indeholder op til 6% H_2O_2 . Tågepartiklerne har en størrelse på mindre end 10 μm og en positiv ladning. Denne ladning stabiliseres yderligere ved tilstedeværelse af sølvioner. Metoden er godkendt af Fødevarerstyrelsen med dispensation, således at efterskyl med vand ikke er påkrævet (Christensen, 2015). Temperaturen i lokaler, der skal behandles, skal være over 15°C, og luftfugtigheden (RF) må ikke være for høj.

Effekt

DeconX har dokumenteret effekten af tågedesinfektionen ved at placere plader/discs med den sporedannende bakterie *Geobacillus stearothermophilus* i prøvelokalet. Efter behandling skal disse bakterier være dræbt, dvs. der skal være opnået en reduktion på 6 log enheder (Christensen, 2015). I et forsøg udført af Nofima testede man helrumsdesinfektion (36 m^2) på *Listeria monocytogenes*-stammer (miljøisolater) i forskellige setups. I de forskellige setups varierede man forskellige parametre som følger: temperaturen: 12°C-20°C, koncentrationer: 35-80 ppm og 1-2 timers behandlingstid (Møretrø, T. et al., 2019).

Mix af fire forskellige *Listeria monocytogenes*-isolater på stålkuponer:

Der blev fundet >5 log/cfu reduktioner af isolaterne ved forskellige kombinationer af de ovenstående parametre.

Mix af fire forskellige *Listeria monocytogenes*-isolater tørret i 1 time på stålkopper:

Der blev fundet 0,3-5 log/cfu reduktioner af isolaterne ved forskellige kombinationer af de ovenstående parametre (Møretrø, T et al., 2019).

I Møretrø, T et al. (2019) angives det, at teknologien også har drabseffekt over grampositive bakterier *S. aureus* (inkl. MRSA), *L. monocytogenes*, *Enterococcus faecalis* og gramnegative bakterier *Salmonella* spp., *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Enterobacter aerogenes* samt gær, skimmelsvampe og virus.

Vurdering

Desinfektionen foretages i forseglede lokaler og er tidskrævende. Omkostninger til leje eller køb af desinfektionsanlæg/-enhed samt drifts- og vedligehold er ukendt. Metoden vurderes ikke anvendelig til intervalrengøring, men i perioder, hvor produktion ikke kører (weekender), anses metoden for lovende til at "nulstille" lokaler. Metoden er ikke anvendelig, hvis der er en del organisk materiale til stede på udstyr. Organisk materiale (fx råt kød og rå fisk) kan have en neutraliserende effekt af H₂O₂ i form af katalaseaktivitet. Størrelsen af testrummet var 36 m², så der skal laves forsøg i større setups for at evaluere koncentrationer og behandlingstider. Efter vores viden er det de første studier, der dokumenterer effekt af tåge-desinfektion med H₂O₂ under 15°C.

Princip

Ozon

Ozon er en farveløs gas med en karakteristisk lugt, der er let opløselig i vand. Ozon dræber bakterier ved at angribe lipider og proteiner i cellemembranen samt enzymer m.m., der har betydning for metabolitaktiviteten. Generelt er bakterier mere følsomme over for ozon end gær og skimmel. Grampositive bakterier er mere følsomme end gramnegative bakterier, og vegetative celler er mere følsomme end sporer. Temperatur, RF% og tilstedeværelse af organisk materiale har indflydelse på drabseffekten af ozon (Holah, 2003; Nicholas et al., 2013).

The STERISAFE™ – TOTAL SYSTEM er udviklet af det danske firma INFUSER til at foretage helrumsdesinfektion ved hjælp af ozon målrettet sundhedssektoren – primært hospitaler.

Den biologiske dekontaminering udføres ved anvendelse af en blanding af forstøvet vand og aktiveret oxygen (ozon). Den gasformige behandling kan fordelagtigt nå patogener i skjulte overflader.

Effekt

Nicholas et al. (2013) har undersøgt effekten af ozon på overflade- hhv. biofilm-bundne *L. monocytogenes* på rustfri stål- og plastchips (5x5 cm) ved 20°C og 50% luftfugtighed. Podeniveauet var 2x10⁸⁻⁹ cfu/cm². Behandling med ozon 2, 5 eller 10 ppm i 1 time gav en reduktion, der var <1 log enhed på stålchips (plastchips ikke undersøgt). Når koncentrationen blev øget til 45 ppm, var reduktionen efter 1 time 3,4 og 0,6 log cfu/cm² for overflade- hhv. biofilmbundne bakterier på stålchips. På plastchips blev der opnået et drab

på 1,1 og 0,9 log cfu/cm² for overflade- hhv. biofilmbundne *L. monocytogenes*. Der refereres til studier, der viser, at *L. monocytogenes* har en højere bindingsaffinitet til plast end til stål på grund af forskel i overfladernes ladning, hydrofobicitet og ruhedsgrad, hvilket anses for at være årsagen til det større drab på stålchips. Veluz et al. (2012) har vist en tilsvarende tendens for såvel *L. monocytogenes* som *S. typhimurium* og *S. enteritidis*, hvor affiniteten til plast var større end til rustfrit stål. Dog viser studier også, at effekten af ozon er påvirket af tilstedeværelsen af organisk materiale. Ozon er kun effektivt, hvis overfladerne er rene for organisk materiale (Oner, M.E, Demirci, A., 2016). Dette er også set i EU-projektet "MeatPack", hvor der blev opnået en 1,0-5,7 log inaktivering af bakterier på plastoverflader, men ingen inaktivering på kødoverflader (fersk lam og gris samt kogt kalkun). Ozonbehandlingen var 1 eller 5 min (Koch, A.G.; Bejerholm, A.C.; Tørngren, MA., 2015). Der er delte meninger om betydningen af overfladers ruhedsgrad for bakterievehæftning. Nogle studier viser, at ruhedsgraden for rustfrit stål har stor betydning for *L. monocytogenes*' evne til at binde sig til og/eller danne biofilm på ståloverflader. I andre studier af *L. monocytogenes*' bindingsevne til stål er der ikke vist en signifikant korrelation med overfladers ruhedsgrad (Sheen et al., 2010).

Vurdering

Ozongassen dræber bakterierne og opløses derefter til vand og luft. På den måde dræbes bakterierne, uden risiko for at der er rester af kemikalier i produktionsanlægget. Behandling af overflader med ozon er tidskrævende, og der er en begrænset effekt over for bakterier i biofilm. Ozon virker ikke, hvis der er produktrester på overflader eller i nicher. Desuden er ozon giftigt, og eksponering af 50 ppm i ½ time kan være dødelig (Brown, 2003). Ozonbehandling af udstyrsoverflader skal derfor udføres i forseglede lokaler og kræver efterfølgende en effektiv udsugning og ventilation, før lokalet kan tages i brug, og er således yderligere tidskrævende. Desuden er der store udfordringer mht. arbejdsmiljø. Behandlingen kan give konsekvenser for den sensoriske kvalitet af fødevarerprodukter, da ozon er stærkt oxiderende.

Sterisafeteknologien fjerner fuldstændigt ozonbiprodukter og partikler fra rummet i slutningen af desinfektionscyklussen. Det betyder også, at så snart desinfektionscyklussen er forbi, er det sikkert for medarbejdere og patienter at komme ind på værelset igen. Typisk er sengebelægningen på hospitaler så høj, at man ikke kan blokere et rum til en dekontamineringsproces i hele rummet. Dog kan det stadig være fordelagtigt og nødvendigt at dekontaminere inventar, såsom senge, borde, kommoder, kørestole mm. INFUSER har udviklet et mobilt rum "STERISAFE-Room", et dedikeret dekontaminationskammer til mobile genstande og udstyr uanset deres størrelse. Det vil dekontaminere overfladen af genstandene helt på kort tid (STERISAFE™ hjemmeside, 2019). En fordel er, at også antibiotikaresistente bakterier, såsom MRSA og VRE, rammes af ozonbehandlingen.

Som tommelfingerregel koster desinfektionen 49 DKK/m³ (i rum op til 130 m³). Prisen for ejerskab af apparaturet er beregnet til 8.299 DKK/måned i en periode over 5 år (Infuser.eu: Mihail Z. Mihalev, personlig kommunikation). Det er endnu ikke blevet testet i en fødevareproduktion, hvilket der skal være dokumentation for, før det anvendes i fødevarebranchen. Desinfektionen foretages i forseglede lokaler og vil være tidskrævende at udføre. Metoden vurderes ikke anvendelig til intervalrengøring, men i perioder, hvor produktionen ikke kører (weekender), anses metoden for anvendelig til at "nulstille" lokaler.

IPA-sprit

Princip

Tidligere indeholdt "IPA-sprit" 7% isopropylalkohol, 63% ethanol og 30% vand. Midlet har nu betegnelsen "IPA-sprit 70%" og indeholder 5-10% propan-2-ol (isopropylalkohol), 50-75% ethanol og 15-45% vand. Alkohol dræber bakterier ved at nedbryde lipider i cellemembranen og denaturere proteiner, hvorved cellen dehydrerer og går til grunde. Det er et hyppigt anvendt middel til pause-/intervalrengøring af udstyrsoverflader i fødevareindustrien. Det anvendes ufortyndet og påføres overflader enten ved spray eller ved aftørring med en klud, der er opfugtet i IPA-sprit. Indvirkningstiden er minimum 10-15 sekunder.

Effekt

Test af effekten af IPA-sprit over for biofilmbundne *L. monocytogenes* på metalchips har vist, at spraybehandling og 5 minutters virketid gav en reduktion på 0,2 log enheder. Aftørring med IPA-klud i 1 minut reducerede *L. monocytogenes* med 1,2 log. Ved neddykning i IPA-sprit i 5 minutter blev der opnået en reduktion på 0,4 log. Testen viste, at pauserengøring med IPA-sprit ikke fuldstændigt kan fjerne en kraftig biofilm. Hertil kræves en decideret rengøring og desinfektion (Gunvig, 2002).

I et andet udført forsøg kiggede man på transportbånd, der var podet med *L. monocytogenes*. Transportbånd blev sprayet med IPA-sprit eller aftørret med IPA-klude. Virketiden efter hver behandling var 10-15 minutter, som var realistisk for en pauserengøring. *Listeria* blev reduceret med 3,2 log cfu/300 cm² efter aftørring med IPA-klude og 1,8 log cfu/300 cm² efter spraybehandling. Det blev konkluderet, at den bedste drabseffekt blev opnået ved aftørring med IPA-klud, og at den mekaniske behandling havde stor betydning for virkningen af IPA-sprit (Rasmussen, 2003).

Desuden er der udført forsøg under produktionsforhold på en virksomhed. På en slicelinje, hvor der bl.a. blev slicet ikke-varmebehandlede produkter, blev ilægningsbånd og transportbånd behandlet med IPA-sprit som spray eller på klud. Virketiden var 10-15 minutter. Effekten på det Aerobe kimental (20°C) på transportbånd og ilægningsbånd var en log reduktion på 1,5 hhv. 1 efter aftørring med IPA-klud. Spraybehandling gav en reduktion på 1,7 hhv. 0,8 log cfu/300 cm² (Rasmussen, 2002). På det vandrette transportbånd blev

der stort set opnået samme effekt med spraybehandling som med aftørring af IPA-klud. På ilægningsbåndet var effekten af spraybehandlingen begrænset. Årsagen kan være, at båndet havde en hældning på 45°C og bestod af valser/ruller, så spritten "gled af" og derfor ikke fik optimal virketid.

Vurdering

Aftørring med IPA-sprit er en nem og effektiv metode til pauserengøring af udstyr, når der ikke forekommer kraftig biofilm. IPA-sprit kan, i tilfælde af kraftig biofilm, evt. kombineres med afskrabning, således at biofilm eller fastsiddende smuld/produktrester løsnes og fjernes fra overfladen med en plastskraber, hvorefter overfladen aftørres med IPA-sprit.

Fysiske metoder

ProfilGate

Princip

ProfilGate® vaskemåtter til våd rengøring og desinfektion af hjul og skosåler findes i to systemer, i aqua og sti aqua til rengøring af henholdsvis brede og smalle hjul. Hvert system er yderligere opdelt i to versioner (se tabel 1), alt efter om måtten skal passeres under eller over 100 gange pr.dag:

Tabel 1. Løsninger fra Profilgate®

Måttetype	Hjulstype	Antal passager/dag
ProfilGate® i45 aqua	Brede hjul	<100
ProfilGate® i55 aqua	Brede hjul	>100
ProfilGate® sti45 aqua	Smalle hjul	<100
ProfilGate® sti55 aqua	Smalle hjul	>100

De to ProfilGate® systemer i aqua og sti aqua er designet til at udføre våd rengøring og desinfektion. Systemet er opbygget af bakker i rustfri stål, hvorpå der er en rist ligeledes i rustfrit stål. I hullerne i risten stikker der børster op, og børsternes kapillæreffekt fører væsken i karret til den genstand, som skal rengøres. Væsken i karret kan tilsættes rengørings- eller desinfektionsmiddel efter ønske. Selve væskenniveauet i karret reguleres gennem rørventiler (ProfilGate innovativ system ProfilGate aqua design variationer). Bakkerne kan tilkobles afløb, som enten kan bygges ned i gulvet eller føres ned gennem gulv/loft. Måtten består så af flere af disse riste.

Effekt

Det har ikke været muligt at finde dokumentation for den eventuelle mikrobielle reduktion, aqua-systemerne måtte have.

Vurdering

ProfilGate® systemerne i aqua og sti aqua tilbyder muligheden for aktiv, våd rengøring/desinfektion ved den blotte gennemgang på måtter tilpasset færdselsfrekvens og hjulstype, hvilket muliggør hurtigt flow af personale og udstyr.

Systemet kræver, at dette indbygges i gulvet med ønsket dræntype. Rengøring af smudspartikler fra kar kræver, at ristene løftes op enkeltvist. Dette

kræver en 'løftevogn' (ligner en sækkevogn), som kan betjenes af en enkelt medarbejder, eller to stænger med løfteskroge. Umiddelbart ser ristene ud til at være tunge, og der er mange riste pr. måtte. Derudover findes der ingen information om, hvorvidt måtterne poder og spreder bakterier til hjul, så det anbefales at få dokumentation for dette samt virkningen på hygiejnen (mikrobielt).

Dampsugning

Princip

Dampsugning er oprindeligt udviklet til dekontaminering af slagtekroppe med et dampsugehåndtag. Metode og udstyr er videreudviklet, således at udstyrsoverflader kan behandles med dampsugebom eller -håndtag.

Princippet er, at damp tilføres udstyrsoverfladen via en bom eller et håndtag med silikonedyser, hvor dampen fremføres gennem kanaler i silikonedysens væg. Dyserne har direkte kontakt med overfladen. Bakterier og urenheder løsnes og suges derefter, ved hjælp af vakuum, væk gennem en åbning midt i dysen. Vakuum fjerner desuden damp/vand, således at overfladen er tør. Dampen dræber bakterier.

Effekt

Dampbehandling af forurenede glattebånd gav en reduktion i Aerobt kimtal (20°C) på 3,5-4,0 log cfu/cm² (Bøegh-Petersen, 2015).

Under produktionsforhold bevirkede grov- eller pauserengøring af lamelbånd med damp, at antallet af aerobe kim (20°C) generelt blev reduceret med 1 log enhed fra 34 cfu/cm² til 3-4 cfu/cm². Ved kontinuert damprensning af bånd blev antallet af bakterier reduceret til <1 cfu/cm² (Rasmussen et al., 2012). Bånd kunne rengøres til visuel renhed. Efter grov- eller pauserengøring var der kødsmuld i hængsellet og på båndets underside. Forekomst af smuld var meget begrænset ved kontinuert rengøring.

Gule belægninger blev observeret på bånd efter kontinuert rengøring med damp, der havde en temperatur på 117°C. Ved en damptemperatur på 107°C var der ikke gule belægninger. Desuden blev gule belægninger, uanset damptemperatur, observeret, når dampbommen var spændt så hårdt mod båndet, at der forekom ophobning af smuld på dyser og i dysernes sugekanaler. Optimal kontakt med bånd, korrekt montering og ideel placering af dampsugebom er af stor betydning for visuelt rene bånd uden gule belægninger.

I et andet forsøg af Kristensen C.H. (2017) blev der foretaget dampsugning af udbeningsbånd på 4 forskellige produktionsdage på et dansk slagteri. Der blev udtaget mikrobiologiske prøver henover 16 timer på tre af produktionsdagene, hvorimod der på den sidste dag blev udtaget prøver henover 8 timer.

Dampsugning af udbeningsbånd resulterede i 1 log (cfu/cm²) reduktion i kimtallet på behandlet bånd, og at blod og kødrester blev fjernet effektivt og efterlod båndet æstetisk rent med en tør overflade.

Dampsugningsmetoden kan også anvendes til CIP-rengøring (slutrenngøring). Forsøg har vist, at aerobe kim (20°C) på skæreplader, 850 cfu/cm², ikke var påviselig (<1 cfu/cm²) efter CIP-rengøring, og at pladens overflade var tør (Rasmussen, 2011).

Vurdering

Metoden er unik, hurtig og effektiv med et lavt vand- og energiforbrug. Smuds og tilført damp suges væk i samme proces og efterlader en visuel ren og tør overflade med et bakteriologisk acceptabelt niveau. Fordelen ved dampsugning er, at bånd, aflægningsplader og andre overflader kan rengøres/dekontamineres efter behov, uden at der tilføres vand og uden brug af kemikalier. Udstyret kan desuden anvendes til CIP-rengøring.

Kontinuert damprengøring af bånd under produktion må ikke forventes at have effekt på holdbarheden af produkterne. Derfor er rengøring i pauser, ved produktskifte eller slutrengøring/grovrengøring af bånd og andre udstyrsoverflader af primær interesse.

Investeringsomkostninger til etablering af dampsugning til intervalrengøring af udstyrsoverflader i en sliceafdeling er i størrelsesordenen 320-360 t.kr. for stationært anlæg og 160-190 t.kr. for et mobilt anlæg. I opskærings- eller udbeningsafdelinger vil stationære anlæg koste 650-740 t.kr. (Rasmussen et al., 2012). Priserne er under forudsætning af, at de eksisterende dampstugehåndtag eller -bom kan bruges, og at der ikke skal udvikles/fremstilles andet udstyr. Dertil kommer de daglige driftsomkostninger. I forbindelse med slutrengøring vil metoden umiddelbart spare vand, men investeringsomkostninger samt drifts- og vedligeholdelsesudgifter vil overstige besparelserne. Om metoden vil være cost effektiv ved forlængelse af produktionstiden og dermed sparede udgifter til den daglige rengøring, er uvist.

Ultraviolet lys (UV)

Princip

I fødevarerindustrien anvendes ultraviolet (UV) lys hovedsageligt til dekontaminering af emballage og vand samt udstyrsoverflader. UV-lys er en miljøvenlig metode, da der hverken kræves ioniserende stråling, kemi eller varmebehandling, og der er ingen gennemtrængende effekt. Metoden virker på overflader og fritliggende bakterier – altså en metode, som både er let at håndtere og er økonomisk acceptabel for industrien (Keklik et al., 2012).

Drabseffekten af UV-lys er veldokumenteret, og den største effekt opnås ved bølgelængder i UVC-området 200-280 nm. Effekten afhænger meget af de konditioner, som lyset bruges under. Drabseffekten skyldes primært ødelæggelse af bakterie-DNA. Der findes forskellige UV-armaturer og

-systemer til dekontaminering af luft i produktionslokaler. I princippet fungerer metoden ved en kontinuert bestråling af indgående og cirkulerende luft.

Selvom UV-stråler er bakteriedræbende, er det en udfordring at sikre en effektiv udnyttelse af UV-lyset og en ensartet bestråling. Om UVC-lys har en drabseffekt på bakterier, virus og sporer afhænger af organismen, og derfor er effekten afhængig af organismens dose-respons på intensitet og eksponeringstid. Det er også velkendt, at sporer er mere UV-tolerante end vegetative celler (Gayán et al., 2013).

Der findes en række forskellige metoder med brug af UV-lys. Pulserende UV-lys (PL) er en metode, der ofte betegnes som pulserende hvidt lys eller pulserende UV-lys. Bølgelængden spænder fra 185 nm til 1.100 nm (UV – infrarød), hvor ca. 40% af lyset er i UV-området. Bakteriedrab forårsages af UV-strålernes ødelæggelse af DNA og DNA-syntesen, og PL inducerer også ødelæggelse af cellemembran (Artíguez et al., 2014; Singh et al., 2012; Gómez-López et al., 2007; Keklik et al., 2012, Li et al., 2016).

Effekt

UVC-belysning (254 nm) af overflader i et fiskerøgeri havde en minimal effekt på det Aerobe kimtal (37°C) efter 7 timer. Efter 48 timer blev kimtallet reduceret med 3 log enheder, og antallet af listeriapositive prøver faldt fra 30 til 8 (Bernbom et al., 2011). Afstanden mellem UVC-kilde og overflader var mindre end 5 meter. Når afstanden var større end 5 meter, blev drabseffekten væsentlig reduceret. Desuden blev det vist, at UVC ingen effekt har på *L. monocytogenes*, der var bundet i en flere dage gammel biofilm.

UVC-belysning af rustfri ståloverflader, podet med listeriaholdig kødemulsion på over- og underside (10^4 - 10^5 cfu/100 cm²) havde ingen effekt på *L. monocytogenes* efter 2 timers behandling. Afstanden fra UVC-kilden var 3 meter ved direkte belysning og 3,7 meter ved refleksion (belysning af underside). Bestrålingsdosis var hhv. 2.810 J/m² og 230 J/m². Forsøg, hvor podede overflader blev rengjort, viste, at *L. monocytogenes* blev reduceret med 4 log enheder. Den anvendte rengøring bestod i skyl med vand, sæberengøring og skyl efterfuldt af desinfektion med alkaliske, neutrale eller syreholdige midler og sluskyll, hvilket svarer til den rengøringsproces, der typisk anvendes i fødevarereindustrien. UVC-belysning af rengjorte overflader gav ingen ekstra effekt (Rasmussen, 2003b).

Rengøring af en slicelinje podet med kødemulsion, der indeholdt *L. monocytogenes* (10^6 - 10^8 cfu/g), medførte, at 16% af prøverne forsat var listeriapositive. Efter 14 timers UVC-belysning var alle prøver negative. Afstanden fra UVC-kilden var 1 meter ved direkte belysning og 3,2 meter ved refleksion. Bestrålingsdosis var hhv. 208.000 J/m² og 1.800 J/m². UVC-belysning i 14 timer er dog en urealistisk lang behandlingstid i forhold til den daglige produktion i fødevarereindustrien (Rasmussen, 2003a).

PL har ligesom UV en god drabseffekt, når blot bakterierne befinder sig på glatte overflader. Der kan være problemer med skyggeeffekt, og for at opnå en effektiv dekontaminering må overfladen ikke være ru. Effekten af PL reduceres på komponenter, som kan absorbere det pulserende lys. Metoden kan medføre fedtoxidation samt ændringer i kødfarve og -lugt (Singh et al., 2012; Gómez-López et al., 2007).

Modsat UV-lys kan pulserende lys alene inaktivere bakteriesporer (Li et al., 2016).

I en specialeafhandling, som blev lavet i forbindelse med DRIP-projektet, blev UV undersøgt til dekontaminering af proces sekundavand. Behandlingen med UV resulterede i 5 log reduktion (total kim) med 195 mJ/cm^2 i intensitet samt 6 log reduktion (total kim) ved 380 mJ/m^2 (Nielsen, K., 2018). Effekterne er rigtig gode i vand, men effekten er lavere på udstyrsoverflader.

Vurdering

Ifølge Bernbom et al. (2011) kan belysning af procesudstyr under produktion have en begrænset effekt på grund af den ringe evne til at gennemtrænge organisk materiale. Der skal tages højde for skyggeproblemer, hvilket kan gøre det vanskeligt for UV-lyset at ramme hele overfladen, hvilket kan resultere i, at der så desværre ikke belyses med samme intensitet. For at reducere skyggeproblemet, kan der anvendes flere lamper. Men der kan stadig gemme sig bakterier i porer og revner af overfladen, som vil undgå at blive ramt af lyset (Keklik et al., 2012).

En undersøgelse af bakterievækst (total kim, 20°C hhv. 4°C) på skæreplader under opskæring og udbening af ferske skinker viste, at kimtal på skæreplader svarer til kimtallet på skinkerne, og generationstiden ved 4,5°C blev beregnet til 9,8 timer. Det blev konkluderet, at bidraget fra skæreplader til skinker er så lille, at det i praksis ikke har betydning (Christensen, 1991 & 2000). Det vurderes derfor, at nytteværdien af UVC som interval/pause eller kontinuerligt dekontaminerende metode i kødopskæring er minimal. Desuden skal UVC-armatur, der er installeret under bånd, jævnligt rengøres for at fjerne kødrester, der falder ned på armaturet. Det betyder ekstra arbejde under produktion.

Hvad angår muligheden for at bruge metoden til reduktion af luftbårne kim i produktionslokaler, vurderes det, at effekten er begrænset, da et effektivt, rent og vedligeholdt ventilationssystem i sig selv vil reducere kimtal i indblæsningsluften.

Effekterne er rigtig gode i vand, men effekten er lavere på udstyrsoverflader. Metoden vurderes ikke at være relevant til intervalrengøring/desinfektion af udstyrsoverflader eller dekontaminering af luft. UV-lyslamper indeholder desuden kviksølv samt inerte gasser, som kan udgøre sundheds- og miljømæs-

sige risikoer ved utætheder (Keklik et al., 2012). Der findes dog UV-LED-lamper, som er kviksølvfrie samt mere energieffektive end normale UV-lamper. Den antimikrobielle effekt er dog ukendt (Xiao, Y., 2018).

Hvis fokus er på eliminering af sporer, har UV-lys ligeledes en meget lille effekt på bakteriesporer, men medfører, at sporerne bliver sensitive overfor termisk behandling og kan derfor optimere den dræbende effekt heraf. Derfor kan UV-lys i kombination med varme eller CLO₂-behandling være en mulig kombination for at opnå en synergetisk effekt (Gayan et al., 2013, Li et al., 2016, Keklik et al., 2012, Park, SH., 2018).

Behandlingstiderne på udstyrsoverflader er lange, før der opnås en effekt, så der skal mere viden til om, hvordan man får UV-lyset målrettet ind på svært tilgængelige områder, før det har relevans for kødindustrien.

Biologiske metoder

Enzymer

Princip

Enzymer anses som en alternativ metode til konventionel rengøring/desinfektion til at fjerne biofilm. Enzymer er naturlige proteiner, der fjerner organisk kontaminering ved at nedbryde og omdanne den til små vandopløselige rester. Bakterier kan nemt optage og nedbryde resterne, hvilke bliver til naturlige komponenter igen ved spildevandsrensning. I fødevarerindustrien bruges forskellige enzymer, så som protease, amylase, cellulase og lipase, som fjerner forskellige former for kontamineringer. Typisk anvendes proteaser til at fjerne biofilm i rør. Enzymer accelererer rengøringsprocesser og muliggør i nogle tilfælde en sænkning af temperaturen. Ved brug til rengøring/desinfektion kan enzymer angribe biofilm direkte i udviklingsprocessen, men kan også nedbryde modnet biofilm, så andet desinfektionsmiddel lettere kan virke på bakterierne (Meireles et al., 2016; Augustin et al., 2004)

Effekt

Studier har vist potentiale med at fjerne biofilm på rustfrit stål med proteolytiske enzymer. Lequette et al. (2010) anvendte en buffer med anionisk overfladeaktivt stof blandet med alfa-amylase i 30 minutter og reducerede biofilm med *Bacillus mycoides* på rustfrit stål med 3 log cfu/cm². Augustin et al. (2004) opnåede 3 log cfu/mL reduktion af *P. aeruginosa* efter behandling med forskellige enzymatiske opløsninger i 30 minutter og derefter skyl med vand.

Vurdering

Der er en del producenter, der efterhånden har enzymholdige produkter i deres sortiment. De enzymatiske reaktioner skal forløbe tilstrækkeligt hurtigt for at virke, og udfordringen ligger i at holde enzymerne stabile, når de påføres udstyr. Der skal desuden være en metode til at sikre, at enzymet er fjernet eller inaktiveret på hele overfladen efter dets virke, så kontaminering med enzymet ikke kommer til at udgøre en fare for produktkvaliteten (farve, pH, struktur m.m.).

Ligesom bakteriofager kræver enzymrengøring forøget virkningstid for at være effektiv mod biofilm. Enzymer skal være i form af et mix eller i kombination med anden antimikrobiel behandling. Disse blandinger er ofte lavet til overflader i kontakt med fødevarer (Meireles et al., 2016).

En ulempe ved at bruge enzymer til at fjerne biofilm er, at de er forskelligartede, og at der ikke ved brug af ren enzymblanding kan garanteres komplet fjernelse af biofilm. Det er sandsynligt, at enzymholdige produkter vil være dyrere end traditionelle produkter, hvilket vil være en ulempe, hvis rengøringskvaliteten eller tidsbesvarelsen ikke er proportionelt bedre.

Producenter af enzymholdige rengøringsmidler fremhæver, at disse produkter er sikre at anvende for brugeren, simple at bruge, virker ved lave temperaturer, samt at de er bionedbrydelige. Disse detergenter vil kunne give en omkostningsbesparelse, idet de mindsker slitage, koster mindre arbejdstid, er energibesparende og besparende ift. spildevandsrensning (neutral pH). Omkostningsbesparelsen vil være afhængig af det enkelte produkt, hvilke enzymer det er tilsat, og på hvilket udstyr det skal anvendes.

For at enzympræparater vil blive anvendt i fødevarerindustrien, skal der foreligge en god business case for produkterne i forhold til effekt, tid og omkostninger. Ligeledes skal der være dokumentation for, at enzymerne i de enzymholdige produkter sikkert inaktiveres, da de protein- og fedtnedbrydende enzymer eventuelt vil kunne ødelægge produkternes kvalitet (udseende, konsistens). En anden bekymring er en øget risiko for udvikling af allergi (ved eksponering for enzymer). I forhold til inaktivering kan en svabertest påvise restaktivitet fra specifikke produkter. Men dette vil kun være en stikprøve; analysen vil ikke kunne påvise, om der er enzymrester enkelte steder. Flere leverandører oplyser, at enzymholdige produkter anvendes af kødindustrien rundt om i Europa.

Bakteriofager

Princip

Bakteriofager, også kaldet "fager", er virus, som angriber og dræber bakterier. De findes i naturen, hvor vi dagligt eksponeres. Bakteriofager er ikke i stand til at vokse i fødevarer, og de kan være svære at detektere i laboratoriet, da de ikke kan kultiveres. Som alle andre virus er fager enkle organismer, som består af en kerne/hovedet, indeholdende genetisk materiale, der er omringet af en beskyttende proteinkapsel.

Bakteriofager er bakterie (værts)-specifikke, idet de generelt kun angriber én type bakterier (Hansen, F. et al., 2015).

Fx har de kommercielt tilgængelig bakteriofager LISTEX™ P100, Eco-Shield™ og Phage P7 specificitet over for hhv. *L. monocytogenes*, *E. coli* og *S. typhimurium*. FDA godkendte i 2006 anvendelsen af en bakteriofag til bekæmpelse af *Listeria monocytogenes* i fødevarer. De bakteriofager, der forhandles kommercielt, er FDA-godkendt og betragtes som GRAS (Generally

Recognized As Safe). Bakteriofagerne genkender bakterien vha. proteiner på bakteriens cellemembran, som bakteriofagen binder sig til. Fag-DNA trænger ind i cellen samt cellekernen og overtager herved "kommandocentralen", hvor bakteriofagen udnytter bakteriens funktioner og producerer nye bakteriofager. Til slut sprænges bakterien, og nye bakteriofager frigives og kan angribe og dræbe flere bakterier (Hansen, F. et al., 2015).

Effekt

I et applikationsstudie udført på DMRI bekræftes hæmning af *L. monocytogenes* ved anvendelse LISTEX™ P100. I undersøgelsen blev skiver af hamburgerryg med *L. monocytogenes* behandlet med bakteriofager i 2 niveauer, opbevaret 5 uger ved 5°C og derefter undersøgt for *L. monocytogenes*. Resultaterne påviste en signifikant listeriahæmmende virkning af LISTEX™ P100. Efter 5 ugers opbevaring var *L. monocytogenes* fuldstændig elimineret i henholdsvis 34% og 70% af de behandlede prøver, afhængig af den anvendte mængde bakteriofager, sammenlignet med kontrolprøver (Hansen, F. et al., 2015).

I et andet studie udført på DMRI blev hæmning af *Salmonella* undersøgt i spegepølser. Alle testede stammer af *Salmonella typhimurium* var sensitive overfor bakteriofagerne i produktet PhageGuard S.

I fars med lavt salt- og lavt fedtindhold forårsagede PhageGuard S 1,9 log reduktion af *Salmonella* podet til 10⁴ CFU/g kød og med 10⁸ PFU/g kød af bakteriofager ved 24 timers lagring ved 5°C i forhold kontrollen uden bakteriofager. Lagring ved 24°C i 24 timer resulterede derimod i vækst af *Salmonella* på samme niveau som i kontrollen. Resultatet her peger altså på, at bakteriofagbehandling ikke vil inaktivere *Salmonella* under fermenteringsprocessen ved 24°C.

For *Listeria* blev der med produktet PhageGuard Listex opnået <0,5 log reduktion efter 24 timer ved 5°C; virksomheden af bakteriofager var altså mindre for *Listeria* end for *Salmonella* (Svenningsen, N.B., 2019).

Samlet konkluderes det, at effekten af bakteriofager er begrænset, når de tilsættes hakket kød i stedet for hele kødstykker/kødoverflader.

En cocktail med tre bakteriofager konkluderes at være lige så effektiv til at slå *E. coli* ihjel som antibiotika i et system, der simulerer den humane tyndtarm (Stage, 2018).

Guenter, S. & Loessner, M. (2011) undersøgte *L. monocytogenes* specifikke fager i camembertlignende oste. Her opnåede de 3 log reduktion efter 22 dage af *L. monocytogenes*.

Vurdering

Man har længe kendt til bakteriofagers bakteriedræbende egenskaber, men anvendelsen af bakteriofager som kontrol mod sygdomsfremkaldende bakterier i fødevarer og til rengøringsprocesser er relativ ny. Effekten af bakteriofager med hensyn til holdbarhed og patogener ser positiv ud i sammenhænge,

hvor bakterietyper er identificeret. Yderligere undersøgelser, omkring hvordan man kan øge drabseffekt på bakterier og nedsætte virkningstiden, er nødvendige for at kunne dokumentere effekten yderligere i sammenhæng med desinfektion og rengøring.

Det kan både være fordelagtigt og begrænsende for anvendelsesmulighederne, at bakteriofager er bakteriespecifikke. Det er en væsentlig fordel, at bakteriofager er naturlige, er effektive i deres handlingsmåde og tilgængelighed, ikke ændrer smag, lugt, struktur, farve eller næringsværdi og ikke indeholder allergener (Meireles et al., 2016).

EU Kommissionen har udarbejdet et udkast til ny lovgivning vedrørende brug af PhageGuard LISTEX™ P100 på ready-to-eat-produkter af animalsk oprindelse, i koncentrationen 10^9 pfu/g fødevare (EU Kommissionen, 2017). Der forskes meget i at bruge fager som et supplement til slagtedyrs foder. Hypotesen er, at dette vil nedsætte niveauet af patogene bakterier i tarmene hos dyrene og dermed niveauet ind på slagterierne. Derudover undersøges det også, om bakteriofager kan anvendes som dekontaminering af slagtekroppe. Resultater foreligger ikke endnu.

Der er stadig resistensproblematikken, da nogle fager er fundet til at være resistente. Denne problematik er vigtig at inddrage, før man eventuelt i fremtiden begynder at anvende fager i fødevareindustrien.

Konklusion på alternative teknologier og metoder

Kemiske, fysiske og biologiske metoder er blevet evalueret.

Før desinfektion er det essentielt at gøre rent for at fjerne organisk materiale, der måtte sidde fast på produktionsudstyr og overflader. Hvis en grundig rengøring ikke har fundet sted, er desinfektion nytteløs, da produktrester vil inaktivere desinfektionspræparatet, og potentielle skadelige og fordærvende mikroorganismer vil stadig være til stede. Mange af de evaluerede metoder er effektive når rengøringen har været grundig, men vil miste deres desinficerende effekt hvis der er organisk materiale tilbage i produktionen. Der er ingen standard for den mest optimale rengøring og desinfektionsproces. Hver fødevareproducent må anses som en unik, og rengøring og desinfektionsprocesserne skal være tilpasset den type produkter, processer og temperaturer der er tilgængelige hos fødevareproducenten.

H_2O_2 i kombination med PAA er meget effektivt og er derfor stadig en populær metode. Dog er der lugtgener forbundet ved brug. Ud fra en samlet

vurdering af metodernes forbrugeraccept, effekt, lovgivning samt praktisk anvendelse er damp sugning fundet relevant til dekontaminering af udstyr (bånd især). Ved dekontaminering af bånd kan der opnås en reduktion på 4 log enheder.

Referencer

- Arevalos-Sanchez, M.; Regalado, C.; Martin, S. E.; Meas, Y. (2013). Effect of neutral electrolyzed wáter on lux-tagged *Listeria monocytogenes* EGDe biofilms adhered to stainless steel and visualization with destructive and non-destructive microscopy techniques. *Food Control* 34(2) 472-477.
- Asselt, A.J. & Giffel, M.C. (2005). Pathogen resistance to sanitisers. *Handbook of Hygiene Control in the Food Industry*. Chapter 4, pp: 69-92. Woodhead Publishing.
- Artíguez, M. L. & Martínez de Marañón, I. (2014). Process Parameters Affecting *Listeria innocua* Inactivation by Pulsed Light. *Food Bioprocess Technology* 7, pp: 2759-2765.
- Augustin, M., Ali-Vehmas, T., & Atroshi, F. (2004). Assessment of enzymatic cleaning agents and disinfectants against bacterial biofilms. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 7(1), 55-64.
- Bernbom, N.; Vogel, B. F. & Gram, L. (2011). *Listeria monocytogenes* survival of UV-C radiation is enhanced by presence of sodium chloride, organic food material and by bacterial biofilm formation. *International Journal of Food Microbiology*, 147, pp: 69-73.
- Bertelsen, M. (2017): Elektrolyseret vand – fup eller fakta. AU Årslæg. *Gartner Tidende* 6/2017.
- Brown, K. L. (2003). Control of airborne contamination. *Hygiene in food processing*. Edited by Lelieveld, H. L. M.; Mostert, M. A.; Holah, J. & White, B. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.
- Bøegh-Petersen, J. (2015). Dampsug på bånd i produktionen. Bedre holdbarhed ved optimeret produktionshygiejne. Projektnr.: 2002291. Rapport af 15. marts 2015.
- Christensen, H. (1991). Opskæring og udbening – Generel kortlægning. *Hygiejnekortlægning*. Arbejde nr. 04.464/01. SF Rapport af 28. oktober 1991.
- Christensen, H. (2000). Vækst i opskærings- og udbeningslokalder. *Renrumsteknologi – fersk kød*. Projektnr.: 18.398. SF Internt memo af 12. april 2000. SFDw: 0013.

Christensen, L. C. (2015). Nulstil hele kontaminationsfloraen i din fødevarerproduktion! Rengøring og desinfektion. Plus Proces nr. 3, pp: 14-16.

Deza, M. A., Araujo, M., & Garrido, M. J. (2005). Inactivation of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* on stainless steel and glass surfaces by neutral electrolysed water. Letters in Applied Microbiology, 40(5). P 341-346.

EU Kommissionen (2017): Commission Regulation on the use of Listex™ P100 against *Listeria* in ready-to-eat food products. Draft act, 12 July 2017 - 09 August 2017. https://ec.europa.eu/info/law/better-regulation/initiatives/ares-2017-3512172_en

Fødevarestyrelsens hjemmeside: Rengøring og desinfektion, <https://www.foedevarestyrelsen.dk/Leksikon/Sider/Reng%C3%B8ring-og-desinfektion.aspx>. Besøgt d. 28. januar 2019

Gayán, E., Álvarez, I., Condón, S. (2013): Inactivation of bacterial spores by UV-C light, Innovative Food Science & Emerging Technologies (19).P 140-145.

Gómez-López, V. M.; Ragaert, P.; Debevere, J. & Devlieghere, F. (2007). Pulsed light for food decontamination: a review. Trends in Food Science & Technology 18, pp: 464-473.

Guenter, S., Loessner, M. (2011). Bacteriophage biocontrol of *Listeria monocytogenes* on soft ripened white mold and red smear cheeses. Bacteriophage 1:2 p: 94-100.

Gunvig, A. (2002). Hygiejnisk produktion. Virkning af IPA-sprit og P3-steril på biofilmbundne *Listeria monocytogenes* i en pauserengøringsmodel. Projektnr.: 18.449. SF Rapport af 6. august 2002. SFDw: 8088.1.

Hansen, F. og Bøegh-Petersen, J. (2015). Virus bekæmper *Listeria monocytogenes* i fødevarer. Fødevaremagasinet, Marts.

Holah, T. J. (2003). Cleaning and disinfection. Hygiene in food processing. Edited by Lelieveld, H. L. M.; Mostert, M. A.; Holah, J. & White, B. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.

Infuser.eu: Mihail Z Mihalev, personlig kommunikation – Helrumsdesinfektion

Keklik, N.M., Krishnamurthy, K., Demirci, A. (2012): Microbial decontamination of food by ultraviolet (UV) and pulsed UV light. Chapter 12, In Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Microbial Decontamination in the Food Industry. Woodhead Publishing 2012. P. 344-369.

Kim, C., Hung, Y. -C., Brackett, R. E., & Frank, J. F. (2001). Inactivation of *Listeria monocytogenes* biofilms by electrolyzed oxidizing water. *Journal of Food Processing and Preservation*, 25(2), 91–100.

Koch, AG.; Bejerholm, A.C.; Tørngren, MA. (2015) MEATPACK, A novel packaging system for meat safety and shelf-life extension. Deliverable 5.2. Projekt nr: 2002989. DMRI.

Kristensen, C.H.; (2017). Fødevarerikkerhed – en forudsætning for det globale marked. Dampsugning af bånd. Projekt nr. 2005396. DMRI rapport.

Oner, M.E; Demirci, A. (2016): Ozone for food decontamination: Theory and Applications. Chapter 33, In *Handbook of Hygiene Control in the Food Industry*. Woodhead Publishing 2016. P. 491-499.

Lauridsen, L (1998). Hurdler – Tids- og temperaturforløbets betydning for effekten af hurdlerne lactat og acetat mod vækst af *Listeria monocytogenes*. Projektnr: 18.317. SF.

Lequette, Y., Boels, G., Clarisse, M., & Faille, C. (2010). Using enzymes to remove biofilms of bacterial isolates sampled in the food-industry. *Biofouling*, 26(4), 421–431.

Li, X., Farid, M. (2016). A review on recent development in non-conventional food sterilization technologies. *Journal of Food Engineering* (182) 2016, P. 33-45

Lianou, A.; Koutsoumanis, K. P. & Sofos, J. N. (2012). Organic acids and other chemical treatments for microbial decontamination of food. *Microbial decontamination in the food industry*, Chapter 20, pp:592-664. Woodhead Publishing.

Meireles, A., Giaouris, E., Simões, M. (2016): Alternative disinfection methods to chlorine for use in the fresh-cut industry, *Food Research International* (82). P 71-85.

Mertz, A. W.; O´Bryan, C. A.; Crandell, P. G.; Ricke, S. C. & Morawicki, R. (2015). The Elimination of *Listeria Monocytogenes* Attached to Stainless Steel or Aluminium Using Multiple Hurdles. *Journal of Food Science*, Vol. 80, Nr. 7, pp: M1557M1562.

Miljøstyrelsen. Liste over uønskede stoffer 2009. Orientering fra Miljøstyrelsen Nr. 3, 2010.

Møretrø, T.; Fanebust, H.; Fagerlund, A.; Langsrud, S. (2019): Whole room disinfection with hydrogen peroxide mist to control *Listeria monocytogenes* in food industry related environments. *International Journal of Food Microbiology* 292. P: 118-125.

Møretrø, T.; Heir, E.; Nesse, L. L.; Vestby, L. K. & Langsrud, S. (2012): Control of Salmonella in food related environments by chemical disinfection. Food Research International 45. P 532-544.

Nicholas, R.; Dunton, P.; Tatham, A. & Fielding, L. (2013). The effect of ozone and open air factor on surface-attached and biofilm environmental *Listeria monocytogenes*. Journal of Applied Microbiology, 115, pp: 555-564.

Nielsen, K. (2018); Microbial quality and safety of UV treated process water streams from a pig slaughterhouse. Master Thesis, Copenhagen University. P 1-134.

Park, SH., Kang, JW., Kang, DH. (2018): Inactivation of foodborne pathogens on fresh produce by combined treatment with UV-C radiation and chlorine dioxide gas, and mechanisms of synergistic inactivation. Food Control 92. P: 331-340.

Rahman, S.M.E; Deog-Hwan. OH; Khan, I (2016): Electrolyzed water as a novel sanitizer in the food industry: Current trends and future perspectives. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.

Rasmussen, V. H. (2002). Effekt af IPA-sprit og P3-sterile til pauserengøring af slicelinie. Hygiejnisk produktion – eliminerings af *Listeria monocytogenes* i biofilm på procesudstyr. Projektnr.: 18.449. SF Rapport af 1. november 2002. SFDw: 8471.1.

Rasmussen, V. H. (2003). Pauserengøring. Effekt af IPA-sprit og P3-sterile. Hygiejnisk produktion – eliminering af *Listeria monocytogenes* i biofilm på procesudstyr. Projektnr.: 18.449. SF Rapport af 14. juli 2003. SFDw: 15008.

Rasmussen, V. H. (2003a). Drabseffekt af rengøring og desinfektion kombineret med UVC-lys over for *Listeria monocytogenes* på slicelinie. Hygiejnisk produktion – eliminering af *Listeria monocytogenes* i biofilm på procesudstyr. Projektnr.: 18.449. SF Rapport af 21. august 2003. SFDw: 12129.

Rasmussen, V. H. (2003b). Drabseffekt af UVC-lys kombineret med rengøring og desinfektion over for *Listeria monocytogenes*. Hygiejnisk produktion – eliminering af *Listeria monocytogenes* i biofilm på procesudstyr. Projektnr.: 18.449. SF Rapport af 21. august 2003. SFDw: 15638.

Rasmussen, V. H. (2011). CIP-rengøring med dampugehåndtag. Effektiv rengøring på kortere tid. Projektnr.: 2000246. DMRI Notat af 16. maj 2011.

Rasmussen, V. H & Christensen, H. (2012). Damprengøring af bånd – effekt og økonomi. Effektiv rengøring på kortere tid. Projektnr.: 2000246. DMRI Rapport af 6. juli 2012.

Sánchez, M. A.; Regalado, C.; Martín, s. E.; Domínguez- Domínguez, J. & García-Almendárez, B. E. (2012) Effect of neutral electrolyzed water and nisin on

Listeria monocytogenes biofilms, and on listeriolysin O activity. Food Control 24, pp: 116-122.

Sheen, S. & Hwang, C. (2010). Mathematical modeling the cross-contamination of *Escherichia coli* O157:H7 on the surface of ready-to-eat meat product while slicing. Food Microbiology, 27, pp: 37-43.

Singh, P. K.; Kumar, S.; Kumar, P. & Bhat, Z. F. (2012). Pulsed Light and Pulsed Electric Field-emerging Non Thermal Decontamination of Meat. American Journal of Food Technology 7 (9), pp: 506-516.

Stage, M. (2018): Kunstig tarm og bakteriofager skal afhjælpe overforbrug af antibiotika og zink, Ingeniøren, maj, 2018.

Svenningsen, N.B, (2019). Sikre nøglehulsmærkede spegepølser med høj kvalitet. WP2 Dokumentation for inaktivering af patogene bakterier. Projekt nr: 2007049. DMRI Rapport 4. marts 2019.

Taylor C., Doyle M. & Webb D. (2018): "The safety of sodium reduction in the food supply: A cross-discipline balancing act" – Workshop proceedings, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 58 (10), P 1650-1659.

The STERISAFE™ hjemmeside: <https://sterisafe.eu>. Besøgt 29. januar, 2019.

Veluz, G. A.; Pitchiah, S. & Alvarado, C. Z. (2012). Processing, Products, and Food safety. Attachment of *Salmonella* serovars and *Listeria monocytogenes* to stainless steel and plastic conveyor belts. Poultry Science 91: 2004-2010.

Wang, H., Duan, D., Wu, Z., Xue S., Xu, X., Zhou, G. (2018): Primary concerns regarding the application of electrolyzed water in the meat industry. Food Control (95): 50-56.

Wirtanen. G & Salo. S. (2003): Disinfection in food processing – efficacy testing of disinfectants. Environmental Science and Bio/Technology 2: 293-306.

Xiao, Y., Chu, M., Liu, X.C., Hu, J.Y. (2018): Impact of UVA pre-radiation on UVC disinfection performance: inactivation, repair and mechanism study.

Yun H. S.; Kim, Y.; Oh, S.; Jeon, W. M.; Frank, J. f. & Kin S. h. (2012). Susceptibility of *Listeria monocytogenes* Biofilms and planktonic Cultures to Hydrogen Peroxide in Food Processing Environments. Biosci. Biotechnol. Biochem., 76 (11) pp: 2008-2013).