

Lauri Merivirta ja Meija Kivisaari

Listeria monocytogenes -bakteerin esiintyminen vähittäiskaupan vakuumpakatuissa kalatuotteissa

Listeria monocytogenes in vacuum-packed fish products in the retail market

YHTEENVETO

Yhteensä 67 vakuumpakattua vähittäismyynnistä kerättyä graavisuolattua tai kylmäsavustettua kala-valmistetta tutkittiin *Listeria monocytogenes*in suhteen kvalitatiivisesti ja kvantitatiivisesti. *L. monocytogenes* todettiin 14 näytteessä (21 %). Graavisuolatuista kalavalmisteista sitä todettiin neljässä (17 %) ja kylmäsavustetuista 10:ssä (23 %) näytteessä. Bakteerimäärät vaihtelivat < 10–6000 pesäketä muodostavaa yksikköä grammassa (pmy/g). Bakteereita oli enemmän näytteissä, joissa viimeinen käyttö-päivä oli lähellä kuin muissa näytteissä. Kaikki *L. monocytogenes* -kannat olivat serotyyppiä 1/2a.

ABSTRACT

A total of 67 vacuum-packed 'gravad' or cold-smoked fish products were collected from the retail market and examined for the presence of *Listeria monocytogenes*. *L. monocytogenes* grew from 14 samples (21 %). Four samples (17 %) of 'gravad' products and 10 samples of cold-smoked products were positive for the bacteria. The number of colony forming units (cfu/g) varied between <10 and 6000. The number tended to be larger in samples that were closer to the use-by date than in other samples. All *L. monocytogenes* strains were of serotype 1/2a.

JOHDANTO

Listeria monocytogenes on merkittävä elintarvikevälikkeen patogeeni bakteeri. Se esiintyy yleisesti ympäristössä ja pystyy lisääntymään jääkaappiolosuhteissa. Sen infektioannos on pieni, ja se voi aiheuttaa vakavia terveydellisiä haittoja erityisryhmille, varsinkin raskaana oleville naisille sekä ikääntyneille ja henkilöille, joilla on heikko immuunivaste.

L. monocytogenes voidaan jakaa 13 serotyyppiin.¹ Näistä tavallisimpia ovat 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a ja 4b. Pulssikenttäelektroforeesi (PFGE) mahdollistaa listeriakantojen ge-

neettisen diversiteetin tutkimisen ja kantojen jäljittämisen tuotantolaitoksissa.²

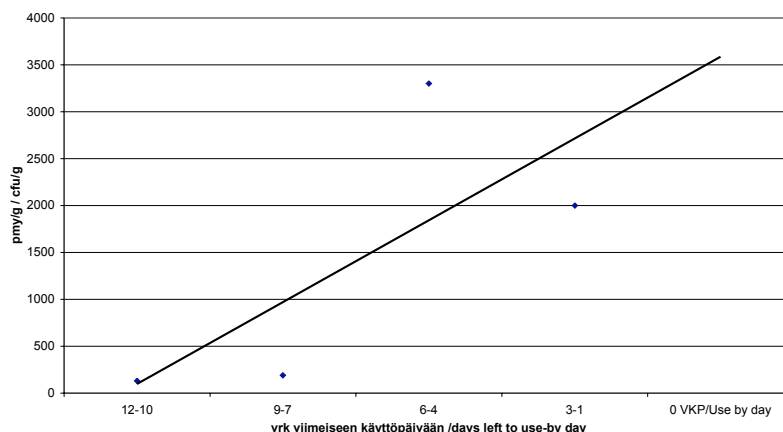
Beaufort ja muut³ totesivat *L. monocytogenes* -bakteeria 10 prosentissa näytteistä, jotka oli otettu vakuumpakatusta kylmäsavulohesta. Ferreira ja muut⁴ havaitsivat jopa 80 prosentin prevalenssin portugalilaisessa käymisteitse valmistetussa perinnemakkarassa (*alheiras*). Gaulin ja muut⁵ kuvasivat Kanadan ensimmäisen listeriaruokamyrkytyksen, jonka aiheuttajana oli lämpökäsitelty juusto. Seitsemän ihmistä sairastui, joista kolme oli vastasyntynyt, ja kaksi naista sai keskenmenon. Juusto oli

YDINKOHDAT:

- *Listeria monocytogenes* on elintarvikevälikkeen patogeeni bakteeri, joka lisääntyy alhaisissa lämpötiloissa ja aiheuttaa ruokamyrkytyksiä.
- *Listeriaa* todettiin kvalitatiivisesti ja kvantitatiivisesti 17 % graavisuolatuista ja 23 % kylmäsavustetuista kalavalmisteista otetuista näytteistä. Kaikki kannat olivat serotyyppiä 1/2a.
- Bakteereita oli enemmän tuotteissa, joiden päiväys läheni viimeistä käyttöpäivää, kuin muissa näytteissä.

ilmeisesti saastunut valmistuksen jälkeen. Kaliforniassa suoritettussa kohorttitutkimuksessa⁶ todettiin 11 vuoden aikana 367 tapausta, joista 114 (31 %) oli perinataaleja ja 253 (69 %) ei-perinataaleja. Merkittävät taudinaiheuttajat olivat meksikolaistyyppinen juusto ja pehmeä juusto, erityisesti tapauksissa, joissa vastasyntyneitä sairastui. Hummerjohann ja muut⁷ löysivät *L. monocytogenes* -bakteerin 2,9 prosentissa sveitsiläisissä juustoloissa juustojen kypsyysvaiheessa otetuista näytteistä. Japanissa raportoitiin ensimmäinen ruuan aiheuttama listeriaruokamyrkytys vuonna 2001.⁸ Sen aiheutti kotitekoisen luomujuusto. Johansson ja muut⁹ löysivät *L. monocytogenes* -bakteerin 22 prosentissa vakuumpakatuista kalatuotteista otetuista näytteistä. Suomessa on raportoitu *L. monocytogenes* -bakteerin aiheuttama ruokamyrkytys, jossa välittäjänä oli kylmäsavustettu kirjolohi.¹⁰

Euroopan elintarviketurvallisuusvirasto EFSA (European Food Safety Authority) ei toistaiseksi ole antanut ohjeita listerioosin suhteen. Sen sijaan Euroopan komission tieteelliset komiteat (Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health [SCVMPH]; Scientific Working Group on microbiological criteria for defining the safety of foodstuffs)¹¹ ovat laatimassa kriteereitä *L. monocytogenes* esiintymiselle valmisruuissa. Lisäksi FAO/WHO¹² on arvioinut *L. monocytogenes* esiintymiseen liittyviä riskejä valmisruuissa, tuoreessa maidossa, jäätelössä, käymisteitse valmistetuissa elintarvikkeissa ja kylmäsavustetussa kalassa. SCVMPH:n mukaan elintarvike voidaan katsoa vähäriskiseksi, mikäli *L. monocytogenes* määrä siinä on alle 100 pesäkettä muodostavaa yksikköä grammassa (pmy/g).¹¹ Kuitenkaan listerian kasvua edistävissä tuotteissa sitä ei saa olla. Myös Codex Com-



KUVA 1 FIGURE

Listeria monocytogenes -määrän suhte viimeiseen käyttöpäivään.

The amount of *Listeria monocytogenes* in relation to proximity of the use-by day.

mittee on Food Hygiene (CCFH) on vuonna 2005 jatkanut käsitteilyään luonnoksestaan ohjeeksi,¹³ joka koskee *L. monocytogenes* esiintymisen valvontaa sellaisenaan syötävissä elintarvikkeissa.

AINESTO JA MENETELMÄT

Näytteeksi otettiin 47 vähittäismyymälästä eri puolilta Poria 67 vakuumpakattua kalavalmistetta, joista 24 oli graavisuolattuja ja 43 kylmäsavustettuja. Graavisuolattua kalavalmistetta oli valmistettu lohesta, kirjolohesta ja siiasta ja kylmäsavustettua lohesta ja kirjolohesta. Tuotteet olivat 11 laitoksen valmistamia. Kaikki näytteet otettiin vuoden 2004 aikana. Ne tutkittiin heti niiden saavuttua laboratorioon ennen viimeistä käyttöpäivää. Näytteenottomyymälöiden kylmäkalusteiden lämpötilat mitattiin taltioivalla lämpömittarilla (Testo 174) 6 vrk:n ajan 30 min:n välein. Mittaustarkkuus on $\pm 0,5$ °C.

25 g painava edustava näyte punnittiin steriiliin pussiin ja rikastettiin kaksivaiheisella rikastuksella ½-Fraser- ja Fraser-rikasteilla (OXOID LTD, Basingstoke Hamp-

shire Englanti) International Organization for Standardization (ISO) 11290-1 -menetelmän¹⁴ mukaisesti. Rikaste viljeltiin Palcam (OXOID LTD, Basingstoke Hants England) ja Oxford (OXOID LTD, Basingstoke Hants England) -maljoille, joilta viisi tyypillistä pesäkettä viljeltiin puhtaaksi LMBA (LabM, Bury Lancashire UK) -maljoille. Hemolysoineet pesäkkeet varmistettiin API-Listeria (Biomérieux, Marcy l'Etoile France) -testillä.

Kun näytteestä saatiin alustava positiivinen tulos, *L. monocytogenes* -määrä tutkittiin 10 g:sta näytettä menetelmällä ISO 11290-2¹⁵. Maljakasvatuksissa käytettiin Palcam-, Oxford- ja LMBA-alustoja kuten kvalitatiivisessa tutkimuksessa. Menetelmän määritysrajana oli < 10 pmy/g.

Löydetty *L. monocytogenes* -kannat serotyyppitettiin Eläinlääkintä- ja elintarvikelaitoksessa (EELA) Denka Seiken -antiseerumeilla (EELA 3498).

TULOKSET

14 näytteessä (21 %) todettiin *L. monocytogenes*. Graavisuolatuista

TAULUKKO 1 TABLE

L. monocytogenes -bakteerin määrä (pesäketä muodostavaa yksikköä/g).Amounts (colony-forming units/g) of *L. monocytogenes*.

L. monocytogenes pmy/g L. monocytogenes cfu/g	
Kylmäsavustettu kalavalmiste Cold-smoked fish product n = 10	Graavisuolattu kalavalmiste "Gravad" fish product n = 4
< 10 ^a	< 10 ^a
< 10 ^a	< 10 ^a
< 10 ^a	3200
90	6000
200	
290	
300	
440	
3800	
6000	

^a Alle määrittäysrajan^a Under detection limit

kalavalmisteista otetuista näytteistä *L. monocytogenes* todettiin neljässä (17 %) ja kylmäsavustetuista kalavalmisteista kymmenessä (23 %) näytteestä. Positiivisia tuloksia löytyi kolmen eri valmistajan tuotteista.

L. monocytogenes -positiivisista kahdeksan näytteen (12 %) bakteerimäärä oli yli 100 pmy/g. Graavisuolatuissa kalavalmisteissa kahden (8 %) näytteen ja kylmäsavustetuissa kuuden (14 %) *L. monocytogenes* -määrä ylitti 100 pmy/g. Määrien vaihteluväli oli < 10–6000 pmy/g (taulukko 1). *L. monocytogenes* -määrää verrattiin viimeisen käyttöpäivän läheisyyteen lineaarisella regressiolla (kuva 1). Myyntialtaiden kuuden päivän keskilämpötila vaihteli välillä -0,1 °C ja 7,9 °C ja ylitti 3 °C neljässä altaassa. Alin mitattu lämpötila oli -7,7 °C ja korkein +15,3 °C.

Testausketusta viimeiseen käyttöpäivään oli aikaa 1–11 vuorokautta. Näytteet ryhmiteltiin

neljään ryhmään: näytteet, joiden viljelystä oli viimeiseen käyttöpäivään 10–12 vuorokautta, 7–9 vuorokautta, 4–6 vuorokautta ja 1–3 vuorokautta. Pearsonin korrelaatiokertoimeksi saatiin 0,735, joka osoittaa lineaarisesta riippuvuudesta muuttujien välillä korkeintaan 5 prosentin erehtymisriskillä. Tämä lineaarinen selitysmalli kuvaa 54 % listeriapitoisuuksien vaihtelusta pelkästään viimeisen käyttöpäivän läheisyyden perusteella. Serotyyppitys osoitti kaikkien kantojen olevan serotyyppiä 1/2a.

POHDINTA

L. monocytogenes on elintarvikkepatogeeni, jonka terveydelle haitalliset vaikutukset ovat merkittäviä varsinkin erityisryhmille, kuten raskaana oleville naisille sekä ikääntyneille ja henkilöille, joilla on heikko immuunivaste. Yhtäältä infektiota on pieni, ja toisaalta eri elintarvikkeille

on asetettu erilaisia raja-arvoja. Suomalaisilta kalankasvattamoilta kerätyissä käsittelemättömän kirjolohen näytteissä on todettu 14,6 % *L. monocytogenes*ä.¹⁶ *L. monocytogenes*ä esiintyy kalatuotteista eniten kylmäsavustetussa, graavatussa ja lämminsavustetussa kalassa, 6–50 %, 4–27 % ja 0–9 % vastaavin osuuksin.¹⁷ Suomessa vähittäismyynnissä olevien vakuu- mupakattujen kalatuotteiden prevalenssi on pysynyt samalla tasolla (21 %) vuodesta 1999 (22 %).⁹ Näytteissä todettiin ainoastaan yhtä listeriaserotyyppiä (1/2a), vaikka näytteet olivat usealta valmistajalta; vuonna 1999 esiintyi myös tyyppi 4b. Nykyään käytössä olevat sovellukset, jotka perustuvat mikrobin molekulaarisiin ominaisuuksiin, antavat kuitenkin enemmän tietoa kontaminaatioita jäljitettäessä.¹⁸

Hyviä valintoja *L. monocytogenes* -hallitsemiseksi riskielintarvikkeissa ovat riittävä olosuhdevalvonta tuotantolaitoksissa, mukaan lukien ympäristönäytteiden testaaminen. Kriittisiä pisteitä ovat oikean säilytyslämpötilan ja ajan suhde elintarvikkeetjussa sekä viimeisen käyttöpäivän oikea asettaminen. Nyt monien valmistajien asettama ylin säilytyslämpötila +3 °C ylittyi useassa mittauksessa. Elintarvikkeet voidaan myös käsitellä siten, että *L. monocytogenes* kasvu estyy tai hidastuu. Riskiryhmille tarjottavat tuotteet voidaan myös jälkikäsitellä niin, ettei tartuntavaaraa ole.

Listerioosin riskejä voitaisiin mahdollisesti hallita paremmin, mikäli bakteerin esiintymiselle asetetut raja-arvot eri elintarvikkeille olisivat yhdenmukaiset. Tämän vuoksi olisi hyvä, mikäli kansainväliset toimijat, kuten FAO/WHO, CCFH sekä EU, päätyisivät yhteen raja-arvoon sellaisenaan syötävälle elintarvikkeille.

KIITOKSET

Kiitämme mikrobiologi, FT Tuula

Johanssonia (EELA) listeriakantojen serotyypityksestä.

KIRJALLISUUS

1. Seeliger HPR, Hohne K. Serotyping of *Listeria monocytogenes* and related species. Kirjassa: Bergan T, Norris JR toim. Methods in microbiology. New York: Academic press Inc.; 1979, 31–49.
2. Autio T. Tracing the sources of *Listeria monocytogenes* contamination and listeriosis using molecular tools [väitöskirja]. Helsinki: Helsingin yliopisto; 2003.
3. Beaufort A, Rudelle S, Gnanou-Besse N, Toquin MT, Bergis H, Salvat G ym. Prevalence and growth of *Listeria monocytogenes* in cold-smoked salmon. Proceedings of the XV International Symposium of Problems of Listeriosis; 12–15.9. 2004; Uppsala, Ruotsi.
4. Ferreira V, Felicio MT, Hogg T, Teixeira P, Gibbs P. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in alheiras (Fermented sausages in the North of Portugal). Proceedings of the XV International Symposium of Problems of Listeriosis; 12–15.9.2004; Uppsala, Ruotsi.
5. Gaulin C, Ramsay D, Ringuette L, Ismaïl J. First outbreak of listeriosis in Quebec (Canada) and linked to heat treated cheese. Proceedings of the XV International Symposium of Problems of Listeriosis; 12–15.9.2004; Uppsala, Ruotsi.
6. Guevara RE, Gallagher AM, Mascola L. An 11-year retrospective study on listeriosis on Los Angeles County (LAC), CA, United States, 1992–2002. Proceedings of the XV International Symposium of Problems of Listeriosis; 12–15.9.2004; Uppsala, Ruotsi.
7. Hummerjohann J, Imhof R, Mühlemann M, Schällibaum M. *Listeria* in Swiss cheese and dairies: Results of the *Listeria* monitoring programme 2003. Proceedings of the XV International Symposium of Problems of Listeriosis; 12–15.9.2004; Uppsala, Ruotsi.
8. Kawamoto K, Makino S-I, Igimi S, Takeshi K. The first foodborne outbreak associated with *Listeria monocytogenes* in Japan. Proceedings of the XV International Symposium of Problems of Listeriosis; 12–15.9.2004, Uppsala, Ruotsi.
9. Johansson T, Rantala L, Palmu L, Honkanen-Buzalski T. Occurrence and typing of *Listeria monocytogenes* strains in retail vacuum-packed fish product and in a production plant. Int J Food Microbiol. 1999;47:111–9.
10. Miettinen MK, Siitonen A, Heiskanen P, Haajanen H, Björkroth KJ, Korkeala H. Molecular epidemiology of an outbreak of febrile gastroenteritis caused by *Listeria monocytogenes* in cold-smoked rainbow trout. J Clin Microbiol. 1999;37:2358–60.
11. SCVMPH. Opinion on *L. monocytogenes*. [kotisivu internetissä] http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scv/outcome_en.html; 1999.
12. FAO/WHO. Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready to eat foods – Interpretative Summary. Microbiological Risk Assessment Series 4; 2004.
13. Codex Committee on Food Hygiene. Proposed draft guidelines on the application of general principles of food hygiene to the control of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods at step 5 (ALINORM 05/28/13 para. 98 and Appendix II). The report of the thirty-seventh session of the Codex Committee on Food Hygiene (CCFH) of the twenty-eighth session of the Codex Alimentarius Commission, 4–9 July 2005; Rooma, Italia.
14. International Organization for Standardization. International Standard, ISO 11290-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* – Part 1: Detection method. 1. painos. Geneve; 1996.
15. International Organization for Standardization. International Standard, ISO 11290-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* – Part 2: Enumeration method. 1. painos. Geneve; 1998.
16. Miettinen H, Wirtanen G. Prevalence and location of *Listeria monocytogenes* in farmed rainbow trout. Int J Food Microbiol. 2005;104:135–43.
17. Lunden J. 2004. Persistent *Listeria monocytogenes* contamination in food processing plants. Väitöskirja. 60 pp. Helsingin yliopisto. Helsinki.
18. Autio T, Hielm S, Miettinen M, Sjöberg A-M, Aarnisalo K, Björkroth J, Mattila-Sandholm T, Korkeala H. Sources of *Listeria monocytogenes* contamination in a cold-smoked rainbow trout processing plant detected by pulse-field gel electrophoresis typing. Appl Environ Microbiol. 1999;65:150–5.

KIRJOITTAJIEN OSOITE

Lauri Merivirta ELL ja
Meija Kivisaari FM
Porilab
Tiedepuisto 4, 28600 Pori
lauri.merivirta@pori.fi