

Rädd för vatten – ta prover!

Ett underlag för bedömning av bevattningsvattnets hygieniska kvalitet

BEATRIX ALSANIUS, LILLY KRISTENSEN, PIRJO GUSTAFSSON

Frukt, bär och grönsaker är viktiga komponenter i en hälsosam kosthållning. Under senare år har antalet utbrott av mag-tarm sjukdomar relaterade till frukt, bär och grönt ökat. Smitta kan överföras till frukt och grönt i alla led i livsmedelskedjan, från jord till bord, och smittocykeln måste brytas. I detta sammanhang har vatten, i synnerhet bevattningsvatten (figur 1), och organiskt gödsel uppmärksammas (figur 2). I Sverige finns hittills inga regler för bevattningsvattnets hygieniska kvalitet. Inom ramen för ett projekt finansierat av Tillväxt Trädgård har vi tagit fram ett underlag för tillvägagångssätt och indikatorer för bedömning av bevattningsvattnets kvalitet, med fokus på ytvatten.

- Halten *E. coli* och intestinala enterokocker (fekala streptokocker) är lämpliga indikatorer för bevattningsvattnets hygieniska status.
- *Salmonella* bör inkluderas i det grundläggande analyspaketet för bedömning av hygien i bevattningsvatten.
- Ett enskilt prov är inte tillräckligt för att svara på bevattningsvattnets hygieniska kvalitet.
- Det geometriska medelvärdet ur fem prover fördelade över en 30-dagars-period ger en god bild över vattnets status.
- Medelvärdet från resultat tagna över en 30-dagars-period förutspår inte framtida resultat.
- Pumpen ska vara igång i 15 minuter innan provtagningen påbörjas.
- För att få en tillförlitlig bild, ska provtagningsplatsen vara så nära bevattningsrampen som möjligt.

Frukt, bär och grönsaker är viktiga komponenter i en hälsosam kosthållning. Under senare år har antalet utbrott av mag-tarm-sjukdomar relaterade till frukt, bär och grönt ökat. Under perioden 1996–2009 inträffade 45 utbrott i Sverige (L. Plym-Forsnell, SLV, muntligt meddelande). Dessa mag-tarm-sjukdomar varierar i allvarlighetsgrad. Fö-



Figur 1: Vatten är liv – och död – och liv (Foto: Beatrix Alsanius)

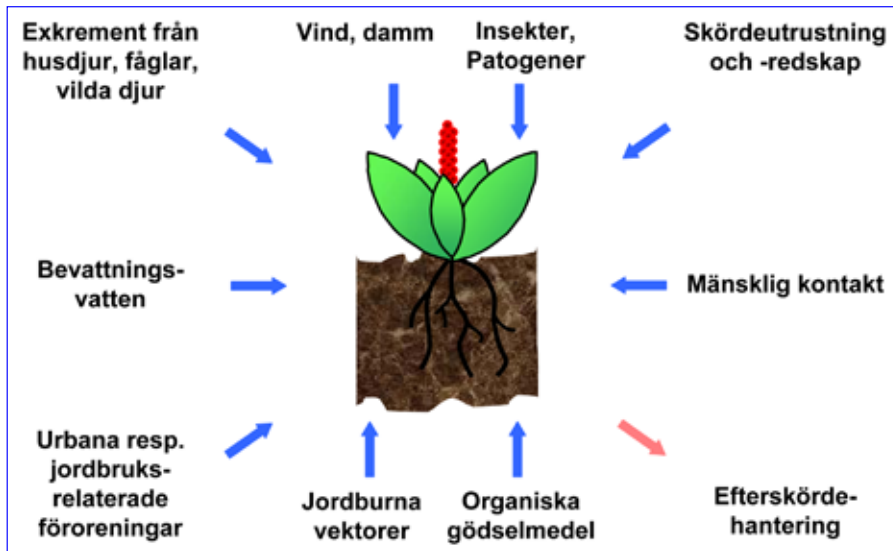
rekomsten av smittor som orsakar sjukdomar redan vid låg förekomst (t.ex. EHEC) är särskilt allvarlig. Vanligast bland smittade produkter är sådana som konsumeras råa eller efter minimal tillredning, t.ex. sallad, bladgrönt, spenat, kryddor, bär. Det är en del av problemet att smittade bär och grönsaker för direktkonsumtion eller minimal tillredning ofta redan är uppätta när utbrottet är ett faktum. God odlingspraxis (good agricultural practice; GAP) är ett viktigt redskap för att öka produktsäkerheten. Det bör understrykas att problem som uppstått under odling och skörd inte alltid kan åtgärdas under ett senare skede i livsmedelskedjan. Företagsledaren/verksamhetsledarens attityd i frågan om produktsäkerhet spelar en viktig roll, men det krävs också ett ansvarstagande på alla nivåer inom odling och processning. Produktsäkerhet kan tryggas genom effektiv och kvalificerad utbildning och personlig handledning inom verksamheten. Alla bör vara medvetna om att allt som kommer i kontakt med produkten kan överföra smitta. Här har vatten och vattenkvalitet samt organiskt gödsel stor betydelse. Ett regelverk rörande vattenhygien är ett viktigt steg. Grundläggande åtgärder ur produktsäkerhetsperspektiv är också personlig hygien och hygieniserings-

åtgärder i processen. Odlare och personal i alla verksamhetsdelar bör ha ökad kontroll över kritiska moment under odlingen och packningen. En handlingsplan för krishantering i fall av ett utbrott ger ökad trygghet och tillit.

Vår undersökning

Under säsongen 2009 genomförde vi en studie för att ta fram ett underlag för bedömning av ytvatten. Tidigare undersökningar hade visat att halten indikatororganismer i ytvatten varierar starkt under både ett kort- och långsiktigt perspektiv och att ett prov inte ger ett tillförlitligt bedömningsunderlag. Vi hade också tidigare konstaterat förekomst av *Salmonella* då fem ytvattenkällor i södra Sverige kartlades. Vi ville ha svar på följande frågor:

- vilken eller vilka organismer ger en tillförlitlig bild över vattenkällans hygieniska status?
- hur många prover behöver tas för en tillförlitlig bedömningsbas?
- hur jämförbara är provresultat under odlingsårens olika faser och kan ett prov taget vid ett tillfälle eller prover tagna under en fas av odlingsåren förutspå vattnets hygieniska kvalitet under en annan fas?



Figur 2. Potentiella smittkällor och spridningsvägar av tarmsmittor i livsmedelskedjan för frukt och grönt

Studien genomfördes i två uppsamlingsdammar av ytvatten i södra Sverige. Vattnet används för bevattning av frilandsgroönssaker. Prover togs i två perioder över 30 dagar vid fem enskilda provtagningstillfällen. Fem oberoende prover togs vid varje tillfälle. Proverna analyserades med hänsyn till halten

- Heterotrofa organismer vid 22 °C
- totalantal koliforma bakterier
- termotoleranta koliforma bakterier (fekala koliforma bakterier)
- *E. coli*
- Intestinala enterokocker (fekala streptokocker) samt
- *Salmonella* spp.

Dessa mått används som process- och hygienindikatorer vid bedömning av vatten (tabell 1). Som processindikatorer betecknas organismer eller grupper av organismer som indikerar verkningsgraden av en process, t.ex. hygienisering genom tekniska eller biologiska processer.

Resultaten beräknades individuellt för varje bevattningsdamm som horisontellt och vertikalt aritmetiskt resp. geometriskt medelvärde inklusive standardavvikelse över fem provtagningar inom en provtagningsperiod. Dessa resultat jämfördes med de befintliga tyska (DIN 19650) och kanadensiska operativa standarderna (BC; Water Quality Criteria for Microbiological Indicators) tillämpat i British Columbia där tröskelvärden för *E. coli* och intestinala enterokocker enligt DIN 19650 ska vara ≤ 200 CFU/100 ml resp. ≤ 100 CFU/100 ml och tröskelvärden en-

ligt BC-standard för *E. coli*, termotoleranta koliforma bakterier och intestinala enterokocker ska vara ≤ 77 CFU/100 ml, ≤ 100 CFU/100 ml resp. ≤ 20 CFU/100 ml. Enligt DIN 19650 ska bevattningsvatten avsett för frukt och grönt för direktkonsumtion vara fri från *Salmonella*. De lägre gränsvärdena i BC-standard beror på ett annat beräkningsätt. Till skillnad från DIN-standard som baseras på ett enskilt prov, beräknas resultat enligt BC-standard som geometriskt medelvärde över fem provtagningstillfällen under en 30-dagars-period. Likheten mellan de olika bedömningsmått analyserades med hjälp av klusteranalys och eukleidskt avstånd ($p < 0.05$) samt stegvis regressionsanalys ($p < 0.05$). För att bedöma om resultat från en provtagningsperiod kan förutspå hygienstatus vid ett senare tillfälle genomfördes principalkomponentanalys.

Resultat och diskussion

I tabell 2 visas minimi- och maximivärden som registrerades för olika organismer eller grupper av organismer inom ramen för studien. Inom parentes uppges motsvarande värden som togs fram inom ramen för en annan undersökning under 2008, som genomfördes vid samma plats.

Tabell 3 visar hur ofta mätvärdena översteg gränsvärdena för den DIN- resp. BC-standard. Den tyska normen DIN 19650 är uppdelad i fyra lämplighetsklasser med hänsyn till bevattningsvattnets användningsområde. Den striktaste gruppen (lämplighetsklass 1) kan användas för alla former

av bevattning. Lämplighetsklass 2 som vi utgick ifrån i vår analys tillämpas på frukt och grönt som avses för direktkonsumtion eller minimal tillredning. Lämplighetsklass 3 och 4 avses för produkter som ej avses för direktkonsumtion, idrottsanläggningar, frostskyddsbevattning och jordbruksgrödor. Den kanadensiska standarden ställer också olika krav på vattenhygien med hänsyn till användningsändamålet.

Informationen bakom indikatororganismerna jämfördes med hjälp av multivariat statistik. Med hjälp av dessa metoder kan man analysera resultat med hänsyn till fler än en faktor. Klusteranalys och principalkomponentanalys är två multivariata metoder. Med hjälp av klusteranalys kan man gruppera data med hänsyn till deras likhet (similarity). Principalkomponentanalys hjälper till att hitta samband i dataset som består av fler än en faktor eller variabel. Dendrogrammet (figur 3) över 100 oberoende prover visar att mönstren för termotoleranta koliforma bakterier och *E. coli* var mycket lika ($R^2=0.937$; $p < 0.05$). Båda är mått för kortvariga fekala föroreningar. Detta betyder att enbart en av dessa indikatorer behöver analyseras. De övriga indikatorerna var inte lika nära besläktade. Intestinala enterokocker, som är indikatorer för långvarig fekal förorening, skilde sig påtagligt från indikatorer för kortvarig fekal förorening. Sambandet mellan halten *E. coli* och intestinala enterokocker var obefintlig ($R^2=0.023$, $p=0.129$). Detta innebär att ett protokoll som både ska omfatta kortvariga och långvariga fekala föroreningar bör baseras på analysresultat från båda grupperna. Detta antyds också i de utländska operativa normerna för bedömning av bevattningsvatten. Enligt dendrogrammet (figur 3) intar totalantalet koliforma bakterier en mellanställning mellan indikatorer för kort- och långvariga fekala föroreningar. Tyvärr var sambandet mellan dessa grupper för lågt; därför kan halten totalantalet koliforma bakterier inte användas som ett tillförlitligt indirekt mått på bevattningsvattnets hygienstatus ($R^2=0.224$).

Den fortsatta resultatframställningen baseras på halten *E. coli* och intestinala enterokocker. Trots begränsning till ett fåtal indikatorer var likheten mellan proverna låg. En viss trend till gruppering med hänsyn till provtagningsserien kunde dock skönjas när analysen baserades på samtliga insamlade data. Då det geometriska medelvärdet över fem prover per 30-dagars-period till-

Tabell 1: Sammanställning av några organismer som används vid hygienisk kvalitetsbedömning av vatten (Ashbolt et al. 2001, ändrat)

Grupp av organismer		
Processorganismer		
Heterotrofa organismer vid 22 °C		Antal snabbväxande heterotrofa organismer; beskriva främst belastning genom jord
Totalantal koliforma bakterier		Heterogen grupp av bakterier; beskriver den allmänna sanitära nivån i vattnet, men är inte direkt relaterad till fekal förorening
Indikatororganismer för fekal förorening		
Termotoleranta koliforma (fekala koliforma) bakterier		Undergrupp av totalantal koliforma bakterier; indirekt mått på <i>E. coli</i>
<i>E. coli</i>		Fekal koliform bakterie
Intestinala enterokocker (fekala streptokocker)		Heterogen grupp av bakterier som indikerar fekal förorening i vatten
Patogener		
<i>Salmonella</i>		Sjukdomsalstrare; används som en av indikatorerna i den tyska operativa normen DIN 19650

Tabell 2: Mini- och maximivärden för processorganismer (heterotrofa organismer vid 22 °C; totalantal koliforma bakterier) och indikatororganismer (termotoleranta koliforma bakterier; *E. coli*; intestinala enterokocker) uppmätta i två uppsamlingsdammar för ytvatten avsedda för bevattning av frilandsgroönsaker. Proverna togs i två omgångar med fem enskilda provtagningar och fem oberoende prover under en period av 30 dagar (n=50). Halten för mikroorganismer vid 22 °C uppges i levande celltal (CFU) per ml, medan övriga grupper av organismer uppges i levande celltal (CFU) per 100 ml. Värdet inom parentes härstammar från en studie som gjordes i annat syfte år 2008 vid samma platser (n=60).

Organism resp. grupp av organismer	Bevattningsdamm 1		Bevattningsdamm 2	
	Minimivärde	Maximivärde	Minimivärde	Maximivärde
Mikroorganismer vid 22 °C	680 (550)	53000 (36000)	640 (1200)	97000 (41000)
Totalantal koliforma bakterier	4 (4)	380 (5500)	26 (3)	760 (4000)
Termotoleranta koliforma (bakterier)	< 1 (*)	310 (*)	< 1 (*)	280 (*)
<i>E. coli</i>	< 1 (<1)	240 (180)	< 1 (3)	280 (4000)
Intestinala enterokocker	< 1 (<1)	54 (27)	< 1 (<1)	41 (41)

* mättet analyserades inte vid provtagningarna inom ramen för en annan studie utförd år 2008.

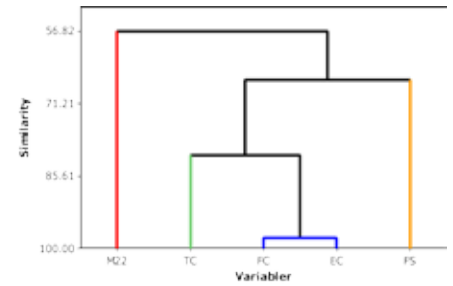
Tabell 3 Antal prover där de individuella halterna av *E. coli*, termotoleranta koliforma bakterier och intestinala enterokocker översteg gränsvärdena specificerade i DIN 19650 (DIN; *E. coli*: ≤200 CFU/100 ml; intestinala enterokocker: ≤100 CFU/100 ml; *Salmonella*: ej påvisbart) eller standarden tillämpad i British Columbia (BC; Kanada) (*E. coli*: ≤77 CFU/100 ml; termotoleranta koliforma bakterier: ≤100 CFU/100 ml; intestinala enterokocker: ≤20 CFU/100 ml). Proverna togs i två bevattningsdammar i två serier (maj/juni; juli/augusti) med fem provtagningstillfällen fördelade på en 30 dagarsperiod. Vid varje provtagningstillfälle togs fem oberoende vattenprover. (n=50).

Organism resp. grupp av organismer	Bevattningsdamm 1		Bevattningsdamm 2	
	DIN	BC	DIN	BC
<i>E. coli</i>	3	3	1	9
Termotoleranta koliforma bakterier	*	5	*	1
Intestinala enterokocker	0	8	0	5

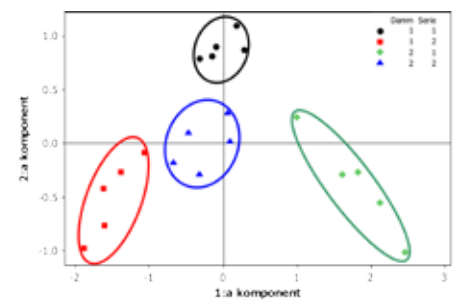
* bedöms inte enligt DIN 19650

lämpades som beräkningsgrund enligt BC-standard, grupperades prover tagna inom samma period och uppsamlingsdamm tydligare. Gruppbildningen var tydligare än om det aritmetiska medelvärdet lades som beräkningsgrund. Prover tagna under en period förutsatte dock inte hygienstatusen under ett senare tillfälle (figur 4). I föreliggande studie tilltog betydelsen av intestinala enterokocker i båda uppsamlingsdammarna allt eftersom säsongen framskred. Detta sam-

band bör dock granskas ytterligare då det föreslagna tillvägagångssättet valideras i en större provinsamling. Genom att stödja beräkningen på det geometriska medelvärdet över fem prover tagna under en 30-dagarsperiod kunde skillnaderna mellan provtagningstillfällen utjämnas, vilket var förväntat. Standardavvikelserna blir dock stora; även detta är förväntat. Beräkningssättet ledde i de föreliggande fallen till att inga av bevattningsdammarerna hamnade över gränsvärdena



Figur 3. Jämförelse (klusteranalys; $p < 0.05$) mellan olika grupper av indikatororganismer och indikatorer vid bedömning av bevattningsvatten. Vattenprover togs från två uppsamlingsdammar avsedda för bevattning av frilandsgroönsaker. Provtagningen genomfördes i två serier (maj/juni; juli/aug) med fem provtagningstillfällen under en 30-dagars-period och fem oberoende upprepningar.



Figur 4. Principalkomponentanalys av *E. coli* och intestinala enterokocker i två uppsamlingsdammar avsedda för bevattning av frilandsgroönsaker. Vattenprovtagning skedde i två serier (maj/juni; juli/augusti) med fem provtagningstillfällen under en 30-dagars-period och fem oberoende upprepningar. Principalkomponentanalysen är baserad på det geometriska medelvärdet över fem prover inom en provtagningsserie.

satta enligt BC-standard, trots att gränsvärdena överskridits vid enskilda provtagningstillfällen.

I proverna tagna inom ramen för denna studie konstaterades aldrig *Salmonella*. Detta står i stark motsats till en provtagningsserie som utfördes i samband med andra undersökningar både år 2008 samt under hösten 2009. Förekomsten av *Salmonella* var i dessa prover inte relaterad till förekomsten av indikatorer för fekala föroreningar. Utifrån den kunskapen rekommenderar vi att analys av *Salmonella* inkluderas i standard för hygienbedömning, i enlighet med den tyska operativa standarden, DIN 19650.

I Sverige finns i dagens läge ingen operativ standard som regler bevattningsvattnets kvalitet. Det finns dock standarder som reglerar dricksvatten (SLV FS 2001:30), vatten från enskild brunn (SOSFS 2003:17) eller strandbadvatten (NFS 2008:8). I detta vaku-

um har många förslag hörts kring gränsvärden. Dricksvattenkvalitet som standard för bevattning av frilandsgroänsaker och bär för direktkonsumtion har varit ett förslag. Detta antyder en nolltolerans kring utbrott relaterade till frukt och grönt, men det tar inte hänsyn till att detta förutsätter dricksvattenledningar ända fram till bevattningsrampen, vilket är omöjligt att realisera. Ett krav på dricksvattenkvalitet skulle också innebära att man sätter andra möjliga smittkällor utom all tvivel, vilket heller inte är realistiskt, då smitta kan överföras från många andra källor som inte kan styras, t.ex. flyttfåglar. Strandbadkvalitet är ett annat förslag, vilket betyder att man jämför risken att insjukna av frukt och grönt med risken att insjukna av en kallsup. Bedömning av strandbadvatten bygger också på halten *E. coli* och intestinala enterokocker. Jämfört med de utländska standarderna är dessa gränsvärden mycket högre och en "tjänlig" kallsup kan innehålla upp till 900 CFU *E. coli*/100 ml vätska. En nyligen avslutad studie visade att *E. coli* överlever i större omfattning på persilja då bevattningsvatten var rikt eller mycket rikt på smittämnet och att detta inte kan regleras genom längre bevattningsintervall (Alsanius et al. 2010). Ett annat viktigt faktum i denna diskussion är att intestinala enterokocker och *E. coli* också är reservoarer och plattformar för antibiotikaresistens.

Vid sidan av vattenkvalitetsbedömning kan spridning av tarmsmittor genom bevattningsvattnet förhindras genom hygienisering av bevattningsvattnet, t.ex. med

hjälp av fotokatalys (AOT), genom bevattningsteknik, t.ex. droppbevattning istället för överbevattning med ramp eller spridare, och genom en god hygienisk status i bevattningsrören samt genom intervall mellan bevattningstillfälle och skörd.

Slutsatser

Föreliggande studie ger en stomme för tillvägagångssätt för provtagning, analys och beräkning av hygienstatus i vatten, avsedd för bevattning av frilandsgroänsaker. Som bas för provtagning för bedömning av hygienstatus i bevattningsvatten till frilandsgroänsaker avsedda för direkt konsumtion eller konsumtion med minimal tillredning föreslår vi i nuläge att

- ta fem enskilda prover under en 30-dagars-period,
- analysera proverna med hänsyn till halten *E. coli* och intestinala enterokocker samt förekomst av *Salmonella* spp.,
- bilda det geometriska medelvärdet för proverna,
- utgå ifrån gränsvärden enligt standarden som tillämpas i British Columbia samt ingen förekomst av *Salmonella* spp.
- följ upp hygienstatus under minst en till 30-dagars-period under säsongen.

Föreliggande undersökning är baserad på två jämförbara ytvattenkällor (uppsamlingsdammar). Denna stomme bör valideras innan den tillämpas i stor skala. Förekomsten av fekala föroreningar på skördeprodukterna bör också omfattas av en sådan validering.

Referenser:

Alsanius BW, Burleigh S, Larsson C, Suvinen A, Gustafsson AK & Hultberg M. 2010. EHEC's öde på frilandsoodlade grönsaker. LTJ-faktablad 2010: XX (i tryck).

Alsanius BW, Gustafsson AK & Hultberg M. 2010. Survey of the hygienic status in surface water sources used for irrigation of field vegetables. Submitted manuscript.

Ashbolt NJ, Grabow WOK & Snozzi M. 2001. Indicators of microbial quality. In: Gewtell L & Bartram J. Water quality: guidelines and health. London: IWA Publishing, s. 289-315.

DIN 19650. 1999. Bewässerung. Hygienische Belange von Bewässerungswasser. Berlin: Beuth.

NFS 2008. Naturvårdsverkets föreskrifter och allmänna råd om badvatten. NFS 2008:8. ISSN 1403-8234.

SLV FS 2001. Livsmedelsverkets föreskrifter om dricksvatten. SLVFS 2001:30.

Socialstyrelsen 2005. Socialstyrelsens allmänna råd (SOSFS 2003:17) om försiktighetsmått för dricksvatten. SOSFS 2005:1720.

Warrington PD. 2001. Water Quality Criteria for Microbiological Indicators. (online). Tillgänglig: <http://www.env.gov.bc.ca/wat/wq/BCguidelines/microbiology/microbiology.html>.

Faktaruta

- Faktabladet är utarbetat inom LTJ-fakultetens område Hortikultur (www.microhort.se)
- Projektet är finansierat av Tillväxt Trädgård (<http://tillvaxtradgard.slu.se>); projekt 34.
- Projektansvarig/författare: Beatrix Alsanius; email: beatrix.alsanius@ltj.slu.se; Enhet för Hortikulturell Mikrobiologi, Box 103. 230 53 Alnarp
- Övrig publicering inom projektet: Alsanius BW, Kristensen L. (2010) Beurteilung der mikrobiologischen Qualität von Bewässerungswasser zu Freilandkulturen – ein Methodenvergleich. BHGL-Schriftenreihe 27: 71. ISSN 1613-088X.
- På webbadressen <http://epsilon.slu.se> kan detta faktablad hämtas elektroniskt

Tillväxt Trädgård

Är ett projekt som syftar till att ge förutsättningar för ökad konkurrenskraft och tillväxt inom trädgårdsnäringsen genom nytänkande och samarbete.

Projektet finansieras av Europeiska jordbruksfonden för landsbygdsutveckling: Europa investerar i landsbygdsområden, SLU, LTJ-fakulteten Alnarp, LRF/GRO, Hushållningssällskapen i Malmöhus, Halland och Kristianstad, Lovang Lantbrukskonsult AB, Mäster Grön samt Prysek.

