

Mugdannelse på skiveskåret hvidt brød påvirkes ikke af in situ-efterladt endeskive – et randomiseret, kontrolleret studie

Joakim Holger Waage Brinch, Gustav Gede Nervil, Rune Sort & Jakob Louis Demant Thomsen

ORIGINALARTIKEL

Forskningsenheden,
Anæstesiologisk
Afdeling I,
Herlev og Gentofte
Hospital,
Herlevmatriklen

Ugeskr Læger
2016;178:V68834

RESUMÉ

INTRODUKTION: Skiveskåret hvidt brød er en normal del af hverdagsdiæten for en stor del af befolkningen. Dette gælder både i privaten, i arbejdslivet og til diverse sociale arrangementer. Tiden for julefrokoster nærmer sig, og også her har brødet sin plads. Forskellige teorier verserer om optimering af de vigtige faktorer holdbarhed og tørhed. I dette studie har vi undersøgt, om mugdannelsen øges på skiveskåret hvidt brød, hvis endeskiven lades in situ.

MATERIALE OG METODER: Et randomiseret, kontrolleret og enkeltblindet studie blev udført på en gruppe af industrielt produceret, skiveskåret hvidt brød. Inklusionskriterierne var hvidt skiveskåret toastbrød af samme mærke og så vidt muligt fra samme produktionsbatch – alle med samme mindst holdbar til-dato. De inkluderede toastbrødsposer blev randomiseret til enten at få den proksimale endeskive ekstraheret (kontrolgruppe) eller ladet in situ (interventionsgruppe). En standardiseret udtagningsmetode blev benyttet til at ekstrahere to stykker brød dagligt i begge grupper. På tiendedagen for forsøget blev begge grupper vurderet for sikker mugdannelse af en blindet investigator. Nulhypotesen blev undersøgt med Fishers eksakte test. Derudover blev tørhed og tid til første mugdannelse undersøgt grupperne imellem.

RESULTATER: Ved forsøgets afslutning var der i alt mug på hhv. syv og seks af brødene i poserne med og uden endeskive ($p = 1,00$). Dage til første mugdannelse var otte i begge grupper. Der var stor variation mellem de to investigatorers vurdering af tørhed, hvorfor der ikke udførtes videre analyser.

KONKLUSION: In situ-efterladt endeskive i poser med skiveskåret hvidt brød synes ikke at påvirke dannelsen af mug eller påvirke brødtørheden. Yderligere studier er dog i høj grad nødvendige for at optimere evidensen inden for området.

FUNDING: ingen.

TRIAL REGISTRATION: Google Drive.

Tiden for de traditionsrige julefrokoster nærmer sig [1]. Til enhver julefrokost hører en rejemad, som oftest serveres på skiveskåret hvidt brød af typen toastbrød [2]. Det velkendte brød benyttes ligeledes på fødegangen til fejring, når en lille ny kommer til verden, hvor den nærmest konstante duft af ristet hvidt brød vidner om et væsentligt forbrug.

På forfatternes kontorgang og på en række internetfora [3, 4] foregår der en ihærdig sundhedsfaglig diskussion om, hvorledes man bedst optimerer de

vigtige faktorer holdbarhed og tørhed: Bør endeskiven lades in situ i posen, eller bør den udtages, første gang posen åbnes? På den ene side står teorien om, at endeskiven beskytter mod mugdannelse og udtørring. På den anden side hersker teorien, at man ved at beholde endeskiven i posen øger risikoen for mugdannelse, da risikoen for introduktion af udefrakommende mikroorganismer øges ved gentagen berøring af endeskiven. I forfattergruppen dominerer sidstnævnte teori.

Så vidt vides, er spørgsmålet ikke tidligere videnskabeligt undersøgt, og vi ønsker derfor at skabe tiltrængt evidens på området. Formålet med studiet er at undersøge hypotesen om, at mugdannelsen øges på skiveskåret hvidt brød, hvis endeskiven lades in situ.

MATERIALE OG METODER

Vi har benyttet et randomiseret, kontrolleret, enkeltblindet studiedesign med industrielt produceret skiveskåret hvidt toastbrød. Studiet er ikke indberettet til datatilsynet eller en videnskabetisk komité, da der ikke indgår mennesker eller dyr. Studiet blev udført på et ph.d.-kontor på vores center. Protokollen er publiceret den 19. september 2016, inden forsøgets start [5].

Inklusionskriterierne var hvidt skiveskåret toastbrød af samme mærke og så vidt muligt fra samme produktionsbatch. Alle med samme mindst holdbar til (MHT)-dato.

Poserne blev nummeret og randomiseret 1:1 via et onlinerandomiseringsværktøj [6] til enten at få efterladt den proksimale endeskive in situ eller at få den fjernet. Begge grupper blev opbevaret på et forsøgs-skrivebord under hele studiet.





Udvikling af mug over tid.

Skiveudtagningsprocedurer

I begge grupper blev der på alle hverdage fjernet to stykker brød proksimalt i forhold til brødposens åbning, fraset en eventuel endeskive. Dette for at simulere et realistisk dagligt toastforbrug svarende til én parisertoast.

På alle forsøgsdage blev der inden kontakt med hver af forsøgsbrødsgrupperne udført en standardiseret, ikkekirurgisk håndvask med sæbe af 20 sekunders varighed af den udtagningsansvarlige investigator. Tidtagning blev foretaget på en iPhone 6 (Apple, Californien, IOS 9.3.5). Hver forsøgsgruppe fik udtaget brød med forskellig hånd på den givne dag.

Interventionsgruppe med endeskive in situ

Forsøgsdag 1: Posen blev holdt i lodret position med bunden vendende nedad i investigators nondominante hånd. Posen blev åbnet. Med investigators dominante hånd blev der trukket i overkanten af endeskiven, så denne stod lodret, hvorefter de to proksimale skiver blev udtaget. Ved endeskivenedfald langs brødet, blev endeskiven taget med første og anden finger i pincetgreb og lagt tilbage in situ. Posen blev lukket med medfølgende klips og placeret vandret på forsøgsskrivebordet.

Følgende forsøgsdage: Samme procedure, men med skiftende udtagningshånd.

Kontrolgruppe med ekstraheret endeskive

Forsøgsdag 1: Posen blev holdt i lodret position med bunden vendende nedad i investigators dominante hånd. Posen blev åbnet. Med investigators nondominante hånd blev der udtaget endeskive og de to proksimale skiver. Posen blev efterfølgende lukket med medfølgende klips og placeret vandret på forsøgsskrivebordet.



Vurdering af tørhed.

Følgende forsøgsdage: Samme procedure, men med skiftende udtagningshånd og fraset fjernelse af endeskive, da denne var fjernet første dag.

For at efterligne et hustandsmiljø mest muligt kunne to forskellige investigatore udføre udtagningsproceduren. De første fem dage udførtes proceduren som beskrevet, hvorefter brødene blev ladet urørt i to dage, svarende til begrebet »weekend«. I denne periode blev rumtemperaturen fastholdt på 21 °C vha. af en radiator med termostat (Siemens type 2NC8 082 2F, 230 V, elradiator).

Rumtemperaturen målt dagligt med termometer (Trend Funktionel Design, varenr. 1555) og blev noteret.

Outcomes

Primært outcome

Det primære *outcome* var forekomst af sikker mugdannelse i koloni > 1 mm diameter på brødet. Vurderet dikotomt som mugpositiv eller mugnegativ.

Sekundære outcomes

De sekundære *outcomes* var subjektiv grad af udtørretthed af øverste ikkeendeskive og tid til første mugdannelse.

Graden af udtørretthed blev vurderet som tør eller ikketør ved fingertryk. Kun poser, som ikke var blevet destrueret pga. tidlig mugdannelse jf. vurderingsproceduren beskrevet nedenfor, blev vurderet. Protokolafvigelse: Dette *outcome* var i protokollen angivet at skulle vurderes på en skala fra 1 til 5. Det blev inden vurderingen ændret til tør/ikketør på opfordring af vurderende investigator.

Vurdering

Dagligt blev poser og ekstraheret brød inspiceret vi-

sultet for sikker mugdannelse i koloni > 1 mm diameter af ublindede investigatorer. Ved synlig mugdannelse blev der sendt fotodokumentation til vurdering ved en blindet investigator. Hvis denne var enig, blev brødet noteret som mugpositivt, og posen blev destrueret. Forsøget løb til to dage efter MHT-datoen, hvor *outcomes* blev vurderet endeligt. Endeskiverne fra gruppen med in situ-efterladt endeskive blev udtaget og lagt på et afdækningsstykke markeret med posens unikke nummer.

Herefter blev de to grupper blandet, inden den blinde investigator fik adgang til forsøgskontoret. Alle posernes resterende indhold blev udtaget, én pose ad gangen, og blev vurderet af en blindet investigator for primære og sekundære *outcomes*. Ved positivt primært *outcome* blev muggens farve og placering ligeledes noteret. Til vurdering af tørhed blev den proksimale skive fra hver pose placeret på et vurderingsbræt. Under denne vurdering anbefalede den blinde investigator, at der blev foretaget en vurdering fra en ekstra blindet investigator for at øge validiteten af dette *outcome*.

Ved manglende mugdannelse på dagen for planlagt forsøgsstop var der protokolleret forlængelse af studiet indtil sikker mugdannelse på fire eller flere pakker, vurderet ved en ublinded investigator.

Forsøget var ligeledes protokolleret til at stoppe før tid ved voldsom og ukontrolleret mugdannelse, eller hvis rengøringspersonalet fjernede forsøgsmaterialet.

Styrkeberegning og statistik

Med power på 0,8 og signifikansniveau på 0,05 er studiet designet til at kunne detektere en statistisk signifikant øgning i mugdannelse mellem de to grupper fra 10 % til 70 % af brødpakkerne, med en *sample size* på ti pakker i hver gruppe. Nulhypotese: Der er ingen forskel i forekomsten af mugdannelse mellem de to grupper. Dette undersøgte med Fishers eksakte test. Vi betragter $p < 0,05$ som værende statistisk signifikant.

Trial registration: Google Drive.

RESULTATER

Tyve poser toastbrød af mærket Gamle Mølle blev inkluderet mandag den 19. september 2016 kl. 08.40 i Netto på Sydfrontvej 2, Søborg. Poserne var fra samme produktionsbatch og var alle angivet til at have samme indhold (18 skiver + to endeskiver), hvilket blev bekræftet ved stikprøvekontrol. Alle poser havde samme MHT-dato (26.09.16) og var angivet til at være fremstillet tidligst otte dage før MHT-dato. Opbevaringstemperatur og andre forsøgsdata kan ses i **Figur 1**.

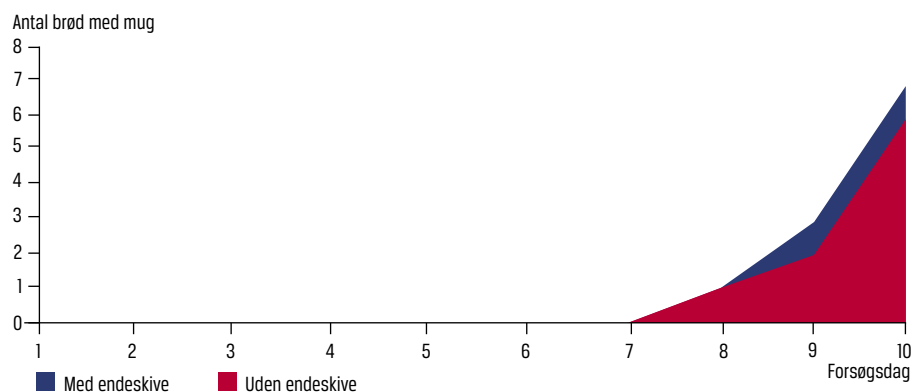
Primært outcome

Fem pakker blev konstateret mugpositive inden forsøgets afslutning.

Ved forsøgets afslutning var der i alt mug på hhv. syv og seks af brødene i poserne med og uden endeskive ($p = 1,00$).

FIGUR 1

Forsøgsdata:
mugudvikling.



	Dag 1	Dag 2	Dag 3	Dag 4	Dag 5	Dag 6	Dag 7	Dag 8	Dag 9	Dag 10
Udtager	Joakim	Jakob	Joakim	Joakim	Joakim	Weekend	Weekend	Joakim	Jakob	Rune
Dato	19.9.16	20.9.16	21.9.16	22.9.16	23.9.16	24.9.16	25.9.16	26.9.16	27.9.16	28.9.16
Tid	11.05	12.33	08.28	08.30	09.05	-	-	08.51	09.25	08.41
Startgruppe	Med	Uden	Med	Uden	Med	-	-	Uden	Med	-
Starthånd	Dominant	Dominant	Dominant	Dominant	Dominant	-	-	Dominant	Dominant	-
Temperatur, °C, morgen (eftermiddag)	-	22	19 (22)	19 (23)	20 (22)	Radiator: 21	-	20 (22)	20	20
Personer på kontoret, n	3	2	3	3	3	-	-	2	3	-

Sekundære outcomes

Det sekundære *outcome* tørhed blev vurderet af to blinde investigatorer uden kendskab til hinandens vurdering. Resultaterne for tørhed er vist i **Tabel 1**. Der var stor variation i graden af tørhed vurderet af de to investigatorer, hvorfor der ikke udførtes videre analyser. Tid til første mugdannelse var sammenlignelig for de to grupper (Tabel 1 og Figur 1). Begge grupper havde første gang et positivt primært *outcome* på dag 8.

DISKUSSION

Resultaterne tyder på, at mugdannelsen ikke øges i hvidt skiveskåret brød, hvis endeskiven lades in situ. Dette er imod vores hypotese. En forklaring kan være, at nulhypotesen er sand. En anden forklaring kan være, at vores metode ikke afspejler virkeligheden i tilstrækkelig grad. Det er desværre ikke muligt at sammenholde vores resultater med tidligere studier, da vi – efter vores bedste vidende – er de første, der har lavet et randomiseret kontrolleret studie på området.

Studiets styrker ligger i randomiseringen og det kontrollerede design, samt i at protokollen er publiceret inden studiestart. Derudover er de undersøgte forsøgsbrødgrupper yderst homogene både internt og grupperne imellem.

En svaghed ved studiet kan være manglende generaliserbarhed til baggrundsbefolkningen med hensyn til ekstraktionsmetode og renlighed. Det er således tvivlsomt, om grundig håndvask i 20 sekunder er standardprocedure, inden der tages et stykke toastbrød i hverdagen. Ligeledes kan det betvivles, om det er realistisk at man åbner posen, tager brødet ud og lukker posen på samme måde hver dag.

På den anden side kan manglende renlighed ved ekstraktion have medført kontaminering og spredning mellem poserne. Med vores ekstraktionsmetode risikerer vi at have kontamineret brødene i den enkelte gruppe, eftersom at der kun blev vasket hænder mellem grupperne, men ikke mellem hver pose. Dette tyder vores resultater dog ikke på, da de mugpositive brød lå spredt i skiveudtagningsrækkefølgen, jf.

Tabel 1.

TABEL 1

Resultater vedrørende forekomst af sikker mugdannelse i koloni > 1 mm diameter på brødet, samt subjektiv vurdering af udtørrethed.

No.	Dag				Samlet vurdering	Placering	Farve	Tør		
	1-7	8	9	10: vurdering				RS	SH	Samlet score
<i>Med endeskive</i>										
14				0	0					
8				X	1	Endeskive	Hvid	0	0	0
1		X			1	Nedre venstre hjørne på udtagningskive	Hvid	1	0	1
12				X	1	Endeskive	Hvid			
2				0	0			0	1	1
9				X	1	Begge endeskiver + side	Hvid + sort	0	0	0
3			X		1	Udtagningskive	Hvid	1	1	2
19				X	1	Begge endeskiver + side	Hvid + grøn			
15				0	0			0	0	0
0			X		1	Udtagningskive	Grøn	1	0	1
Tilsammen					7			3	2	5
<i>Uden endeskive</i>										
17				0	0			1	0	1
18				X	1	Endeskive	Hvid	1	0	1
7				X	1	Endeskive	Hvid	0	1	1
10				0	0			0	1	1
5				X	1	Endeskive + side	Hvid	0	0	0
4		X			1	Udtagningskive				
11				0	0			1	0	1
6			X		1	Ikke udtagningskive	Grøn			
13				X	1	Endeskive	Hvid	0	1	1
16				0	0			1	1	2
Tilsammen					6			4	4	8

RS = Rune Sort; SH = Suzanne Forsyth Herling.



En anden forklaring på, at vores hypotese ikke holder, kunne være, at konserveringsmidler i brødet spiller en rolle, da brødet indeholdt både E282 (calciumpropionat) og E300 (ascorbinsyre). Disse stoffer kunne have betydning for mugdannelseprocessen og udvande en evt. forskel mellem grupperne.

Tid til første mugdannelse blev i begge grupper observeret på dag 8, hvilket umiddelbart indikerer, at der ikke er forskel mellem grupperne. Dette blev registreret efter to dage uden vurdering (»weekend«), hvorfor man skal være påpasselig med at konkludere noget med sikkerhed på dette grundlag.

Ved tørhedsvurderingen var der måske en svag tendens til, at gruppen uden endeskive blev vurderet som værende tørrere. Det var dog ikke nok til at konkludere, at det forholdt sig sådan. Vurderingen af tørhedsgrad viste sig yderst vanskelig, selv efter at vurderingen blev modificeret til en dikotom vurdering frem for ved en femtrinsskala. Dette bliver i høj grad synligt, når man ser på variationerne i vurderingen af tør ikketør mellem de to investigatore. For dette *outcome* finder vi det derfor rimeligt at konkludere, at man, i tilfælde af at man har fået et tørt stykke toastbrød, eksempelvis til en julefrokost, med fordel kan skynde sig at bytte det ud med sidemandens, da

denne med stor sandsynlighed vil vurdere brødet anderledes.

Selvom dette studie viste, at der ingen forskel var på udvikling af mug eller tørhed mellem at endeskiven blev ladet in situ eller taget ud, mener vi, at der endnu ikke er tilstrækkelig evidens til at forkaste vores overordnede hypotese. Svaghederne ved vores studiedesign sammenholdt med den relativt lille *sample size* skaber nogen usikkerhed om resultaterne. I tilrettelæggelsen af et nyt studie på området bør en endnu mere hverdagstro metode samt en væsentlig større *sample size* prioriteres. Endvidere kan nye vinkler på området undersøges. Eksempelvis observerede vi forskellige mugtyper på vores brød. Kunne der være forskellige grunde til de forskellige typer? Er den grønne mug f.eks. investigatorinduceret, mens den hvide findes i brødet?

I forhold til tørhedsområdet bør der anvendes en metode, hvorved vurderingen bliver mere homogen. Dette kunne eksempelvis være ved at bruge referencembrødstykker og validering af en evt. tørhedsskala.

Vi konkluderer, at in situ-efterladt endeskive i poser med skiveskåret hvidt brød ikke synes at påvirke dannelsen af mug eller påvirke brødtørheden. Yderligere studier er dog i høj grad nødvendige for at optimere evidensen på området.

KORRESPONDANCE: Joakim Holger Waage Brinch.
E-mail: joakim_brinch_@hotmail.com

ANTAGET: 10. november 2016

INTERESSEKONFLIKTER: Forfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

Jakob Louis Thomsen var toastmaster til et bryllup d. 1. oktober 2016.

Forfatterne har ingen økonomiske, familiære eller andre forbindelser til brødunderviseren og tåler alle gluten.

TAKSIGELSER: *Suzanne Forsyth Herling* takkes for vurdering af tørhed. *Emil Karanfil* takkes for at tiltræde som suppleant til tidtagning ved håndvask.

LITTERATUR

1. Nedtælling til juleaften. <http://erdetjul.dk/> (16. sep 2016).
2. Adventskalender, læge 3: Julefrokosten smager bedst, når vi følger reglerne | smagforlivet.dk. [www.smagforlivet.dk. www.smagforlivet.dk/printmode/node/306](http://www.smagforlivet.dk/printmode/node/306) (28. sep 2016).
3. <https://www.quora.com/Is-there-a-reason-not-to-eat-the-end-piece-from-a-loaf-of-bread> (16. sep 2016).
4. With sliced bread don't eat the first slice. Put it back in the bag, and use it as cover. Frugal. https://www.reddit.com/r/Frugal/comments/33tz7t/with_sliced_bread_dont_eat_the_first_slice_put_it/ (16. sep 2016).
5. Google Drive. <https://drive.google.com/file/d/0B8hf8rNhzyF0ZHdyY2w1NnBscUK/view?usp=sharing> (19. sep 2016).
6. RANDOM.ORG. Random Sequence Generator. <https://www.random.org/sequences/> (19. sep 2016).