



INSTITUTET FÖR LIVSMEDEL OCH BIOTEKNIK

PX20099

Mikrobiologisk riskbedömning – grönsakskedjan

Sammanfattande slutrapport

Pernilla Arinder

November 2013

Projektinformation

Projekt påbörjat

Mars 2012

Granskad av

Elisabeth Borch

Projektledare

Pernilla Arinder, SIK

Projektgrupp

SIK

Pernilla Arinder
Maria Lövenklev
Richard Karlsson
Lisbeth Märs
Marie Blomqvist
Klara Båth

SLU

Beatrix Alsanus

Everfresh AB

Helena Eliasson
Anna Kieffer

Findus Sverige AB

Rickard Henriksson

GRO Skott och groddar

Cynthia Andersson

Grönsaksmästarna

Frida Stenarson

ICA Sweden AB

Jenny Nettersand
Anna Paganus
Anders Axelsson

Saba Fresh Cuts AB

Bengt Petersén

Sydgrönt

Isabell Bergstrand

Nyckelord

Riskbedömning, bladgrönsaker, mikrobiologiska faror, analyser, processhjälpmedel

INNEHÅLL

PROJEKTINFORMATION.....	2
INNEHÅLL.....	3
SAMMANFATTNING.....	4
INLEDNING.....	5
SYFTE.....	6
PROJEKTUPPLÄGG.....	6
RESULTAT.....	6
MIKROBIOLOGISKA FAROR I GRÖNSAKSKEDJAN UNDER PRIMÄRPRODUKTIONEN.....	6
MINIMERING AV KONTAMINERING I FÖRÄDLINGSLEDET.....	9
DEKONTAMINERING AV FRÖER MED VÄTEPEROXID.....	9
MIKROBIOLOGISKA ANALYSER AV GRÖNSAKER.....	10
KVALITETSSTANDARDER FÖR GRÖNSAKSKEDJAN.....	11
REFERENSER.....	12

Sammanfattning

En utvärdering har gjorts av centrala aktörer involverade i produktion av bladgrönsaker över hur produktsäkerheten kan förbättras i olika delar av kedjan. Utvärderingen har gjorts inom ett projekt delvis finansierat av Jordbruksverket. Det finns ett stort behov av att diskutera vidare med myndigheter och olika aktörer kring vilka åtgärder som kan användas för att effektivare minska risken för kontaminering av bladgrönsaker med sjukdomsframkallande bakterier.

Bladgrönsaker som förpackas och lagras i kyl fram till konsumtion har vid ett flertal tillfällen varit inblandade i sjukdomsutbrott och i återkallelser på grund av förekomst av sjukdomsframkallande bakterier. Ett problem är att det inte finns något bakteriedödande steg såsom värmebehandling vid tillverkning eller innan förtäring dessa produkter. Under primärproduktionen kan bladgrönsakerna kontamineras med sjukdomsframkallande bakterier via vatten, jord och gödsel, djur, kontakt med utrustning och människor. Det finns regler och riktlinjer i Global G.A.P och IP Sigill för hur produktion skall utföras för att minimera kontaminering. Många av spridningsvägarna är dock svåra att helt undvika och erfarenheten visar att sjukdomsframkallande bakterier med jämna mellanrum finns på produkterna. Provtagning av produkter görs, men enbart stickprov är relevant och dessa tittar bara i backspeglarna och kan inte användas för att i förbyggande syfte styra säkerheten. När produkterna är skördade transporteras de till företag som ansvarar för vidare förädling som tvätt, uppskärning och förpackning innan fortsatt transport för lagring i grossist- och butiksled och därefter hos kund. Bakterier som finns på produkten kan tillväxa om temperaturen är tillräckligt hög för att tillåta detta. *Salmonella* kan tillväxa över 5 °C, *E. coli* över 4 °C, *L. monocytogenes* över 0 °C, *Shigella* över 10 °C, *S. aureus* över 7 °C (www.slv.se). Att kylkedjan styrs är därför viktigt för att minska risken att antalet bakterier ökar. Hur mycket temperaturen avviker från förväntad kyltemperatur under kylkedjan för grönsaker före och efter förädling vet vi inte, men generellt visar studier att kylförvarad mat ofta lagras för varmt (SLV Riksprojekt 2003, Temperaturer i Storhushåll och butik, http://www.slv.se/upload/dokument/rapporter/matforgiftning_mathantering/RpTempRapport.pdf).

I samband med hantering av bladgrönsaker i förädlingsledet finns det risk för att bakterier sprids. Bakterier på blad kan kontaminera backar, transportband, knivar och sköljvatten. I värsta fall kan mikroorganismer på enskilda kontaminerade blad spridas till en hel batch och om inte kylkedjan senare hämmar tillväxten så kan sjukdomsframkallande bakterier i produkten orsaka sjukdom vid förtäring. För vissa bakterier som EHEC som kan orsaka sjukdom i så låga halter som 100 bakterier behöver ingen tillväxt för att orsaka sjukdom. Det är därför mycket viktigt att hanteringen av grönsakerna sker på ett sådant sätt att kontamination från enskilda produkter inte sprids vidare till fler produkter och därmed kan orsaka att fler personer blir sjuka. Effektiva rengöringsprogram och hygien är viktiga parametrar att arbeta med. En viss reduktion av antalet bakterier kan fås vid tvättning och dekontaminering, men effekten är marginell. Det är dock viktigt att tvätten av bladgrönsaker görs på ett sådant sätt att korskontaminering minimeras. Tvätt sker idag oftast i bad där man tillsätter vatten av dricksvattenkvalitet för att skölja bort löst sittande smuts såsom jord, sten och även rester av bakterier. Vattnet i tvättbaden blir snabbt smutsigt och innehåller många bakterier. Det finns ett behov av att diskutera vidare vilka möjligheterna det finns i förädlingsledet minska risken för kontaminering av en hel batch från enstaka råvaror som är kontaminerade. Även om smittspridningsvägar i primärproduktionen styrs och kylkedjan styrs för att minska risken för tillväxt så behövs kompletterande åtgärder i

förädlingsledet för att minska risken att sprida vidare mikroorganismer om en kontamination som trots allt skett.

Det är många aktörer inblandade i grönsakskedjan och det är viktigt att kunskap om hur mikroorganismer sprids och att olika åtgärder diskuteras för att minska förekomst och spridning av sjukdomsframkallande bakterier.

Studien -*Mikrobiologisk riskbedömning i grönsakskedjan* Dnr 19-666/12 har delvis finansierats av Jordbruksverket. Denna rapport sammanfattar resultaten från projektet. De olika delarna presenteras djupare i olika delrapporter.

1. Mikrobiologiska faror i grönsakskedjan under primärproduktionen
2. Lathund för odlare och odlar organisationer
3. Lathund för grossist och handel
4. Minimering av kontaminering i förädlingsledet
5. Dekontaminering av fröer med väteperoxid
6. Mikrobiologiska analyser av grönsaker
7. Kvalitetsstandarder för odling och förädling av bladgrönsaker

Delrapport 1 kan beställas från SLU och delrapport 2-7 kan beställas från SIK.

Dessutom har ett examensarbete -*Application of fault tree analysis and Bayesian causal modeling for VTEC risk mapping in the production of fresh cut leafy vegetables* skrivits av Karen Burgos i samband med projektet.

Inledning

Grönsaker har orsakat många och stora sjukdomsutbrott orsakade av mikroorganismer. Det finns många olika typer av sjukdomsframkallande mikroorganismer som kan smitta människor via grönsaker. Mikroorganismer sprids till grönsaker från jord och vatten under odlingen, genom djur, fåglar och insekter samt via människor under exempelvis skörden. Det är ofta många aktörer inblandade i produktion av grönsaker längs kedjan från utsäde, odling, skörd, grossist, butik och konsument. Arbetet med att producera säkra grönsaker sker således i många led och det är många aktörer som är beroende av varandra.

För att arbeta med förebyggande åtgärder som minimerar risken för utbrott av sjukdomsframkallande mikroorganismer kopplat till grönsaker har grönsaksbranschen ett behov av ökad kunskap. Kunskap om och hantering av hälsofarliga mikroorganismer - vilka är de, när det kan uppstå problem och hur kan problem förebyggas - är central för att skapa en stark konkurrenskraft baserat på ett förtroende hos konsumenten. Det finns många välkända mikroorganismer som *Salmonella* och *VTEC* (verotoxinproducerande *Escherichia coli*) som måste hanteras.

I detta projekt har vi arbetat med att ta fram material för att sprida kunskap om mikrobiologiska faror och hur de kan påverkas i livsmedelkedjan. Materialet är sammanställningar från litteratur, men även ny data har tagits fram i laborativa studier. Informationen har diskuterats och bearbetats i projektgruppen bestående av personer från SIK, SLU och representanter från odling till grossist.

Syfte

Syftet med projektet har varit att ge aktörer i grönsaksbranschen fördjupad kunskap om hälsofarliga mikroorganismer och hur dessa kan hanteras längs produktionskedjan från odling till färdig produkt. Den ökade kunskapen ska ge ökad möjlighet att med förebyggande aktiviteter öka produktsäkerheten hos grönsaker och minska risken för sjukdomsutbrott.

Projektupplägg

Projektet har varit uppdelat i följande moment: primärproduktion, förädling, analyser och kvalitetsstandarder.

Information om mikrobiologiska faror i primärproduktionen har sammanställts i form av en litteraturstudie och presenterats och diskuterats i projektgruppen. Utifrån materialet har en lathund för odlare och odlar organisationer samt en för grossist och handel tagits fram. Syftet är att användaren av lathundarna enkelt skall få en bild av kritiska påverkanspunkter som behöver utvärderas och styras för att öka produktsäkerheten.

Även för förädlingsledet har en litteraturstudie gjorts och möjliga metoder för att minska kontamineringen i förädlingsledet har diskuterats inom gruppen. Under diskussionerna har det varit en kommunikation med Livsmedelsverket för att stämma av vilka metoder som är tillåtna att använda i dagsläget. Vid en workshop deltog Ana Allende från CEBAS-CSIC i Spanien för att informera om sin forskning och om forskningsresultat från EU-projekt kring minskning av korskontaminering i förädlingsledet. Användning av elektrolyserat vatten och ultraljud för avdödning av mikroorganismer på bladgrönsaker har utvärderats i laboratorieförsök liksom användning av väteperoxid för avdödning av bakterier på fröer.

De analyser på grönsaker som rekommenderas har sammanställts i rapportform. Dessutom har den dominerande floran på fem olika bladgrönsaker vid bäst-före dag undersökts med hjälp av sekvensering.

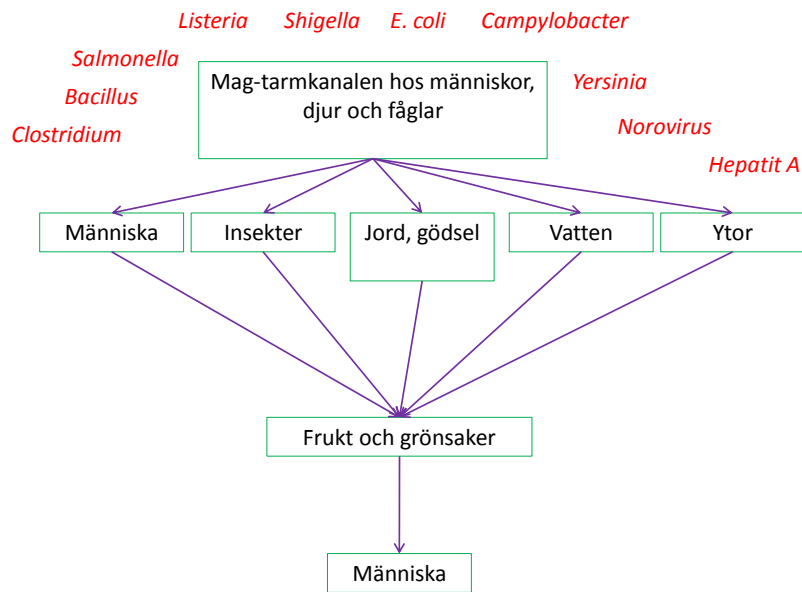
En genomgång av kvalitetsstandarderna Global G.A.P., IP Sigill, BRC och FSSC 22000 har gjorts och hur dessa hanterar de påverkanspunkter som är viktiga för att producera säkra grönsaker, typ färdigskuren sallad har beskrivits i en rapport.

Resultat

Nedan följer en sammanfattning av resultaten från projekten. Mer information finns i delrapporter.

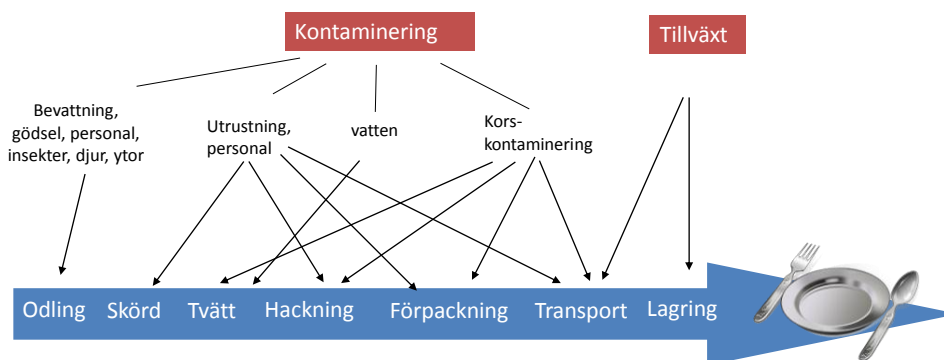
Mikrobiologiska faror i grönsakskedjan under primärproduktionen

Sjukdomsframkallande mikroorganismer kan kontaminera grönsaker på flera olika sätt. Mikroorganismerna finns i mag – tarmkanalen hos djur och människor och kan därifrån spridas till grönsaker via människor, insekter, jord och gödsel, vatten och ytor (figur 1). Mikroorganismerna finns även spridda mer eller mindre allmänt i miljön och kan kontaminera grönsakerna inte enbart i primärproduktionen utan även senare under hantering, förädling, och transport innan de konsumeras.



Figur 1. Illustration av spridningsvägar för sjukdomsframkallande bakterier och virus till människa via frukt och grönsaker.

För grönsaker som är färdiga att äta såsom färdigskurna sallader finns inget reducerande steg där mikroorganismer avdödas eller med säkerhet tas bort från produkten. Kontamineringen kan ske dels i primärproduktionen men även via kontaminering i samband med skörd, tvätt, hackning, förpackning och transport (figur 2). Kontamineringen kan då ske från personal, utrustning och vatten. Det kan även ske en korskontaminering mellan olika grönsaker under hanteringen. Beroende på tid- och temperatur förhållanden under transport och lagring kan mikroorganismer tillväxa.



Figur 2. Kontaminering och tillväxt av sjukdomsframkallande bakterier under odling, förädling, transport och lagring av grönsaker som är färdig att äta.

Om mikroorganismerna behöver tillväxa eller ej för att kunna orsaka sjukdom beror på den specifika organismen. Verotoxinproducerande *E. coli* som t.ex. *E. coli* O157 kan orsaka sjukdom vid låga halter som 100 organismer medan andra mikroorganismer behöver tillväxa till högre halter för att orsaka sjukdom. Virus kan inte föröka sig på grönsakerna men det krävs endast låga halter av virus för att orsaka sjukdom.

Även vid låga temperaturer såsom i kylskåp kan tillväxt ske av några bakterier. *L. monocytogenes* och *Y. enterocolitica* kan tillväxa vid 0°C. *E. coli* kan tillväxa vid 4°C och *Salmonella* kan tillväxa vid 5°C. Det finns en variation mellan olika stammar i hur bra de växer vid dessa låga temperaturer. *S. aureus* och *Shigella* kräver något högre temperaturer för att tillväxa, 7 °C respektive 10°C (www.slv.se). Ju högre temperaturen är under lagringen desto snabbare sker den mikrobiologiska tillväxten och risken för att bakterierna når sjukdomsframkallande halter ökar.

De mikroorganismer som främst kopplas till grönsaker är *Salmonella*, verotoxinproducerande *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Shigella*, *Listeria monocytogenes*, norovirus, hepatit A virus och vattenburna parasiter som *Cryptosporidium*, *Cyclospora* och *Giardia*. Även *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium botulinum* och *Bacillus cereus* kan vara aktuella.

I riksprojektet 2002 undersökte Livsmedelsverket förekomst av *Salmonella* i frukt och grönsaker. *Salmonella* påträffades i 10 av 2392 prov. Av dessa prov var ett från Tyskland, ett från Egypten och resten från Thailand. Resultaten från projektet sammanfattas med att svenskproducerande vegetabilier inte utgör problem avseende *Salmonella*. 2009 undersökte Livsmedelsverket och Sveriges kommuner *Salmonella*, *Campylobacter* och *E. coli* i färska kryddor och bladgrönsaker från Asien (Karnehed & Lindblad 2010). Man fann *Salmonella* i 18 av 489 analyserade prover, *Campylobacter* i 1 av 478 analyserade prover och *E. coli* i 148 av 493 analyserade prover. *E. coli* behöver inte orsaka sjukdom men indikerar att någon form av kontaminering skett vilket medför en ökad sannolikhet för att sjukdomsframkallande bakterier också kan förekomma. Troligen varierar kontaminationsnivåerna på grönsaker mellan olika delar av värden beroende på miljö och odlingsbetingelser.

Lathund för odlare och odlar organisationer

Syftet med denna lathund är att underlätta för odlare att identifiera var och hur det går att påverka kontaminering av grönsaker, främst bladgrönsaker med sjukdomsframkallande bakterier så att sannolikheten att produkterna orsakar sjukdom minskas.

Checklista finns för påverkanspunkterna vatten, mark & jord, gödning, personal, utrustning och transport. För påverkanspunkterna beskrivs faror, förebyggande åtgärder och verifiering.

Lathund för grossist och handel

Denna lathund syftar till att få en indikation på risknivån för produkten baserat på hur den odlats och hanterats. Punkterna som tas upp i listan har betydelse för smittspridning men det finns ingen tydlig regel som säger att ett system är förkastligt. Hur stor smittrisen är beror på många samverkande faktorer. Beroende på risknivå bör vidare diskussion föras med experter på matsäkerhet. Detta för att minska risken att produkter som kan orsaka sjukdom förs ut till konsumenten.

Minimering av kontaminering i förädlingsledet

Det finns idag ett fortsatt behov att arbeta med dekontaminering av grönsaker, framförallt i syfte att minska risken av korskontaminering mellan bladgrönsaker i förädlingsledet och på så sätt minimera antalet förpackningar av bladsallad som kan vara kontaminerade. Idag finns inget bakteriedödande steg för dessa produkter under produktion vilket gör att om oönskade bakterier finns på grönsakerna så kan dessa tillväxa under lagringen, orsaka sjukdomsutbrott hos konsument och medföra stora återkallelser för producenterna. Detta innebär stor belastning för vårt samhälle och vår globala miljö.

Många tekniker för dekontaminering finns i dag tillgängliga, men det finns inte någon universell teknik som direkt kan tillämpas i förädlingsledet. Många publicerade studier som genomförts i labbskala visar på att många tekniker endast kan uppnå 1-3 logenheters reduktion av bakterier vilket inte är tillräckligt. En annan problematik är att skala upp dekontamineringstekniker utförda i labbskala till verklig process. Få studier finns genomförda inom detta område.

Flertalet tekniker för dekontaminering som tagits upp i projektet bygger också på att något desinficerande ämne satts till i tvättvattnet för att rena vattnet och verka avdödande på bakterier. Dessa tillsatser kan ses mer som processhjälpmedel än tillsatser till produkten. Frågeställningen kring vad som är tillåtet och hur effekten skall utvärderas för processhjälpmedel som minimerar korskontamination inom och mellan batcher måste lyftas fram på agendan i Sverige och diskuteras vidare mellan olika intressenter i grönsakskedjan, livsmedelsproducenter, myndigheter och forskningsutförare.

Dekontaminering av fröer med väteperoxid

I samband med odling, lagring och förädling av grönsaker har bakterier möjlighet att kontaminera, överleva och tillväxa i och på produkten. Flera olika typer av bakterier har orsakat sjukdom som kopplats till konsumtion av groddar. *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus cereus*, verotoxinproducerande *Escherichia coli* (CCFRA 2004).

Kontaminerade fröer kan vara en smittkälla för grönsaker. Den tidiga smittan via frö är särskilt viktig för groddar där tillväxt kan ske under produktion och hela batcher kan kontamineras. Kontaminerade fröer i annan odling kan dels orsaka att växten från det enskilda fröet kontamineras, men kontamineringen kan även spridas via vatten i odlingen. Efter skörd kan bakterierna spridas vidare via korskontamination.

Väteperoxid är en metod som används för dekontaminering av fröer. Väteperoxid har en oxiderande effekt och det är detta som ligger till grund för väteperoxids antimikrobiella effekt. I denna studie har olika koncentrationer och behandlingstider som anses relevanta för behandling av frö utifrån att grobarheten inte skall påverkas för mycket undersökts avseende avdödande effekt av *E. coli* och *Salmonella* på solrosfrö, vitlöksfrö och rödbetsfrö.

Behandling med väteperoxid i de undersökta halterna, 0,2-5,0 % och behandlingstiderna, 5-60 minuter kan leda till minskning av halten *E. coli* och *Salmonella* på frö. Hur stor reduktionen som erhålls beror på frösört. Resultaten visade större reduktion på rödbetsfrö än på solrosfrö och vitlöksfrö. På solrosfrö var minskningen är maximalt 2 logenheter och på vitlöksfrö maximalt 1 logenhet beroende

på koncentration och behandlingstid. Reduktionen var däremot ca 4 logenheter på rödbetsfrö. Vid behandling med 5 % väteperoxid i 60 minuter

Hur stor reduktion som är tillräcklig beror på hur höga halter som kan finnas på fröerna före tvätt och behandlingen. Det är viktigt att fröerna tillverkas under mycket goda förhållanden för att den reduktion som fås av behandlingarna skall räcka.

Om 100g frö används till en odlingsbädd så bör halten efter reduktion vara mindre än en sjukdomsframkallande bakterie per 100g. Det innebär att om reduktionen under behandling av frö är 1 logenhet så bör enbart 1 sjukdomsframkallande bakterier finnas per 10 g frö från början före behandlingen.

Det är viktigt att utvärdering av behandling görs på frön som ympats med aktuella bakterier och inte enbart i suspensionstester. Bakterierna reducerades betydligt mindre på frö än i suspension.

Mikrobiologiska analyser av grönsaker

Grönsaker som är färdiga att äta kan kontamineras med många olika mikroorganismer beroende på kontamination i primärproduktion och vidare förädling. Vissa av dessa mikroorganismer kan dessutom tillväxa under kylagring. Totalantalet bakterier är ofta högt men det kan nödvändigtvis inte kopplas till ett kvalitetsproblem.

Undersökningen av den dominerande bakteriefloran på fem bladgrönsaker visade att bakteriefloran var mycket skiftande. Det är rimligt att vissa av de identifierade bakterierna skulle kunna orsaka förskämning. I slutet av lagringen dominerar *Pseudomonas* bland de identifierade isolaten även om *Pseudomonas* inte dominerade i början av lagringen. Mjölksyrabakterier identifierades inte i den dominerande floran. Det finns flera forskare som anser att om mjölksyrabakterier och jäst hittas i höga halter har de kontaminerat via process och utrustning (Barth et al 2009). Resultaten från denna studie indikerar inte denna typ av kontamination från processen. De bakterier som identifierats överensstämmer med vad som finns publicerat från andra studier där den mikrobiologiska floran identifierats på ätfärdiga grönsaksprodukter (Barth et al 2009). *Pseudomonas* bedöms vara en vanlig produktförstörande mikroorganism för denna typ av produkt och kan växa vid låga temperaturer (4°C).

De sjukdomsframkallande bakterierna förekommer sporadiskt och kan vara mycket svåra att fånga i stickprovskontroll. Den mikrobiologiska stickprovskontrollen är på inget sätt styrande utan enbart en verifiering av att kvalitetssystemen med förebyggande åtgärder fungerar. Olika analysplaner bör sättas upp för olika frågeställningar såsom, verifiering av kvalitetssystem, utvärdering av processförändring, utvärdering av hållbarhet och problemlösning och verifiering i samband med avvikelser och utbrott. De mikrobiologiska kriterierna enligt Kommissionens förordning (EG) nr 2073/2005 avser *Salmonella*, *L. monocytogenes* och *E. coli* för frukt och grönsaker färdig att äta inklusive groddar.

Kvalitetsstandarder för grönsakskedjan

Standarder som IP Sigill frukt & grönt och **GLOBALG.A.P.** Integrerad Kvalitetssäkring av Lantbruk Gårdsbas | Växtodlingsbas | Frukt och Grönsaker är bra alternativ om man vill producera säkra livsmedel genom odling. Vid export av produkter, krävs det dock, att man är certifierad enligt **GLOBALG.A.P.** standarden.

IP Sigill frukt & grönt, **GLOBALG.A.P.** Integrerad Kvalitetssäkring av Lantbruk Gårdsbas | Växtodlingsbas | Frukt och Grönsaker, BRC Globala Standarden för Livsmedelssäkerhet och FSSC 22000 (Food Safety System Certification 22000) är alla bra alternativ för att styra lagring, transport och förädling av odlade livsmedel. Det man ska komma ihåg, är dock att BRC – standarderna är ägda av det engelska Retail Consortium och är väldigt strikt på många av kravpunkterna och kan vara tungrodd ibland. De övriga standarderna är i många fall ett bättre alternativ för att säkra transporter, lagring och förädling. Av dessa är **GLOBALG.A.P.** och FSSC 22000 internationellt gångbara.

Referenser

Referenslistor hittas i respektive delrapport.



Huvudkontor/Head Office:

SIK, Box 5401, SE-402 29 Göteborg, Sweden.

Telephone: +46 (0)10 516 66 00, fax: +46 (0)31 83 37 82.

Regionkontor/Regional Offices:

SIK, Ideon, SE-223 70 Lund, Sweden.

Telephone: +46 (0)10 516 66 00.

SIK, Forslunda 1, SE-905 91 Umeå, Sweden.

Telephone: +46 (0)10 516 66 00.

SIK, c/o Almi, Box 1224, SE-581 12 Linköping, Sweden.

Telephone: +46 (0)10 516 66 00.

www.sik.se