

Fremstillingsprocessers effekt på drab af parasitter i fødevarer



Nao Takeuchi-Storm & Brian Lassen

Juli 2025

Fremstillingsprocessers effekt på drab af parasitter i fødevarer

Rapport

Juli 2025

Af

Nao Takeuchi-Storm & Brian Lassen

Copyright: Hel eller delvis gengivelse af denne publikation er tilladt med kildeangivelse

Forsidefoto: Colourbox

Udgivet af: DTU Fødevareinstituttet, Henrik Dams Allé, Bygning 202, 2800 Kgs. Lyngby
www.food.dtu.dk

ISBN: 978-87-7586-047-0 (elektronisk udgave)

Indhold

1.	Indledning.....	4
2.	Metoder	5
2.1	Afgrænsning af opgave	5
2.2	Litteraturgennemgang	8
2.3	Usikkerheder	8
3.	Resultater	9
3.1	<i>Toxoplasma gondii</i>	9
3.2	<i>Cryptosporidium</i> spp.	12
3.3	<i>Giardia duodenalis</i> (syn. <i>G. intestinalis</i> or <i>G. lamblia</i>).....	15
3.4	<i>Echinococcus multilocularis</i>	16
3.5	Anisakider	18
3.6	Diskussion.....	21
	Referencer.....	23
	Tak til	29

1. Indledning

Fødevarer kan være forurenede eller inficeret med human patogene parasitter. I takt med den globale opvarmning, introduktion af nye fødevarer og de nye spisevaner, der er drevet af den grønne omstilling, kan der forventes et øget indtag af plantebaserede fødevarer, fisk og lokalt vildtkød. Dette kan potentielt medføre, at eksponeringen til parasitter ændres. På trods af den voksende bekymring over den potentielle stigning i fødevarebårne infektionsrisici fra disse parasitter, er data og viden vedrørende parasitter i fødevarer sparsomme. Især er viden om effekten af fremstillingsprocesser til at dræbe parasitterne mangelfuld.

Fødevarestyrelsen har efterspurgt en *"vurdering af hvorvidt nye spisetrends samt nye og mere skånsomme fremstillingsprocesser har betydning for forekomst af specifikke parasitter i f.eks. kød fra vildt og frugt og grønt."* Yderligere har de ønsket om en vurdering af *"betydning for overlevelsen af specifikke parasitter, når virksamheder fx fremstiller ved meget lave temperaturer i længere tid - eller røgning og/eller saltning."*

Rapporten er udgivet for at redegøre for disse spørgsmål ved at give et kort sammendrag af den generelle viden om de mest traditionelle behandlingsmetoder (temperaturbehandling såsom opvarmning og frysning, saltning, røgning, og tørring) efterfulgt af generelle overvejelser omkring viden, der kan være relevante for de undersøgte parasitter og behandlinger.

2. Metoder

2.1 Afgrænsning af opgave

Fem parasitter (*Toxoplasma gondii*, *Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis*, *Echinococcus multilocularis* og anisakider) er udvalgt som de mest relevante fødevarebårne parasitter under danske forhold under indledende samtaler med Fødevarestyrelsen. *T. gondii*, *Cryptosporidium* spp., *E. multilocularis* og Anisakider rangerede også i toppen af de mest relevante fødevarebårne parasitter i Nordeuropa ifølge WHO (Bouwknegt et al. 2016, WHO&FAO 2014).

Informationer om livscyklus af parasitterne kan findes på Centers for Disease Control and Prevention hjemmeside, og vil ikke blive yderligere afdækket i rapporten. Forekomsten af de relevante parasitter i Danmark er udeladt af nærværende rapport, da den er tilstrækkeligt beskrevet i "Risikoprofil for fødevarebårne parasitter" (Fødevarestyrelsen og Dansk Veterinær Konsortium 2021). Der er yderligere nye data for forekomsten af *T. gondii* i danske grise, specielt de økologiske grise (Olsen et al. 2020). Anbefalingerne fra risikoprofilen efterlyste en "vurdering af om nye spisetrends og nye og mere skånsomme fremstillingsprocesser har betydning for forekomst af parasitter i fødevarer" og "Modellering af effekten af produktionsprocesser på fødevarebårne risici skal inkludere parasitter." En yderligere beskrivelse af fødevarebårne parasitter, hvad angår biologi, geografi, sygdom hos mennesker og relevans, kan findes i bilag 7 af WHO&FAO (2014).

Parasitter har behov for en vært for at fuldføre deres livscyklus, hvilket betyder, at de ikke kan opformeres i fødevarer på samme måde, som bakterier kan. Parasitter kan være til stede i (*T. gondii*, *Anisakis*) eller på overfladen af råvarer (*Cryptosporidium*, *Giardia*, *E. multilocularis*) eller begge dele (*T. gondii*). Parasitterne kan forårsage direkte smitte ved indtagelse af kontamineret mad og resultere i sygdom, hvis forarbejdningsprocessen ikke kan inaktivere de pågældende parasitter. Indirekte smitte kan ske gennem fødevarer, hvis de bliver kontamineret under fødevareproduktion gennem f.eks. kontamineret vand eller uhygiejnisk håndtering (f.eks. af medarbejder smittet med fækal-oral overførte parasitter).

En oversigt af fødevarer, som kan være forbundet med de fem parasitter og deres mulige smitteveje kan ses i Tabel 1 (modificeret fra EFSA BIOHAZ Panel, 2018).

Rapporten vil tage stilling til evidensen for parasitternes overlevelse ved de mest traditionelle behandlingsmetoder: temperaturbehandlinger såsom opvarmning og frysning, saltning, røgning og tørring. Hvor det er relevant, er mulige tiltag inddraget i forebyggelsen af parasitterne i fødevarerne. Dette er hovedsageligt relevant for parasitter, som indgår i fødevarer, der potentielt er blevet eksponeret til parasitterne i miljøet.

Table 1: En oversigt af fødevarer og mulige smittevej for de udvalgte fem parasitter (udvidede af tabel 1 fra EFSA BIOHAZ Panel (2018)).

Parasit	Fødevarergruppe	Mulige smittevej
<i>Toxoplasma gondii</i>	Friske råvarer (frugt, grønt, krydderier som skal spises rå)	Afføring fra inficerede kattedyr under dyrkning og evt. forurenede vand brugt til kunstvanding, sprøjtning osv., sprøjt fra regn kan føre til spredning af forureningen, krydskontaminering via vaskevand.
	Frugt- og grøntsagsjuicer	Afføring fra inficerede kattedyr under dyrkning af afgrøden (herunder forurenede vand brugt til kunstvanding, sprøjtning, osv.).
	Mejeriprodukter	Overførsel af tachyzoitter i mælk fra inficerede pattedyr med aktive infektioner i lakterende dyr såsom geder. Vand forurenede med oocyster under produktion.
	To-skallede bløddyr*	Filtrering af forurenede havvand under dyrkning (fødeoptag ved filtrering). Krydskontaminering under depuration/rensning.
	Kød (husdyr og vildt)	Spisning af alle kødtypeper fra inficerede dyr (bradyzoitter i vævsceller), hvis de ikke er tilstrækkeligt behandlede (f.eks. frosset, kogt, osv.).
<i>Cryptosporidium</i> spp.	Andre	Kontakt med inficeret kat (fækal-oral)
	Friske råvarer (frugt, grønt, krydderier som skal spises rå)	Afføring fra dyr og mennesker med zoonotiske arter under dyrkning af plantebaserede fødevarer; sprøjt fra regn kan føre til spredning af parasitten, forurenede vand brugt under dyrkning (sprøjtning, kunstvanding osv.). Inficerede personer som håndterer fødevarer. Forurenede vaskevand under forarbejdning før emballage, pakning og salg.
	Frugt- og grøntsagsjuicer	Afføring fra inficerede dyr og mennesker under dyrkning af afgrøden (inklusive fra forurenede vand til kunstvanding, sprøjtning etc.) og eventuelt ved forurenede vand brugt til fortynding. Inficerede personer som håndterer fødevarer.
	Mejeriprodukter	Afføring fra inficerede dyr under malkning. Inficerede personer som håndterer fødevarer.
	To-skallede bløddyr	Filtrering af forurenede havvand under dyrkning (fødeoptag ved filtrering) Krydskontaminering under depuration/rensning. Inficerede personer som håndterer fødevarer.
	Kød	Kontaminering af kødoverfladen med fæces/tarmindhold fra inficerede dyr på slagterier. Inficerede personer som håndterer fødevarer
	Andre	Vand, kontakt med inficerede dyr (kalve), håndtering af fødevarer af inficerede personer i køkkenet.

<i>Giardia duodenalis</i>	Friske råvarer (frugt, grønt, krydderier som skal spises råt)	Afføring fra inficerede dyr og mennesker under dyrkning af planter; sprøjt fra regn kan føre til spredning af parasitten fra forurenede jord, forurenede vand brugt under dyrkning (sprøjtning, kunstvanding, osv.). Inficerede personer som håndterer fødevarer. Forurenede vaskevand under forarbejdning før emballage, pakning og salg.
	Frugt- og grøntsagsjuicer	Afføring fra inficerede dyr og mennesker under dyrkning af afgrøden (inklusive brug forurenede vand til kunstvanding, sprøjtning etc.) og eventuelt ved forurenede vand brugt til fortynding. Inficerede personer som håndterer fødevarer.
	Mejeriprodukter	Afføring fra inficerede dyr under malkning. Inficerede personer som håndterer fødevarer.
	To-skallede bløddyr	Filtrering af forurenede havvand under dyrkning (fødeoptag ved filtrering). Krydskontaminering under udlægning med henblik på rensning. Inficerede personer som håndterer fødevarer.
	Kød	Kontaminering af kødoverfladen med fæces/tarmindhold fra inficerede dyr på slagterier. Inficerede personer som håndterer fødevarer.
	Andre	Vand, kontakt med inficerede dyr (vildt, husdyr, kæledyr). Håndtering af fødevarer af inficerede personer i køkkenet.
<i>Echinococcus multilocularis</i>	Friske råvarer (frugt, grønt, krydderier som skal spises råt)	Kontaminering med afføring fra inficerede hovedværter (hunde, ræve og andre hunde arter) under dyrkning af planter eller af vildplukkede produkter under vækst, og evt. kontaminering af vand, der bruges til kunstvanding, sprøjtning osv., og krydskontaminering via vaskevand.
	Frugt- og grøntsagsjuicer	Kontaminering med afføring fra inficerede hunde under dyrkning af afgrøden (herunder forurenede vand brugt til kunstvanding, sprøjtning, osv.) og muligvis af forurenede vand brugt til fortynding.
	Andre	Kontakt med inficerede ræve, kontamineret vand
Anisakid larver	Fisk	Indtag af rå eller ikke tilstrækkelige behandlede fisk, som er vildtlevende, opdrættet i åbent hav i bure, eller åbne gennemstrømningsferskvandsdamme.

* DNA er detekteret i to-skallede bløddyr, men ingen udbrud/kliniske tilfælde er rapporteret før.

2.2 Litteraturgennemgang

Litteraturen, som rapporten er baseret på, er primært review artikler, der har opsummeret inaktivering af parasitter i fødevarer (Frassen et al. 2019, Gerard et al. 2019) og andre artikler, som blev vurderet relevante for rapportens udarbejdelse.

2.3 Usikkerheder

Infektionsdosis af fødevarebårne parasitter kan være lav (protozoa kan være <100 oocyster per gram (OPG)/g (Rousseau et al. 2018, Moretto et al. 2023). Derfor er resultater, der er baseret på metoder, der kan kvantificere parasitter med lav detektionsgrænse, foretrukket.

Der er ISO metoder udviklet for detektion af anisakid larver (DS/EN 23036:2021 Metoder til detektion af L3-larver i fisk og fiskerivarer del 1: UV-pressemetode, del 2: Kunstig fordøjelsesmetoder) og af *Cryptosporidium* spp. i friske grøntsager (DS/EN 18744:2016). DS/EN 18744:2016 er baseret på immunomagnetisk adskillelse efterfulgt af epifluorescensmikroskopi. Sidstnævnte kan være dyr, teknisk, og tidskrævende at udføre. Derudover kan metoden ikke påvise parasittens levedygtighed eller evne til inficere en vært.

Fund af DNA fra parasitter indikerer først og fremmest tilstedeværelse men afdækker ikke parasittens infektivitet efter en behandling, som fødevaren har gennemgået. Derfor er "golden standard" for at vurdere parasittens infektivitet brug af en dyremodel. Kort beskrevet, så gives parasitter til dyr, som efterfølgende observeres for at se, om de bliver inficerede. Studier, der forsøger at påvise inaktivering af parasitter med denne "golden standard", er dog begrænsede. Derfor vil denne rapport også inkludere analyse af forsøg, som har benyttet andre metoder (*in vitro* forsøg, oocyster klækningsprocent, farvning osv.). Dette til trods for at disse metoder medfører en større usikkerhed omkring ekstrapolation af fundne effekter på det faktiske tab af evnen til at forårsage infektion.

Drabseffekten af opvarmningen af fødevarer er en funktion af den højeste kerntemperatur af fødevaren opnået over en periode, samt opvarmningsmetoden. Der kan findes informationer på nogle af disse kombinationer, men langt fra alle.

Højtryksbehandlingsmetoder er kun berørt, hvor det blev fundet relevant.

3. Resultater

I de følgende afsnit gennemgås **effekten af** forskellige behandlingsmetoder **på de undersøgte parasitter**. Bilag A præsenterer **en oversigt over enkelte effekter opsummeret fra de studier**, som er inkluderet i undersøgelsen.

3.1 *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma har mere end et livsstadie, som kan være til stede i og på fødevarer og dermed smitte mennesker. Vævscyster (tachyzoitter og bradyzoitter) findes i kødet af inficerede værter, hovedsageligt pattedyr. Tachyzoitter kan også udskilles i mælk, hvis dyret har en aktiv infektion. Oocyster, udskilt af inficerede katte, kan kontaminere jord og vand, dermed også potentielt kontaminere friske grøntsager og to-skallede bløddyr. Inaktivering af vævscyster og oocyster er beskrevet nedenfor. Generelt er oocyster mere robuste end vævscyster.

Hald et al. (2016) har estimeret den relative signifikans af fødevarer som smittekilde for *T. gondii* baseret på ekspertviden. De har estimeret, at 45-61% er relateret til fødevarer, 1% til kontakt med dyr, 15-23% til vand, 18-37% til jord i Europa.

Traditionelle behandlingsmetoder

Varmebehandling

I forhold til tachyzoitter og bradyzoitter i kød- og mælkeprodukter er der ikke evidens for, at *T. gondii* i kød er mere varmetolerant end andre fødevarerpatogener så som *E. coli* og *Salmonella*. Kontrollerede laboratorieforsøg af små mængder inficeret svinekød (20 g) på 2 mm tykkelse viste, at behandling i 9,5 min. med en kerntemperatur ved 52 °C ikke fuldstændigt inaktiverede *T. gondii* og parasitten stadigvæk var infektiv (Dubey et al. 1990). Behandlingstid var inklusiv come-up og come-down tid. Behandling ved 58 °C og > 61 °C i henholdsvis 9,5 min. og 3,6 min. kunne inaktivere parasitten, dog blev en ud af 45 mus inficeret efter indtag af parasitter fra kødet efter behandling ved 64 °C i 3 min. De konkluderede, at *T. gondii* cyster var mindre varmetolerante end *Trichinella spiralis* larver. Ifølge deres inaktiveringsmodel kan *T. gondii* cyster inaktiveres på 3 sek. ved 67 °C (uden come-up og come-down tid), dvs. lav pasteurisering af mælk (f.eks. 63 °C i 30 min. eller 72 °C i 15 sek.) kan potentielt inaktivere *T. gondii*, dog er specifikke undersøgelser med mælk ikke fundet.

Data på inaktivering af *T. gondii* oocyster med varme er meget begrænset, muligvis pga. vanskeligheder forbundet med at skaffe oocyster fra inficerede katte. Et ældre studie viste, at ingen mus blev inficeret efter eksponering til oocyster, som var blevet varmebehandlet ved 70 °C i 2 min., 55 og 60 °C i 15 min. og 50 °C i 30 min (Ito et al., 1975).

Sous vide

Dubey et al. (1990) viste, at de fleste *T. gondii* i svinekød blev dræbt af varmebehandling ved 52 °C i 24 min. Madlavningsmetoder som *Sous vide* anbefaler tilberedning ved ned til 54 °C for oksekød og svinekød (www.sousvide.dk). Der er dog forskel på tykkelsen af kødstykker, der normalt bruges til madlavning, og hvad der er videnskabeligt undersøgt for parasittens overlevelse, hvilket kan have indflydelse på, hvor længe parasitten kan overleve varmebehandlingen. De lavere temperaturer brugt i *Sous vide* ligger indenfor, hvad nogle *T.*

T. gondii kan overleve, men det er uvist om længere tider ved disse temperaturer kan inaktivere parasitten.

Grilning

Den samme problemstilling om kort opvarmning af overfladen ses ved grilning af kødstykker, hvor kernetemperaturen måske ikke blive tilstrækkelig høj. Forslag til grilning af kød ligger på 54–56 °C for "rare" kød (mandekogebogen.dk). Baseret på de beskrevne forsøg for varmetolerance, så mangler der data der kan konstatere om disse temperaturer kan være tilstrækkelige til at slå *T. gondii* i kødet ihjel (Dubey et al. 1990). Der mangler desuden viden om effekten af at lade kødet "hvile" efter stegning for overlevelsen af parasitten.

T. gondii findes i kødet som cyster overalt i værtens celler og sjældent på overflader (oocyster). Parasitten kan typisk findes i alle muskler på kvæg, og findes i hjerne, hjerte og lunger i grise og får (Opsteegh et al. 2016). Alle pattedyr og fugle kan også potentielt være inficeret bl.a. gris, kylling, får/ged, hest og kvæg (Opsteegh et al. 2016) samt vildt. Der er nogle kliniske tilfælde rapporteret efter jagt og indtagelse af utilstrækkeligt varmebehandlet kød fra hjort og bjørn (Conrady et al. 2021; Schumacher et al. 2020; Gaulin et al. 2020). Gaulin et al. (2020) anbefalede enten at fryse eller varmebehandle hjortekød tilstrækkeligt.

Mikrobølgeopvarmning

Ved mikrobølgeopvarmning opvarmes kødet ikke ensartet, da varmepåvirkningen skyldes tilstedeværelsen og kollisionen af vandmolekyler i fødevaren.

Ved opvarmning af 1,22 kg kød fra *T. gondii*-inficerede får, overlevede *T. gondii* en slutkernetemperatur på 65 °C efter 10 min. ved mikrobølgeovnens medium effektniveau (330 W) og 25 min. ved højt effektniveau (600 W) (Lunden and Ugglå 1992). Studiet testede forskellige størrelser af kødstykker (0,765-1,700 kg) og demonstrerede, at *T. gondii* evne til at overleve ved denne opvarmingsmetode var afhængig af kødstykkernes størrelse og eksponeringstiden ved forskellige effektniveauer (W). Studiet er dog begrænset til fire forsøg med efterfølgende bioassays, og nutidens mikrobølgeovne opererer desuden ved en højere effekt. Et nyere studie eksponerede 50 g kødterninger fra inficerede får i 5 min. ved mikrobølgeovnens medium niveau uden at inaktivere *T. gondii* i bioassays, men oplyste ikke apparatets effekt (El-Nawawi et al. 2008). Der mangler viden om evnen af denne type tilberedning til at inaktivere *T. gondii* med tidssvarende apparater.

Frysning

Frysning af 50 g kødstykker til –10 °C i 2 dage var ikke tilstrækkeligt til at inaktivere *T. gondii*, men de døde til gengæld i 20 g hakket kød opbevaret ved –8 °C efter 3 dage (El-Nawawi et al. 2008). Sænkes temperaturen til –20 °C, er *T. gondii* stadigvæk infektiøs efter 1 dag, men ikke efter 2 dage, når den måles i bioassays (El-Nawawi et al. 2008). Frysetemperaturer kan inaktivere parasitten, men afhænger ligesom opvarmning af faktorer som fødevaretype, tykkelse, temperatur og tid. Der mangler derfor viden om parasittens overlevelse for forskellige fødevaretyper (kødstykke/hakket), og om faktorer, så som fedtindhold, påvirker overlevelsen og infektiviteten under kortere nedfrysninger.

EFSA BIOHAZ Panel (2018) skriver, at inaktivering kan ske med frysning ved < -12 °C. Kotula et al. (1991) har udviklet en inaktiveringsmodel for frysning af svinekød. Ifølge modellen er -12,37

°C i 7,3 timer tilstrækkeligt for at inaktivere cyster i svinekød. I et andet studie blev ingen mus inficeret med *T. gondii* efter fodring med inficeret fårekød, som havde været frosset ved -20 °C i 54 timer og optøet natten over ved 4 °C (Lund og Ugglå, 1992). Der er ingen undersøgelser af inaktivering ved frysning af vildtkød såsom hjortekød.

Saltning, syring, og tørring

Lunden and Ugglå (1992) demonstrerede inaktivering af *T. gondii* ved at opbevare inficeret kød i en blanding af 7-11% NaCl og 6-9% sukrose ved 4 °C i 64 timer. Der er litteratur, der indikerer, at *T. gondii* er følsom overfor salt. Hill et al. (2006) konkluderede, at inaktivering af vævscyster skete allerede 8 timer efter stiksaltning af svinekam med 110% lage indeholdende 2% NaCl, 1,4% natriumlaktat eller 1,4% kaliumlaktat. Lagesaltning ved koncentrationer på $\geq 2,5\%$ NaCl har også resulteret i inaktivering af vævscyster efter 1 dag ved 4 °C, dog kunne lagesaltning ved 2% NaCl ikke inaktivere vævscyster i op til 8 dage (Pott et al. 2013). Behandling med nitritsalt har muligvis en bedre effekt, da samme studie observerede inaktivering allerede efter 4 dage ved 4 °C ved brug af saltlage med 2% nitritsalt (0,5% nitrit).

Toxoplasma-vævscyster udviser nogen tolerance over for syring. Inaktivering blev vist ved pH 5 efter 28 dage ved 4 °C i bioassays (Pott et al. 2013).

Parmaskinke, tilberedt efter reglerne (4,2–6,2% NaCl og tørret i 12, 14 and 16 måneder) og testet i bioassays, resulterede ikke i en infektion med *T. gondii* (Genchi et al. 2017).

Det er forsøgt at erstatte bioassays, hvor mus og katte fodres med de behandlede fødevarer for at etablere om parasitten er i stand til at inficere en vært. For eksempel, er *in vitro* bioassay anvendelige til at evaluere parasittens levedygtighed efter en behandling af fødevarer (kød). Ved en *in vitro* bioassay, fordøjes (opløses) fødevarer kemisk/enzymatisk for at frigøre parasitten, og infektiviteten af parasitten blev efterfølgende vurderet ud fra dens evne til at inficere celler i cellekulturen (Opsteegh et al. 2024). Opsteegh (2024) brugte denne model til at undersøge effekten af saltindhold og fandt, at *T. gondii* kunne overleve saltindhold på $\leq 1,2\%$ NaCl i 20 timer ved 4 °C, men inaktiveredes ved 2,7%. Der er flere spiseklare dagligvareprodukter med et saltindhold under 2,7% (Trolle et al. 2019), og der mangler viden om parasittens evne til at overleve forskellige niveauer af saltindhold.

Røgning

Røgning kan styrer produktsikkerhed i kombination af varmebehandling, tørring og saltindhold. Lunden and Ugglå (1992) brugte bioassays til at konstatere, at indsprøjtning af fårekød med kombinationen af NaCl-opløsning (stiksaltning) efterfulgt af røgning ved 50 °C i 24-28 timer var nok til at inaktivere *T. gondii*. Det kan ikke konkluderes, hvilke faktorer, såsom temperatur, tørring og salt, der er afgørende for *T. gondii*, da forsøget ikke har testet forskellige betingelser (temperatur og tid), og der mangler tilstrækkelig information om NaCl koncentration og kødvægt.

3.2 *Cryptosporidium* spp.

Fødevarer kan være forurenet med oocyster af *Cryptosporidium* spp., som kan være til stede i miljø eller vand, der er forurenet med afføring.

Ifølge Hald et al. (2016) er smitekilderne til *Cryptosporidium* spp. i Europa fordelt med 9-11% fra fødevarer, 14-16% fra kontakt med dyr, 28-30% fra kontakt mellem mennesker, 36-38% fra vand og 1% fra jord.

Traditionelle behandlingsmetoder

Varmebehandling

Varmebehandling kan inaktivere *Cryptosporidium* oocyster. Deng & Cliver (1999) har demonstreret $\geq 4,8$ log reduktion af levedygtige *C. parvum* oocyster i æblecider efter varmebehandling ved 71,7 °C i 5 sek., og konkluderet, at den almindelige pasteurisering (71,7 °C, 15 sek.) kan inaktivere *Cryptosporidium* oocyster. Harp et al. (1996) har også vist, at 71,7 °C i 5, 10, 15 sek. kunne inaktivere *Cryptosporidium* oocyster i vand og mælk. Varmebehandling ved lavere temperaturer, såsom *Sous vide* (55-60 °C for rødt kød), menes at inaktivere *Cryptosporidium* oocyster, der er dog ikke lavet specifikke studier. Et dyreforsøg med *C. parvum* oocyster i vand viste, at en ud af 6 mus blev inficeret efter indtagelse af oocyster, som var varmebehandlet ved 59,7 °C i 5 min. Infektioner blev ikke observeret efter behandling ved 64,2 °C i 2 min. eller længere (Fayer 1994).

Frysning

Cryptosporidium oocyster kan tåle frysning i begrænset omfang. Flere mus var inficerede med *C. parvum* efter indtagelse af oocyster frosset ved -10 °C i 7 dage eller -15 °C i 24 timer. Ingen mus var dog inficeret efter indtagelse af oocyster, som havde været frosset ved -20 °C i 24 timer (Fayer & Nerad, 1996). Robertson et al. (1992) har til gengæld observeret, at 1,8% af oocyster stadig var levedygtige under mikroskopi efter frysning ved -22 °C i 775 timer, dvs. >32 dage. 20% af oocyster på grønne peberfrugter var stadig levedygtige under mikroskopi efter blæstfrysning ved -20 °C i 4 min. (Duhain et al., 2012). Ca. 8% af oocyster i vand var levedygtige efter frysning ved -20 °C i 24 timer, mens ingen oocyster i flødeis var levedygtige efter -20 °C i 24 timer (Deng og Cliver, 1999). Forfatterne formoder, at den hurtige nedkøling i flødeismaskiner kan medføre inaktivering af oocyster i flødeis.

Syrning

Cryptosporidium oocyster kan tåle en lav pH. Upasteuriseret frisk æblecider har forårsaget et cryptosporidiosis udbrud i USA (Millard et al. 1994). Dawson et al. (2004) observerede, at organiske syrer, såsom citronsyre og mælkesyre, havde en begrænset effekt på overlevelsen af oocysterne. Der var stadig nogle af oocysterne, som klækkede efter eksponering til citronsyre (pH 2,6) ved 22 °C i 14 dage, mens en mindre andel af oocysterne klækkede efter eksponering til eddikesyre (pH 3,6) ligeledes ved 22 °C i 14 dage. Kniel et al. (2003) undersøgte effekten af tilsætning af 1–5% organiske syre (citronsyre, levulinsyre, æblesyre, vinsyre) i frugtjuice (pH 3,14–3,90). De fandt, at infektiviteten var reduceret med 20–40% uden tilsætning af organiske syre, mens den største reduktion blev opnået (> 80%) ved tilsætning af 5% æblesyre i æblejuice, med den bi-effekt at smagskvaliteten blev forringet.

Oocyster overlever også under fremstilling af yoghurt, hvis kontamineringen sker fra f.eks. råmælk eller udstyr. Ca. 58% af oocyster var stadig levedygtige efter 8 dage i yoghurt (pH 4,8), og tilsvarende levedygtighed blev observeret i kontrollen, dvs. mælk uden tilsætning af startkultur (pH 6,2) (Deng & Cliver, 1999).

Saltning, røgning, tørring

Det var ikke muligt at finde litteratur vedr. overlevelse af *Cryptosporidium* i fødevarer forarbejdede ved saltning, røgning eller tørring. Dette er sandsynligvis en afspejling af, at tilstedeværelsen af *Cryptosporidium* oocyster i kød- eller fiskeprodukter er sjældne. Ingen oocyster blev påvist på okse slagtekroppe (n=288) i Irland (Moriarty et al. 2005), og kun enkelte oocyster blev påvist i spegepølser, som blev undersøgt i forbindelse med et *Cryptosporidium* drikkevandsudbrud i Sverige (Robertson og Huang, 2012).

Det kunne også være indikation af, at oocyster er tilstrækkeligt styret med lav vandaktivitet (a_w) i forarbejdede fødevarer, da en tidligere undersøgelse viste, at sænket vandaktivitet kan inaktivere oocyster i f.eks. pandekage med sirup (a_w 0,85) og salt-dextrose opløsning (a_w 0,95) (Rose & Slifko 1999).

Rensning af to-skallede bløddyr

Der er en del undersøgelser, som har påvist tilstedeværelse af *Cryptosporidium* (både oocyster og DNA) i to-skallede bløddyr (oversigten kan ses i EFSA BIOHAZ Panel, 2018). Betydningen af to-skallede bløddyr som smitekilde er dog ukendt, da ingen udbrud af *Cryptosporidium* fra to-skallede dyr er beskrevet. Infektiviteten er dog blevet bekræftet med dyreforsøg, hvor *C. parvum* blev påvist i tarmkanaler hos neonatale mus, som var fodret med naturligt eksponerede østers i Maryland, USA (Fayer et al. 1998). De samme forfattere har undersøgt *Cryptosporidium* oocysters tolerance til saltvand og viste, at de var infektiøse efter 12 uger ved 10 °C i 30 ppt saltvand.

Det er lovpligtigt, at to-skallede bløddyr renses for at fjerne mikrobiologiske farer (EC 91/492/EØF). Ifølge Sunnotel et al. (2007) er rensning med UV-behandlet vand almindeligt i industrien i UK, og ca. 69% af oocyster i østers kunne fjernes og infektiviteten reduceres til 17,6% efter 48 timers rensning i UV-behandlet vand. Undersøgelse af kommercielle to-skallede bløddyr, som gennemgik rensning i 2 dage, viste dog stadig levedygtige oocyster i 10 ud af 44 prøver (22,7%) (Gomez-Couso et al. 2003). Forfatterne kunne ikke vise sammenhænge til kategorisering af produktionsområde ifølge antal coliforme bakterier og konkluderede, at denne kategorisering ikke kan benyttes til at forudsige kontaminering med *Cryptosporidium* i to-skallede bløddyr.

High pressure processing (HPP)

Højtryksbehandling af *C. parvum* oocyster i østers (305-550 MPa i 3 min.) kunne reducere infektiviteten i neonatale mus, men kunne ikke helt inaktivere oocysterne (Collins et al. 2005).

Generelle overvejelser

Skylning

Skylning af grøntsager og frugt reducerer antallet af bakterier med ca. 80% (Uhlir et al. 2017). Skylning kan også reducere antallet af parasitter, men effekten er sandsynligvis mindre end for bakterier, da miljøstadier af parasitter (æg/cyster) "klistrer" på overflader. Marcarsin et al. (2010) undersøgte effekten af skylning af æbler og fandt 37,5% reduktion ved kraftig vask (mekanisk omrøring og vaskemiddel). Elektronmikroskopi viste, at *Cryptosporidium* oocyster var fæstnet på

overfladen samt i det dybe lag af skrællen. Det samme blev observeret på spinatblade, hvor oocyster havde infiltreret bladet gennem stomatalåbningerne og var til stede i dybe lag i bladene (Marcarsin et al., 2010). Et andet laboratorieforsøg viste reduktion ved skylning af vårsalat på ca. 0,4 log, dvs. ca. 60% (Kubina et al., 2023). Det samme studie viste, at *Cryptosporidium* oocyster kunne forblive på levende vårsalat (under dyrkning) i ca. 8 uger efter kontaminering, dog var kun ca. 6% infektiøse, vurderet af *in vitro* bioassay (cellekultur).

Temesgen et al. (2021) undersøgte effekten af simpel vask af bær under den kolde hane i 1 min. og viste, at i gennemsnit kunne mindst 80% af *C. parvum* fjernes. En anden protozoa parasit, *C. cayetanensis* klæbede sig bedre fast sammenlignet med *C. parvum*.

3.3 *Giardia duodenalis* (syn. *G. intestinalis* or *G. lamblia*)

Vand er den hyppigste årsag til udbrud med *Giardia*, og fødevarebårne udbrud er sjældne. Når fødevarebårne udbrud opstår, er der typisk tale om kontaminering under håndtering, som er årsagen og ikke selve råvaren (Robertson 2014). På den anden side er der epidemiologiske undersøgelser, som peger på, at indtagelse af bladgrønsager er forbundet med risiko for giardiasis (Stuart et al. 2003, Espelage et al. 2010). Yang et al. (2010) har også fundet *G. duodenalis* type A og B, som kan forårsage sygdom hos mennesker, i fisk fra ferskvands-, hav- og kulturmiljøer og konkluderede, at fisk kan være en potentiel smittekilde for giardiasis. Ifølge Hald et al. (2016), er smitte med *G. duodenalis* i 11-12% af tilfældene associeret med fødevarer, 2% er forbundet med kontakt med dyr, 44-47% med kontakt mellem mennesker, 32-34% er forbundet med vand og 1% med jord i Europa.

Data for inaktivering af *G. duodenalis* i fødevarer er sparsomme, sandsynligvis fordi *Giardia* cyster er betragtet som ikke at være lige så robuste som *Cryptosporidium* oocyster (Utaaker et al. 2019). *Giardia* kan overleve køleopbevaringstemperaturer, men ikke frysning (Utaaker et al., 2019).

Varmebehandling

Et forsøg viste, at der ikke var levedygtige *G. muris* cyster tilbage efter behandling ved 56 °C i 10 min. (Sauch et al. 1991). Et andet studie viste dog nogle levedygtige *G. duodenalis* og *G. muris* cyster efter 50 °C eller 60 °C i 10 min., men ingen levedygtige cyster efter 70 °C i 10 min. (Ongerth et al. 1989). USA EPA (2000) skriver, at 54 °C i 10 min. inaktiverer *Giardia* cyster tilstrækkeligt og, at kogning kan dræbe *Giardia* cyster straks, men videnskabelige referencer til disse oplysninger kunne ikke findes.

Frysning

G. duodenalis cyster overlever ved køleopbevaringstemperaturer på 4 °C i op til 2 dage (Utaaker et al., 2019). Robertson og Gjerde (2006) kiggede på overlevelse af *G. duodenalis* cyster i jord under den norske vinterperiode, og fandt ca. 10% levedygtige efter 10-12 dage og kun 2% efter 75 dage. I det norske vandmiljø var der ingen levedygtige *Giardia* cyster ved 1–7 °C efter 1 måned.

Overlevelse på salat og bær

Utaaker et al. (2019) undersøgte overlevelse af *G. duodenalis* cyster på blade af hovedsalater. Cirka 50% af dem døde inden for 24 timer ved stuetemperatur, og ca. 55% overlevede i køleskab (4 °C) efter 9 dage. Forfatterne mener, at der er kun lille risiko for giardiasis fra indtagelse af fødevarer, som er eksponeret til stuetemperatur i en længere periode selvom, de er blevet kontamineret med *G. duodenalis* cyster på marken. Ligesom set for *C. parvum* kan simpel vask af bær under den kolde hane i 1 min fjerner mindst 80% af *G. duodenalis* (Temesgen et al., 2021).

3.4 *Echinococcus multilocularis*

Fødevarer kan blive forurenet med æg fra *E. multilocularis* gennem afføring fra hovedværtten, som primært er ræve. Der mangler viden om, hvilke fødevarer der er i risiko for at blive kontamineret med æg, men grøntsager, frugt og svampe fremhæves af EFSA som særlige sårbare for kontaminering pga. kontakt med hovedværtens afføring.

Ifølge Hald et al. (2016), er smitte med *E. multilocularis* gennem indtag af fødevarer i 44-52% af tilfældene, 3-14% er forbundet med kontakt med dyr, 17-18% med vand, og 16-17% med jord i Europa.

Traditionelle behandlingsmetoder

Varmebehandling

Det ser ud til, at pasteurisering ikke kan inaktivere *E. multilocularis* æg. Federer et al. (2015) viste, at 2 ud af 4 mus blev inficerede ved at drikke vand, hvori æg var suspenderet og varmebehandlet ved 65 °C i 2 timer. Tilstrækkelig inaktivering, dvs. ingen inficerede mus, blev opnået med varmebehandling ved 65 °C i 3 timer, 70 °C i 30 min., 75 °C i 15 min. eller 80 °C i 7,5 min. Ifølge Viet et al. (1995) var der ingen af 7 mus, der blev inficerede efter at have indtaget æg, som var blevet suspenderet i vand og varmebehandlet ved 43 °C i 4 timer. EFSA (2018) anbefaler varmebehandling ved mindst 65 °C i 3 timer, mens Eckert et al. (2001) anbefaler 65 °C i 30 min.

E. multilocularis æg ser ud til at have en lavere varmetolerance ved en lavere luftfugtighed. Federer et al. (2015) demonstrerede, at æg på filterpapir, der var eksponeret til 65 °C i 30 min. og 55 °C i 120 min. ved en 70% luftfugtighed, kunne inaktiveres. Til sammenligning var æg stadig infektive i vand efter en varmebehandling ved 65 °C i 1 time og 55 °C i 120 min. Ifølge Viet et al. (1995) var der ingen mus, der blev inficerede ved indtag af *E. multilocularis* æg, som var udsat for enten 45 °C i 3 timer og en luftfugtighed på 85-95%, ved 25 °C i 48 timer og en luftfugtighed på 27%, eller ved 43 °C i 2 timer og en luftfugtighed på 15%.

Frysning

Æg af *E. multilocularis* er robuste og kan forblive infektive ca. 1 år i miljøet, men er sensitive for udtørring (Viet et al., 1995). Æggene er især robuste overfor lave temperaturer/frysning, og er blevet fundet i den arktiske region. Det lykkedes *E. multilocularis* at blive introduceret i et arktisk miljø i Svalbard, Norge (Henttonen et al. 2001), hvor månedlige middeltemperaturer er ca. -15 °C om vinteren og 10 °C om sommeren (<https://seklima.met.no/observations/>). Viet et al. (1995) har demonstreret, at æg kan overleve i 478 dage ved 4 °C og 240 dage ved -18 °C. Æg kan dog inaktiveres efter 48 timer ved -83 °C. EFSA BIOHAZ Panel (2018) anbefaler frysning ved -80 °C i mindst 24 timer (Eckert et al. 2001).

Saltning, røgning, tørring

Der er ingen undersøgelse af inaktivering af *E. multilocularis* æg i fødevarer med forskellige behandlingsmetoder, så som saltning, røgning eller tørring. Dette skyldes, at typen af fødevarer, hvor æg fra *E. multilocularis* potentielt kan forekomme, typisk er af ikke-dyrsk oprindelse og består af kontaminede friske grøntsager, frugter og vand.

Generelle overvejelser

Skylning

Echinococcus æg kan findes i hovedværter pels (Eckert og Deplazes 2004), og det mistænkes, at æggene kan klæbe sig til overflader (Genard et al. 2019). Forsøg med kontaminering af jordprøver har blandt andet vist, at typen af bærs overflade også kan have betydning for om, denne type parasitæg kan findes på dem (Malkamäki et al., 2022). Der er dog et prævalensstudie, der undersøgte kontaminering af *Echinococcus*-æg på grøntsager og frugter ved at kigge efter æg i skyllevandet (Federer et al., 2016). Her fandt man, at 21% (30 ud af 141) prøver af skyllevand fra grøntsager og frugter var positive for forskellige arter af bændelorm inkl. *E. granulosus*. Æg af *E. multilocularis* blev ikke fundet, men forfatterne konkluderede, at grøntsager og frugter kunne være mulige smitekilder for *E. multilocularis*. Yderligere, er tygning af græs samt indtag af uvaskede jordbær blevet identificeret som risikofaktorer for alveolar echinococcosis i mennesker i Tyskland (Kern et al., 2004). De to studier indikerer, at skylning kan fjerne nogle bændelorm æg fra råvarer, men der mangler dog kvantitative data.

E. multilocularis er blevet fundet i ræve i Danmark siden 2000 og i en højere prævalens end i nabolandene Norge og Sverige (Wahlström et al. 2015). Voksne bændelorme kan dræbes i hovedværten ved behandling med ormemidler. Det er derfor i teorien muligt at dræbe voksne parasitter i tarmen hos hovedværterne og forhindre kontaminering af miljøet/fødevarer ved brug af foderblokke med ormekure til behandling af ræve (Hegglin et al. 2003). Da inkubationstiden er ca. 5-15 år, er det nødvendigt at give ormekure til ræve i årtier for at se en potentiel effekt. Strategier som disse kan potentielt bruges til at reducere risiko lokalt (omkring sårbar fødevareproduktion), regionalt (byer) eller nationalt.

3.5 Anisakider

Fisk kan være inficeret med anisakid larver.

EFSA BIOHAZ Panel har i 2010 lavet en risikovurdering af parasitter i fiskeprodukter og har publiceret en revideret udgave i 2024 (EFSA BIOHAZ Panel, 2010 & EFSA BIOHAZ Panel, 2024). De efterfølgende afsnit er opsummering af relevante punkter taget fra disse risikovurderinger.

Relevante fiskearter/produktionssystemer

EFSA BIOHAZ Panel (2024) konkluderede, at sandsynligheden for tilstedeværelse af zoonotiske parasitter var minimal i fisk fra landbaserede recirkulerende akvakultursystemer (RAS) med brug af havvand. Ligeledes blev det vurderet usandsynligt, at fisk, som udelukkende fodres med varmebehandlet pillefoder, og er opdrættet indendørs eller i overdækkede opdrætsfaciliteter med filtreret og/eller behandlet vandindtag, blev udsat for zoonotiske parasitter. Til gengæld kan fisk, som er opdrættet i bure i åbent hav eller i åbne gennemstrømningsferskvandsdamme eller tanke, blive udsat for infektioner med zoonotiske parasitter.

Anisakid larver er blevet fundet i vilde bestande af europæiske havaborre (European seabass) (Mercken et al. 2020), atlantisk blåfinnet tun (Atlantic bluefin tuna) (Mlandineo et al. 2011, Mlandineo and Poljak 2014), og atlantisk torsk (Atlantic cod) (Heuch et al. 2011). Til gengæld er parasitinfektionen ikke fundet hos atlantehavslaks (Atlantic salmon), havregnbueørred (marine rainbow trout), guldbars (gilthead seabream), pighvar (turbot), ørnefisk (meagre), atlantisk helleflynder (Atlantic halibut), almindelige karper (common carp) og europæisk havkat (European catfish). Risikoen kunne ikke vurderes for større amberjack (greater amberjack), ørred (brown trout), afrikansk havkat (African catfish), europæisk ål (European eel) og sandart (pikeperch), som ellers kunne være relevante værter for anisakid larver, da der ingen tilgængelige data blev fundet.

Traditionelle behandlingsmetoder

Varmebehandling

Guan et al. (2023) lavede en prædiktiv model for inaktivering af anisakid larver. Ifølge modellen kan larver inaktiveres ved 46 °C i 2 timer og ved 61 °C i 1 sek. EFSA fastholder stadig anbefalingen af en kernetemperatur på mindst 60 °C i mindst 1 min. for inaktivering af anisakid larver, da kombinationer af tid og temperatur variere mellem arter og eksperimenter og flere data er nødvendige. Allergener fra parasittens larver kan dog ikke inaktiveres med varmebehandling (EFSA BIOHAZ Panel, 2010). Vidaček et al. (2010) viste, at larver var stadig levende ved 60 °C efter 1 min., men ikke efter 10 min. Et anden studie viste, at en kernetemperatur på 60 °C i 5 min. eller 70 °C i 3 min. var tilstrækkeligt for inaktivering af larver lagt imellem to fiskefileter (Vidaček et al., 2011). Sánchez-Alonso et al (2021) kunne hellere ikke vise inaktivering af larver ved en kernetemperatur på 60 °C i 1 min., men larver kunne ikke efterfølgende trænge ind i agar, hvilket indikerer at sandsynlighed for en infektion er formindsket.

Mikrobølgeovn

I 2010 vurderede EFSA BIOHAZ Panel (2010), at 74 °C i mindst 15 sek. var nødvendig for inaktivering af anisakid larver. Der er dog andre undersøgelser, som viser, at andre indstillinger (60-75.6 °C) potentielt også kan inaktivere anisakid larver (Vidaček et al., 2011, Lanfranchi and Sardella, 2010). Derfor vurderede EFSA BIOHAZ Panel (2024), at flere data er nødvendige for at definere specifikke inaktiveringsforhold i mikrobølgeovne.

Frysning

Frysning kan inaktivere anisakid larver og kombinationen af frysetemperatur og -tid har direkte korrelation til overlevelse af larver (Adams et al. 2005). Ved en temperatur på -10 °C var larverne ikke inaktiverede efter nogle dage (Gustafson, 1953), og derfor kan husholdningsfrysere, som kun fryser ned til -12 °C, ikke betragtes som tilstrækkelige (Wharton and Aalders, 2002). EFSA BIOHAZ Panel (2010) konkluderede, at tilstrækkelig inaktivering af larver kræver frysning ved -20 °C i 24 timer i hele produktet, eller -15 °C i mindst 96 timer eller -35 °C i mindst 15 timer.

Marinering

EFSA BIOHAZ Panel (2010) konkluderede, at eddike og salt kunne reducere risikoen for anisakid larver i fiskeprodukter, men kun i begrænset omfang hvis de behandles i kortere perioder. For eksempel, viste Karl (1995), at tilstrækkelig inaktivering af larver blev opnået efter 6 uger med traditionel dansk tilberedning af sild, dvs. 10% salt i 17 timer og derefter 5% eddikesyre og 10% salt. Larver kunne inaktiveres efter 5 dage ved direkte eksponering til citronsaft, men larver blev ikke inaktiveret i carpaccio efter 7 dage (Šimat & Trumbić, 2019). EFSA BIOHAZ Panel (2010) betragter det derfor nødvendigt at fryse fisk inden marinering.

Saltning

Der er tilstrækkelig evidens for, at en traditionel tørsaltningsproces, som f.eks. anvendes ved produktion af saltede torsk og ansjoser i Middelhavslande, kan inaktivere anisakid larver (Anastasio et al. 2016, Smaldone et al. 2017). I forhold til lagesaltning, foreslår AESAN (2007), at 8-9% salt i mindst 6 uger er nødvendig.

Røgning

Varmrøgning ved >60 °C er tilstrækkelig til at inaktivere anisakid larver (FDA/CFSAN, 2001). Larver bliver dog ikke dræbt med koldrøgning (<38 °C) (Gardiner, 1990), og derfor bør vildtfanget fisk fryses inden koldrøgning (EFSA BIOHAZ Panel 2010).

High pressure processing (HPP)

Anisakid larver kunne dræbes med højtryksbehandling ved f.eks. 200 MPa i 10 min. eller 140 MPa i 60 min. (Molina-Garcia and Sanz, 2002). Vidaček et al., 2009 viste, at 200 MPa i 1 min. kunne inaktivere larver og fiskens udseende ikke var forandret ved <300 MPa.

Generelle overvejelser

Mekaniske fjernelse

Hurtig fjernelse af tarmen efter fangst kan forhindre migration af larver til musklerne. Det er også blevet vist, at fjernelse af "belly flap" kan fjerne 86–91% af anisakid larver (Levsen et al., 2022).

Andre fiskebårne trematoder

Udover anisakid larver, har den seneste af EFSA BIOHAZ Panels (2024) identificeret en række andre parasitter, som kunne være relevante for fiskeprodukter i EU:

- *Cryptocotyle lingua* (trematode, marine)
- *Opisthorchis felinus* (trematode, ferskvand)
- *Metorchis* spp. (trematode, ferskvand)
- *Pseudamphistomum truncatum* (trematode, ferskvand)
- *Paracoenogonimus ovatus* (trematode, ferskvand)
- *Dibothriocephalus* spp. (bændelorm, ferskvand)

Der er begrænset data vedr. inaktivering af metacercarier af forskellige arter. Det er dog generel konsensus, at metacercarier af trematoder i fisk er mere varmetolerante end anisakid larver. For *C. lingua*, evaluerede Burges et al. (2015), at metacercarier var inaktive efter 15 min. ved 70, 80, eller 90 °C, 30 min. ved 60 °C eller 2 timer ved 50 °C. For inaktivering af *Opisthorchis* spp. metacercarie skal der varmebehandles i 30 min. ved 70 °C (Waigakul, 1974 i EFSA BIOHAZ Panel 2010). *Opisthorchis viverrini* metacercarier i thailandske fisk kunne ikke overleve grilning i 12 min. ved 80 °C eller efter 3 dage i en høj salt-fermentering (50:50 w/w) (Prasongwatana et al. 2013). Til gengæld fandt de levedygtige metacercarier i fisk fermenteret sammen med ris (plasma) i salt, hvidløg og chili i 69 timer.

Effekt af frysning på metacercarier varierer. Burges et al. (2015) observerede, at metacercarier var inaktive efter 2 timers frysning ved -20 °C. Fisk, som forårsagede et udbrud i Italien i 2007, havde været frosset ved -10 °C i 3 dage (Armignacco et al., 2008). Metacercarier af *Opisthorchis* spp. i fisk frosset ved temperatur under -20 °C kan inaktiveres i nogen grad, men ikke tilstrækkeligt ifølge Franssen et al. (2018).

3.6 Diskussion og konklusion

Rapporten dækker de mest traditionelle tilberedningsmetoder. Anvendelsen af disse metoder kan variere alt efter tilberedningstrends og udstyr, der bruges til tilberedningen. Derudover er der dog tendenser, som potentielt kan påvirke parasiternes relevans ud over tilberedningsmetoder. Eksempler på disse tendenser er; øget forbrug af fødevarer fra økologiske produktionsdyr, som har større kontakt med miljøet end dyr fra konventionelle produktionsformer, ændring i forbrug af fødevarer fra lande med en anderledes eksponering af parasitter end danske fødevarer, dyrevelfærdsforbehold, planteindhold i kosten m.m..

Varmebehandling er en effektiv måde at slå de fleste parasitter ihjel, men nogle tilberedningsmetoder kan være utilstrækkelige i temperatur og varighed. Frysning er også en effektiv metode at slå parasitterne ihjel på, men for ferske fødevarer som køles kan nogle parasitter overleve i længere perioder. Saltindhold kan også begrænse længden parasitter kan overleve, men der er indikation på, at indholdet i nogle produkter kan være utilstrækkeligt til at inaktivere parasitterne fuldstændigt.

T. gondii udgør en betydelig risiko i kød fra vildt, hvis kødet behandles med skånsomme fremstillingsprocesser. Der mangler dog data om i hvilken grad *T. gondii* vævscyster overlever i forskellige typer kød fra vildt, og hvordan behandlingsprocesser påvirker parasittens overlevelse.

T. gondii, *Cryptosporidium* spp., *G. duodenalis*, og *E. multilocularis* kan forurene friske grøntsager og frugter med deres miljømæssigt robuste stadier (oocyster, cyster, æg), og kan potentielt forårsage sygdomme hos mennesker. Parasitterne kan dræbes med tilstrækkelig varmebehandling og andre fremstillingsprocesser, dog er æg af *E. multilocularis* muligvis mere resistente end æg og oocyster fra andre parasitter.

Betydningen af skånsomme fremstillingsprocesser for forekomst af parasitter i fødevarer er svær at vurdere, da omfanget af overlevelse af disse parasitter i forskellige råvarer og for forskellige fremstillingsprocesser er baseret på få studier, som ikke nødvendigvis er lavet på fødevarer (f.eks. vandopløsninger). Bilag B opsummerer de effekter, der er fundet tilstrækkelige og vurderet pålidelige på det nuværende grundlag.

Prædiktive redskaber, såsom Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP), er udviklede til forudsigelse af vækst af bakterier såsom *Listeria monocytogenes*, og er ikke egnede til parasitter, da parasitter ikke vokser i fødevarer. Dog er udviklingen af nye modeller, som er baseret på inaktiveringskinetik, en teoretisk mulighed for at vurdere overlevelsen af parasitter i fødevarer og fremstillingsprocesser. Der er nogle eksisterende data for overlevelse af anisakid larver ved varmebehandling (Guan et al., 2023) og frysning (Sánchez-Alonso et al., 2020), som kunne benyttes. For andre parasitter (f.eks. *T. gondii*) er der varierende mængder af eksisterende data og mange af dem er gamle, og ikke nødvendigvis lavet med fødevarer, eller med de fødevarer som er relevante for den generelle forbruger såsom vildtkød.

Udfordringer med udvikling af prædiktive modeller inkluderer bl.a. at: infektiøse parasit materialer til brug i forsøg er svære at anskaffe (infektiøse stadier af parasitter skal høstes fra inficerede dyr), detektionsmetoder for parasitter er ikke standardiserede, metoder til at adskille levende og døde parasitter er ikke standardiserede og dyreforsøg er kostbare, tidskrævende, og forbundet med etiske dilemmaer.

Dyreforsøg kan potentielt erstattes med *in vitro* bioassays (cellekulturer) for nogle parasitter. Cellekulturer kan muligvis bruges til at evaluere infektivitet af protozoer såsom *T. gondii*, *Cryptosporidium* spp. og *G. duodenalis* efter behandling med processer som er brugt i fremstillingen af fødevarer. Effekten af forskellige faktorer (salt, pH, temperatur, tid osv.) på antallet af infektiøse parasitter kan undersøges systematisk med cellekulturer og bruges til at udvikle inaktiveringsmodeller for disse parasitter.

Laboratorieforsøg i større skala for *E. multilocularis* er urealistiske, da æg af disse parasitter er svære at skaffe, og der ikke er udviklet *in vitro* bioassays. Et surrogat (f.eks. *Taenia* spp., Malkamäki et al. 2022) kan dog potentielt bruges til at lave eksperimentelle studier, der undersøger om dyrkning af grøntsager, bær og champignon i kontamineret jord og efterfølgende skylning af kontaminerede friske fødevarer kan fjerne parasitterne.

Rapporten har identificeret følgende huller i den eksisterende viden:

- Der mangler inaktiveringsmodeller på parasitter som systematisk kan bruges til at forudsige effekten af behandlinger af fødevarer med varme, frysning, tørring, saltning. Opbygning af sådanne modeller vil kræve brug af *in vitro* bioassays (cellekulturer) til analyse af antallet af infektiøse protozoa efter behandling. Tests på matricer med forskellige eksponeringer over tid kan bruges til at udvikle modeller, der efterfølgende kan bruges til rådgivning.
- Kvantitative mikrobiologiske risikovurderinger (QMRA) for fødevarebårne parasitter i Danmark, især deres kvantitative forekomst, vil kunne give et bedre indblik i de enkelte parasitters relevans i fødevarer.
- Der mangler viden om *Cryptosporidium* spp. arter/genotyper og *G. duodenalis* assemblages/genotyper i fødevarer, som sælges i Danmark.
- Der mangler viden om parasitæg (for eksempel surrogat til *E. multilocularis*) og oocyster fra kontamineret jord hæftet på plantebaserede fødevarer og om skylning med vand eller desinfektionsmidler kan bruges for at fjerne disse.
- Detaljerede undersøgelser kræver bedre diagnostiske metoder til at finde parasitter i fødevarer f.eks. ved brug af digital PCR (beredskab) og metoder til at differentiere mellem levende og døde parasitter i fødevarer.

Referencer

- Adams, A. M., Ton, M. N., Wekell, M. M., MacKenzie, A. P., & Dong, F. M. (2005). Survival of *Anisakis simplex* in arrowtooth flounder (*Atheresthes stomia*) during frozen storage. *Journal of food protection*, 68(7), 1441-1446. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-68.7.1441>
- AESAN (2007). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre medidas para reducir el riesgo asociado a la presencia de *Anisakis*.
- airfryerkogebogen.dk (2024). 8 Airfryer tilberedningstider for okeskød Du bør kende - Lær dem her. <https://airfryerkogebogen.dk/faq-airfryer-tilberedningstider-og-grader-for-oksekoed/>
- Armignacco, O., Caterini, L., Marucci, G., Ferri, F., Bernardini, G., Raponi, G. N., ... & Pozio, E. (2008). Human illnesses caused by *Opisthorchis felinus* flukes, Italy. *Emerging infectious diseases*, 14(12), 1902. <http://doi.org/10.3201/eid1412.080782>
- Anastasio, A., Smaldone, G., Cacace, D., Marrone, R., Lo Voi, A., Santoro, M., Cringoli, G., & Pozio, E. (2016). Inactivation of *Anisakis pegreffii* larvae in anchovies (*Engraulis encrasicolus*) by salting and quality assessment of finished product. *Food Control*, 64, 115–119. 119. 119. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.12.026>
- Bouwknegt, M., Devleeschauwer, B., Graham, H., Robertson, L. J., & van der Giessen, J. W. (2018). Prioritisation of food-borne parasites in Europe, 2016. *Eurosurveillance*, 23(9), 1–11. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.9.17-00161>
- Collins, M. V., Flick, G. J., Smith, S. A., Fayer, R., Croonenberghs, R., O'Keefe, S., & Lindsay, D. S. (2005). The effect of high-pressure processing on infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts recovered from experimentally exposed eastern oysters (*Crassostrea virginica*). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 52(6), 500-504. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2005.00059.x>
- Conrady CD, Besirli CG, Bauman CR, Kovach JL, Etzel JD, Tsui JC, et al. (2021). Ocular toxoplasmosis after exposure to wild game. *Ocul Immunol Inflamm.* <https://doi.org/10.1080/09273948.2020.1854316>.
- Costa, A. O., Thomaz-Soccol, V., Paulino, R. C., & Alcantara de Castro, E. (2009). Effect of vinegar on the viability of *Giardia duodenalis* cysts. *International Journal of Food Microbiology*, 128(3), 510–512. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.10.001>
- Dawson, D. J., Samuel, C. M., Scrannage, V., & Atherton, C. J. (2004). Survival of *Cryptosporidium* species in environments relevant to foods and beverages. *Journal of Applied Microbiology*, 96(6), 1222-1229. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02281.x>
- Deng, M. Q., & Cliver, D. O. (1999). *Cryptosporidium parvum* studies with dairy products. *International Journal of Food Microbiology*, 46, 113–121. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(98\)00187-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(98)00187-1)
- Deng, M. Q., & Cliver, D. O. (2001). Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts in cider by flash pasteurization. *Journal of Food Protection*, 64(4), 523-527. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-64.4.523>
- Dubey, J. P., Kotula, A. W., Sharar, A., Andrews, C. D., & Lindsay, D. S. (1990). Effect of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. *The Journal of Parasitology*, 76(2), 201–204. <https://doi.org/10.2307/3283016>
- Duhain, G. L. M. C., Minnaar, A., & Buys, E. M. (2012). Effect of chlorine, blanching, freezing, and microwave heating on *Cryptosporidium parvum* viability inoculated on green peppers. *Journal of Food Protection*, 75(5), 936-941. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-11-367>
- Eckert, J., & Deplazes, P. (2004). Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. *Clinical Microbiology Reviews*, 17, 107-135. <https://doi.org/10.1128/cmr.17.1.107-135.2004>

- Eckert, J., Gottstein, B., Heath, D., & Liu, F.-J. (2001). Prevention of echinococcosis in humans and safety precautions. In J. Eckert, M. A. Gemmell, F.-X. Meslin, & Z. S. Pawlowski (Eds.), *WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern* (pp. 238–247). World Organisation for Animal Health.
- EFSA BIOHAZ Panel (Panel on Biological Hazards). (2010). Scientific opinion on risk assessment of parasites in fishery products. *EFSA Journal*, 8(4), 1543. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1543>
- EFSA BIOHAZ Panel (Panel on Biological Hazards), Koutsoumanis, K., Allende, A., Alvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S., Chemaly, M., Davies, R., De Cesare, A., Herman, L., Hilbert, F., Lindqvist, R., Nauta, M., Peixe, L., Ru, G., Simmons, M., Skandamis, P., Suffredini, E., Caccio, S., Chalmers, R., Deplazes, P., Devleeschauwer, B., Innes, E., Romig, T., van der Giessen, J., Hempen, M., Van der Stede, Y., & Robertson, L. (2018). Scientific opinion on the public health risks associated with food-borne parasites. *EFSA Journal*, 16(12), 5495. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5495>
- EFSA BIOHAZ Panel (Panel on Biological Hazards), Allende, A., Alvarez-Ordóñez, A., Bortolaia, V., Bover-Cid, S., De Cesare, A., ... & Bolton, D. (2024). Re-evaluation of certain aspects of the EFSA Scientific Opinion of April 2010 on risk assessment of parasites in fishery products, based on new scientific data. Part 2. *EFSA Journal*, 22(11), e9090. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.8719>
- El-Nawawi, F. A., Tawfik, M. A., & Shaapan, R. M. (2008). Methods for inactivation of *Toxoplasma gondii* cysts in meat and tissues of experimentally infected sheep. *Foodborne Pathogens and Disease*, 5(5), 687–690. <https://doi.org/10.1089/fpd.2007.0060>
- Environmental Protection Agency of the United States. (2000). *Giardia: Drinking Water Fact Sheet*. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-10/documents/giardia-factsheet.pdf>
- Espelage, W., an der Heiden, M., Stark, K., & Alpers, K. (2010). Characteristics and risk factors for symptomatic *Giardia lamblia* infections in Germany. *BMC Public Health*, 10(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-10-41>
- European Commission. (1991). Council Directive 91/492 of 15 July 1991 laying down the health conditions for the production and the placing on the market of live bivalve molluscs. *Official Journal of the European Communities*, L268, 1-14.
- Fayer, R. (1994). Effect of high temperature on infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts in water. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(8), 2732-2735. <https://doi.org/10.1128/aem.60.8.2732-2735.1994>
- Fayer, R., & Nerad, T. (1996). Effects of low temperatures on viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(4), 1431-1433. <https://doi.org/10.1128/aem.62.4.1431-1433.1996>
- Fayer, R., Graczyk, T. K., Lewis, E. J., Trout, J. M., & Farley, C. A. (1998). Survival of infectious *Cryptosporidium parvum* oocysts in seawater and eastern oysters (*Crassostrea virginica*) in the Chesapeake Bay. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(3), 1070-1074. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.3.1070-1074.1998>
- FDA/CFSAN, U. (2001). Processing Parameters Needed to Control Pathogens in Cold Smoked Fish. Administration USFaD, Nutrition CfFSaA (eds.).
- Federer, K., Armua-Fernandez, M. T., Hoby, S., & Wenker, C., & Deplazes, P. (2015). In vivo viability of *Echinococcus multilocularis* eggs in a rodent model after different thermo-treatments. *Experimental Parasitology*, 154, 14-19. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2015.03.016>
- Federer, K., Armua-Fernandez, M. T., Gori, F., Hoby, S., Wenker, C., & Deplazes, P. (2016). Detection of taeniid (*Taenia* spp., *Echinococcus* spp.) eggs contaminating vegetables and fruits sold in European markets and the risk for metacestode infections in captive primates. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 5(3), 249-253. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2016.07.002>
- Franssen, F., Gerard, C., Cozma-Petruț, A., Vieira-Pinto, M., Jambrak, A. R., Rowan, N., ... & Robertson, L. (2019). Inactivation of parasite transmission stages: Efficacy of treatments on food of animal origin. *Trends in Food Science & Technology*, 83, 114-128. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.11.009>

- Fødevarestyrelsen og Dansk Veterinær Konsortium. (2021). Risikoprofil for fødevarebårne parasitter.
- Gardiner, M. (1990). Survival of *Anisakis* in cold smoked salmon. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 23(2), 143-144.
- <https://www.sciencedirect-com.proxy.findit.cvt.dk/science/article/pii/S0315546390702192>
- Gaulin, C., Ramsay, D., Thivierge, K., Tataryn, J., Courville, A., Martin, C., ... & Dion, R. (2020). Acute toxoplasmosis among Canadian deer hunters associated with consumption of undercooked deer meat hunted in the United States. *Emerging infectious diseases*, 26(2), 199. Scupin, E. (1968). Weitere untersuchungen der überlebensmöglichkeiten von toxoplasma in schinken. *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 12, 11–13.
- Genchi, M., Vismarra, A., Mangia, C., Faccini, S., Vicari, N., Rigamonti, S., Prati, P., Marino, A. M., Kramer, L., & Fabbi, M. (2017). Lack of viable parasites in cured 'Parma Ham' (PDO), following experimental *Toxoplasma gondii* infection of pigs. *Food Microbiology*, 66, 157–164. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.04.007>
- Gérard, C., Franssen, F., La Carbona, S., Monteiro, S., Cozma-Petruț, A., Utaaker, K. S., ... & Robertson, L. J. (2019). Inactivation of parasite transmission stages: Efficacy of treatments on foods of non-animal origin. *Trends in Food Science & Technology*, 91, 12-23. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.11.009>
- Gómez-Couso, H., Freire-Santos, F., Martínez-Urtaza, J., García-Martín, O., & Ares-Mazás, M. E. (2003). Contamination of bivalve molluscs by *Cryptosporidium* oocysts: The need for new quality control standards. *International Journal of Food Microbiology*, 87(1-2), 97-105. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00057-6](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00057-6)
- Guan, A., Usieto, M., Sánchez-Alonso, I., Arcos, S. C., Careche, M., & Otero, L. (2023). Modeling survival curves of *Anisakis* L3 after isothermal heat treatments at lethal temperatures. *Food Control*, 154, 109975. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109975>
- Gustafson, P. V. (1953). The effect of freezing on encysted *Anisakis* larvae. *The Journal of Parasitology*, 39(6), 585-588. <https://doi.org/10.2307/3274074>
- Hald T, Aspinall W, Devleesschauwer B, Cooke R, Corrigan T, Havelaar AH, et al. (2016) World Health Organization Estimates of the Relative Contributions of Food to the Burden of Disease Due to Selected Foodborne Hazards: A Structured Expert Elicitation. *PLoS ONE* 11(1): e0145839. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145839>
- Harp, J. A., Fayer, R., Pesch, B. A., & Jackson, G. J. (1996). Effect of pasteurization on infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts in water and milk. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(8), 2866-2868. <https://doi.org/10.1128/aem.62.8.2866-2868.1996>
- Heggin, D., Ward, P. I., & Deplazes, P. (2003). Anthelmintic baiting of foxes against urban contamination with *Echinococcus multilocularis*. *Emerging Infectious Diseases*, 9(10), 1266–1272. <https://doi.org/10.3201/eid0910.030138>
- Henttonen, H., Fuglei, E., Gower, C. N., Haukisalme, V., Ims, R. A., Niemimaa, J., & Yoccoz, N. G. (2001). *Echinococcus multilocularis* on Svalbard: Introduction of an intermediate host has enabled the local lifecycle. *Parasitology*, 123(6), 547-552. <https://doi.org/10.1017/S0031182001008800>
- Heuch, P. A., Jansen, P. A., Hansen, H., Sterud, E., MacKenzie, K., Haugen, P., & Hemmingsen, W. (2011). Parasite faunas of farmed cod and adjacent wild cod populations in Norway: A comparison. *Aquaculture Environment Interactions*, 2, 1–13. <https://doi.org/10.3354/aei00027>
- Hill, D. E., Benedetto, S. M., Coss, C., McCrary, J. L., Fournet, V. M., & Dubey, J. P. (2006). Effects of time and temperature on the viability of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in enhanced pork loin. *Journal of Food Protection*, 69(8), 1961–1965. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.8.1961>
- Ito, S., Tsunoda, K., Taki, T., Nishikawa, H., & Matsui, T. (1975). Destructive effect of heating against *Toxoplasma* oocysts. *National Institute of Animal Health Quarterly*, 15(3), 128-130.

- Karl, H., Roepstorff, A., Huss, H. H., & Bloemsma, B. (1994). Survival of *Anisakis* larvae in marinated herring fillets. *International Journal of Food Science & Technology*, 29(6), 661-670. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1994.tb02107.x>
- Kern, P., Ammon, A., Kron, M., Sinn, G., Sander, S., Petersen, L. R., Gaus, W., & Kern, P. (2004). Risk factors for alveolar echinococcosis in humans. *Emerging Infectious Diseases*, 10(12), 2088-2093. <https://doi.org/10.3201/eid1012.030773>
- Kniel, K. E., Sumner, S. S., Lindsay, D. S., Hackney, C. R., Pierson, M. D., Zajac, A. M., Golden, D. A., & Fayer, R. (2003). Effect of organic acids and hydrogen peroxide on *Cryptosporidium parvum* viability in fruit juices. *Journal of Food Protection*, 66, 1650–1657. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-66.9.1650>
- Kotula, A. W., Dubey, J. P., Sharar, A. K., Andrews, C. D., Shen, S. K., & Lindsay, D. S. (1991). Effect of freezing on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. *Journal of Food Protection*, 54, 687–690. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-54.9.687>
- Kubina, S., Costa, D., Cazeaux, C., Villena, I., Favennec, L., Razakandrainibe, R., & La Carbona, S. (2023). Persistence and survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts on lamb's lettuce leaves during plant growth and in washing conditions of minimally-processed salads. *International Journal of Food Microbiology*, 388, 110085. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110085>
- Lanfranchi, A. L., & Sardella, N. H. (2010). Anisakids survival after microwaving, freezing and salting fish from Argentina. *Food Science and Technology Research*, 16, 499-504. <https://doi.org/10.3136/fstr.16.499>
- Levsen, A., Cipriani, P., Palomba, M., Giulietti, L., Storesund, J. E., & Bao, M. (2022). Anisakid parasites (Nematoda: Anisakidae) in three commercially important gadid fish species from the southern Barents Sea, with emphasis on key infection drivers and spatial distribution within the hosts. *Parasitology*, 149, 1942–1957. <https://doi.org/10.1017/S0031182022001305>
- Lunden, A., & Ugglå, A. (1992). Infectivity of *Toxoplasma gondii* in mutton following curing, smoking, freezing or microwave cooking. *International Journal of Food Microbiology*, 15, 357–363. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(92\)90069-F](https://doi.org/10.1016/0168-1605(92)90069-F)
- Macarasin, D., Bauchan, G., & Fayer, R. (2010). *Spinacia oleracea* L. leaf stomata harboring *Cryptosporidium parvum* oocysts: A potential threat to food safety. *Applied and Environmental Microbiology*, 76, <https://doi.org/10.1128/AEM.02118-09>
- Macarasin, D., Santín, M., Bauchan, G., & Fayer, R. (2010). Infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts after storage of experimentally contaminated apples. *Journal of Food Protection*, 73(10), 1824-1829. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-73.10.1824>
- Malkamäki, S., Oksanen, A., Näreaho, A., & Sukura, A. (2022). Dispersal of taeniid eggs: Experimental faecal contamination of forest environment followed by DNA detection in wild berries. *Food and Waterborne Parasitology*, 27, e00152. <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2022.e00152>
- mandekogebogen.dk. (2024). Kernetemperatur på kød: Din komplette guide. <https://mandekogebogen.dk/kernetemperatur-paa-koed-din-komplette-guide.3766.html>
- Mercken, E., Van Damme, I., Vangeenberghe, S., Serradell, A., De Sterck, T., Lumin, J. P. L., & Gabriel, S. (2020). Ascaridoids in commercial fish: Occurrence, intensity and localization in whole fish and fillets destined for the Belgian market. *International Journal of Food Microbiology*, 327, 108657. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108657>
- Millard, P. S., Gensheimer, K. F., Addiss, D. G., Sosin, D. M., Beckett, G. A., Houck-Jankoski, A., & Hudson, A. (1994). An outbreak of cryptosporidiosis from fresh-pressed apple cider. *JAMA*, 272(20), 1592-1596. <https://doi.org/10.1001/jama.1994.03520200048034>
- Mladineo, I., & Poljak, V. (2014). Ecology and genetic structure of zoonotic *Anisakis* spp. from Adriatic commercial fish species. *Applied and Environmental Microbiology*, 80, 1281–1290. <https://doi.org/10.1128/AEM.03561-13>

- Mladineo, I., Segvić, T., & Petrić, M. (2011). Do captive conditions favor shedding of parasites in the reared Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*)? *Parasitology International*, 60, 25–33. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2010.09.007>
- Molina-García, A. D., & Sanz, P. D. (2002). Anisakis simplex larva killed by high-hydrostatic-pressure processing. *Journal of Food Protection*, 65(2), 383–388. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-65.2.383>
- Moriarty, E. M., McEvoy, J. M., Lowery, C. J., Thompson, H. P., Finn, M., Sheridan, J. J., Blair, I. S., McDowell, D. A., & Duffy, G. (2005). Prevalence and characterisation of *Cryptosporidium* species in cattle faeces and on beef carcasses at slaughter. *Veterinary Record*, 156, 165–168. <https://doi.org/10.1136/vr.156.6.165>
- Moretto, M. M., Chen, J., Meador, M., Phan, J., & Khan, I. A. (2023). A lower dose of infection generates a better long-term immune response against *Toxoplasma gondii*. *ImmunoHorizons*, 7(2), 177–190. <https://doi.org/10.4049/immunohorizons.2300006>
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; [1988] – [cited 2024 Sep 09]. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Olsen, A., Sandberg, M., Houe, H., Nielsen, H. V., Denwood, M., Jensen, T. B., & Alban, L. \(2020\). Seroprevalence of Toxoplasma gondii infection in sows and finishers from conventional and organic herds in Denmark: Implications for potential future serological surveillance. Preventive Veterinary Medicine, 185, 105149. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105149>](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Olsen, A., Sandberg, M., Houe, H., Nielsen, H. V., Denwood, M., Jensen, T. B., & Alban, L. (2020). Seroprevalence of Toxoplasma gondii infection in sows and finishers from conventional and organic herds in Denmark: Implications for potential future serological surveillance. Preventive Veterinary Medicine, 185, 105149. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105149)
- Ongerth, J., Johnson, R., MacDonald, S., Frost, F., & Stibbs, H. (1989). Backcountry water treatment to prevent giardiasis. *American Journal of Public Health*, 79(12), 1633–1637. <https://doi.org/10.2105/ajph.79.12.1633>
- Opsteegh, M., Maas, M., Schares, G., & van der Giessen, J. (2016). Relationship between seroprevalence in the main livestock species and presence of *Toxoplasma gondii* in meat (GP/EFSA/BIOHAZ/2013/01) An extensive literature review. Final report. EFSA Supporting Publications, 13(2). <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2016.EN-996>
- Opsteegh, M., Cuperus, T., van Buuren, C., Dam-Deisz, C., van Solt-Smits, C., Verhaegen, B., ... & Wisselink, H. J. (2024). In vitro assay to determine inactivation of *Toxoplasma gondii* in meat samples. *International Journal of Food Microbiology*, 416, 110643
- Pott, S., Koethe, M., Bangoura, B., Zoller, B., Dauschies, A., Straubinger, R. K., et al. (2013). Effects of pH, sodium chloride, and curing salt on the infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts. *Journal of Food Protection*, 76(6), 1056–1061. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-12-519>
- Prasongwatana, J., Laummaunwai, P., Boonmars, T., & Pinlaor, S. (2013). Viable metacercariae of Opisthorchis viverrini in northeastern Thai cyprinid fish dishes—as part of a rational program for control of O. viverrini-associated cholangiocarcinoma. *Parasitology Research*, 112, 1323–1327. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-3154-9>
- Robertson, L. J. (2014). *Giardia duodenalis*. In *Microbiology of waterborne diseases* (pp. 375–405). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415846-7.00019-6>
- Robertson, L. J., Campbell, A. T., & Smith, H. V. (1992). Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts under various environmental pressures. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(11), 3494–3500. <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aem.58.11.3494-3500.1992>
- Robertson, L. J., & Huang, Q. (2012). Analysis of cured meat products for *Cryptosporidium* oocysts following possible contamination during an extensive waterborne outbreak of cryptosporidiosis. *Journal of Food Protection*, 75(5), 982–988. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-525>
- Robertson, L. J., & Gjerde, B. K. (2006). Fate of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in the Norwegian aquatic environment over winter. *Microbial Ecology*, 52, 597–602. <https://doi.org/10.1007/s00248-006-9005-4>
- Rousseau, A., La Carbona, S., Dumètre, A., Robertson, L. J., Gargala, G., Escotte-Binet, S., ... & Aubert, D. (2018). Assessing viability and infectivity of foodborne and waterborne stages (cysts/oocysts) of *Giardia*

- duodenalis*, *Cryptosporidium* spp., and *Toxoplasma gondii*: A review of methods. *Parasite*, 25. <https://doi.org/10.1051/parasite/2018009>
- Sainclivier, M. (1985). L'industrie alimentaire halieutique. Des techniques ancestrales à leurs réalisations contemporaines salage, séchage, fumage, marinage, hydrolysats 2.
- Sánchez-Alonso, I., Carballada-Sangiao, N., González-Muñoz, M., Navas, A., Arcos, S. C., Mendizábal, A., ... & Careche, M. (2020). Freezing kinetic parameters influence allergenic and infective potential of *Anisakis simplex* L3 present in fish muscle. *Food Control*, 118, 107373. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107373>
- Sánchez-Alonso, I., Carballada-Sangiao, N., González-Muñoz, M., Arcos, S. C., Navas, A., & Careche, M. (2021). Thermal patterns of heat treated *Anisakis* L3-infected fishery products allow separation into low, intermediate and high risk groups of potential use in risk management. *Food Control*, 124, 107837. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107837>
- Sauch, J. F., Flanigan, D., Galvin, M. L., Berman, D., & Jakubowski, W. (1991). Propidium iodide as an indicator of *Giardia* cyst viability. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(11), 3243–3247. <https://doi.org/10.1128/aem.57.11.3243-3247.1991>
- Schumacher, A. C., Elbadawi, L. I., DeSalvo, T., Straily, A., Ajzenberg, D., Letzer, D., ... & Kazmierczak, J. J. (2021). Toxoplasmosis outbreak associated with *Toxoplasma gondii*-contaminated venison—high attack rate, unusual clinical presentation, and atypical genotype. *Clinical Infectious Diseases*, 72(9), 1557–1565.
- Šimat, V., & Trumbić, Ž. (2019). Viability of *Anisakis* spp. larvae after direct exposure to different processing media and non-thermal processing in anchovy fillets. *Fishes*, 4(1), 19. <https://doi.org/10.3390/fishes4010019>
- Smaldone, G., Marrone, R., Palma, G., Sarnelli, P., & Anastasio, A. (2017). Preliminary study on the inactivation of anisakid larvae in baccala prepared according to traditional methods. *Italian Journal of Food Safety*, 6, 195–198. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2017.6964>
- Sousvide.dk. (2024). Kæmpe guide - Tider & Temperaturer. <https://www.sousvide.dk/oksekoed/>
- Stuart, J. M., Orr, H. J., Warburton, F. G., Jeyakanth, S., Pugh, C., Morris, I., ... & Nichols, G. (2003). Risk factors for sporadic giardiasis: A case-control study in southwestern England. *Emerging Infectious Diseases*, 9(2), 229–233. <https://doi.org/10.3201/eid0902.010488>
- Sunnotel, O., Snelling, W. J., McDonough, N., Browne, L., Moore, J. E., Dooley, J. S., & Lowery, C. J. (2007). Effectiveness of standard UV depuration at inactivating *Cryptosporidium parvum* recovered from spiked Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Applied and Environmental Microbiology*, 73(16), 5083–5087. <https://doi.org/10.1128/AEM.00375-07>
- Temesgen, T. T., Robertson, L. J., Stigum, V. M., & Tysnes, K. R. (2021). Removal of parasite transmission stages from berries using washing procedures suitable for consumers. *Foods*, 10(2), 481. <https://doi.org/10.3390/foods10020481>
- Torgerson, P. R., & Macpherson, C. N. L. (2011). The socioeconomic burden of parasitic zoonoses: Global trends. *Veterinary Parasitology*, 182(1), 79–95. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.07.017>
- Trolle, E., Ygil, K.H., Christensen, T., Bysted, A. (2019). Saltindhold i færdigpakkede charcuteriprodukter, der sælges i danske dagligvarebutikker. <https://www.food.dtu.dk/english/-/media/institutter/foedevareinstituttet/publikationer/pub-2019/notat-saltindhold-i-faerdigpakkede-charcuteriprodukter-der-saelges-i-danske-dagligvarebutikker.pdf>
- Uhlig, E., Olsson, C., He, J., Stark, T., Sadowska, Z., Molin, G., Ahrné, S., Alsanius, B., & Håkansson, Å. (2017). Effects of household washing on bacterial load and removal of *Escherichia coli* from lettuce and "ready-to-eat" salads. *Food Science & Nutrition*, 5(6), 1215–1220. <https://doi.org/10.1002/fsn3.514>
- Utaaker, K. S., Skjerve, E., & Robertson, L. J. (2017). Keeping it cool: Survival of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts on lettuce leaves. *International Journal of Food Microbiology*, 255, 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.05.009>

- Veit, P., Bilger, B., Schad, V., Schäfer, J., Frank, W., & Lucius, R. (1995). Influence of environmental factors on the infectivity of *Echinococcus multilocularis* eggs. *Parasitology*, 110(1), 79-86. <https://doi.org/10.1017/S0031182000081075>
- Vidacek, S., de las Heras, C., Solas, M. T., Rodriguez Mahillo, A. I., & Tejada, M. (2009). Effect of high hydrostatic pressure on mortality and allergenicity of *Anisakis simplex* L3 and on muscle properties of infested hake. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 2228-2235. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3712>
- Vidaček, S., de las Heras, C., Solas, M. T., Mendizábal, A., Rodríguez-Mahillo, A. I., & Tejada, M. (2010). Antigenicity and viability of *Anisakis* larvae infesting hake heated at different time-temperature conditions. *Journal of Food Protection*, 73, 62–68. <http://hdl.handle.net/10261/67388>
- Vidaček, S., De Las Heras, C., Solas, M. T., García, M. L., Mendizabal, A., & Tejada, M. (2011). Viability and antigenicity of *Anisakis simplex* after conventional and microwave heating at fixed temperatures. *Journal of Food Protection*, 74, 2119–2126. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-108>
- Wahlström, H., Enemark, H. L., Davidson, R. K., & Oksanen, A. (2015). Present status, actions taken and future considerations due to the findings of *Echinococcus multilocularis* in two Scandinavian countries. *Veterinary Parasitology*, 213(3–4), 172–181. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.07.037>
- Wharton, D. A., & Aalders, O. (2002). The response of *Anisakis* larvae to freezing. *Journal of helminthology*, 76(4), 363-368. <https://doi.org/10.1079/JOH2002149>
- World Health Organization & Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2014). *Multicriteria-based ranking for risk management of food-borne parasites: Report of a Joint FAO/WHO expert meeting, 3-7 September 2012, FAO Headquarters, Rome, Italy*. FAO, World Health Organization. <https://iris.who.int/handle/10665/112672>
- Yang, R., Reid, A., Lymbery, A., & Ryan, U. (2010). Identification of zoonotic *Giardia* genotypes in fish. *International Journal for Parasitology*, 40(7), 779-785. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2009.12.001>

Tak til

Tina Beck Hansen, Senior Researcher, DTU Fødevareinstituttet

Lisbeth Truelstrup Hansen, Professor, DTU Fødevareinstituttet

Marianne Sandberg, Senior Researcher, DTU Fødevareinstituttet

For redigering af rapporten.

Bilag A:

Opsummering af effekter af forskellige processer på parasitter beskrevet i rapporten. Kun effektive betingelser er beskrevet, mens nogle relevant ineffektive betingelser er beskrevet og markeret med grå.

***Toxoplasma gondii* (vævscyster)**

Fødevarer	Proces	Resultater / konklusioner	Metode	Usikkerhed/forbehold	Referencer
Kød (svinekød)	Varmbehandling	3 sek. ved 67 °C (baseret på inaktiveringsmodel) 9,5 min ved 58 °C (mus forsøg) 24 min ved 52 °C (mus forsøg)	Inaktiverings-model baseret på forsøg med mus	Baseret på inaktiveringsmodel lavet på mus-forsøg inficeret med svinekød af 2 mm tykkelse (20 g).	Dubey et al. (1990)
Kød (lammekød)	Varmbehandling	10 min ved 60 °C eller 100 °C (Kunne ikke inaktiveres efter 5 min ved 100°C)	Forsøg med mus og kat	Kødstykker på 5x5x5 cm (50 g) til katte og hakket kød til mus. Ukendt antal katte eller mus.	El-Nawawi et al. 2008
Kød (lammekød)	Mikrobølge-opvarming	(Kunne ikke inaktiveres efter 10 min ved medium effektniveau [330 W] og 25 min ved højt effektniveau [600 W].)	Forsøg med mus	765 – 1700 g kød, hvor 100 g var udtaget til forsøg med mus	Lunden and Ugglå 1992
Kød (lammekød)	Mikrobølge-opvarming	(Kunne ikke inaktiveres 5 min. ved mikrobølgeovnens medium effektniveau)	Mus og kat forsøg	Kødstykker på 5x5x5 cm (50 g) til katte og hakket kød til mus. Ukendt antal kat eller mus, og ukendt effektniveau af mikrobølgeovn.	El-Nawawi et al. 2008
Kød (lammekød)	Frysning	3 dage ved – 10 °C 2 dage ved – 20 °C	Mus og kat forsøg	Kødstykker på 5x5x5 cm (50 g) til katte og hakket kød til mus. Ukendt antal kat eller mus.	El-Nawawi et al. 2008
Kød (svinekød)	Frysning	7,3 timer ved –12,4 °C (Inaktiveringsmodel) 3 dage ved – 8.0 °C (forsøg med mus)	Inaktiveringsmodel baseret på forsøg med mus	0,2 x 16 x 18 cm stykker kød	Kotula et al. (1991)
Kød (lammekød)	Frysning	54 timer ved – 20 °C	Forsøg med mus	Ingen oplysning om vægten af køddet	Lunden og Ugglå (1992)

Fødevarer	Proces	Resultater / konklusioner	Metode	Usikkerhed/forbehold	Referencer
Kød (lammekød)	Saltning	Tørsaltning i vakuumpakning efter en traditionel opskrift (30-50g NaCl og 25-40g sukrose til 200-360 g kød, i 64 timer ved 4 °C)	Forsøg med mus	200 – 360 g kød, hvor 100 g var udtaget til forsøg med mus	Lunden og Uggla (1992)
Kød (Svinekød)	Saltning	Stiksaltning med 2% NaCl, 1,4% natriumlaktat eller 1,4% kaliumlaktat, i 8 timer ved 4 °C	Forsøg med katte	250 g af hakket svinekam efter stiksaltning blev fodret til katte. Ukendt antal af katte brugt til forsøget.	Hill et al. (2006)
Kød (hjerne og muskler fra inficerede mus)	Saltning	Lagesaltning med 2,5% NaCl i 1 dag eller 2% nitritsalt (0.5% nitrit) i 4 dage ved 4 °C (2,0% NaCl i 8 dage ved 4 °C kunne ikke inaktivere mens 2,0% nitritsalt med 0,5% nitrit inaktiverede efter 4 dage)	Forsøg med mus	Hjerne og muskler fra inficerede mus var placerede i et cellekulturmedium med forskellige pH (mælkesyre) og salt (NaCl eller nitritsalt) niveau.	Pott et al. (2013)
Kød (lammekød)	Saltning	2,7% tilsat NaCl i 20 timer ved 4 °C	Cellekultur efterfulgt af qPCR	50 g kød var hakket og behandlede med forskellige salt koncentration i 20 timer ved 4 °C.	Opsteegh et al. 2024
Kød (hjerne og muskler fra inficerede mus)	Syrning (pH med mælkesyre)	pH 5 i 28 dage ved 4 °C (pH 5 i 26 dage ved 4 °C kunne ikke inaktiveres)	Forsøg med mus	Hjerne og muskler fra inficerede mus var placeret i et cellekulturmedie med forskellige pH (mælkesyre) og salt (NaCl eller nitrit- beriget salt [NCS]) niveau	Pott et al. (2013)
Parmaskinke	Tørring	4,2 – 6,2 % NaCl og tørret i 12, 14, 16 måneder	Forsøg med mus, PCR, og cellekultur	Kød fra inficerede gris var lavede til Parma Ham, og 400g var givet til mus.	Genchi et al. 2017
Kød (lammekød)	Røgning	NaCl efterfulgt af røgning i 24-48 timer ved 50 °C	Forsøg med mus	Ingen oplysning om vægt af kød eller NaCl koncentration.	Lunden og Uggla (1992)

***Toxoplasma gondii* (oocyster)**

Fødevarer	Proces	Resultater / konklusioner	Metode	Usikkerhed/forbehold	Referencer
Vand	Varmebehandling	2 min ved 70 °C, 15 min ved 55 og 60 °C og 30 min ved 50 °C	Forsøg med mus		Ito et al., 1975

***Cryptosporidium* spp.**

Fødevarer	Proces	Resultater / konklusioner	Metode	Usikkerhed/forbehold	Referencer
Æblecider	Varmebehandling	5 sek. ved 71,7 °C	Cellkultur efterfulgt af fluorescens-mikroskopi og tælling	4,8 log reduktion var opnået (70 °C i 5 sek. resulterede i 3 log reduktion)	Deng & Cliver (1999)
Vand	Varmebehandling	2 min. ved 64,2 °C	Forsøg med mus	Oocyster blev inaktiveret, når vandet nåede en temperatur på 72,1 °C indenfor 1 min	Fayer 1994
Vand	Varmebehandling	5, 10, 15 sek. ved 71,7 °C	Forsøg med mus	Laboratorie pasteurisator var brugt	Harp et al. 1996
Mælk	Varmebehandling	5, 10, 15 sek. ved 71,7 °C	Forsøg med mus	Laboratorie pasteurisator var brugt	Harp et al. 1996
Vand	Frysning	24 timer ved – 20 °C (kunne ikke inaktivere ved 168 timer ved – 10 °C eller 24 timer ved – 15 °C)	Forsøg med mus	Ingen målinger mellem 24 og 168 timer.	Fayer & Nerad, 1996
Vand	Frysning	1,8% var levedygtige efter 775 timer ved – 22 °C	Mikroskopi (morfologi og farvning)	100 µl med oocyster var frosset i en fryser	Robertson et al. 1992
Grønne peberfrugter	Frysning (blastfrysere)	20% var levedygtige efter 4 min. ved – 20 °C	Flowcytometri med farvning (propidiumiodid)	2 g af grønne peberfrugter stykker var kontamineret med oocyster og behandlet. 4 ml buffer var brugt til at vaske peberfrugterne efter behandling efterfulgt af analyse.	Duhain et al. 2012
Is	Frysning (hurtig-frysning)	24 timer ved – 20 °C	Mikroskopi med farvning (propidiumiodid) og immunofluoresens assay (IFA)	Oocyster var blandet med 1000 ml af pasteuriseret is-mix og lavet til is i en ismaskine. Prøver af 100 g blev udtaget til analyse efter 0, 1, 2, 4, 7, 10 dage.	Deng & Cliver, 1999
Vand	Saltning	4,5% w/v salt i 14 dage ved 22 °C	Klækning af oocyster (sporozoite ratio) og cellekultur	Sporozoite ratio var 0,1 og en 57 – 77 % reduktion var påvist efter 8 – 9 dage ved brug af en cellekultur.	Dawson et al. 2004

Fødevarer	Proces	Resultater / konklusioner	Metode	Usikkerhed/forbehold	Referencer
Vand	Syrning	Levedygtige oocyster var reduceret med 52% i citronsyre (pH 2,6) ved 14 dage ved 22 °C, og 93% i eddikesyre (pH 3,6) ved 14 dage ved 22 °C	Klækning af oocyster (sporozoite ratio) og cellekultur	Resultater af cellekultur for syrning er ikke vist.	Dawson et al. 2004
Frugtjuice (pH 3,14 – 3,90)	Syrning	>80% reduktion i 5% æblesyre tilføjet til æblejuice	Cellekultur efterfulgt af immunihistochemistry og excystation assays	Smagskvaliteten blev forringet	Kniel et al. 2003
Yoghurt (pH 4.8)	Syrning	58 – 61% var stadig levedygtige efter 8 dage som var tilsvarende (56 – 62%) med fund i kontrolgruppen (uden yoghurt-startkultur)	Mikroskopi med farvning (propidiumiodid) og immunofluoresens assay (IFA)	To forsøg var lavet: 1) oocyster var tilføjet til mælk og lavet til yoghurt, 2) oocyster var tilføjet til beholderen med færdig yoghurt. Begge forsøg gav lignede resultater.	Deng & Cliver, 1999
Pandekage sirup og brøddej	Lav vandaktivitet	99.9% reduktion i pandekage sirup (a_w 0,85) efter 24 timer ved 28 °C, salt-dextrose opløsning (a_w 0,95) efter 1 uge ved 28 °C eller 2 uger ved 7 °C	Cellekultur	Originallitteraturen er skrevet som abstrakt til en konference og er ikke tilgængelig.	Rose & Slifko 1999
Østers	Rensning med UV-behandlet vand	69% af oocyster kunne fjernes, og infektiviteten reduceres til 17,6% efter 48 timers rensning	Immunomagnetic separation og mikroskopi med farvning	Lavt antal levedygtige oocyster var stadig fundet i østers efter rensning i 2 dage	Sunnotel et al. 2007
To-skallede bløddyr	Rensning med UV-behandlet vand	Levedygtige oocyster kunne ses i 22,7% efter rensning i 2 dage	Mikroskopi med farvning (propidiumiodid) og immunofluoresens assay (IFA)	To-skallede bløddyr til konsum var samlede og havde forskellige rensningstider	Gomez-Couso et al. 2003
Østers	High Pressure Processing	7 – 60% af mus fik en infektion efter indtagelse af østers med oocyster efter en behandling i 3 min. ved 305-550 MPa	Forsøg med mus	Østers blev lysfarvet (hvid) efter behandling ved 550 MPa i 2-6 min	Collins et al. 2005

Fødevare	Proces	Resultater / konklusioner	Metode	Usikkerhed/forbehold	Referencer
Æbler	Skylning	37,5% reduktion ved kraftig vask (mekanisk omrøring og vaskemiddel)	PCR	Procent reduktion er beregnet som: 100 % - % positive prøver efter behandling (antallet af PCR positive prøver / antal prøver [32 – 40]).	Marcarsin et al. 2010
Vårsalat	Skylning	0,4 log (ca. 60%) reduktion	Immunomagnetisk adskillelse og fluorescens mikroskopi, cellekultur efterfulgt af qPCR	Oocyster kunne forblive levende på vårsalat under dyrkning i ca. 8 uger efter kontaminering, dog kun ca. 6% var levedygtige.	Kubina et al. 2023
Bær	Skylning	>80% reduktion efter vask under hane i 1 min.	qPCR	Bær var inficeret med oocyster i 3 timer ved stuetemperatur og en nat i køleskab. Bær var vasket næste dag.	Temesgen et al. 2021

Giardia duodenalis

Fødevare	Proces	Resultater / konklusioner	Metode	Usikkerhed/forbehold	Referencer
Vand	Varmbehandling	10 min. ved 56 °C	Mikroskopi med farvning (propidiumiodid) og excystation assay	<i>G. muris</i>	Sauch et al. 1991
Vand	Varmbehandling	10 min. ved 70 °C	Mikroskopi med farvning (fluorescein diacetate og ethidiumbromid) og excystation assay	<i>G. muris</i> og <i>G. duodenalis</i>	Ongerth et al. 1989
Vand	Køling	Ingen cyster ved 1 – 7 °C (det norske vandmiljø) efter 1 måned	Mikroskopi (morfologi og farvning)	Oocyster i rør blev nedsænket ca. 1 meter i en å i Norge fra november til april	Robertson og Gjerde (2006)
Hovedsalater	Ingen behandling og nedkøling	50% døde ved stuetemperatur i 24 timer 55% overlevede i køleskab (4 °C) efter 9 dage	Mikroskopi med farvning (DAPI og propidium iodide) og excystation assay	Immunomagnetisk adskillelse var brugt til at samle oocyster fra hovedsalater	Utaaker et al. 2019

Echinococcus multilocularis

Fødevarer	Proces	Resultater / konklusioner	Metode	Usikkerhed/forbehold	Referencer
Vand	Varmbehandling	3 timer ved 65 °C, 30 min. ved 70 °C, 15 min ved 75 °C, 7,5 min. ved 80 °C	Forsøg med mus		Federer et al. 2015
Vand	Varmbehandling	4 timer ved 43 °C	Forsøg med sydmarkmus	Æg var suspenderet i postevand, og andre betingelser (højere temperatur eller kortere tid) var ikke testet	Viet et al. 1995
21µm Nylon filterpapir	Varmbehandling og luftfugtighed	30 min. ved 65 °C og 120 min. ved 55 °C ved en 70% luftfugtighed	Forsøg med mus	Æg var placeret på nylon filterpapir med 21 µm hulstørrelse og blev vasket efter behandlingen.	Federer et al. 2015
Vand	Varmbehandling og luftfugtighed	3 timer ved 45 °C og en luftfugtighed på 85 – 95%, 48 timer ved 25 °C og en luftfugtighed på 27%, 2 timer ved 43 °C og en luftfugtighed på 15%.	Forsøg med sydmarkmus	Æg var placeret i en petriskål med gaze-låg og placeret i en laboratorieovn.	Viet et al. 1995
Vand	Køling	Kunne ikke inaktivere efter 478 dage ved 4 °C	Forsøg med sydmarkmus	Æg var suspenderet i postevand	Viet et al. 1995
Vand	Frysning	2 dage ved – 83 °C kunne ikke inaktivere efter 240 dage ved –18 °C	Forsøg med sydmarkmus	Æg var suspenderet i postevand	Viet et al. 1995
Grøntsager og frugt	Skylning	21% af prøver var positive for adskillige bændelorm DNA	PCR	Det var et prævalensstudie, hvor grøntsager og frugt var samlet og vasket. Skyllevand var analyseret for taeniid (bændelorm) æg.	Federer et al. 2016

Anisakider (udvalgt studier) - den fulde tabel kan findes i EFSA BIOHAZ Panel 2024

Fødevarer	Proces	Resultater / konklusioner	Metode	Usikkerhed/forbehold	Referencer
Vand	Varmbehandling	1 min. ved 70°C 15 min. ved 60°C	Bevægelse, fluorescens, farvning, elektron- scannings- mikroskopi, immunoblotting	5 larver i 10 ml vand per rør var testet 5 gange per betingelser. I et parti var der ingen bevægelse af larver efter 3 min ved 60 °C.	Vidaček et al. (2010)

Fødevarer	Proces	Resultater / konklusioner	Metode	Usikkerhed/forbehold	Referencer
Larver mellem to fiskefileter (sandwich)	Varmbehandling	5 min. ved 60 °C, 3 min. ved 70 °C	Bevægelse, fluorescens, elektron-scannings-mikroskopi, immunohistochemistry	Andre betingelser (temperatur og tid) var ikke testet	Vidaček et al. (2011)
Larver mellem to fiskefileter (sandwich)	Varmbehandling	8 min. ved 60 °C	Bevægelse, iltforbrug, overlevelse i mavesyre, agar penetration test	Ingen af larverne behandlet ved ≥ 60 °C i ≥ 1 min. kunne trænge ind i agar, selvom de kunne bevæge sig	Sánchez-Alonso et al. (2021)
I små mængde fysiologiske vand	Varmbehandling	1 sek. ved 61°C 3 sek. ved 59°C 10 sek. ved 57°C 30 sek. ved 55°C 130 sek. ved 52°C 300 sek. ved 50°C 2500 sek. ved 48°C 8500 sek. ved 46°C	Inaktiveringsmodel baseret på forsøg med larver i thermo cyclers.	10,000 larver var brugt. Inaktiveringsmodel estimerede tid for inaktivering med 99.65% sandsynlighed	Guan et al. (2023)
Vand	Mikrobølgeovn	1 min. ved 800 W, 60 °C, 1 min. ved 1000 W, 70 °C	Bevægelse, fluorescens, elektron-scannings-mikroskopi, immunohistochemistry	Laboratorie mikrobølgeovn.	Vidaček et al. (2011)
Larver mellem to fiskefileter (sandwich)	Mikrobølgeovn	5 min. ved 800 W, 60 °C 3 min. ved 1000 W, 70 °C	Bevægelse, fluorescens, elektron-scannings-mikroskopi, immunohistochemistry	Laboratorie mikrobølgeovn. Andre betingelser (temperatur og tid) blev ikke testet	Vidaček et al. (2011)
Larver mellem to fiskefileter (sandwich)	Mikrobølgeovn	1 min. ved 600 W, 75,6 °C	Mikroskopi	Kommerciel mikrobølgeovn. 10% af larver overlevede i 1 min. ved 64 °C. Ingen beskrivelse af hvordan 'levende' er defineret.	Lanfranchi & Sadella (2010)

Fødevarer	Proces	Resultater / konklusioner	Metode	Usikkerhed/forbehold	Referencer
Sild	Marinering	10% salt i 17 timer og 5% eddikesyre og 10% salt i 6 uger (fiskefileter havde 7,2% NaCl, 2,1% syre, pH= 4,0) 14% NaCl, 7% eddikesyre i 35 dage (fiskefileter havde 8,3% NaCl, 4,0% syre, pH= 4,0)	Bevægelse	Minimum 10 larver per filet var brugt. Minimum 6 fileter var udtaget for tælling af larver.	Karl (1995)
Direkte eksponering /Ansjoser	Marinering	Direkte eksponering for frisk citronsaft eller citronsaft med 5-15% eddikesyre i 5 dage, 48 timer i alkohol	Bevægelse	Traditionel carpaccio marinade (20% NaCl i 20 min efterfulgt af citronsaft, 5% eddike og olivenolie) kunne ikke inaktivere larver efter 7 dage	Šimat & Trumbić, 2019
Direkt eksponering	Saltlage (5 – 35% NaCl) ved 4 °C	35% NaCl i 3 dage 10 – 20% NaCl i 4-5 dage 5% NaCl i 10 dage	Bevægelse	200 larver var brugt og overlevelse(bevægelse) i % blev estimeret.	Šimat & Trumbić, 2019
Torskefileter (baccala)	Saltlage (13% NaCl) i 24 timer ved 5 °C, og tørsaltet i op til 3 måneder ved 5 °C	15 dage (fiskefileter havde 18,6% NaCl, vandaktivitet (a_w) = 0,751, Water phase salt (WPS) = 24,15%)	Bevægelse	Ingen måling inden 15 dage	Smaldone et al. (2017)
Ansjoser	Tørsaltning	Traditionel saltning (100 kg NaCl fish; salt ration =3,2) i 15 dage (fiskefileter havde 21% NaCl, vandaktivitet (a_w) = 0,74, Water phase salt (WPS) = 30,67%)	Bevægelse, elektron-scannings-mikroskopi	Kun 27% var døde efter 7 dage. 24,5% NaCl efter 3 måneder er nået ifølge traditionel saltning	Anastasio et al. (2016)
Laks	Koldrøgning (marinering i en sukker- og saltopløsning natten over (15-16 timer) efterfulgt af rygning i 12 timer ved 25,6 °C)	Larver var levende efter koldrøgning. Larver var levende efter 27 dage ved 4 °C efter koldrøgningsproces.	Fordøjelse og tælle larvers mobilitet	Koldrøgning af laks blev udført af en kommerciel producent. Ferske laks og koldrøgede laks blev sammenlignet	Gardnier, 1990
Vand	Højtryksbehandling	10 min. ved 200 MPa eller 60 min. ved 140 MPa	Tælle larvers mobilitet	Ingen larver (n=20) overleve behandling ved 10 min ved 200 MPa, ved 15 min. ved 190 MPa, og ved 25	Molina-Garcia and Sanz, 2002

Fødevarer	Proces	Resultater / konklusioner	Metode	Usikkerhed/forbehold	Referencer
				min. ved 170MPa, når de var lagt mellem to fiskefileter	
Larver mellem to fiskefileter (sandwich)	Højtryksbehandling	1 min. ved 200 MPa	Bevægelse, fluorescens, elektron-scannings-mikroskopi, immunoblotting	12 larver per sandwich, fiskens udseende var ikke ændret ved 200 MPa.	Vidaček et al., 2009

Bilag B:

Kort opsummering af Bilag A over de forskellige processer, hvor der er fundet pålidelige effekter for vurderingen af tilstrækkelig inaktivering af parasitter.

Fødevarer og processer	<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Cryptosporidium</i> spp.	<i>Giardia duodenalis</i>	Anisakider	<i>Echinococcus multilocularis</i>
Potentiel kontamineret fødevarer	Kød (vævscyster)	Vand og grøntsager (oocyster)	Vand, juice, mælk, grøntsager	Vand, juice, mælk, grøntsager	Fisk	Vand og grøntsager
Varmebehandling	3 sek. ved 67 °C 9,5 min. ved 58 °C 24 min. ved 52 °C 10 min. ved 60 °C eller 100 °C	(Vand) 2 min. ved 70 °C, 15 min. ved 55 og 60 °C og 30 min. ved 50 °C	(Vand / juice / mælk) Pasteurisering (5 sek. ved 71,7 °C)	(Vand) 10 min. ved 56 °C 10 min. ved 70 °C (Ingen data om pasteurisering)	Ingen nye data til at ændre EFSA anbefaling: 60 °C i 1 min.	(Vand) 4 timer ved 43 °C 3 timer ved 65 °C 30 min. ved 70 °C 15 min. ved 75 °C 7,5 min. ved 80 °C Ingen data for grøntsager.
Saltning	Ikke undersøgt systematisk. 2,7 % tilsat NaCl i 20 timer ved 4 °C førte ikke til vækst i cellekultur.	Ingen data	(Vand) 4,5 % salt i 14 dage ved 22 °C	Ingen data	Overlever ikke traditionel saltning af ansjoser og baccala (saltet torsk)	Ingen data
pH-justering (syrning/fermentering)	pH 5 i 28 dage ved 4 °C	Ingen data	(Juice/yoghurt) Resistent til syring	Ingen data	Overlever ikke traditionel marinering af sild. Overlever traditionel carpaccio marinering.	Ingen data

Fødevarer og processer	<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Cryptosporidium</i> spp.	<i>Giardia duodenalis</i>	Anisakider	<i>Echinococcus multilocularis</i>
Frysning	3 dage ved – 10 °C 2 dage ved – 20 °C 54 timer ved – 20 °C	Ingen data	(Vand/is) 24 timer ved – 20 °C (blæstfryser, grønne peberfrugter) 20% levedygtige efter 4 min. ved – 20 °C	Ingen data	Ingen nye data til at ændre EFSA anbefaling: 96 timer ved – 15°C 24 timer ved – 20°C 15 timer ved – 35°C	(Vand) 2 dage ved – 83 °C
Skylning	Ikke relevant	Ingen data	(Bær) >80% reduktion efter vask under hane i 1 min (Vårsalat) 0,4 log (ca. 60%) reduktion	Ingen data	Ikke relevant	Ingen data