



Självständigt arbete vid LTJ-fakulteten, SLU
Examensarbete inom Trädgårdsingenjörsprogrammet
2007: 19

(ISSN 1651-8152)

Hygien och bevattningsvatten: ur teknologins,
växtens och marknadens perspektiv

Hygiene and irrigation water: from a technological,
commercial and plant perspective

Fakulteten för landskapsplanering, trädgårds- och jordbruksvetenskap
SLU-Alnarp

Anneli Wallmark
2012

Sveriges Lantbruksuniversitet, Alnarp

SLU, Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för Landskapsplanering, trädgårds- och jordbruksvetenskap, LTJ

Författare:

Anneli Wallmark

Titel:

Hygien och bevattningsvatten: ur teknologins, växtens och marknadens perspektiv

Hygiene and irrigation water: from a technological, commercial and plant perspective

Program:

Trädgårdsingenjör

Huvudområde:

Biologi

Nyckelord:

Hygien, bevattning, kontamination, smittspridning, *E. coli*, *salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Escherichia coli*, *Listeria spp.*,

Handledare

Professor Beatrix Alsanius. SLU, LTJ-fakulteten, område Hortikultur

Examinator

Docent Malin Hultberg. SLU, LTJ-fakulteten, område Hortikultur

Kurskod

EX0242

Kurstitel

Examensarbete för trädgårdsingenjörer

Omfattning:

15 hp

Nivå och fördjupning:

Grund B

Utgivningsort

Alnarp

Utgivningsår:

2012

Självständigt arbete vid LTJ-fakulteten

Innehållsförteckning

INNEHÅLLSFÖRTECKNING	3
SAMMANFATTNING	4
SUMMARY	5
INLEDNING	6
SYFTE	7
BAKGRUND	7
GÖDSEL	7
FRESH-CUT-PRODUKTER.....	8
KONTAMINERINGSRISK	8
BAKTERIER.....	9
<i>Campylobacter spp.</i>	9
<i>Salmonella spp.</i>	9
<i>Shigella spp.</i>	10
<i>Escherichia coli</i>	10
<i>Listeria spp.</i>	11
GRÄNSVÄRDEN	11
MATERIAL OCH METODER	13
EXPERIMENTELL DEL.....	13
<i>Inoculum</i>	13
Analyssätt.....	13
Behandling av data	14
RESULTAT	14
BLADYTAN	14
FÄRSKVIKTEN.....	17
DISKUSSION	18
SLUTSATS	19
REFERENSLISTA	21

Sammanfattning

Flera stora utbrott med kontaminerade grönsaker har skett under de senaste åren, många människor har blivit sjuka och till och med dött efter att ha ätit färska grönsaker. Denna studie undersöker bevattningsvattnet som en faktor till dessa utbrott. Det finns olika bakterier som kan förekomma i bevattningsvattnet *Campylobacter*, *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Escherichia coli* (*E.coli*) och *Listeria* är exempel som behandlas i detta arbete. Litteraturundersökningen fokuserar på hur bakterier kan spridas, olika kontamineringsrisker, rekommenderade gränsvärden för hur mycket bakterier det får finnas i bevattningsvattnet samt produkter som kan vara särskilt utsatta för en kontamination. I den experimentella delen undersöks hur mängden *E.coli* förändras med tiden på spenat. Resultaten visar att en kraftig minskning direkt efter behandlingen sker för att sedan plana ut. Vid den sista provtagningen så ökade antalet bakterier på alla proverna, även nollprovet. Att även nollprovet ökar kan förklaras med att en spridning i närmiljön sker och kan vara viktigt att tänka på vid kommersiell odling.

Summary

Many outbreaks of contaminated vegetables have occurred in the last few years. Many people have been sick and even died after eating fresh vegetables. This study will address the irrigation water as a factor in these outbreaks. Different kinds of bacteria may occur in the contaminated irrigation water *Campylobacter*, *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Escherichia coli* (*E.coli*) and *Listeria* spp. are examples that will be addressed in this study. The literature survey focuses on different contamination risks, how bacteria can spread, recommended limits for how much bacteria can be tolerated in the irrigation water and finally examples of products that can be particularly exposed for contamination. In the experimental part of the study, the interaction between amount of *E.coli* on spinach and time interval after the irrigation event was examined. The results show a substantial decline of bacteria right after the treatment to then flatten out for the last couple of days. At the last sampling the amount of bacteria increased, even in the control sample. The explanation for the increase in the control sample increases might be because spreading occurs of the local environment, an important factor to think about in commercial agriculture.

Inledning

Att bli sjuk efter att man har ätit ett livsmedel som innehåller någon slags bakterie, såsom *Escherichia coli* (*E. coli*) eller *Salmonella*, är lätt hänt. Symptom som magbesvär, kräkningar, diarréer och feber är vanliga; men även olika följsjukdomar kan uppträda som i vissa fall kan leda till döden (Livsmedelsverket, 2007a). Några vanliga källor till dessa livsmedelsburna sjukdomar är kyckling som inte är tillräckligt väl tillagad, grönsaker och vatten.

Hur kommer det sig då att grönsaker och främst bladgrönsaker (Livsmedelsverket, 2007b) kan innehålla dessa otrevliga bakterier? Flera fall av *Salmonella*-smittad rucola har påvisats och skapat stora rubriker i media. Under 2004 hittades *Salmonella* i färdigpaketerad rucola från Italien. Alla förpackningar stoppades samt återkallades för att förhindra människor från att bli sjuka och efter denna incident skärpte även leverantören Saba fresh-cut kraven på sina leverantörer. På Sabas hemsida framgår det inte vilka krav som skärpts så därför kontaktades Saba, men någon detaljerad information har inte kunnat erhållas.

I USA och framförallt Kalifornien har det funnits stora problem med smittade bladgrönsaker, speciellt med färdigpaketerad spenat. På många amerikanska nyhetssidor (t.ex. på www.flexnews.com) kan man läsa om spenat som har blivit återkallad och om människor som blivit smittade och till och med dött. Enligt Espinoza och Filipic (2006) så var det 200 amerikaner som blev sjuka. Tre personer dog på bara en månad av att ha ätit färska grönsaker.

Många av fallen beror på att konsumenterna inte sköljer sina grönsaker tillräckligt väl innan de ska konsumera produkterna men inte ens noggrann sköljning hjälper i vissa fall (Livsmedelsverket, 2007b). Därför skulle många kunna undgå att bli smittade om smittospridningen redan stoppades ute på fälten (Espinoza & Filipic, 2006).

Bakterier på frukt och grönt kan spridas på många sätt, exempelvis med bevattningsvattnet, gödsel och djur. Spridningen underlättas även om grönsakerna skulle bli skadade på något sätt, då blir de lättare kontaminerade av bakterierna eftersom de utsöndrar de socker då de får ett sår. Bakterierna kan då tillväxa snabbare då socker är en energirik föda för dem, de kan även ta sig in i växtvävnaden och är därmed omöjliga att

skölja bort. En studie med isbergssallat och infekterad gödsel, gjord av Solomon et.al. (2002), visade det sig att *E.coli* även kunde tas upp av växten genom rotsystemet och upp i de ätliga delarna.

En annan källa till smittade bladgrönsaker och groddar är att frön redan från början är smittade (FDA, 1999). För att undvika att växten sedan blir smittad så anser FDA att man ska vidta åtgärder för att desinfektera fröna och därmed minska risken för livsmedelsburna sjukdomar sprids. Dock kan inte detta garantera en hundra procentig eliminering av bakterierna. FDA rekommenderar därför även att kombinera desinfektion med mikrobiella provtagningar på fröna för att kunna säkerställa livsmedelssäkerhet. Även bevattningsvattnet bör testas så att inga bakterier finns där som kan orsaka sjukdomar, enligt FDA.

Syfte

Syftet med detta examensarbete är att undersöka sambandet mellan bevattningsvatten och kontaminerade grönsaker. Inom ramen för litteraturundersökningen är syftet att ta reda på vad marknaden har att säga om kontaminerat bevattningsvatten och om de har några gränsvärden för hur mycket bakterier i vattnet som är godtagbart. Studien kommer även att gå in på frågan om och varför vissa växtslag kontamineras i större utsträckning än andra. Arbetets experimentella del är inriktad på *E.coli* som smittspridare och syftar till att undersöka mängden *E.coli* på bladytan vid bevattningstillfället och dess förändring med tiden efter bevattningstillfället.

Bakgrund

Gödsel

Grundkällan till de flesta av alla utbrott är fekalier från tamdjur eller vilda djur. Om gödseln inte har brunnit tillräckligt så finns det en stor risk att många bakterier överlever när gödseln sprids ut på åkrarna. I den höga temperaturen som blir när gödseln brinner finns det få mikroorganismer (även patogener) som kan överleva (Islam, et al., 2004). Om gödselstacken är för blöt ökar inte temperaturen tillräckligt, då denna process blir anaerob. Detta är idag ett stort problem då allt mindre halm och strö används men även

avrinningen från gödselstackar till vattendrag, som används för bevattning, är ett problem. Förutom ovan nämnda orsaker så kan även fåglar och insekter sprida mikroorganismer, speciellt då dessa kan flyga och sprida smittan långa sträckor. Framförallt är fiskmåsar som håller till vid vattenreningsverk det som ger upphov till störst risk för smittspridningen (Lindmark, 2002).

Fresh-cut-produkter

Att marknaden för fresh-cut-produkter växer kan tydligt ses i matvarubutikerna. Dessa produkter är ett smidigt sätt att göra en sallad eller laga mat, men det innebär också fler steg i kedjan innan maten når slutkonsumenten. Varje steg medför en risk för att grönsakerna kan bli smittade, vattnet till sköljning kan vara smittat, verktyg som används kan sprida smittan vidare eller de människor som arbetar med det kan föra bakterierna vidare genom otillräcklig personhygien (Lindmark, 2002).

Kontamineringsrisk

Hur kommer det sig då att vissa produkter kontamineras av bakterier i större utsträckning än andra och varför bli man mer sjuk av vissa? Det finns många olika förutsättningar som bestämmer detta. Beroende på hur mycket bakterier det finns på produkten så är mängden som konsumeras en viktig aspekt (Lindmark, 2002). I detta avseende har den kontaminerade produkten en viktig aspekt i risken att bli sjuk, om man exempelvis kryddar maten med en krydda som är kontaminerad så använder man kanske inte så stor mängd och risken att bli sjuk är därmed inte lika stor som när man äter en sallad med någon slags bladgrönsak som är kontaminerad. En växts morfologi och ytegenskaper är av stor betydelse för om den är vanlig eller ovanlig som smittbärare (Lindmark, 2002). Grönsaker med stor bladyta och som växer lågt nära marken löper större risk att bli smittade. Vegetabilier som dessutom äts råa så som spenat, groddar och sallat har varit en källa till flera och stora utbrot (Livsmedelsverket, 2007b). Växterna kan även ha en egen inneboende förmåga att hindra mikroorganismerna från att växa till sig. Försök på lök och morot visade att *E. coli* inte kunde överleva eller växa till lika bra på lök som på morötter (Islam et al., 2004). En möjlig förklaring kan vara att löken innehåller höga koncentrationer av antimikrobiellt verkande fenoler jämfört med moroten (Islam et

al.,2004). Skördesättet och produkthantering är också av betydelse för hur lätt grönsakerna kontamineras. Bli de skadade på något vis under hanteringen kan det bli en inkörsport till olika mikroorganismer och patogener som kan leda till olika matförgiftningar (Lindmark, 2002). Andra faktorer som påverkar risken för kontaminering är hur produkten odlas, lagras, även hur väl den kan lagras, och tillagningssätt (Lindmark, 2002).

Bakterier

Bakterier kan spridas på olika sätt, nedan kommer en kort redogörelse för olika bakterier – listat enligt deras betydelse som smitta i Sverige under 2006 - som kan finnas i vatten som eventuellt ska användas för bevattning. Alla bakterier nedan finns naturligt i mag-tarmkanalen på människor och djur förutom *Listeria* som förekommer överallt i miljön (Lindmark, 2002).

Campylobacter spp.

Campylobacter spp. är den vanligaste bakterien vid vattenburna sjukdomar. Den är även väldigt vanlig i kyckling som inte är tillräckligt tillagad och i opastöriserad mjölk. Det sker få stora utbrott av den här bakterien, istället är det mer vanligt med små sporadiska utbrott eftersom flugor kan sprida *Campylobacter* (Smittskyddsinstitutet 2006-05-10a). Bakteriens tillväxt i livsmedel är låg men däremot krävs det få av dem för att bli sjukdomsframkallande (Smittskyddsinstitutet, 2006a). *Campylobacter* spp. är termofil och tillväxer bäst i temperaturer runt 42°C. De är dessutom väldigt uttorkningskänsliga vilket gör att de sällan påvisas i grönsaker, de hinner nämligen dö innan produkterna hinner analyseras eller ätas upp (Lindmark, 2002). Problemet kan dock vara större när avståndet mellan skörd och konsumtion är kort, t.ex. vid alternativa marknadsföringssätt i gårdsbutik.

Salmonella spp.

Efter *Campylobacter* spp. är *Salmonella* spp. den organismen som orsakar flest matförgiftningar i Sverige (Lindmark, 2002). Denna bakterie är inte lika vanlig i svenska livsmedel idag som den var förr eftersom man infört ett kontrollprogram för *Salmonella*

(Smittskyddsinstitutet 2006e). Detta kontrollprogram har lett till att också förekomsten på grönsaker sjunkit. *Salmonella* spp. kan överleva väl både i och utanför sitt värdjur. I vatten kan den leva över 10 veckor och flera månader i fekalier, jord och på betesmark (Lindmark, 2002). Bakterien har hittats i flertalet livsmedel, såsom grönsaker, kött och mejeriprodukter (Smittskyddsinstitutet 2006e). Den har även hittats i kryddor, sesampasta och bananblad (Lindmark, 2002).

***Shigella* spp.**

Shigella är nära besläktad med *E. coli* och det kan ibland vara svårt att särskilja dessa två åt (Lindmark, 2002). Det finns fyra olika arter av *Shigella* där alla kan orsaka sjukdom. Den vanligaste spridningen är dålig personhygien och grönsaker som är sköljda i eller bevattnade med avloppsvatten (Smittskyddsinstitutet, 2006b). Denna bakterie sprids inte via djur. I och med att *Shigella* framkallar sjukdom redan vid en låg dos (10-100 stycken) är det lätt att den sprids via kontaktsmitta från en person till en annan (KTL, 2007). De flesta (90%) som insjuknar av denna bakterie, smittas utomlands (Smittskyddsinstitutet, 2006b). Smittan hittas främst där det finns mycket människor, till exempel fängelser och förskolor (Lindmark, 2002).

Escherichia coli

E. coli finns naturligt i tarmarna. När vissa specifika sjukdomsframkallande stammar av *E. coli* kommer in i kroppen kan sjukdom uppstå. Bakterierna tål ett lågt pH (pH 3,6-4); detta betyder att de kan överleva i magsäcken. Symptom kan uppstå vid små doser (10 bakterier) (Lindmark, 2002).

Det finns minst sex stycken olika typer av *E. coli* som kan orsaka infektion hos människor. Enterohemorragisk *E. coli* (EHEC) är den vanligaste (Smittskyddsinstitutet, 2006d) och där stereotypen EHEC 0157:H7 har fått mest uppmärksamhet (Lindmark, 2002) då det är den som smittar flest personer (Livsmedelsverket, 2007b). EHEC är ett samlingsnamn för olika stammar av *E. coli*-bakterier som har liknande symptom (blodiga diarréer) (Lindmark, 2002). EHEC kan även benämnas som VTEC (verotoxinproducerande) eller STEC (shigatoxinproducerande) men detta används mest utanför Sverige. I Sverige används VTEC enbart som benämning för sjukdomen då den uppträder hos djur (Smittskyddsinstitutet, 2006f). EHEC kan överleva länge i gödsel och

mark. För att undvika spridning och begränsa överlevnaden av bakterien i gödselstackar bör man lufta och blanda runt gödseln. Gör man detta kan överlevnaden av EHEC minska från ett år till 4 månader (Livsmedelsverket, 2007b). EHEC-utbrott har lokaliserats till många olika livsmedel, såsom yoghurt, köttprodukter (främst nötkött), opastöriserad mjölk, dricksvatten, fruktdrycker och grönsaker (Smittskyddsinstitutet, 2006d). Hos grönsaker anges ofta bevattningsvattnet som har blivit kontaminerat av gödsel som är källan till förekomsten (Lindmark, 2002).

Listeria spp.

Listeria spp. är en av de bakterier som drabbar minst antal människor, men har en dödlighet på 30 %. Istället för att orsaka problem i mag-tarmkanalen så orsakar denna bakterie symptom i det centrala nervsystemet (Lindmark, 2002). Människor med nedsatt immunförsvar, gravida kvinnor, foster och alkoholister är speciellt utsatta för *Listeria spp.* Man kan hitta *Listeria* i rökt eller gravad lax, ostar och opastöriserad mjölk, men bakterierna kan även spridas i kylskåpet (Smittskyddsinstitutet, 2006c). *Listeria spp.* trivs även bra i vakuumpackningar och hittas bland grönsaker främst hos bladgrönsaker (Lindmark, 2002).

Gränsvärden

En del i syftet var att ta reda på om branschen hade några rekommenderade gränsvärden för hur mycket bakterier det får finnas i bevattningsvattnet. För att ta reda på detta kontaktades livsmedelsverket, flera personer på jordbruksverket samt några företag inom branschen. En del valde att inte svara och de andra hade inga uppgifter om några rekommendationer. I Sverige har man i dagsläget ingen lagstiftning som reglerar krav på kvaliteten vad gäller bevattningsvattnet. Däremot finns sådana rekommendationer utomlands, bland annat DIN 19650 som är en tysk standard som beskriver fyra lämplighetsklasser. I tabellen redovisas lämplighetsklass 2 som beskriver gränsvärden för frilands- och växthusodlade kulturer för färskkonsumtion.

Tabell 1. Gränsvärden för bevattningsvatten för grönsaker som ska ätas utan tillagning enligt DIN 19650 (1999).

Lämplighetsklass	2
Användning	- frilands- och växthusodlade kulturer för färskkonsumtion
Fekal streptokokker (antal/100 ml)	≤ 100
E. coli (antal/100 ml)	≤ 200
Salmonella (antal/1000 ml)	Ej påvisbar
Potentiellt infektiösa stadier av human- och husdjursparasiter (antal/1000 ml)	Ej påvisbar

Detta kan jämföras med de gränsvärden som socialstyrelsen satt upp för dricksvatten från egen brun eller vattenverk (Socialstyrelsen, 2003)

Tabell 2. Riktvärden för mikroorganismer i dricksvatten – underlag för bedömning av dricksvattenprov enligt SOSFS 2003:17 bilaga 1: SOSFS 2005:20

Mikrobiologiska parametrar				
Parameter	Enhet	Tjänligt med anmärkning	Otjänligt	Kommentar
Escherichia coli (E. coli)	Antal per 100 ml	Påvisade (h)	10 (h)	Indikerar fekal förorening från människor eller djur, t.ex. via avlopp eller gödsel, vilket innebär risk för förekomst av sjukdomsframkallande organismer.
Koliforma bakterier	Antal per 100 ml	50 (h)	500 (h)	Kan indikera både fekal och annan förorening som kan innebära hälsorisk.
Mikroorganismer vid 22 °C	Antal per ml	1000 (h)		Indikerar sådan förorening från vatten eller jord som normalt inte är av fekal ursprung.

Material och metoder

Experimentell del

Den 25 september 2007 såddes 16 lådor med spenat (*Spinacia oleracea*) (7 g m^{-2}) med enhetsjord täckta med ett lager av råsand. Under uppkomsten placerades de i en klimatkammare vid 24°C och flyttades efter en vecka till en växthuskammare (dagtemperatur: 19°C ; nattemperatur: 15°C).

Experimentet lades upp som ett tvåfaktoriellt försök där faktor 1 var olika mängder av *E.coli* i bevattningsvattnet (behandling 1: $0\text{ cfu }100\text{ ml}^{-1}$; behandling 2: $10\text{ cfu }100\text{ ml}^{-1}$; behandling 3: $100\text{ cfu }100\text{ ml}^{-1}$; behandling 4: $1000\text{ cfu }100\text{ ml}^{-1}$ vatten) och faktor 2 var olika skördetillfällen av bladgrönsakerna (provtagning 1: direkt innan bevattning; provtagning 2: direkt efter bevattning; provtagning 3: 24 h efter bevattning; provtagning 4: 48 h efter bevattning; provtagning 5: 72 h efter bevattning). Tre prover togs per densitet och provtagningstillfälle.

Inoculum

I försöket användes *E.coli*-stammen DH5 som är en icke-patogen laboriostam. *E. coli* DH5 odlades upp i 24 h vid 37°C på NA (Pepton - 5 g, jästextrakt 3 g, Natriumklorid - 5 g, Agar - 15 g, ad 1000 ml vatten) och överfördes till rör med steril 0.85 % NaCl-lösning. Densiteten ställdes till OD₆₂₀ 0.26. Lösningen justerades sedan i sterilt kranvatten till en slutdensitet på $10\text{ CFU } (100\text{ ml})^{-1}$, $100\text{ CFU } (100\text{ ml})^{-1}$ resp. $1000\text{ CFU } (100\text{ ml})^{-1}$. Kontrolleret utgjordes av sterilt kranvatten. Samtliga behandlingar sprayades ut med 5 l m^{-2} .

Analyssätt

Tre plantor från varje försöksled överfördes till sterila burkar, vägdes och skakades i 10ml dispergeringsmedel i 20 min. En ml samlades från varje burk och späddes seriellt i steril 0.85% NaCl-lösning. Därefter togs prov från de olika spädningarna och spreds på både 0.1 tryptisk soya agar (TSA, 15 g Tryptone, 5 g Soytone, 5 g Natriumklorid, 15 g Agar). Detta odlings medium återspeglar den generella bakteriella floran. Prov spreds även på medium selektiva för *E. coli* (3MTM PetrifilmTM, 3MTM, 3M Europe & MEA 3M Deutschland GmbH Carl-Schurz-Strasse 1 D41453 Neuss/Germany): Två petriskålar

racklades för varje prov. Plattorna inkuberades vid 23 °C resp. 44 °C i 72 h resp. 24 h. Provplantornas bladarea bestämdes med hjälp av en bladyterräknare (Licor Li 3100 Area meter, Glen Spectra, UK).

Behandling av data

För att få fram antalet bakterier per cm² bladarea samt per gram färskvikt så dividerades medeltalet av de två parallellerna med storleken på bladarean eller vikten av bladen. Därefter multiplicerades det värdet med den avlästa utspädningen och medeltalet för varje behandling och provtagningstillfälle räknades ut. Standardavvikelsen för de erhållna resultaten beräknades därefter.

Resultat

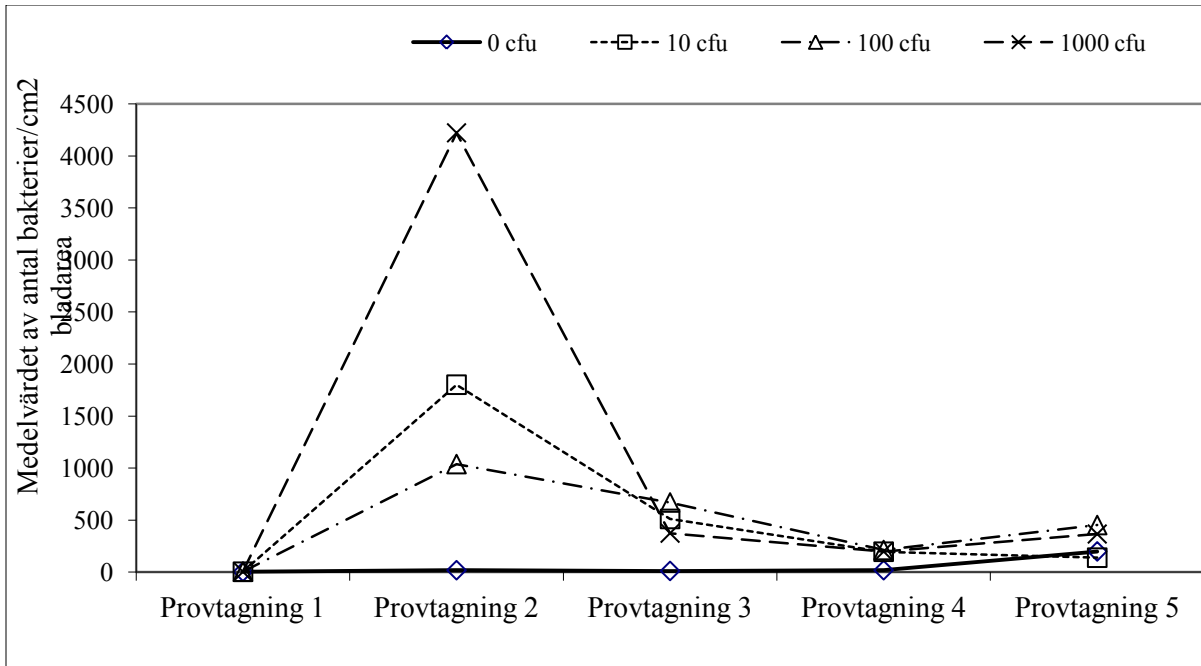
Bladytan

Resultaten av den experimentella undersökningen visade att antalet bakterier avtog kraftigt mellan provtagningarna 2 och 3 (Fig. 1). Behandlingen med 1000 cfu *E.coli* (100 ml)⁻¹ avtog mest och sjönk till en nivå som var lägre än de båda andra behandlingarna med kontaminerat vatten. Skillnaderna mellan de olika behandlingarna var störst vid andra provtagningen och blev mer jämna vid de senare provtagningstillfällena. I de prover som togs direkt efter utvattning av kontaminerat vatten, kunde det ses att den behandling som innehöll 10 cfu *E.coli* (100 ml)⁻¹ hade ett högre antal bakterier per cm² bladarea än den som innehöll 100 cfu *E.coli* (100 ml)⁻¹ (Fig. 1). De erhållna antalen för bakterier hade dock väldigt stor spridning och en granskning av standardavvikelsena för replikaten visar att någon signifikans ej kunde uppnås i resultaten. De *E. coli* specifika plattor som användes gav ej någon växt.

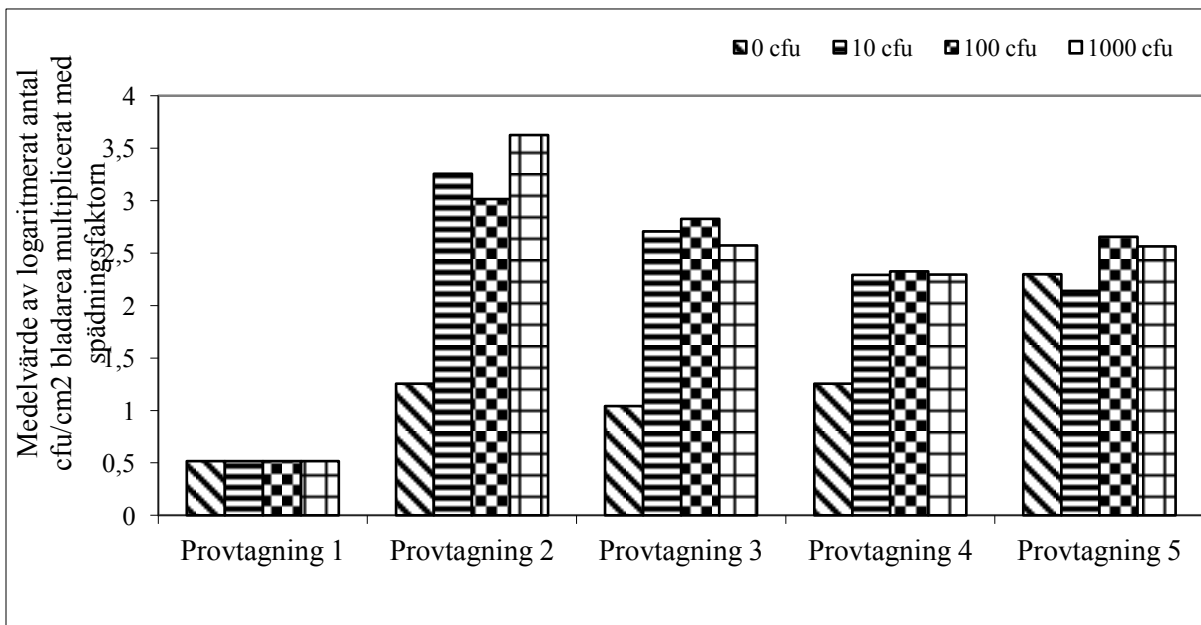
Bakteriehalten på plantor som behandlats med okontaminerat vatten låg mycket lågt jämfört med de tre andra behandlingar med kontaminerat vatten. Behandlingarna med kontaminerat vatten visade stadigt sjunkande bakteriehalter. Behandlingarna med 10cfu *E.coli* (100 ml)⁻¹ och 1000 cfu *E.coli* (100 ml)⁻¹ avtog något snabbare än behandlingen med 100 cfu *E.coli* (100 ml)⁻¹. Dock kan man se att proverna för de olika

koncentrationerna närmar sig varandra med tiden för att vid sista provtagningstillfället ligga mer eller mindre på samma nivå.

Vid andra provtagningen, direkt efter behandling, så kan man se att plantorna som duschades med den lägsta densiteten *E.coli* hade ett högre antal bakterier på sig än de som duschades med den högre densiteten.



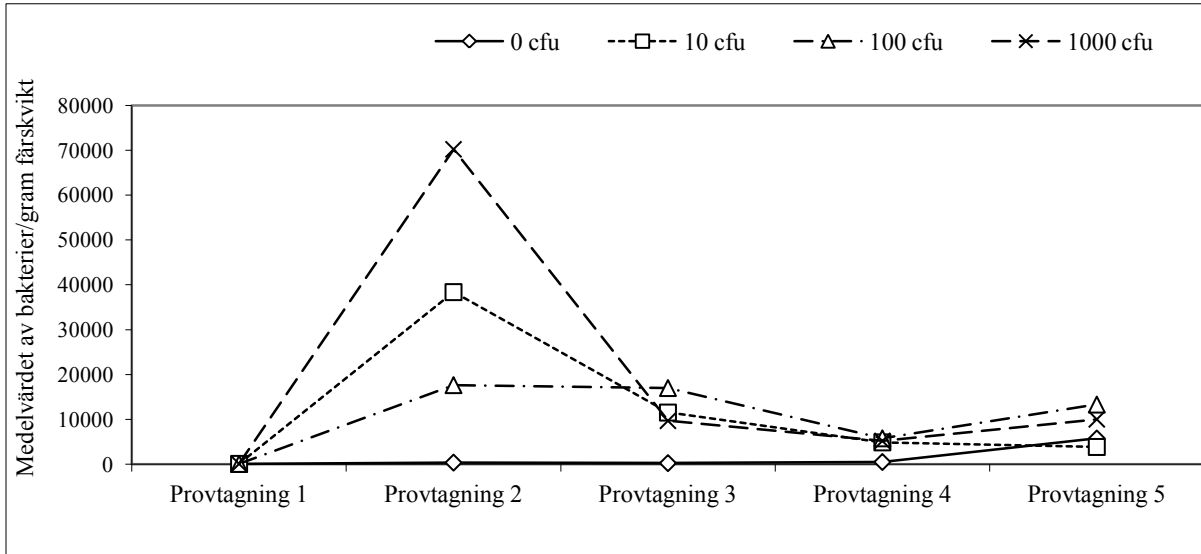
Figur 1. Förekomst av den generella bakteriefloran ($CFU\ m^{-2}$ bladarea) på spenatblad innan och efter bevattning med *E.coli*-kontaminerat vatten. Densiteten på *E. coli* uppgick till $0\ CFU\ (100\ ml)^{-1}$, $10\ CFU\ (100\ ml)^{-1}$, $100\ CFU\ (100\ ml)^{-1}$ resp. $1000\ CFU\ (100\ ml)^{-1}$. Prover togs direkt innan och efter bevattning samt 24 h, 48 h och 72 h efter bevattningen.



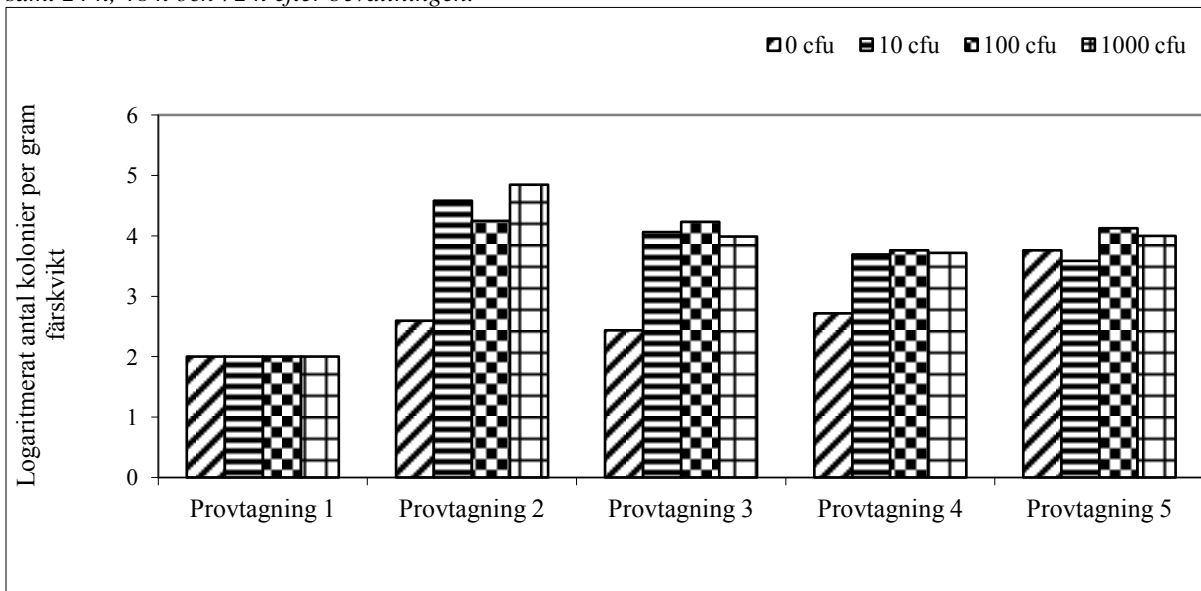
Figur 2. Förändringen av logaritmerade medelvärden för förekomsten av den generella bakteriefloran ($\log\ CFU\ m^{-2}$ bladarea) på spenatblad innan och efter bevattning med *E.coli*-kontaminerat vatten. Densiteten på *E. coli* uppgick till $0\ CFU\ (100\ ml)^{-1}$, $10\ CFU\ (100\ ml)^{-1}$, $100\ CFU\ (100\ ml)^{-1}$ resp. $1000\ CFU\ (100\ ml)^{-1}$. Prover togs direkt innan och efter bevattning samt 24 h, 48 h och 72 h efter bevattningen.

Färskvikten

Då bakteriehalterna relaterades till bladfärskvikten kunde en liknande bild tas fram som för bakteriehalten per bladarea (Fig. 3).



Figur 3. Förekomst av den generella bakteriefloran (CFU m⁻² färskvikt) på spenatblad innan och efter bevattning med *E.coli*-kontaminerat vatten. Densiteten på *E. coli* uppgick till 0 CFU (100 ml)⁻¹, 10, CFU (100 ml)⁻¹, 100 CFU (100 ml)⁻¹ resp. 1000 CFU (100 ml)⁻¹. Prover togs direkt innan och efter bevattning samt 24 h, 48 h och 72 h efter bevattningen.



Figur 4. Förändringen av logaritmerade medelvärden för förekomsten av den generella bakteriefloran (log CFU m⁻² färskvikt) på spenatblad innan och efter bevattning med *E.coli*-kontaminerat vatten. Densiteten på *E. coli* uppgick till 0 CFU (100 ml)⁻¹, 10, CFU (100 ml)⁻¹, 100 CFU (100 ml)⁻¹ resp. 1000 CFU (100 ml)⁻¹. Prover togs direkt innan och efter bevattning samt 24 h, 48 h och 72 h efter bevattningen.

Vid de logaritmerade värdena för antalet kolonier per gram färskvikt (Fig. 4) kan man även här se likheten med bladarean (Fig. 2). Det är ingen större skillnad i mönstret mellan bladarean och färskvikten, troligtvis följer dessa varandra ganska så linjärt varför inga större skillnader syns.

Diskussion

Den mest tydliga trenden av resultaten är avtagandet av antalet bakterier direkt efter behandlingen med det kontaminerade bevattningsvattnet. Diagrammet för antalet bakterier per cm² bladarea (fig 1) visar en markant minskning i ett första skede bara en dag efter det att behandlingen har skett. För det prov som hade högst densitet av bakterier vid provtagning direkt efter behandling sker en minskning med över 90 % mellan provtagningstillfälle 2 och 3. Det prov med lägst densitet minskar bara med hälften. Eftersom det i undersökningen använts en icke patogen laboriostam så är dess motståndskraft mot yttre omständigheter utanför laboriemiljö betydligt lägre jämfört med dess vilt förekommande stammar. Detta kan förklara den kraftiga nedgången i antal kolonier efter den andra provtagningen.

Från diagrammen kan man även se att resultaten visar ett väldigt högt antal bakterier jämfört med antalet bakterier som plantorna sprejades med. Detta kan tyda på att det även finns andra sorters bakterier på bladen. Detta är mycket troligt då tillväxtförhållandena inte var sterila samt att samtliga kolonier i petriskålarna med TSA räknades så är det möjligt att andra sorters bakterier protokollförts. Liknande problem har setts vid den här sortens undersökningar (Stewart 2001) där de likt denna studie försökt använt sig av artspezifisk media för beräkningen av antal kolonier men trots detta haft problem med ospecifik tillväxt. I denna studie användes exempelvis *E. coli* specifika plattor (3MTM PetrifilmTM) som tyvärr ej gav några användbara resultat, orsaken till detta är oklar men kan bero på uttorkning av plattorna. I brist på en positiv kontroll så är det svårt att avgöra om det är plattorna som inte kunnat växa ut proverna eller om det är proverna själva som problemet ligger hos. Trots brist på tillförlitliga arts specifika resultat så visar ändå

nollprovets låga bakteriedensitet jämfört med proverna som har blivit behandlade med *E.coli*, att en påverkan med ökad mängd mikroorganismer förekommer hos de behandlade plantorna. Detta kan lätt ses om nollprovet subtraheras från de övriga proverna. Ökningen av antalet bakterier vid den femte provtagningen kan eventuellt förklaras med att plantorna vattnades mellan provtagning fyra och fem. Då plantorna fick vatten producerar de mer sockerämnen som utsöndras på bladen och tillsammans med den tillförda fukten ges bakterierna bra förutsättning till att frodas och kan då föröka sig. Att även nollprovet ökar vid den femte provtagningen är ett tecken på att även ickekontaminerad spenat löper risk för att få en ökad mängd bakterier om det är så att det finns kontaminerade plantor i dess närmiljö.

Det är lätt att tänka sig att detta även kan inträffa i för kommersiellt odlad spenat där odlingen sker under betydligt mindre kontrollerade former jämfört med odling i ett växtlaboratorium. Beroende på hanteringen av spenat vid odling för försäljning så är det lätt att tänka sig olika scenarion där en kontaminering som är relativt lokal kan sprida sig till större partier. Exempelvis kan en del av ett fält ha blivit gödslad med kontaminerat gödsel eller ett djur kan ha lämnat spillning som innehåller bakterier.

Slutsats

För att återknyta till inledningen , skulle man då bli sjuk av att äta den här spenaten som har blivit behandlad med *E.coli* och kan bevattningsvattnet vara en bidragande faktor till att kontaminera spenaten?

Om gram färskvikt approximeras till milliliter så kan värdena jämföras med de riktlinjer som satts upp för mängden *E. coli* i DIN 19650 (1999) samt de gränser som socialstyrelsen anger för dricksvatten. Jämförelsen visar att de värden denna studie erhållit ligger över dessa gränser för samtliga provtagningstillfällen. Resultaten visar även att risken att bli smittad är större i nära anslutning till kontaminationstillfället. Med detta som facit skulle rekommendationerna till konsumenterna vara att skölja alla sina grönsaker noga innan de äter dem då det finns en klar risk att kontaminerat bevattningsvatten kan bidra till ökade nivåer av mikroorganismer på grönsakerna. Till

branschen skulle rekommendationerna vara att testa gödseln, jorden, bevattningsvattnet och fröna för att vara säker på att inga patogener finns närvarande innan sådd samt att även hålla en god personhygien och att rengörning av verktyg ska vara en rutin.

En svensk rekommendation av gränsvärden för antal bakterier som får finnas i bevattningsvattnet bör tas fram. Ett intresse bör finnas hos både livsmedelsverket och jordbruksverket att ta fram ett regelverk för detta då sådan information kan vara svår att finna anpassad för svensk grönsaksindustri. Speciellt i ljuset av det utbrott av EHEC som även drabbade Sverige nu i våras så blir behovet av tydliga regler än mer viktigt för att skydda konsumenten.

Referenslista

DIN 19650 (1999) Bewässerung. Hygienische Belange von Bewässerungswasser. Berlin:

Beuth.

Espinoza, M., & Filipic, M. [online] (2006-10-16). *E. coli in Vegetables: Ohio State Study Looks at 'Under the Surface' Contamination, Role of Plant Diseases*. Tillgänglig: <http://www.oardc.ohio-state.edu/newsitem.asp?id=3813>. [2011-12-04]

Flexnews. [online] (2006-09-27). *US officials trace E. coli Spinach to California Plant*. Tillgänglig: <http://www.flex-news-food.com/console/PageViewer.aspx?page=4962> [2011-12-04]

Food and Drug Administration (FDA). (1999). Center for food safety and Applied Nutrition. Guidance for industry. Sampling and microbial testing of spent irrigation water during sprout production.

Islam M., Doyle M. P., Phatak S. C., Millner P., Jiang X. (2004). Survival of Escherichia coli O157:H7 in soil and on carrots and onions grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. *Food Microbiology* 22 (2005) 63–70

Kansanterveyslaitos (KTL) (Folkhälsoinstitutet) [online] (2007-09-04)
Tillgänglig: <http://www.ktl.fi/portal/svenska/halsoteman/infektionssjukdomar/tarminfektioner/shigella/> [2011-12-04]

Lindmark, H. (2002). *Mikrobiologisk riskprofil för frukt och grönsaker*. Tillgänglig: http://www.slv.se/upload/dokument/rapporter/bakterier_virus_mogel/Riskprofil_frukt_gronsaker.pdf. [2011-12-04]

Livsmedelsverket. [online] (2007-02-12a) *Bakterier, virus och parasiter*. Tillgänglig: <http://www.slv.se/sv/grupp1/Risker-med-mat/Bakterier-virus-och-parasiter/>. [2011-12-04]

Livsmedelsverket. [online] (2007b) *Verotoxinbildande E.coli – VTEC-bakteriers smittvägar, förekomst samt risker för folkhälsan*. Tillgänglig: http://www.slv.se/upload/dokument/rapporter/bakterier_virus_mogel/riskprofil_hec_2007.pdf. [2011-12-04]

- Smittskyddsinstitutet. [online] (2006-05-10a). *Sjukdomsinformation om campylobacterinfektion*.
Tillgänglig: <http://www.smittskyddsinstitutet.se/sjukdomar/campylobacterinfektion/>. [2011-12-04]
- Smittskyddsinstitutet. [online] (2006-05-10b). *Sjukdomsinformation om shigellainfektion*.
Tillgänglig: <http://www.smittskyddsinstitutet.se/sjukdomar/shigellainfektion/>. [2011-12-04]
- Smittskyddsinstitutet. [online] (2006-05-10c). *Sjukdomsinformation om listeriainfektion*.
Tillgänglig: <http://www.smittskyddsinstitutet.se/sjukdomar/listeriainfektion/>. [2011-12-04]
- Smittskyddsinstitutet. [online] (2006-05-10d). *Sjukdomsinformation om escherichia coli-infektioner i tarmen*.
Tillgänglig: <http://www.smittskyddsinstitutet.se/sjukdomar/escherichia-coli-infektioner-i-tarmen/>. [2011-12-04]
- Smittskyddsinstitutet. [online] (2006-05-10e) *Sjukdomsinformation om salmonellainfektion*.
Tillgänglig: <http://www.smittskyddsinstitutet.se/sjukdomar/salmonellainfektion/>. [2011-12-04]
- Smittskyddsinstitutet. [online] (2006-08-29f). *Sjukdomsinformation om enterohemorragisk E. coli infektion (EHEC)*
Tillgänglig: <http://www.smittskyddsinstitutet.se/sjukdomar/enterohemorragisk-e-coli-infektion/> [2011-12-04]
- Socialstyrelsen (2003), Socialstyrelsens allmänna råd (SOSFS 2003:17) om försiktighetsmått för dricksvatten Elektroniskt tillgänglig: <http://www.socialstyrelsen.se/sosfs/2003-17> (2011-11-28)
- Solomon, B. E., Yaron S. and Matthews K. R. (2002). Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization. *Applied and Environmental Microbiology* 68(1), 397-400.
- Stewart D, Reineke K, Ulaszek J, Fu T and Tortorello M. (2001) Growth of *Escherichia coli* O157:H7 during sprouting of alfalfa seeds *Letters in Applied Microbiology* 2001, 33, 95-99