

Carmela Hellsten ja Mari Nevas

Histamiinin esiintyminen tuoreessa silakassa

Occurence of histamine in fresh Baltic herring

YHTEENVETO

Histamiini on biogeeninen amiini, jota voi muodostua elintarvikkeissa histidiinistä bakteerien sisältämän dekarboksylaasin vaikutuksesta. Joissakin kalalajeissa voi muodostua suuria histamiinipitoisuuksia, jotka voivat aiheuttaa myrkytysoireita. Silakka kuuluu Clupeidae-heimoön, joka on yhdistetty histamiinimyrkytyksiin. Tutkimme histamiinin esiintymistä 50 silakkanäytteessä, jotka kerättiin vähittäismyyntikaupoista ja toreilta. Yli puolessa tutkituista näytteistä (29 kpl) ei todettu histamiinia, ja muissa sitä esiintyi vain pieninä pitoisuuksina. Silakkafilieissä todettiin tilastollisesti merkitsevästi suurempia histamiinipitoisuuksia kuin perkaamattomassa kalassa. Näytteiden lämpötiloilla ei ollut merkitystä histamiinin esiintymiseen.

SUMMARY

Histamine is a biogenic amine that may be produced in food from histidine by bacterial histidine decarboxylase. Large concentrations of histamine may be produced in some fish species, and this can cause poisonings. Baltic herring belongs to the Clupeidae family, which has been connected to histamine toxicity. We studied 50 samples of Baltic herring collected from retail shops and markets and analysed them for histamine. In over half of the samples (29) no histamine was detected and in the rest the concentrations of histamine was low. The fillets contained larger concentrations of histamine than samples of ungutted Baltic herring. The difference was statistically significant. Storage temperature of the samples did not have influence on the occurrence of histamine.

JOHDANTO

Histamiinia esiintyy ihmisen elimistössä, erityisesti ihossa, ruoansulatuskanavan seinämissä ja keuhkoissa. Suurin osa siitä on varastoituneena syöttösoluissa ja basofiileissä. Se on biogeeninen amiini, joka toimii välittäjäaineena. Histamiinin vapautuessa suurissa pitoisuuksissa se aiheuttaa allergisen reaktion.¹

Histidiinista voi bakteerien sisältämän histidiinidekarboksylaasin vaikutuksesta muodostua elintarvikkeissa histamiinia, joka voi aiheuttaa myrkytysoireita.² Histamiinimyrkytyksen oireet vaihtelevat. Oireena voi olla suun puutuminen, kasvojen ja kaulan alueen punoitus, kirvely ja kuumoitus, päänsärky ja jano. Muina oireina saattaa esiintyä vatsakipuja, pahoinvointia, oksentelua ja ripulia. Harvinaisissa, vakavissa tapauksissa oireena voi olla hen-

genahdistus ja sokki. Oireet alkavat yleensä muutaman minuutin tai korkeintaan muutaman tunnin kuluttua histamiinia sisältävän ruoan syömisestä, ja ne kestävät yleensä tunnista muutamaan tuntiin, korkeintaan vuorokauden.²

Scombridae- (makrillit) ja *Scomberesocidae*-heimoön (makrillihauet) kuuluvien kalalajien, kuten tonnikala (*Thunnus* spp.) ja makrilli (*Scomber* spp.) on raportoitu aiheuttaneen histamiinimyrkytyksiä. Myrkytystä on tästä syystä myös kutsuttu scombroidimyrkytykseksi.³⁻⁵ Myös muut kalalajit, kuten sardiini (*Sardina pilchardus*), kultamakrilli (*Coryphaena hippurus*), sinikala (*Pomatomus* spp.), marliini (*Makaira* spp.), silli (*Clupeidae* spp.) ja sardelli (*Engraulis* spp.) on yhdistetty histamiinimyrkytyksiin.³⁻⁵ Näissä lajeissa lihan histidiinipitoisuus on suuri mutta vaihteleva.⁶ Sillissä on todettu va-

YDINKOHDAT:

- Silakka kuuluu kalaheimoön, jonka tiedetään aiheuttaneen histamiinimyrkytyksiä.
- Suomalaisen silakan histamiinipitoisuuksia ei ole aiemmin tutkittu.
- Tutkittujen silakkanäytteiden histamiinipitoisuus oli selvästi alle EU:n raja-arvon.

paata histidiiniä 1 g/kg, kun pitoisuus tonnikalassa on 15 g/kg.⁷ Histamiinin muodostukseen osallistuvat pääasiassa *Enterobacteriaceae*-heimoön kuuluvat bakteerit.^{4,8,9} Näistä tärkeimmät ovat *Morganella morganii*, *Proteus* spp., *Hafnia alvei* ja *Klebsiella* spp.⁵ Tuoreessa kalassa ei muodostunutta histamiinia juuri ole.⁹

Optimilämpötila histamiinin muodostukselle on 20–30 °C.¹⁰ Histamiinin muodostumista pysty-

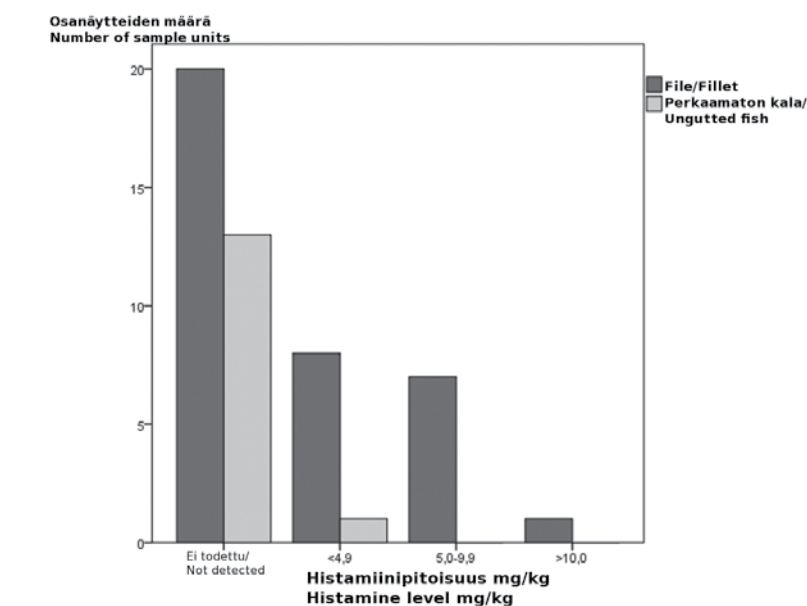
täänkin parhaiten estämään kalan nopealla jäädyttämisellä pyynnin jälkeen sekä oikean lämpöisellä säilytyksellä. Pitkä säilytysaika ja korkea säilytyslämpötila lisäävät histamiinin muodostumisriskiä.^{5,9,11} On kuitenkin raportoitu, että esimerkiksi *Photobacterium phosphoreum* -bakteeri kykenee muodostamaan histamiinia niinkin alhaisessa lämpötilassa kuin 0–5 °C.^{12–14} Hyvä käsittelyhygienia vähentää histamiinin muodostumista.⁵

Kalassa voi olla suuria histamiinipitoisuuksia ilman pilaantumisen merkkejä.^{4,15} Histamiini saattaa olla kalassa epätasaisesti jakautuneena ja pitoisuudet eri osissa voivat vaihdella.^{7,16} Histamiini on lämpöstabiili, joten kuumennus tai pakastaminen eivät tuhoa sitä.^{2,4,5,8}

Histamiinimyrkytyksissä ei ole suoraa annosvastetta.^{2,4,5} On viitteitä siitä, että eräät toiset kaloissa esiintyvät biogeeniset amiinit, kuten putreskiini ja kadaveriini, voivat lisätä histamiinin toksista vaikutusta.^{6,7} Tutkimuksissa on osoitettu, että makrillin kadaveriinipitoisuus on monta kertaa suurempi kuin sillin, mikä voi olla osasy sille, että makrilli on silliä useammin yhdistetty histamiinimyrkytyksiin.¹⁷ Myrkytyksiin saattaa liittyä myös muita tekijöitä, kuten histamiinin metabolismia hidastavat aineet ja endogeenisen histamiinin vapautuminen.^{2,4,5}

Myrkytystapauksissa kalan histamiinipitoisuudet ovat tyypillisesti olleet noin 500–2000 mg/kg,^{4,18,19} mutta myrkytyksiä on raportoitu myös niinkin pienistä pitoisuuksista kuin alle 100 mg/kg.⁴

Yhdysvalloissa ja Isossa-Britanniassa noin puolet kaikista kalaan liittyvistä ruokamyrkytyksistä on histamiinin aiheuttamia.^{2,20,21} Suomessa ja Ruotsissa raportoidaan muutamia histamiinimyrkytyksiä vuodessa. Tonnikala on yleisin myrkytyksen aiheuttaja.^{22,23} Histamiinimyrkytysten määrä saattaa olla raportoitua korkeampi, sillä oireet eivät yleensä ole vakavia.^{2,3,24} Osa myrkytyksistä raportoidaan mahdollisesti myös virheelli-



KUVA 1 FIGURE

Fileiden ja perkaamattoman kalan osanäytteiden histamiinipitoisuus. Menetelmän toteamisraja on 0,5 mg/kg.

The histamine concentration in filets and ungutted fish. The detection level of the method is 0,5 mg/kg.

sesti allergisina reaktioina.³

Euroopan unionin lainsäädännön mukaan erityisesti heimoihin *Scombridae*, *Clupeidae*, *Engraulidae*, *Coryphenidae*, *Pomatomidae* ja *Scomberesocidae* kuuluvat kalalajit on tutkittava histamiinin varalta.²⁵ Elintarvikkeiden mikrobiologisista vaatimuksista annetun asetuksen N:o 2073/2005 (EY) soveltamisesta annetun Eviran ohjeen 15002/1 mukaan histamiinille on asetettu kolmeluokkaiset raja-arvot (taulukko 1).²⁶

Itämeren pohjoisosassa elävä silakka (*Clupea harengus membras*) kuuluu *Clupeidae*-heimoon. Silakkaa ei kuitenkaan Suomessa ole tutkittu histamiinin varalta tavanomaisessa omavalvonnassa tai viranomaisvalvonnassa.

Suomessa käytetään vuodessa yhteensä noin 29 600 t silakkaa elintarvikkeiden raaka-aineena. Tästä suurin osa menee kokonaisena pakastettuna vientiin. Jalostettuihin tuotteisiin käytetään vuodessa noin 1 100 t silakkaa, mikä tekee silakasta kilomääräl-

tään kirjolohen jälkeen toiseksi merkittävimmän jalostettuihin tuotteisiin käytettävän kalalajin.²⁷

Tietääksemme silakan histamiinipitoisuuksista ei ole aiemmin raportoitua tutkimustietoa.

AINEISTO JA MENETELMÄT

Näytteenotto

Keräsimme pääkaupunkiseudun vähittäismyyntikaupoista ja toreilta yhteensä 50 näytettä kokonaista tai fileoitua silakkaa. Kunkin näytteen koko oli noin 500 g. Näytteenoton yhteydessä mitattiin silakan pintalämpötila ja kylmäaltaan lämpötila laserlämpömittarilla. Lisäksi kirjattiin myyntipaikan lämpömittarin näyttämä kylmäaltaan lämpötila. Silakka kuljetettiin laboratorioon kylmälaukuissa. Laboratoriossa näytteet säilytettiin pakastimessa -18 °C:n lämpötilassa analysointipäivään asti. Keskimääräinen säilytysaika oli 92 vuorokautta.

Näytteiden käsittely

Jokainen näyte jaettiin kolmeen

osaan, jotka homogenoitiin erikseen. Homogenoidusta näytteestä otettiin 5 g painava osanäyte, johon lisättiin 10 ml 0,4 M perkloorihappoliuosta. Tähän lisättiin 250 µl 1,7-diaminoheptaania, joka toimi sisäisenä standardina. Näyte homogenoitiin, sentrifugoitiin 10 minuuttia 1520 g ja suodatettiin mittapulloon. Uuttaminen toistettiin vielä kerran lisäämällä 10 ml perkloorihappoliuosta, sentrifugoimalla ja suodattamalla näyte samaan mittapulloon. Mittapullo täytettiin 25 ml:aan lisäämällä 0,4 M perkloorihappoliuosta. Näyteutoksesta otettiin 0,5 ml, mihin lisättiin 100 µl 2,0 M natriumhydroksiliuosta, 150 µl kylläistä natriumbikarbonaattiliuosta ja 1,0 ml dansyylikloridireagenssia. Dansyylikloridireagenssi valmistettiin liottamalla 200 mg dansyylikloridia 20 ml:aan asetonia. Sekoitettu näyte inkuboitiin 40 °C:ssa 45 minuuttia. Inkuboinnin jälkeen näytteen annettiin jäähtyä 10 minuuttia, minkä jälkeen siihen lisättiin vielä 50 µl väkevää ammoniakiliuosta. Sekoitettua näytteen annettiin seistä 30 minuuttia huoneenlämmössä ja siihen lisättiin 3,2 ml 0,1 M vahvaa liuosta, jossa oli ammoniumasetattia ja asetonitriliä 1:1.

Histamiinin analyysi

Suodatettu näyte analysoitiin nestekromatografisesti UV-detektorilla käyttäen käänteisfaasikolonnia. Menetelmän toteamisraja oli 0,5 mg/kg ja tuloksen määrittämisraja 1 mg/kg. Jos näytteen histamiinipitoisuus oli 0,5 – < 1,0 mg/kg, analyysitulokseksi ilmoitettiin < 1 mg/kg. Menetelmän mittauserävarmuus oli ± 12 % tuloksesta.

Tulokset analysoitiin PASW-tilasto-ohjelmalla.

TULOKSET JA POHDINTA

Kaikkien näytteiden histamiinipitoisuus alitti Euroopan unionin komission asettaman raja-arvon. Histamiinia ei todettu 29 näytteen yhdessäkään osanäytteessä.

Osanäytteet, joissa todettiin

TAULUKKO 1 TABLE

Histamiininäytteiden arvostelu. Osanäytteiden määrän tulee olla 9.

The assessment of histamine samples. The number of sample units should be 9.

Osanäytteiden tulokset Results of the sample units			Arvostelu Assessment
< 100 mg/kg	100–200 mg/kg	> 200 mg/kg	
9	0	0	Hyväksyttävä Acceptable
	1–2	0	Varauksin hyväksyttävä Acceptable with reservation
	≥ 3	0	Ei hyväksyttävä Not acceptable
		≥ 1	Ei hyväksyttävä Not acceptable

korkeimmat pitoisuudet (14,7–22,8 mg/kg), olivat kaikki samasta näytteestä.

Fileissä oli enemmän histamiinia kuin perkaamattomassa kalassa (kuva 1). Ero oli tilastollisesti merkitsevä (Mann-Whitneyn U-testi, $p < 0,01$).

Kalan säilytysajalla ennen pakastamista ei ollut vaikutusta histamiinipitoisuuteen. Pisin säilytysaika pyynnistä kalanäytteen pakastamiseen oli 5 vuorokautta (keskiarvo 1,9 vuorokautta). Pisin toimijan kalalle antama säilyvyysaika oli 7 vuorokautta.

Kalan lämpötila myyntipaikassa ei vaikuttanut tilastollisesti merkitsevästi histamiinipitoisuuteen (Spearmanin korrelaatio, $p = 0,178$). Näytteiden lämpötila vaihteli välillä -0,5 °C ja +10,5 °C (keskiarvo + 2,9 °C).

Myyntipaikassa säilytyslämpö näytteenottajan mittarilla mitattuna vaihteli -1,0 °C:sta +11,5 °C:een (keskiarvo +2,8 °C). Lainsäädännön mukaan tuoreita kalastustuotteita tulee säilyttää enintään +3 °C:n lämpötilassa. Näytteistä 28 % (14/50) säilytettiin maksimilämpötilaa lämpimämmässä. Myymälän mittari näytti keskimäärin kylmempää lämpötilaa kuin näytteenottajan mittari. Ero oli tilastollisesti merkittävä (parittainen t-testi, $t = 2,42$, $df = 32$, $p = 0,021$). Suurin ero oli 5,5 °C. Kylmätiskissä

ei ollut lämpömittaria 34 %:ssa (17/50) myyntipaikoista. Luotettavan kylmäsäilytysseurannan varmistamiseksi olisi suositeltavaa, että kylmätiskissä olisi aina lämpömittari. Toimijoiden tulee huolehtia lämpömittareiden säännöllisestä kalibroinnista.

Fileissä todettiin suurempia histamiinipitoisuuksia kuin perkaamattomassa kalassa, mikä on osittain linjassa aiempien tutkimusten kanssa. Perkaamattoman, peratun ja fileoidun kalan histamiinipitoisuuksia on tutkittu melko vähän, mutta aiemmissa tutkimuksissa on osoitettu, että perkaamattomassa kalassa on enemmän histamiinia kuin peratussa kalassa.^{10,28} Koska fileitä käsitellään enemmän kuin perkaamatonta kalaa, ne saattavat kontaminoitua herkemmin histidiinia dekarboksyloivilla bakteereilla. Jos perkaamattomia kaloja säilytetään kauemmin, suoliseinä-mä hajoaa ja histamiinipitoisuus kasvaa bakteerien vaikutuksesta. Toisaalta histamiinin muodostumisen ero perkaamattomassa kalassa ja fileissä tasoittuu säilytysajan pidentyessä.²⁹

Elintarviketurvallisuusvirasto Evira on antanut elintarvikealan toimijoille tarkoitetun ohjeen elintarvikkeiden mikrobiologisista vaaroista annetun komission asetuksen (EY) No 2073/2005 soveltamisesta.²⁶ Ohjeen mukaan silli- ja silakka-

tuotteiden histamiinitutkimuksia ei tarvitse sisällyttää normaaliin omavalvonnassa tehtävään tuotteiden tutkimiseen. Meidän tuloksemme tukevat päätöstä jättää silakka pois histamiiniomavalvonnasta. Evira on esittänyt komission elintarvikkeja eläinlääkintätoimistolle tämän tutkimuksen alustavat tulokset.

Tulokset koskevat vähittäismyynnissä olevaa silakkaa. On mahdollista, että kuluttajat säilyttävät ostamaansa silakkaa kotona muutamia päiviä oston jälkeen. Kotitalouksissa jääkaappilämpötila voi olla tuoreelle kalalle suositeltua (enintään +3,0 °C) korkeampi. Näin ollen histamiinipitoisuus voi lisääntyä jonkin verran ennen kuin tuote syödään. Silakan ei kuitenkaan tiedetä aiheuttaneen histamiinimyrkytyksiä.

KIITOS

Kiitämme tutkija Mervi Rokkaa Evirasta analyysimenetelmän kuvaukseen liittyvistä arvokkaista kommentteista.

LÄHDEKIRJALLISUUS

1. Tuomisto L. Histamiini ja histamiiniantagonistit. Kirjassa: Koulu M, Tuomisto J, toim. Farmakologia ja toksikologia 6. painos. Kuopio: Medicina, 2001;265–78.
2. Hungerford JM. Scombroid poisoning: A review. *Toxicol* 2010;56:231–43.
3. Taylor SI, Stratton JE, Nordlee JA. Histamine poisoning (Scombroid fish poisoning): an allergy-like intoxication. *J Toxicol Clin Toxicol*. 1989;27:225–40.
4. Lehane L, Olley J. Histamine fish poisoning revisited. *Int J Food Microbiol*. 2000;58:1–37.
5. Flick GJ, Oria MP, Douglas L. Potential hazards in cold-smoked fish: biogenic amines. *J Food Sci*. 2001;66 Suppl:S1088–99.
6. Taylor SL. Histamine food poisoning. *Toxicology and clinical aspects*. *Crit Rev Toxicol*. 1986;17:91–128.
7. Shalaby AR. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Res Int*. 1996;29:675–90.
8. López-Sabater EI, Rodríguez-Jerez JJ, Roig-Sagués AX, Mora-Ventura MT. Bacteriological quality of tuna fish (*Thunnus thynnus*) destined for canning: effect of tuna handling on presence of histidine decarboxylase bacteria and histamine level. *J Food Protection*. 1994;57:318–23.
9. Kim S-H, Field KG, Chang D-S, Wei C-I, An H. Identification of bacteria crucial to histamine accumulation in Pacific mackerel during storage. *J Food Protect*. 2001;64:1556–64.
10. Kim SH, An H, Price RJ. Histamine formation and bacterial spoilage of albacore harvested off the U.S. Northwest coast. *J Food Sci*. 1999;64:340–3.
11. Economou V, Brett MB, Papadopoulou C, Frillingos S, Nichols T. Changes in histamine and microbiological analyses in fresh and frozen tuna muscle during temperature abuse. *Food Addit Contam*. 2007;24:820–32.
12. Jørgensen LV, Huss HH, Dalgaard P. The effect of biogenic amine production by single bacterial cultures and metabolism on cold-smoked salmon. *J Appl Microbiol*. 2000;89:920–34.
13. Kanki M, Yoda T, Ishibashi M, Tsukamoto T. *Photobacterium phosphoreum* caused a histamine fish poisoning incident. *Int J Food Microbiol*. 2004;92:79–87.
14. Emborg J, Groth Laursen B, Dalgaard P. Significant histamine formation in tuna (*Thunnus albacore*) at 2 °C – effect of vacuum- and modified atmosphere-packaging on psychrotolerant bacteria. *Int J Food Microbiol*. 2005;101:263–79.
15. Vosikis V, Papageorgopoulou A, Economou V, Frillingos S, Papadopoulou C. Survey of the histamine content in fish samples randomly selected from the Greek market. *Food Addit Contam*. 2008;1:122–9.
16. Tao Z, Sato M, Yamaguchi T, Nakano T. Formation and diffusion mechanism of histamine in the muscle of tuna fish. *Food Control* 2009;20:923–6.
17. Klausen NK, Lund E. Formation of biogenic amines in herring and mackerel. *Z Lebensm Unters For*. 1986;182:459–63.
18. Ten Brink B, Damink C, Joosten HM, Huis in't Veld JH. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *Int J Food Microbiol*. 1990;11:73–84.
19. Morrow JD, Margolies GR, Rowland MD, Roberts LJ. Evidence that histamine is the causative toxin of Scombroid-fish poisoning. *New Engl J Med*. 1991;324:716–20.
20. Bean NH, Goulding JS, Lao C, Angulo FJ. Surveillance for foodborne-disease outbreaks – United States, 1988–1992. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report*. 1996;45/No. SS–5.
21. Gillespie IA, Adak GK, O'Brien SJ, Brett MM, Bolton FJ. General outbreaks of infectious intestinal disease associated with fish and shellfish, England and Wales, 1992–1999. *Commun Dis Public Health*. 2001;4:117–23.
22. Niskanen T, Korhonen T, Siitonen A, Johansson T, Miettinen I. Ruokamyrkytykset Suomessa 2008. Eviran julkaisuja 14/2010.
23. Lindblad M, Westöö A, Lindqvist R, Hjertqvist M, Andersson Y. Matförgiftningar i Sverige – analys av rapporterade matförgiftningar 2003–2007. Livsmedelsverkets rapportserie 16/2009.
24. Gellert AG, Ralls J, Brown C, Huston J, Merryman R. Scombroid fish poisoning. Underreporting and prevention among noncommercial recreational fishers. *Western J Med*. 1992;157:645–7.
25. Komission asetus (EY) N:o 2073/2005 elintarvikkeiden mikrobiologisista vaatimuksista.
26. Elintarvikkeiden mikrobiologiset vaatimukset, komission asetuksen (EY) No 2073/2005 soveltaminen. Eviran ohje 15002/1.
27. Kalajalosteiden tuotanto 2007. Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitoksen tilastoja 6/2008.
28. Dawood AA, Karkalas J, Roy RN, Williams CS. The occurrence of non-volatile amines in chilled-stored rainbow trout (*Salmo irideus*). *Food Chem*. 1988;27:33–45.
29. Fernández-Salguero J, Mackie IM. Comparative rates of spoilage of fillets and whole fish during storage of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) and herring (*Clupea harengus*) as determined by the formation of non-volatile and volatile amines. *Int J Food Sci Tech*. 1987;22:385–90.

KIRJOITTAJIEN OSOITTEET

Carmela Hellsten, ELL
Ylitarkastaja, Elintarviketurvallisuusvirasto Evira, Mustialankatu 3, 00790 Helsinki carmela.bellsten@evira.fi
Artikkeli kuuluu ympäristöterveydenhuollon erikoiseläinlääkäritutkimuksen suorittamiseen.

Mari Nevas, ELT
Ympäristöterveydenhuollon valvonnan yliopistonlehtori, Helsingin yliopisto, eläinlääketieteellinen tiedekunta, elintarvikkehygienian ja ympäristöterveyden osasto