

Mikrobiologisten tutkimusprojektien tuloksia 2003 ja 2004

Kuvailulehti

Julkaisija	Elintarvikevirasto	Julkaisuaika	Huhtikuu 2006
Tekijät	Tuula Aalto, Marjaana Hakkinen, Anja Hallikainen, Maija Hatakka, Tuula Johansson, Pirkko Kostamo, Henry Kuronen, Elina Lahti, Merja Lumme, Maija Nupponen, Tuula Pirhonen ja Raija Törmä-Oksanen		
Julkaisun nimi	Mikrobiologisten tutkimusprojektien tuloksia 2003 ja 2004		
Tiivistelmä	<p>Tähän julkaisuun on koottu Elintarvikeviraston (EVI) ja Eläinlääkintä- ja elintarviketutkimuslaitoksen (EELA) yhteistyössä kuntien ja lääninhallitusten viranomaisten kanssa toteuttamien mikrobiologisten tutkimus- ja valvonta- projektien tulokset vuosina 2003-2004:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pehmeiden ja puolikovioiden juustojen mikrobiologinen turvallisuus - Patogeenisten bakteerien esiintyminen mansikoissa - Mausteiden bakteriologinen turvallisuus - Salmonellan, kampakobakteerin ja <i>Escherichia coli</i> O157 -bakteerin esiintyminen sisämarkkinakaupassa toimitetussa lihassa ja raakali-havalmisteissa - <i>Listeria monocytogenes</i> -bakteerin esiintyminen graavi- ja kylmäsavu- kalassa ja mädissä - Salmonellan ja termofiilisten kampakobakteerien esiintyminen tuo- reessa siipikarjanlihassa - <i>Streptococcus equi</i> ssp. <i>zooepidemicus</i>, <i>Escherichia coli</i> O157 ja kokonaisbakteerit raakamaidosta ja lämpökäsitellystä maidosta valmistetuissa juustoissa <p>Projektit ovat sisältyneet kyseisten vuosien valtakunnallisiin tai EU:n yhteisiin valvontaohjelmiin. Tutkimusaiheet edustavat monipuolisesti sekä kasvi- että eläinperäisten elintarvikkeiden turvallisuutta. Mikrobiologiset tutkimukset on tehty hyväksytyissä elintarviketutkimuslaitoksissa, suurin osa EVIn kustannuksella. Patogeenisten mikrobien erityisanalytiikkaa vaativat tutkimukset ja patogeenikantojen varmistustutkimukset on tehty EELAssa. Kuntien viranomaiset ovat saaneet tutkimustulokset käytettä- väkseen alueen valvonnassa. Viranomaiset ovat ryhtyneet tarvittaviin toi- menpiteisiin, jos huonolaatuisia eriä on todettu markkinoilla.</p>		
Avainsanat	Pehmeä juusto, mansikka, mausteet, liha, raakali-havalmiste, broilerin liha, vuohenmaitojuusto, salmonella, kampakobakteeri, listeria, <i>Escherichia coli</i> O157, <i>Streptococcus equi</i> ssp. <i>zooepidemicus</i> , toksikologinen turvallisuus		
Julkaisusarjan nimi ja numero	EVI-EELA -julkaisuja 1/2006		
Julkaisun teema	ISSN (nid)	1455-3139	ISSN (pdf)
	ISSN (nid)	1459-6814	ISSN (pdf)
	Sivuja	43	Kieli
	Luottamuksellisuus	Julkinen	Hinta
			10,10 euroa
Julkaisun myynti/jakaja	Elintarvikevirasto, puh. (09) 3931 530, 3931 526, fax (09) 3931 592 info@elintarvikevirasto.fi, www.elintarvikevirasto.fi		
Julkaisun kustantaja	EVI ja EELA		
Painopaikka ja -aika	Edita Prima, 2006		
Kansi ja taitto	Teija Pesonen		

Beskrivning

Utgivare	Livsmedelsverket			Utgivningsdatum	April 2006
Författare	Tuula Aalto, Marjaana Hakkinen, Anja Hallikainen, Maija Hatakka, Tuula Johansson, Pirkko Kostamo, Henry Kuronen, Elina Lahti, Merja Lumme, Maija Nuppunen, Tuula Pirhonen och Raija Törmä-Oksanen				
Verkets titel	Resultat av mikrobiologiska undersökningsprojekt 2003 och 2004				
Resumé	<p>I denna publikation har sammanförts resultaten av de mikrobiologiska undersöknings- och tillsynsprojekt som Livsmedelsverket (EVI) och Forskningsanstalten för veterinärmedicin och livsmedel (EELA) genomfört i samarbete med myndigheterna i kommunerna och länsstyrelserna åren 2003 -2004:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mjuka och halvårda ostars mikrobiologiska säkerhet - Förekomsten av patogena bakterier i jordgubbar - Kryddors bakteriologiska säkerhet - Förekomsten av salmonella, campylobakterier och bakterien <i>Escherichia coli</i> O157 i kött och råa köttberedningar på den interna marknaden - Förekomsten av bakterien <i>Listeria monocytogenes</i> i gravad och kallrökt fisk och fiskrom - Förekomsten av salmonella och termofila campylobakterier i färskt fjäderfäkött - <i>Streptococcus equi</i> ssp. <i>zooepidemicus</i>, <i>Escherichia coli</i> O157 och totalbakterier i oster tillverkade av rå mjölk och värmebehandlad mjölk <p>Projekten har ingått i riksomfattande eller för EU gemensamma tillsynsprogram. Undersökningarna representerar på ett mångsidigt sätt säkerheten hos livsmedel av såväl vegetabiliskt som animaliskt ursprung. De mikrobiologiska undersökningarna har utförts vid godkända livsmedelsundersökningslaboratorier, huvuddelen på EVI:s bekostnad. Undersökningarna som gällt patogena mikrober och kräver särskild analys och undersökningarna som gällt säkerställande av patogenstammar har utförts av EELA. De kommunala myndigheterna har fått ta del av resultaten av undersökningarna och kan utnyttja dem i tillsynen inom sitt område. Myndigheterna har vidtagit nödvändiga åtgärder, om partier av usel kvalitet påträffats på marknaden.</p>				
Nyckelord	Mjuk ost, jordgubbe, kryddor, kött, rå köttberedning, broilerekött, getost, salmonella, campylobakterie, listeria, <i>Escherichia coli</i> O157, <i>Streptococcus equi</i> ssp. <i>zooepidemicus</i> , toxikologisk säkerhet				
Publikationsseriens namn och nummer	EVI-EELA -julkaisu 1/2006				
Publikationens tema	ISSN (nid)	1455-3139	ISBN (nid)	951-732-243-7	
	ISSN (pdf)	1459-6814	ISBN (pdf)	951-732-244-5	
	Antal sidor	43	Språk	Finsk	
	Konfidentialitet	Offentlig handling	Pris	10,10 eu	
Publikationen säljs	Livsmedelsverket, tel. (09) 3931 530, 3931 526, fax (09) 3931 592 info@elintarvikevirasto.fi, www.elintarvikevirasto.fi				
Förläggare	EVI och EELA				
Tryckeri och tykningstid	Edita Prima, Helsingfors 2006				
Ombytning och pärm	Teija Pesonen				

Description

Publisher	National Food Agency	Publication date	April 2006	
Authors	Tuula Aalto, Marjaana Hakkinen, Anja Hallikainen, Maija Hatakka, Tuula Johansson, Pirkko Kostamo, Henry Kuronen, Elina Lahti, Merja Lumme, Maija Nupponen, Tuula Pirhonen and Raija Törmä-Oksanen			
Title	Results of microbiological research in 2003 and 2004			
Abstract	<p>This publication presents the results of the microbiological research and control projects carried out by the National Food Agency (EVI) and the National Veterinary and Food Research Institute (EELA) in collaboration with municipal and provincial authorities in 2003 and 2004:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Microbiological safety of soft and semi-hard cheeses - Occurrence of pathogenic bacteria in strawberries - Bacteriological safety of spices - Occurrence of Salmonella, campylo bacterium and <i>Escherichia coli</i> O157 bacteria in meat and meat preparations delivered in the internal market - Occurrence of <i>Listeria monocytogenes</i> bacteria in raw-salted and cold-smoked fish and roe - Occurrence of Salmonella and thermophilic campylo bacteria in fresh poultry meat - <i>Streptococcus equi</i> ssp. <i>zooepidemicus</i>, <i>Escherichia coli</i> O157 and total bacteria in cheeses made of raw milk and heat-treated milk <p>The projects have been implemented as part of the national or EY-wide control programmes in the year in question. The diverse range of the subjects of research covers the safety of food of both plant and animal origin. The microbiological analyses, most of which were funded by the National Food Agency, were made by accredited food research institutes. Analyses that require special analytics for pathogenic microbes as well as verification analyses of pathogen strains have been performed by the National Veterinary and Food Research Institute. The research results have been made available to the municipal authorities for use in local control activities. Authorities have taken the required action if batches of inferior quality have been found in the market.</p>			
Key words	Soft cheese, strawberry, spices, meat, meat preparation, chicken meat, goat milk cheese, salmonella campylo bacterium, listeria, <i>Escherichia coli</i> O157, <i>Streptococcus equi</i> ssp. <i>zooepidemicus</i> , toxicological safety			
Name and number of publication	EVI-EELA -julkaisu 1/2006			
Theme	ISSN (nid)	1455-3139	ISBN (nid)	951-732-243-7
	ISSN (pdf)	1459-6814	ISBN (pdf)	951-732-244-5
	Pages	43	Language	Finnish
	Confidentially	Public	Price	10,10 euro
Distributor	National Food Agency, Tel. (09) 3931 530, 3931 526, Fax (09) 3931 592 info@nfa.fi, www.nfa.fi			
Publisher	EVI and EELA			
Printed in	Edita Prima Ltd., Helsinki 2006			
Cover and layout	Teija Pesonen			

Sisällysluettelo

1	Pehmeiden ja puolikovien juustojen mikrobiologinen turvallisuus.....	6
2	Patogeenisten bakteerien esiintyminen mansikoissa	13
3	Mausteiden bakteriologinen ja toksinen turvallisuus	16
4	Salmonellan, kampylobakteerin ja <i>Escherichia coli</i> O157:n esiintyminen sisämarkkinakaupassa toimitetussa lihassa ja raakalihavalmisteissa.....	22
5	<i>Listeria monocytogenes</i> -bakteerin esiintyminen graavi- ja kylmäsavukaloissa ja mädissä	29
6	Salmonellan ja termofiilisten kampylobakteerien esiintyminen tuoreessa siipikarjan lihassa	37
7	<i>Streptococcus equi ssp. zooepidemicus</i> , <i>Escherichia coli</i> O157 ja kokonaisbakteerit raakamaidosta ja lämpökäsitellystä maidosta valmistetuissa juustoissa	39

1 Pehmeiden ja puolikovien juustojen mikrobiologinen turvallisuus

1

PEHMEIDEN JA PUOLIKOVIEN JUUSTOJEN MIKROBIOLOGINEN TURVALLISUUS

Pirkko Kostamo, Tuula Johansson
ja Tuula Aalto

1.1 JOHDANTO

Elintarvikevirasto (EVI), Eläinlääkintä- ja elintarvike-tutkimuslaitos (EELA), kuntien elintarvikevalvonta-viranomaiset ja viralliset elintarvike-tutkimuslaitokset toteuttivat vuonna 2004 yhteistyönä kaksi tutkimus-projektia, joissa kartoitettiin pehmeiden ja puolikovien juustojen mikrobiologista turvallisuutta.

EU:n yhteiseen valvontaohjelmaan vuonna 2004 kuuluneessa projektissa (EU-raakamaitojuustot) tutkittiin raakamaidosta ja termisoidusta maidosta valmistettujen pehmeiden ja puolikovien juustojen mikrobiologista laatua⁽¹⁾. Samanaikaisesti toteutetussa valtakunnalliseen valvontaohjelmaan kuuluvassa hankkeessa (EVO 2004) selvitettiin *Listeria monocytogenes* -bakteerin esiintymistä pastöroidusta maidosta valmistetuissa, pehmeissä juustoissa⁽²⁾. Projektien tulokset antavat tietoa patogeenisten bakteerien esiintyvyydestä Suomessa myynnissä olevissa pehmeissä ja puolikovissa juustoissa.

Etelä-Euroopassa on perinteisesti valmistettu raakamaidosta juustoja ja ne ovat kuluttajien suosimia. EU:n komissio on kuitenkin todennut yhteisön alueella viime vuosina esiintyneen useita, mm. salmonellan, *L. monocytogenes* -bakteerin ja stafylokokkienterotoksiinien aiheuttamia ruokamyrkytyksiä, jotka ovat levinneet raakamaidosta tai termisoidusta maidosta valmistettujen juustojen välityksellä. Jotta perinne valmistaa raakamaitojuustoja voisi jatkua EU:n alueella, on kiinnitetty erityisesti huomiota tällaisten juustojen valmistuksen hygieenisyyteen ja valvontaan. Toteuttamallaan projektilla komissio halusi edistää kuluttajansuojaa sekä kerätä tietoja patogeenisten bakteerien ja niiden indikaattorina käytettävän *Escherichia coli* -bakteerin esiintyvyydestä raakamaidosta ja termisoidusta maidosta valmistetuissa, pehmeissä ja puolikovissa juustoissa EU:n alueella.

1.2 NÄYTTEET, TUTKIMUSMENETELMÄT JA TULOSTEN ARVOSTELU

EVI suunnitteli EU-raakamaitojuustot ja EVO2004-pehmeät juustot projektien näytteenoton⁽³⁾ ja tilasi tutkimukset virallisilta elintarvike-tutkimus-laitoksilta. Suunnitelmana oli, että kunnalliset valvontaviranomaiset ottavat heinä-joulukuussa 2004 raakamaitojuustoprojektissa 82 juustoerästä yhteensä 233 osanäytettä ja pastöroidusta maidosta valmistettujen juustojen tutkimusprojektissa 78 juustoerästä yhteensä 156 osanäytettä (**Liite**

1, s. 12). Näytteenottopyynnöt lähetettiin yhteensä 46 eri viranomaiselle. Raakamaitojuusto-projektissa otettiin valmistuspaikoista yhdestä valmistuserästä viisi osanäytettä, pastöroidusta maidosta valmistettujen juustojen tutkimus-projektissa vastaavasti kaksi osanäytettä. Näytteet säilytettiin laboratoriossa (7 ± 1 °C) viimeiseen käyttöpäivään, jolloin tutkimus aloitettiin. Kaksi laboratoriota ei noudattanut tätä pyyntöä.

1 Pehmeiden ja puolikovien juustojen mikrobiologinen turvallisuus

Vähittäismyynti- ja ensisaapumispaikoista otettiin kummassakin projektissa valmistuserästä kaksi osanäytettä, jotka tutkittiin heti, kun ne oli toimitettu laboratorioon. Näytteeksi otettiin noin 100 g juustoa tai yksi kokonainen juusto, jos sen paino oli alle 100 g. Näytteet otettiin valmistuspaikoista, vähittäismyynnistä ja ensisaapumispaikoista eri puolilta Suomea.

Näytteet tutkittiin 11 virallisessa elintarviketutkimuslaboratoriossa (**Liite 1**), joissa oli käytössä akkreditoidut, keskenään vertailukelpoisia tuloksia antavat menetelmät (**Taulukko 1**).

Raakamaidosta valmistetuista juustoista tutkittiin *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, termofiiliset

kampylobakteerit, *Staphylococcus aureus* (koagulaasipositiiviset stafylokokit) ja *E. coli*, pastöroidusta maidosta valmistetuista juustoista ainoastaan *L. monocytogenes*. Mikäli rikastamalla tehdystä *L. monocytogenes* -tutkimuksesta saatiin alustava positiivinen tulos, näyte tutkittiin kvantitatiivisella menetelmällä *L. monocytogenes* -pitoisuuden määrittämiseksi. Tuorejuustot kuitenkin tutkittiin heti sekä kvantitatiivisesti että kvantitatiivisesti. Kunnalliset valvontaviranomaiset saivat tutkimustulokset käyttöönsä heti niiden valmistuttua.

Näytteistä eristetyt *L. monocytogenes* -kannat lähetettiin jatkotutkimuksiin EELAn bakteriologian tutkimusyksikköön/elintarvikemikrobiologia. Eristykset serotyyppitettiin agglutinaatiomenetelmällä

Taulukko 1: Laboratorioiden käyttämät tutkimusmenetelmät ja juustojen arvosteluperusteet

Mikrobi	Menetelmät	c/* n	c/** n	m	M
*** <i>Staphylococcus aureus</i>	NMKL 66:1999, muunnos ISO 6888-1:1999	2/5	1/2	1 000 pmy/g	10 000 pmy/g
*** <i>Escherichia coli</i>	NMKL 125:1996, muunnos NMKL 147:1993, sisäisiä menetelmiä	2/5	1/2	10 000 pmy/g	100 000 pmy/g
<i>Salmonella</i> spp.	NMKL 71:1999 ISO 6579:1993, muunnos ¹⁾ ISO 6579:2002	0/5	0/2	ei saa esiintyä 25 g:ssa	
<i>Listeria monocytogenes</i> , kvalitatiivinen kvantitatiivinen	ISO 11290-1:1996, muunnos ²⁾ NMKL-136:1999, muunnos ²⁾ ISO 11290-2:1998, muunnos ²⁾	0/5	0/2	ei saa esiintyä 25 g:ssa	
Termofiiliset kampylobakteerit	NMKL 119:1990, muunnos ³⁾ ISO/DIS 10272:1994, muunnos ³⁾	0/5	0/2	ei saa esiintyä 25 g:ssa	

* raakamaitojuustoprojektissa valmistuspaikoista otettujen osanäytteiden määrä

** vähittäismyynnistä ja ensisaapumispaikoista sekä pastöroidusta maidosta valmistettujen juustojen projektissa myös valmistuspaikoista otettujen osanäytteiden määrä

*** juustot luokitellaan laadultaan hyväksi, jos kaikissa osanäytteissä *S. aureus* - ja *E. coli* -pitoisuus on < m, välttäväksi, jos enintään c tulosta on m- ja M- arvojen välillä, ja huonoksi, jos yksikin tulos on >M tai useampi kuin c tulosta on m- ja M- arvojen välillä

¹⁾ rikastus ainoastaan RVS-liemessä

²⁾ kiinteät valikoivat alustat *Listeria monocytogenes* veriagar, LMBA (nalidiksiinihappo- ja magnesiumsulfaatti- lisällä) ja PALCAM

³⁾ rikastus Bolton-liemessä

1 Pehmeiden ja puolikoviin juustojen mikrobiologinen turvallisuus

(antiseerumit Denka Seiken, Tokio, Japani /Menetelmäohje EELA3498). Pyydettyäessä eristykset myös varmistettiin biokemiallisesti (APIListeria, bioMérieux, Marcy-l'Etoile, Ranska). Stafylokokkienteroksiinit tutkittiin ELISA-menetelmällä (enzyme linked immunosorbent assay; Transia Plate, Diffchamb, Lyon, Ranska/Menetelmäohje EELA3499).

Komission ohjeistuksen mukaisesti EY:n valvonta-ohjelmaan kuuluvien tutkimusten tulokset arvoitellaan kolmiportaisella asteikolla: tyydyttävä (satisfactory), hyväksyttävä (acceptable) ja epätyydyttävä (unsatisfactory)⁽¹⁾. EVIn oppaassa "Elin-
tarvikkeiden mikrobiologiset tutkimukset"⁽⁴⁾ suositellaan kolmiportaista arvostelua termein: hyvä, välttävä ja huono. Projekteissa käytettiin EVIn suosittelemaa termistöä.

1.3 TULOKSET

2.1 Näytteenoton toteutuminen

Raakamaitojuustoprojektissa saatiin valmistuspaikoista yhteensä 90 osanäytettä 18 valmistuserästä (78 % suunnitellusta). Nämä näytteet olivat kaikki pienimuotoisista juustoloista. Vähittäismyynnistä ja ensisaapumispaikoista saatiin yhteensä 60 osanäytettä 30 valmistuserästä (51 % suunnitellusta). Termisoidusta maidosta valmistettuja raakamaitojuustoja ei saatu näytteeksi.

Pastöroidusta maidosta valmistettujen juustojen tutkimusprojektissa saatiin valmistuspaikoista yhteensä 42 osanäytettä 21 valmistuserästä (72 % suunnitellusta), jotka olivat peräisin 4 isosta ja 17 pienimuotoisesta juustolasta. Vähittäismyynnistä ja ensisaapumispaikoista saatiin yhteensä 90 osanäytettä 45 näyte-erästä (92 % suunnitellusta).

Raakamaitojuustoprojektiin kuuluneista 48 näyte-erästä 20 erää oli suomalaista juustoa ja 28 erää ulkomaista juustoa. Pastöroidusta maidosta valmistettujen juustojen tutkimusprojektin yhteensä 61 näyte-erästä 29 erää oli suomalaista juustoa ja 32 erää ulkomaista juustoa.

Yhteensä näytteitä saatiin 36 viranomaiselta suunnitellun 46 sijaan (78 %).

2.2 Raakamaidosta valmistettujen juustojen mikrobiologinen laatu

Raakamaidosta valmistetuissa pehmeissä ja puolikovissa juustoissa (48 valmistuserää/150 osanäytettä) ei todettu salmonellaa eikä termofiilisiä kampakobakteereita. Vähittäismyynnistä ja ensisaapumispaikoista otetuissa raakamaitojuustonäytteissä ei myöskään esiintynyt *S. aureus*- tai *E. coli*-bakteereita yli määrittämissä rajoin (*S. aureus*: 100 pmy/g, yhdellä laboratoriolalla 10 pmy/g; *E. coli*: 10 pmy/g), kolmesta valmistuspaikasta otetussa raakamaitojuustoesästä niitä sen sijaan esiintyi. *S. aureus*-bakteereita esiintyi kahden pienjuustolan juustoesästä. Toinen juustoesästä oli kutunmaidosta valmistettua tuorejuustoa, josta otetut viisi osanäytettä sisälsivät kaikki *S. aureus*-bakteereita pitoisuutena 160 000 - 380 000 pmy/g. Toinen erä oli lehmän maidosta valmistettua tuorejuustoa, josta otetuissa viidessä osanäytteessä oli *S. aureus*-bakteereita pitoisuutena 1900 - 6400 pmy/g. Näytteistä eristettyjen *S. aureus*-kantojen (N=9) ei kuitenkaan todettu tuottavan enterotoksiineja. Suositeltavampaa olisi tutkia enterotoksiinit juustonäytteestä kuin *S. aureus*-viljelmistä, mikäli *S. aureus*-bakteerin (koagulaasipositiivisten stafylokokkien) pitoisuus näytteessä ylittää raja-arvon M (10 000 pmy/g). Juustonäytteitä ei kuitenkaan saatu tutkittavaksi. Kumpikin *S. aureus*-bakteeria sisältänyt juustoesä arvosteltiin hygieeniseltä laadultaan huonok-

1 Pehmeiden ja puolikovien juustojen mikrobiologinen turvallisuus

si. Yhden valmistuspaikasta näytteeksi otetun juustoerän (lehmänmaidosta valmistettu tuorejuusto) yhdessä osanäytteessä viidestä oli *E. coli*-bakteereita 13 000 pmy/g. Erä arvosteltiin hygieeniseltä laadultaan välttäväksi.

2.3

Listeria monocytogenes –bakteerin esiintyminen raakamaidosta ja pastöroidusta maidosta valmistetuissa juustoissa

Pastöroidusta maidosta valmistetuista juustoista (66 erää, 132 osanäytettä) ei todettu *L. monocytogenes*-bakteeria yhdestäkään näytteenotto-paikasta otetussa näytteessä.

Raakamaidosta valmistetuista, vähittäismyynnistä ja ensisaapumispaikoista otetuista juustonäytteistä ei myöskään todettu *L. monocytogenes*-bakteeria. Valmistuspaikoista otetuista raakamaitojuustonäytteistä (18 erää/90 näytettä) todettiin *L. monocytogenes* kahden pienjuustolan kutunjuustoerästä. Toisen erän viidestä osanäytteestä kaksi oli positiivisia, toisen erän osanäytteistä kolme. Jälkimmäisen juustoerän jokaisessa osanäytteessä oli myös M-arvon ylittänyt pitoisuus *S. aureus*-bakteeria. Näytteiden *L. monocytogenes*-pitoisuudet olivat 1 100 - 6 000 pmy/g. Eristykset kuuluivat serotyyppeihin 1/2a. Löydösten perusteella erät luokiteltiin hygieeniseltä laadultaan huonoksi.

2.4 Valvontatoimenpiteet

Niiden kuntien valvontaviranomaiset, joiden alueella huonolaatuista juustoa tuottaneet juustolat sijait-sivat, antoivat kohteille kirjallisen korjauskeho-tuksen ja kehotuksen omavalvonnan parantamiseksi. Huonolaatuiseksi arvostellut näytteet edustivat pieniä, muutaman kilon kokoisia valmistuseriä, eikä näitä erä enää tutkimushetkellä (viimeinen käyttöpäivä) ollut kaupan.

2.5 Tulosten tarkastelu

Kaikki vähittäiskaupoista ja ensisaapumispaikoista näytteeksi otetut, raakamaidosta valmistetut pehmeät juustot (30 valmistuserää) todettiin hygiee-

niseltä laadultaan hyväksi. Valmistuspaikoista otetuista juustoeristä (N= 18) todettiin sen sijaan yksi hygieeniseltä laadultaan välttäväksi *E. coli*-pitoisuuden vuoksi ja kolme erää (16,7%) huonoksi *L. monocytogenes*- ja/tai *S. aureus*-bakteerin esiintymisen/pitoisuuden vuoksi. Huonolaatuiset raakamaitojuustoerät olivat kaikki pienjuustoloiden valmistamia, mikä osoittaa, että niissä saattaa esiintyä hygieniao ongelmia. Toisaalta pienjuustoloista otetuista, eikä muistakaan näytteenotto-paikoista peräisin olleista, pastöroidusta maidosta valmistetuista juustoeristä (N=66) todettu *L. monocytogenes*-bakteeria. Tuloksiin on saattanut vaikuttaa myös näytteiden tutkimusajankohta. Valmistuspaikoista otetut näytteet tutkittiin viimeisenä käyttöpäivänä, koska haluttiin selvittää, miten valmistajat ovat osanneet arvioida valmistamansa tuotteen myyntiajan. Vähittäis- tai tukku-kaupasta otetut näytteet sen sijaan tutkittiin heti näytteenottopäivänä. Valmistuspaikoista otettujen näytteiden myyntiaika vaihteli 3:sta 9 vuorokau-teen. Huonolaatuisiksi arvosteltujen juustojen myyntiajat olivat vain kolme ja neljä vuorokautta. Siten myyntiajan pituus ei selitä huonoa laatua, vaan sen syyinä ovat olleet epähygieeniset valmistustavat.

Myös aiemmissa tutkimuksissa Suomessa myynnissä olevat juustot on todettu hygieeniseltä laadultaan hyväksi ja *L. monocytogenes*-bakteerin suhteen turvallisiksi^(5, 6 ja 7). Riskiä on todettu liittyvän ainoastaan hyvin pienimuotoisesti kotimaassa valmistettuihin tuorejuustoihin. Vuosina 1996 - 1999 tehdyissä tutkimuksissa *L. monocytogenes* todettiin kahdessa näytteessä 193 tutkitusta. Tutkimukset ovat kohdistuneet kotimaisiin ja ulkomai-siin, pastöroidusta maidosta valmistettuihin home- ja tuorejuustoihin (N=51) (1999), kotimaisiin, pienjuustoloiden valmistamiin tuorejuustoihin (1998) ja kotimaisiin leipä- (N=40) ja tuorejuustoihin (N=24) sekä koti- ja ulkomaisiin homejuustoihin (N=20) (1996). Vuoden 1998 tutkimus kattoi 2/3 pienjuustoloista. Tuolloin tutkittiin 51 pienjuustolan 58 tuorejuustonäytettä, joista yhdessä todettiin *L. monocytogenes*. Vuoden 1996 tutkimuksissa todettiin *L. monocytogenes* yhdestä leipäjuustonäytteestä.

Suomessa toteutetuissa juustotutkimuksissa kokonaisnäytemäärät ovat olleet verrattain pieniä, joten tulosten merkitystä arvioitaessa on oltava varovainen. Toisaalta monissa pienjuustoloissa tuotanto on niin pienimuotoista, että vuoden 2004

1 Pehmeiden ja puolikovien juustojen mikrobiologinen turvallisuus

tutkimusprojekteissa näytteeksi saatettiin joutua ottamaan päivän koko valmistuserä. Siten pienjuustoloista tuli otetuksi tuotannon suhteen suurempi näytemäärä kuin suurista juustoloista. Lisäksi EU-projekti keskittyi raakamaitojuustoihin, joten se kohdistui erityisesti pienjuustoloihin. Vuonna 2004 Suomessa oli 15 isoa ja 63 pienimuotoista juustoa valmistavaa maitoalan laitosta.

Tässä tutkimuksessa tuorejuustoista todetut *L. monocytogenes* -pitoisuudet olivat suuria, jopa 6.000 pmy/g. Aiemmissä juustotutkimuksissa^(5, 6 ja 7) pitoisuuksia ei ole määritetty. EU:n alueelta Suomeen saapuneesta homejuustosta on todettu pitoisuus 180 000 pmy/g⁽⁸⁾. *L. monocytogenes* -pitoisuutta 100 pmy/g on pidetty turvallisena perusterveille henkilöille. Riskiryhmät sen sijaan saattavat sairastua jo pienemmistäkin pitoisuuksista.

Eristetyt *L. monocytogenes* -kannat kuuluivat serotyyppiin 1/2a. Tämä serotyyppi on ollut Suomessa yleinen esimerkiksi tyhjiöpakatuissa kalatuotteissa. Seroryhmä ½ aiheutti 73% humaanilisterioositapauksista Suomessa vuonna 2004⁽⁹⁾. Listerioositapaukset ovat yleensä yksittäisiä ja aiheuttajaelintarviketta on vaikea jäljittää pitkän inkubaatioajan vuoksi.

Vuosien 1996 - 1999 projekteissa^(5, 6 ja 7) tutkittiin *L. monocytogenes* -bakteerin lisäksi salmonella, *S. aureus*, *Bacillus cereus*, koliryhmän bakteerit ja kokonaispesäkeluku ja vuoden 1998 tutkimuksessa lisäksi *E. coli* O157 sekä hiivat ja homeet. Tällöinkin ainoastaan muutaman näytteen hygieeninen laatu todettiin huonoksi joko suuren *S. aureus* -pitoisuuden, koliryhmän bakteereiden pitoisuuden tai kokonaismikrobipitoisuuden vuoksi.

1.4 YHTEENVETO

Raakamaidosta valmistettujen pehmeiden ja puolikovien juustojen mikrobiologisen laadun tutkiminen oli yksi EUn yhteisistä valvontaohjelmista vuonna 2004. Valtakunnalliseen valvontaohjelmaan kuuluvassa hankkeessa (EVO 2004) selvitettiin *Listeria monocytogenes* -bakteerin esiintymistä pastöroidusta maidosta valmistetuissa pehmeissä juustoissa.

Projektit toteutettiin Elintarvikeviraston (EVI), Eläinlääkintä- ja elintarviketutkimuslaiton (EELA), kuntien elintarvikevalvontaviranomaisten ja virallisten elintarviketutkimuslaitosten yhteistyönä.

Raakamaitojuustoprojektissa tutkittiin yhteensä 48 juustoerää, joista 18 erän näytteet oli otettu valmistuspaikoista ja 30 erän näytteet myyntipaikoista tai ensisaapumispaikoista. Yhteensä tutkittiin 150 osanäytettä. Pastöroidusta maidosta valmistettujen juustojen tutkimusprojektissa tutkittiin yhteensä 66 juustoerää, joista 21 erän näytteet oli otettu valmistuspaikoista ja 45 erän näytteet myyntipaikoista tai ensisaapumispaikoista. Yhteensä tutkittiin 132 osanäytettä.

Tulokset osoittivat, että markkinoilla olevien kotimaisten ja ulkomaisten, raakamaidosta valmistet-

tujen pehmeiden ja puolikovien juustojen mikrobiologinen laatu on hyvä. Salmonellaa tai termofiilisiä kampylobakteereita ei todettu yhdessäkään näytteessä. Tosin kotimaisissa pienjuustoloissa saattaa esiintyä hygieniaongelmia; valmistuspaikoista otetuista 18 valmistuserästä todettiin 3 tuorejuustoerää (16,7 %) huonolaatuisiksi joko *L. monocytogenes* -bakteerin ja/tai *S. aureus* -bakteerin esiintymisen vuoksi. Pastöroidusta maidosta valmistetuissa pehmeissä eikä puolikovissa, ei kotimaisissa eikä ulkomaisissakaan juustoissa esiintynyt *L. monocytogenes* -bakteeria.

Projekteissa tutkittiin yhteensä 114 juustoerää ja 282 osanäytettä. Pehmeitä ja puolikovia juustoja voidaan näiden tulosten perusteella pitää turvallisina. Pienjuustoloiden raakamaidosta valmistamiin tuorejuustoihin saattaa kuitenkin liittyä riski saada *L. monocytogenes* -tartunta.

KIITOKSET

EVI ja EELA kiittävät näytteitä ottaneiden 36 kunnan elintarvikevalvontaviranomaisia ja virallisia elintarviketutkimuslaitoksia hyvästä yhteistyöstä.

1 Pehmeiden ja puolikovien juustojen mikrobiologinen turvallisuus

1.5 VIITTEET

- (1) Komission suositus (2004/24/EY) virallista elintarvikkeiden tarkastusta koskevasta yhteen sovitetusta ohjelmasta vuodeksi 2004. Euroopan unionin virallinen lehti L 6 10.1.2004 http://europa.eu.int/eur-lex/pri/fi/oj/dat/2004/L_006/L_00620040110fi00290037.pdf
- (2) Hatakka, M., Kostamo, P., Lääkkö, E., Pitkänen, J. ja Suojanen, A. 2003. Valtakunnallinen elintarvikevalvontaohjelma 2004. Elintarvikeviraston julkaisuja 3/2003. 22 s.
- (3) Elintarvikeviraston kirje 1290/31/04 11.6.2004
- (4) Elintarvikevirasto. 2002. Elintarvikkeiden mikrobiologiset tutkimukset, Opas. 35 s.
- (5) Hatakka, M., Pirhonen, T. 1999. *Listeria* harvinainen juustoissa. Elintarvikevalvonta 3-99, s. 25.
6. Keto, R., Rantala, M. 1998. Leipäjuustojen mikrobiologinen laatu ja turvallisuus. Elintarvikevirasto, Tutkimuksia 5/1998.
7. Pirhonen, T. 1998. Kaupan pidettävän tuorejuuston ja kypsytettyjen pehmeiden juustojen mikrobiologien laatu. Elintarvikevirasto, Tutkimuksia 5/1998.
8. Johansson, T. 2000. *Listeria monocytogenes* -bakteerin esiintyminen ja käyttäytyminen elintarvikkeissa. Ajankohtaiset elintarvikepatogeenit - *Listeria*. 25.1.2000, Sokos Hotel Vantaa, Insko-seminaarit Y101201.
9. Kansanterveyslaitos. 2005. Tartuntataudit Suomessa 1995-2004. Kansanterveyslaitoksen julkaisuja, KTL B12/2005, Edita Prima Oy, Helsinki. 78 s.



1 Pehmeiden ja puolikoviin juustojen mikrobiologinen turvallisuus

LIITE

Suunnitelma raakamaitojuustoprojektin (EU-projekti) ja valtakunnalliseen valvontaohjelmaan kuuluvan juustoprojektin (EVO 2004) näytteenottajista, näytemääristä ja näytteenottoaikoista tutkimuslaboratorioittain ryhmiteltynä

Tutkimuslaboratorio	A. EU-raakamaitojuustot (tutkitaan 5 bakteerilajia)				B. EVO2004 - pehmeät juustot (tutkitaan listeria)			
	Näytteenottaja	eriä,	näytteitä,	yht.	Näytteenottaja	eriä,	näytteitä,	yht.
TURKULAB	V	Kaarinan-Piikkiön ky	1 x 5	5	Somero	1 x 2	2	
		Laitilan-Pyhärannan ky	3 x 5	15	Härkätien ky	1 x 2	2	
	K E	Turku	3 x 2	6	Turku	2 x 2	4	
Turku		5 x 2	10	Turku	3 x 2	6		
PORILAB	V	Rauman ky	1 x 5	5	Luoteis-Satakunnan ky	1 x 2	2	
		Kiikoinen, Lavia, Suomen.	1 x 5	5	Kiikoinen, Lavia, Suomen.	1 x 2	2	
		Kankaanpään seudun ky	1 x 5	5	Kristiinan seudun ky	2 x 2	4	
K	Pori	2 x 2	4	Pori	3 x 2	6		
ANALYCEN	V	Ikaalinen	1 x 5	5	Mouhijärvi	1 x 2	2	
		Vammalan ja Äetsän ky	5 x 5	25	Etelä-Pirkanmaan ky	1 x 2	2	
		Huittisten ky	1 x 5	5	Huittisten ky	1 x 2	2	
		Orivesi	3 x 5	15	Orivesi	1 x 2	2	
SEINÄJOKI	V			Jalasjärvi	1 x 2	2		
				Seinäjoen ky	1 x 2	2		
				Alahärmä	1 x 2	2		
OULU	V	Kuusamo	1 x 5	5	Muhos	1 x 2	2	
		Hyrnsalmi	1 x 5	5	Vaala	1 x 2	2	
		Liminka	1 x 5	5				
		Oulaisten ky	1 x 5	5				
K	Oulu	4 x 2	8	Oulu	4 x 2	8		
JOENSUU	V			Joensuu	1 x 2	2		
				Lieksa	1 x 2	2		
KUOPIO	V			Ilomantsi	1 x 2	2		
				Sisä-Savon ky	1 x 2	2		
JYVÄSKYLÄ	V			Ilmalmen ky	1 x 2	2		
				Kuopio	4 x 2	8		
VANTAA	K E	Hankasalmi	1 x 5	5	Äänesseudun ky	1 x 2	2	
		Joutsan seudun ky	1 x 5	5	Keuruu	1 x 2	2	
		Vantaa	6 x 2	12	Vantaa	5 x 2	10	
		Vantaa	8 x 2	16	Vantaa	5 x 2	10	
HELSINKI	V	Tuusula	2 x 2	4	Tuusula	2 x 2	4	
		Espoo	6 x 2	12	Espoo	5 x 2	10	
					Sipoo	3 x 2	6	
					Kirkkonummi	1 x 2	2	
HÄMEENLINNA	V K	Helsinki	6 x 2	12	Helsinki	5 x 2	10	
		Helsinki	8 x 2	16	Helsinki	5 x 2	10	
HÄMEENLINNA	V K				Forssan s.ky	1 x 2	2	
		Hämeenlinnan s.ky	3 x 2	6	Hämeenlinnan s.ky	3 x 2	6	
Yhteensä			82	233		78	156	

V = näytteenotto valmistuspaikasta K = näytteenotto vähittäismyynnistä E = näytteenotto ensisaapumispaikasta

2 Patogeenisten bakteerien esiintyminen mansikoissa

2

PATOGEENISTEN BAKTEERIEN ESIINTYMINEN MANSIKOISSA

Marjaana Hakkinen

2.1 JOHDANTO

Viime vuosina mansikkaa on viljelty Suomessa vajaalla 3 000 tilalla n. 4 000 hehtaarin alueella. Vuosittainen sato on ollut n. 10 miljoonaa kiloa. Yli 90 % sadosta on päätynyt kuluttajille tuoremarjana joko vähittäismyynnin kautta tai itsepoimintana suoraan viljelyksiltä⁽¹³⁾.

Kesäaikaan mansikat nautitaan tuoreina mahdollisimman pian poiminnan jälkeen, eikä niitä yleensä pestä. Vaikka viljelyssä käytetään erilaisia katteita, mansikat voivat olla kosketuksissa multa, jolloin maassa esiintyviä patogeenisiä bakteereita kuten *Listeria monocytogenes*-bakteeria, voi joutua marjojen pinnalle. Mansikat houkuttelevat myös lintuja ja muita luonnoneläimiä ja ne voivat saastua eläinten ulosteissa esiintyvillä bakteereilla kuten salmonellalla, kampylobakteereilla ja yersinioilla. Lisäksi kastelu kontaminoituneella pintavedellä voi levittää patogeenisiä bakteereita mansikoihin.

Vuonna 2002 selvitetystä kampylobakteeri-epidemiassa todettiin ainoaksi sairastuneita yhdistäneeksi tekijäksi puutarhamansikoiden syönte suoraan pellolta sairastumista edeltäneinä päivinä⁽⁶⁾. Salmonellan, kampylobakteerin ja *L. monocytogenes*-bakteerin on todettu säilyvän mansikan pinnalla riittävän kauan, joten ne voivat aiheuttaa riskin kuluttajalle^(1, 8, 9, 10).

Elintarvikeviraston sekä Itä- ja Länsi-Suomen lääninhallituksen vuodelle 2004 tekemän tulosopimuksen mukaisesti ko. lääninhallitukset toteuttivat projektin, jossa tutkittiin salmonellan, *L. monocytogenes*-bakteerin, kampylobakteerin sekä *Yersinia enterocolitica* ja *Yersinia pseudotuberculosis*-bakteerien esiintymistä tuoreissa mansikoissa. Eläinlääkintä- ja elintarviketutkimuslaitos EELA oli mukana projektissa asiantuntijana ja teki *Yersinia*-tutkimukset.

2.2 NÄYTTEENOTTO JA TUTKIMUSMENETELMÄT

Projekti toteutettiin Länsi- ja Itä-Suomen läänien alueella siten, että ko. lääneissä kuntien elintarvikevalvontaviranomaiset ottivat kuntansa alueella olevilta viljelmiltä näytteet ja toimittivat ne laboratorio-tutkimuksiin lääninhallituksen ohjeiden mukaisesti. Näytteitä otettiin yhteensä 142 kpl 29 viljelmältä. Länsi-Suomen läänin alueelta projektiin osallistui 9 kuntaa, jotka toimittivat 9 tilalta yhteensä 43 mansikkanäytettä tutkittavaksi. Tiloilla käytiin otamassa näytteitä 2 - 4 kertaa. Itä-Suomen lääninhallituksen alueella projekti toteutettiin 10 kunnas-

sa/kuntayhtymässä, joissa 20 tilalta otettiin yhteensä 99 näytettä 2 - 5 näytteenottokäynnillä. Länsi-Suomen läänin alueella näytteenotto ajoittui kesäheinäkuulle ja Itä-Suomen läänissä heinä-elokuulle. Kolme tilaa, joilta otettiin näytteitä, viljeli mansikkaa luonnonmukaisin menetelmin. Muut 26 tilaa käyttivät tavanomaisia viljelymenetelmiä.

Näytteenottajia pyydettiin selvittämään myös mahdollisten haittalintujen esiintymistä viljelmillä.

2 Patogeenisten bakteerien esiintyminen mansikoissa

Salmonella, kampylobakteeri ja *L. monocytogenes* tutkittiin Turun kaupungin elintarvikelaboratoriossa, Joensuun kaupungin elintarvike- ja ympäristölaboratoriossa ja Kuopion kaupungin ympäristöterveyslaboratoriossa. **Taulukossa 1** on esitetty patogeenien tutkimuksissa käytetyt menetelmät.

Taulukko 1. Patogeenien tutkimuksissa käytetyt menetelmät

Patogeeni	Tutkimusmenetelmä
<i>Campylobacter jejuni/coli</i>	NMKL 119:1990, muunnos
<i>Listeria monocytogenes</i> , kvalitatiivinen	VIDAS LMO2/03, Biomérieux tai ISO 11290 - 1:1996, muunnos
<i>Listeria monocytogenes</i> , kvantitatiivinen	ISO 11290 - 2:1998, muunnos
<i>Salmonella</i> spp.	VIDAS SLM:03, Biomérieux tai NMKL 71:1999
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ISO 10273:2003, muunnos
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	EELA 3503, sisäinen menetelmä

2.3 TULOKSET

Salmonellaa tai yersiniaa ei todettu yhdessäkään näytteessä. Yhdestä näytteestä todettiin *Campylobacter jejuni*, kahdesta *L. monocytogenes* serotyyppi ½ A ja yhdestä *L. monocytogenes*

serotyyppi 4B. *L. monocytogenes* -bakteeria oli näytteissä alle 10 pmy/g.

Haittaintuja esiintyi lähes kaikilla viljelmillä ainakin ajoittain.

2.4 TULOSTEN TARKASTELU

Tässä tutkimuksessa alle 0,7 %:ssa näytteistä todettiin *C. jejuni* ja 2 %:ssa näytteistä *L. monocytogenes*. Listerian määrä positiivisissa näytteissä oli pieni. Tuloksen perusteella ei mansikkaa voida pitää patogeenisten bakteerien kannalta riskielintarvikkeena. Samankaltainen tulos saatiin myös norjalaisessa tutkimuksessa, jossa 0,6 %:sta mansikkanäytteistä todettiin *L. monocytogenes* -bakteeria⁽⁸⁾ sekä amerikkalaisessa tutkimuksessa, jossa salmonellaa ei todettu tavanomaisesti eikä luonnonmukaisesti viljellyistä mansikoista⁽¹¹⁾.

L. monocytogenes -bakteerin on osoitettu säilyvän tuoreiden kokonaisten ja paloitetujen mansikoiden

pinnalla huoneenlämmössä ja jääkaappilämpötilassa, vaikka se ei pysty niissä lisääntymään⁽¹⁾. Myös pakastetuissa mansikoissa sen on todettu säilyvän ainakin neljä viikon ajan. Mansikan mehun sisältämien happojen on todettu vaurioittavan ja inaktivoivan *L. monocytogenes* -bakteeria⁽²⁾. Pieni positiivisten näytteiden määrä tässä tutkimuksessa voi johtua näytteenkäsittelystä. Äskettäin julkaistun tutkimuksen⁽³⁾ mukaan *L. monocytogenes* voidaan varmimmin todeta mansikoista pesemällä marjat puskuroidulla saliinilla ja tutkimalla bakteeri pesuvedestä, jolloin mansikkamehun inaktivoiva vaikutus voidaan välttää.

2 Patogeenisten bakteerien esiintyminen mansikoissa

Kesä 2004, jonka aikana näytteet otettiin, oli hyvin sateinen, mikä voisi edistää erityisesti kuivumiselle herkän kampylobakteerin säilymistä mansikoiden pinnalla. Tässä tutkimuksessa vain yhdestä näytteestä todettiin *C. jejuni*, vaikka bakteeri on yleinen linnuilla ja muilla luonnoneläimillä⁽¹²⁾. Toisaalta runsaat sateet voivat huuhtoa patogeeneja pois marjojen pinnalta.

Tässä tutkimuksessa selvitettiin kotimaisten mansikoiden turvallisuutta patogeenisten bakteerien suhteen. Kuumentamattomat marjat, yleensä ulkomaiset vadelmat, ovat olleet välittäjinä norovirus-epidemoissa, joita Suomessa on raportoitu vuosittain 1990-luvun lopulta lähtien^(4, 5, 6, 7). Myös mansikat voivat kontaminoitua noroviruksella, jos niitä kastellaan tai huuhdellaan viruksen saastuttamalla vedellä.



2.5 VIITTEET

- (1) Flessa S., Lusk D.M. ja Harris L.J., 2005. Survival of *Listeria monocytogenes* on fresh and frozen strawberries. *Int. J. Food Microbiol.* 101, 255-262.
- (2) Han Y. ja Linton RH, 2004. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in strawberry juice and acidified media at different pH values and temperatures. *J. Food Prot.* 67 (11), 2443-2449.
- (3) Han Y., Linton R.H. ja Nelson P.E. 2004. Effects of recovery, plating and inoculation methods on quantification of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* from strawberries. *J. Food Prot.* 67 (11), 2436-2442.
- (4) Hatakka M., Johansson T., Kuusi M., Loukaskorpi M., Maijala R. ja Nuorti P. 2002. Ruokamyrkytykset Suomessa vuonna 2001. *Elintarvikeviraston julkaisuja* 4/2002.
- (5) Hatakka M., Johansson T., Kuusi M., Maijala R., Pakkala P. ja Siitonen A. 2004. Ruokamyrkytykset Suomessa vuonna 2003. *Elintarvikeviraston julkaisuja* 7/2004.
- (6) Hatakka M., Johansson T., Maijala R., Pakkala P. ja Siitonen A. 2003. Ruokamyrkytykset Suomessa vuonna 2002. *Elintarvikeviraston julkaisuja* 5/2003.
- (7) Johansson, T., Markkula, A., Hatakka, M., Oivanen, L. & Maijala, R. 2003. Opas elintarvikkeiden ja talousveden mikrobiologista vaaroista. *EVI-EELA julkaisu* 1/2003.
- (8) Johannessen G.S., Loncarevic S. ja Kruse H., 2002. Bacteriological analysis of fresh produce in Norway. *Int. J. Food Microbiol.* 77, 199-204.
- (9) Knudsen D.M., Yamamoto A. ja Harris L.J. 2001. Survival of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 on fresh and frozen strawberries. *J. Food Prot.* 64 (10), 1483-1488.
- (10) Kärenlampi R. ja Hänninen M-L. 2004. Survival of *Campylobacter jejuni* on various fresh produce. *Int. J. Food Microbiol.* 97, 187-195.
- (11) Mukherjee A., Speh D., Dyck E. ja Diez-Gonzalez F., 2004. Preharvest evaluation of *koli*-forms, *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 in organic and conventional produce grown by Minnesota farmers. *J. Food Prot.* 67 (5), 894-900.
- (12) Rosef O, Gondrosen B & Underdal B, 1983. Isolation and Characterization of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from Domestic and Wild Mammals in Norway. *Appl. Environ. Microbiol.* 46 (4), 855-859.
- (13) Salo H. Hedelmän- ja marjanviljelijäin liitto. Suullinen tiedonanto 14.1.2005.

3 Mausteiden bakteriologinen ja toksikologinen turvallisuus

3

MAUSTEIDEN BAKTERIOLOGINEN JA TOKSIKOLOGINEN TURVALLISUUS

Merja Lumme, Anja Hallikainen
ja Tuula Pirhonen

3.1 JOHDANTO

EU:n Komission suositukseen virallisesta elintarvikkeiden tarkastusta koskevasta yhteen sovite-
tusta ohjelmasta vuodeksi 2004⁽¹⁾ sisältyi hanke
mausteiden bakteriologisesta ja toksikologisesta
turvallisuudesta. Hankkeen tarkoituksena oli tark-
kastuksin, näytteenoton ja analysoinnin avulla ar-
vioida mausteiden bakteriologista ja toksikologista
laatua sekä kerätä tietoa patogeenisten bakteeri-
en mm. *Salmonellan* esiintymisestä mausteissa.
Lisäksi oli tarkoitus varmistaa, että mausteiden
aflatoksiinipitoisuudet eivät ylitä yhteisön lainsää-
dännössä asetettuja enimmäismääriä ja tutkia oli-

vatko mausteet säteilytettyjä. Hanke oli kohdistet-
tu niin mausteiden tuonti-, tuotanto- ja pakkaus-
yrityksiin, tukkukauppoihin kuin vähittäismyynti-
tiinkin. Suomi osallistui hankkeeseen pienimuotoi-
sella kahdeksaan tuontiyritykseen ja neljään
vähittäismyymälään kohdistetulla projektilla, jon-
ka toteuttivat Etelä- ja Länsi-Suomen läänin kun-
nat kesä-elokuussa 2004. Mikrobiologiset labora-
toriotutkimukset tehtiin Helsingissä, Vantaalla ja
Hämeenlinnassa sekä termofiilisten basillusitiöiden
määritys EELAssa. Aflatoksiinimääritykset ja
säteilyttämistutkimukset tehtiin Tullilaboratoriossa.

3.2 TARKASTUKSET, NÄYTTEENOTTO JA TUTKIMUSMENETELMÄT

Tarkastusta varten laadittiin lomake, johon kirjat-
tiin tietoja tarkastuskohteiden mausteiden hankin-
nasta, mausteiden mikrobiologisen laadun varmis-
tamiseksi tehdyistä omavalvontatoimenpiteistä ja
selvitys mausteiden mahdollisesta säteilyttämi-
sestä (**Liite 1**; sivu 21). Lomakkeeseen merkittiin
myös tehdyt toimenpiteet. Tarkastusten yhteydes-
sä otettiin näytteitä kahdeksasta tukkuliikkeestä
ja neljästä vähittäismyymälästä. Näytteitä otettiin
erilaisista pippureista, paprikakasveista ja yrtti-
mausteista sekä inkivääristä, kurkumasta ja kaneli-
sta, yhteensä 37 mauste-erästä.

Mikrobiologisiin tutkimuksiin (*Salmonella* spp.,
Bacillus cereus, *Clostridium perfringens* ja *Entero-
bacteriaceae*) otettiin 22 mauste-erästä viisi osa-
näytettä sisältävä näyte. EU Komission suosit-
telemat tutkimusmenetelmät ja arviointiperusteet
tutkittaville mikrobeille on esitetty **taulukossa 1**.
Enterobacteriaceae -bakteerien osalta näytteissä
määritettiin niiden määrää EU:n Komission suosi-
tuksen 2004/24/EY mukaisesti (≤ 100 pmy/g tai
 > 100 pmy/g). *Enterobacteriaceae* -bakteerien osal-
ta ei siis suoritettu varsinaista laadun arvostelua.
EU:n Komission suosituksen mukaan tuloksen

3 Mausteiden bakteriologinen ja toksikologinen turvallisuus

Taulukko 1. Komission suosittelemat tutkimusmenetelmät ja arviointiperusteet tutkittaville mikrobeille

Mikrobi	Menetelmä	n (kpl)	c (kpl)	m (pmy/g)	M (pmy/g)
<i>Salmonella</i> spp.	ISO 6579:2002	5	0	ei saa esiintyä 25 g:ssa	
<i>Bacillus cereus</i> ¹	ISO 7932:1993	5	1	1 000	10 000
<i>Clostridium perfringens</i> ¹	ISO 7937:1997	5	1	100	1 000
Enterobacteriaceae ²	ISO 7932:1993	5	1	≤ 100	>100

¹ *Bacillus cereus* ja *Clostridium perfringens* tulosta pidetään hyvänä (tyyydyttävä), jos kaikki havaitut arvot (n=osanäytteiden määrä) ovat suuruudeltaan <m. Tulosta pidetään välttävä (hyväksyttävä), jos arvoista (n) on m:n ja M:n välillä enintään annettua arvoa c määrä. Tulosta pidetään huonona (epätyyydyttävä), jos jokin arvo on >M tai tutkimustulosten määrä on m:n ja M:n välillä yli annettua arvoa c määrän.

² Arvostelu/luokittelu perustuu EU:n Komission suositukseen 2004/24/EY.

ollessa alle 100 pmy/g tulisi epäillä mauste-erän olevan säteilytetty tai muutoin vastaavasti käsitelty. Tutkimustuloksen ollessa yli 10 000 pmy/g tulisi mauste-erän hygieenistä laatua epäillä ja selvittää mistä kohonneet pitoisuudet ja laadun heikkeneminen on johtunut. Termofiilisten basilusten itiöpitoisuudelle ei ole annettu arviointiperusteita, mutta niiden on todettu enenevässä määrin aiheuttavan ruokamyrkyksiä.

Euroopan Unionin virallisessa lehdessä 10.1.2004 esitetystä taulukossa tutkimustulokset arvioitiin kolmeen ryhmään tyydyttävä (satisfactory), hyväksyttävä (acceptable) ja epätyyydyttävä (unsatisfactory). Elintarvikeviraston valvontaoppaassa 4/2002 kuitenkin suositellaan, elintarvikkeiden laadun arvioinnin yhtenäistämiseksi, käytettäväksi kolmiportaista arvostelua hyvä, välttävä ja huono. Tämän johdosta tässä projektissa käytettiin Elintarvikeviraston suosittelemaa arvosteluasteikkoa. Komission suosittelemista menetelmistä olivat käytössä Vantaalla ISO 7932:1993 / *Bacillus cereus* ja Hämeenlinnassa ISO 6579 / *Salmonella* spp. Termofiilisten basillusten itiöpitoisuus määritettiin 55°C:ssa naudanveriagarilla näytteistä, joista vegetatiivisolut oli tuhottu kuumentamalla 10 min

80°C:ssa. Muiden näytteiden tutkimisessa käytettiin akkreditoituja NMKL:n menetelmiä.

Aflatoksiinit (B₁, B₂, G₁ ja G₂) määritettiin 30 näytteestä ja laskettiin näiden summa. Aflatoksiinit tutkittiin SFS-EN 14123 -menetelmää vastaavalla menetelmällä. Komission asetuksen 2174/2003 mukaan aflatoksiini B₁:n suurimmaksi sallituksi pitoisuudeksi on annettu 5 µg/kg ja aflatoksiinien summan enimmäispitoisuudeksi 10 µg/kg tietyille mausteille: paprikakasvit, pippurit, muskotti, inkivääri ja maustekurkuma⁽²⁾. Seuraavat mausteet, joille ei ole annettu enimmäispitoisuusrajaa aflatoksiineille, olivat myös mukana tutkimuksessa: oregano, basilika, kaneli, curry ja neilikka.

Kuusi näytettä tutkittiin mauste-erien mahdollisen säteilyttämisen osoittamiseksi. Tutkimus tehtiin fotoluminesenssiin (PSL) perustuvalla Tullilaboratorion menetelmällä TLAB-YK033, joka vastaa kansainvälistä prEN 13751:1999 (CEN standardi 13751) menetelmää. Mausteiden säteilyttäminen on sallittua, mutta käsittelystä tulee ilmoittaa tuotteiden pakkausmerkinnöissä, esitteissä ja erää koskeissa asiakirjoissa⁽³⁾.

3 Mausteiden bakteriologinen ja toksikologinen turvallisuus

3.3 TULOKSET

3.3.1 Tarkastukset

Lähes 90 % tarkastuksen kohteena olleista mauste-eristä oli tullut Suomeen toisen EU:n jäsenvaltion kautta, mutta mausteita tuotiin myös suoraan kolmasmaatuontina. Mausteet olivat alun perin lähöisin mm. Kiinasta, Egyptistä, Intiasta, Brasiliasta ja Indonesiasta. Mauste-erien suuruudet vaihtelivat 100 kg:sta useisiin tuhansiin kiloihin. Vähittäismyymälöihin mausteet hankittiin Suomessa toimivalta tavarantoimittajalta ja myymälöihin kerralla toimitetut mauste-erät olivat korkeintaan muutamien kilon (kg) suuruisia.

3.3.2 Mikrobiologinen laatu

Mausteiden mikrobiologinen laatu varmistettiin tuontiyrityksessä erän mukana seuraavasta tutkimustodistuksesta, tutkimalla erän mikrobiologinen laatu Suomessa, tuotespesifikaatiolla tai näiden toimien yhdistelmällä. Vähittäismyymälöiden oma-valvonnassa ei ollut mausteiden mikrobiologisen laadun seurantaa, vaan vähittäismyymälät ilmoittivat luottavansa maustetoimittajien tietoihin ja laadunvalvontaan.

Mikrobiologisesti tutkittujen mauste-erien määrät ja erien laatu tutkimustulosten perusteella on esitetty **taulukossa 2**. Erät on arvioitu taulukon 1 ohjeen mukaisesti. Salmonellaa ei todettu yhdessäkään näyte-erässä. Kohonneita pitoisuuksia *C. perfringens*ä todettiin yhdessä (4%) erässä. Tulosten perusteella mauste-erä arvioitiin huonoksi, koska annetun alemman raja-arvon (100 pmy/g) ylittäneiden osanäytteiden (c) määrä oli kolme. Annetun raja-arvon (10 000 pmy/g) ylittänyt määrä *B. cereusta* todettiin yhdessä (5%) mauste-erässä ja mauste-erä todettiin huonoksi. Kaksi (9%) mauste-erää arvioitiin välttäväksi *B.cereus* -bakteerin osalta. EU komission antaman ylemmän arvon, 100 pmy/g, ylittäneitä määriä *Enterobacteriaceae* -bakteeria todettiin kahdeksassa (36 %) tutkitussa mauste-erässä. Näistä mauste-eristä kolmen erän tutkimustulos ylitti 10 000 pmy/g ja erien laatua voidaan pitää huonona/epätyydyttävänä.

Termofiilisten basillusten itiöt määritettiin 88 näytteestä, jotka edustivat 19 erää. Jos luokitteluperusteena käytetään *B. cereus* -bakteerin raja-arvoja, eristä 11 kpl (58 %) oli hyviä, 1 kpl (5 %) välttävä ja 7 kpl (37 %) huonoja. Yhden mustapippurierän kaikissa 5 näytteessä itiöpitoisuus oli yli miljoona pmy/g.

Taulukko 2. Mikrobiologisesti tutkittujen mauste-erien laatu

Arvosteluperuste	N (kpl)	Erän laatu		
		hyvä/ tyydyttävä	välttävä/ hyväksyttävä	huono/ epätyydyttävä
<i>Salmonella</i> spp.	22	22 (100%)	- ¹	0
<i>Bacillus cereus</i>	22	19 (86%)	2 (9%)	1 (5%)
<i>Clostridium perfringens</i>	22	21 (96%)	0	1 (4%)
<i>Enterobacteriaceae</i>	22	14 (64%)	- ¹	8 (36%) ²

¹ mikrobille ei ole annettu ko. arvoa

² annetun ylemmän arvon ylittäneiden osuus näytteistä.

3 Mausteiden bakteriologinen ja toksikologinen turvallisuus

Taulukko 3. Mausteiden aflatoksiinipitoisuudet

Mauste	N (kpl)	Näytteet, joissa todettiin aflatoksiinia (kpl)	Aflatoksiini B ₁ µg/kg			Aflatoksiinit (B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂) yhteensä µg/kg		
			< 2	2-5	> 5	< 4	4-10	> 10
Paprikakasvit	8	7	6	2	0	7	1	0
Pippurit	10	0	10	0	0	10	0	0
Inkivääri/kurkuma	4	1	4	0	0	4	0	0
Muut mausteet ja yrtit	8	0	8	0	0	8	0	0
Yhteensä	30	8						

3.3.3 Säteilytys

Kaikki tuontiyrietykset ilmoittivat tarkastuksen yhteydessä, että mauste-eriä ei ole säteilytetty. Mausteiden toimittajien kanssa säteilyttämättömyydestä oli tehty suullinen tai kirjallinen sopimus tai mausteiden toimittajalta oli saatu kirjallinen todistus asiasta. Vähittäismyymälöissä ei ollut tietoa mausteiden mahdollisesta säteilyttämisestä.

Tullilaboratorion tulosten perusteella yksikään kuudesta tutkitusta näytteestä ei sisältänyt säteilytettyä ainesta.

3.3.4 Mausteiden aflatoksiinipitoisuus

Aflatoksiinimäärittysten tulokset on esitetty **taulukossa 3**. Kahdeksan näytettä sisälsi aflatoksiineja: näistä seitsemän oli paprikansukuisia maustenäytteitä ja yksi inkiväärinäyte. Yhdenkään mausteen aflatoksiinipitoisuus ei kuitenkaan ylittänyt säädettyjä raja-arvoja (aflatoksiini B₁ 5 µg/kg ja aflatoksiinien B₁+B₂+G₁+G₂ summa 10 µg/kg)^(2,4,5). Ne tutkitut mausteet, joille ei ole säädettyjä enimmäispitoisuusrajoja, eivät sisältäneet lainkaan aflatoksiineja.

3.4 TOIMENPITEET

Tutkimustulokset toimitettiin näytteenottopisteisiin. Tarkastuksissa todettujen puutteiden ja laboratorio-tutkimusten johdosta annettiin yhdeksän kirjallista huomautusta, joista kahdeksan liittyi omavalvonnan parantamiseen mm. jäljitettävyyden ja

mikrobiologisen laadun varmentamiseksi. Kaikille yrityksille ja vähittäismyymälöille annettiin ohjeita mausteita koskevista pakkausmerkinnöistä sekä mausteiden säteilyttämisestä ja siihen liittyvästä lainsäädännöstä.

3 Mausteiden bakteriologinen ja toksikologinen turvallisuus

3.5 VIITTEET

- (1) Komission suositus (2004/24/EY) virallista elintarvikkeiden tarkastusta koskevasta yhteen sovitetusta ohjelmasta vuodeksi 2004. Euroopan unionin virallinen lehti L 6.10.1.2004. http://europa.eu.int/eur-lex/pri/fi/oj/dat/2004/l_006/l_00620040110fi00290037.pdf
- (2) Komission asetus (2174/2003) asetuksen (EY) N:o 466/2001 muuttamisesta aflatoksiinien osalta.
- (3) Kauppa- ja teollisuusministeriön asetus (852/2000) elintarvikkeen käsittelystä ionisoivalla säteilyllä.
- (4) Komission direktiivi (98/53/EY) näytteenotto- ja määritysmenetelmistä tiettyjen elintarvikkeissa olevien vieraiden aineiden enimmäismäärien virallista tarkastusta varten.
- (5) Kauppa- ja teollisuusministeriön asetus (237/2002) eräiden vieraiden aineiden enimmäismääristä elintarvikkeessa.



3 Mausteiden bakteriologinen ja toksikologinen turvallisuus



ELINTARVIKEVIRASTO

Liite 1

EU mausteet 04 -projekti

Päivämäärä _____

Tarkastus-/näytteenottokohde

Nimi _____

Osoite _____

tuonti/pakkaus/tukkukauppa mausteita käyttävä tuotantolaitos vähittäiskauppa

Tarkastaja/näytteenottaja

Nimi _____

Kunta/kuntayhtymä _____

Puhelin _____ Sähköposti _____

Mauste _____ Kauppanimi _____ Erätunniste _____

Mauste-erän hankinta

Oma (maahan)tuonti Tuontimaa _____ Alkuperämaa _____

Hankittu Suomesta Hankintapaikka _____

Hankitun erän suuruus _____ kg

Mausteen mikrobiologisen laadun seuranta

Miten mikrobiologisen laadun seuranta on huomioitu yrityksen omavalvonnassa

Erän mukana seuraa tutkimustodistus, joka voidaan yhdistää ko. erään

Tutkitut mikrobit _____

Erä on tutkittu Suomessa omavalvontana viranomaisvalvontana

Tutkitut mikrobit _____

Muu selvitys, mikä _____

Säteilytys

Yrityksen ilmoituksen mukaan

Erää ei ole säteilytetty, miten selvitetty _____

Erä on säteilytetty

Merkintä säteilytyksestä on

kuljetuspakkauksessa asiakirjassa vähittäispakkauksessa

Mahdollisesta säteilytyksestä ei ole tietoa

Erästä otettu näyte tarkastuksen yhteydessä

Tarkastuksen ja/tai laboratoriotutkimuksen johdosta tehdyt toimenpiteet

ei mitään

suullinen huomautus

kirjallinen huomautus

omavalvontaa parannettava

hallinnollinen seuraamus (EL 27, 29, 35, 36 §)

markkinoilta poistaminen (EL 31 §)

oikeustoimi (syyteharkinta, tuomioistuinkäsittely)

muu toimenpide

4 Salmonellan, kampylobakteerin ja *Escherichia coli* O157:n esiintyminen...

4

SALMONELLAN, KAMPYLOBAKTEERIN JA *ESCHERICHIA COLI* O157:N ESIINTYMINEN SISÄMARKKINAKAUPASSA TOIMITETUSSA LIHASSA JA RAAKALIHAVALMISTEISSA

Pirkko Kostamo, Marjaana Hakkinen, Maija Hatakka,
Henry Kuronen, Tuula Aalto ja Tuula Johansson

4.1 JOHDANTO

Suomen EU-liittymissopimuksen mukaisesti on maahamme toisista Euroopan unionin jäsenvaltioista toimitettavista naudan, sian ja siipikarjan lihalähetyksistä tutkittava salmonella alkuperälaitoksessa (EY:n neuvoston päätökset 95/409/EY, naudan- ja sianliha sekä 95/411/EY, siipikarjanliha) ja lihaerän mukana on oltava todistus salmonellatutkimuksesta. Suolattujen ja maustettujen lihojen eli raakalihavalmisteiden toimitusten mukana on puolestaan oltava raakalihavalmisteiden terveystodistus, joka sisältää myös salmonellatutkimustodistuksen. Ensisaapumispaikan on otettava omavalvontasuunnitelmansa mukaan lihalähetyksistä näytteitä salmonellojen ja muiden patogeenisten bakteerien tutkimiseksi.

Toisista EU-jäsenvaltioista toimitettiin maahamme ensisaapumisvalvonnan viranomaisten tekemien ilmoitusten mukaan vuonna 2003 naudanlihaa noin

2,3 milj. kg, sianlihaa 6,1 milj. kg, siipikarjanlihaa 2,2 milj. kg, muiden eläinten lihaa 1,1 milj. kg, siipikarjan raakalihavalmisteita 0,6 milj. kg ja muita raakalihavalmisteita (mm. suolatut raa'at joulukinkut) 3,6 milj. kg.

Elintarvikevirasto (EVI) toteutti vuonna 2003 yhteistyössä ensisaapumispaikkoja valvovien kunnallisten viranomaisten, valtion tarkastuseläinlääkärien ja virallisten elintarvike tutkimuslaitosten sekä Eläinlääkintä- ja elintarvike tutkimuslaitoksen (EELA) kanssa tutkimusprojektin, jonka tavoitteena oli kartoittaa salmonellan, kampylobakteerin ja *Escherichia coli* O157:n esiintymistä sisämarkkinakaupassa toimitetussa lihassa ja raakalihavalmisteissa ja tarkastaa samalla tavaraerien mukana seuraavia asiakirjoja. Tutkimustuloksia käytettiin valvonnan välineenä ja ensisaapumisvalvonnan ohjauksen suunnitteluun.

4.2 NÄYTTEENOTTO, LABORATORIOTUTKIMUKSET JA VALVONTATOIMENPITEET

Näytteenotto kohdistettiin niille paikkakunnille, joiden kautta tiedettiin tuotavan eniten naudan, sian, siipikarjan ja muiden eläinten lihaa sekä näistä valmistettuja raakalihavalmisteita ja jauhelihaa. Näytteitä pyydettiin ottamaan kaikkiaan 540 erästä yhteensä 1 080 kappaletta. Näytteenottoaika oli

huhtikuusta marraskuun loppuun. "Kuumennukseen" -merkittyä naudan- ja sianlihaa ei otettu näytteeksi, sillä näiltä eriltä ei edellytetä salmonellatodistusta. EVI lähetti näytteenotto- ja valvontaohjekirjeen yhteensä 19 valvontaviranomaiselle eri puolille maata ⁽¹⁾.

4 Salmonellan, kampylobakteerin ja *Escherichia coli* O157:n esiintyminen...

Näytteenotossa pyydettiin noudattamaan maa- ja metsätalousministeriön hygienialain mukaisesta näytteenotosta antamaa asetusta 3/EEO/2000. Valvontaviranomaisia pyydettiin näytteenoton yhteydessä tarkastamaan, että naudan-, sian- ja siipikarjanlihan erien mukana oli hyväksyttävä salmonellatodistus ja että poron, tarhatun riistan ja raakalihavalmisteiden erien mukana oli asianomainen terveystodistus.

Laboratoriotutkimukset tehtiin 12 eri puolilla maata sijaitsevassa laboratorioissa, joiden tässä tutkimuksessa käyttämät menetelmät olivat akkreditoituja. Näytteistä eristetyt salmonellakannat lähetettiin EELAn Kuopion tutkimusyksikköön serotyyppitettäväksi ja antibioottiherkkyysmäärittystä varten. Antibioottiherkkyysmäärittys tehtiin ainakin yhdelle eristetylle kannalle kutakin erää ja serotyyppiä kohden. Kampylobakteerikannat varmistettiin EELAn bakteriologian tutkimusyksikössä. Lihalajeista tutkitut patogeeneit ja niiden tutkimusmenetelmät on esitetty **taulukossa 1**.

Oulun ja Lapin läänin alueelta otetuista naudanlihanäytteistä ei tutkittu *E. coli* O157:H7-bakteeria, koska näytteet tutkineissa laboratorioissa ei ollut siihen tutkimusvalmiutta.

Kaikki siipikarjanliha- ja raakalihavalmistenäytteet sekä suurin osa naudan- ja sianlihanäytteistä olivat pakastettuja. Otokseen sisältyi muutama näyte tuoretta (pakastamatonta) saksalaista sian ulkofilettä ja yksi näyte tuoretta irlantilaista naudan halal-lihaa.

Valvontaviranomaisille annettiin ohjeeksi ryhtyä tarvittaviin maa- ja metsätalousministeriön eläimistä saatavien elintarvikkeiden ensisaapumispaikoissa tapahtuvasta valvonnasta antaman päätöksen⁽²⁾ mukaisesti toimenpiteisiin, mikäli tavaraerä oli arvosteltu elintarvikkeeksi kelpaamattomaksi tai sitä seuraavat asiakirjat olivat puutteelliset. Näytteen edustaman tavaraerän arviointikriteerit on esitetty **taulukossa 2**.

Taulukko 1. Lihalajeista tehdyt tutkimukset ja tutkimusmenetelmät

Patogeeni	Lihalaji	Menetelmät
<i>Salmonella</i> spp.	Naudanliha Siipikarjanliha Sianliha Muun eläimen liha Siipikarjan raakalihavalmisteet Muut raakalihavalmisteet ja jauheliha	ISO 6579:1993, muunnos ISO 6579:2002 NMKL 71:1999
<i>Campylobacter jejuni/coli</i>	Siipikarjanliha Siipikarjan raakalihavalmisteet	ISO/DIS 10272:1994, muunnos NMKL 119:1990
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Naudanliha Naudanlihaa sisältävät raakalihavalmisteet Jauhettu naudanliha	NMKL 164:1999, muunnos (sekä 6 - 8 h että 18-24 h rikastusaika) ISO 16654:2001, (18 - 24 h rikastusaika)

Taulukko 2. Tavaraerän hygieenisen laadun arviointi, mikäli näytteessä on todettu patogeenisia bakteereita

Bakteeri	Erän laatu
<i>Salmonella</i> spp.	huono, elintarvikkeeksi kelpaamaton, MMMp 879/1997
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	huono, elintarvikkeeksi kelpaamaton, hygienialaki 1195/1996
<i>Campylobacter jejuni/coli</i>	huono

4 Salmonellan, kampylobakteerin ja *Escherichia coli* O157:n esiintyminen...

4.3 TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU

Tutkimuksiin toimitettiin 608 näytettä 304 erästä eli suunniteltu näytteenotto toteutui vain 56 – prosenttisesti. Lihalajien kesken näytteenotto toteutui epätasaisesti: naudan lihaa saatiin hyvin näytteeksi, kun taas sianlihan ja siipikarjanlihan näytteenotto onnistui vain noin 50-prosenttisesti. Sianlihanäytteiden vähäistä määrää selittää se, että sitä tuodaan muutamille paikkakunnille paljon ”kuumennukseen” -merkinnöillä varustettuna, joten näytteenottoon ei näillä paikkakunnilla ryhdytty. Näytteenoton toteutuma tuoteryhmittäin käy esille **taulukosta 3**.

Naudanlihassa salmonellaa todettiin yhdessä näytteessä (N=188) eli yhdessä erässä (1,1 %) tutkituista 94 erästä. Tämä erä oli tuoreena toimitettua irlantilaisesta halal-naudan lihaa. *E. coli* O157-bakteeria ei todettu tutkituista naudanlihanäytteistä (N=180) eikä naudanlihaa sisältäneistä raakalihavalmisteista (N=44).

Sianlihassa salmonellaa todettiin kahdeksassa näytteessä (N=128), jotka olivat kuudesta erästä (9,4 %; N=64). Viisi salmonellapositiivista erää oli peräisin Saksasta ja yksi Belgiasta. Myös kaikki salmonellapositiiviset sianlihaerät olivat tuoretta (pakastamatonta) lihaa. Eurooppalaisissa tutkimuksissa salmonellaa on todettu esiintyvän 5,3 prosentissa teurastamojen sianruhoja⁽³⁾ ja 25 - 30 prosentissa myymälöihin toimitettua leikattua sianlihaa⁽⁴⁾. Yhdestä erästä saksalaista sianlihaa eristettiin multiresistentti *Salmonella Typhi-murium* FT104b. Tätä tyyppiä löytyy Suomessa yleensä ihmisistä ulkomailla saadun tartunnan seurauksena, mutta vuonna 2003 multiresistenttien FT104- ja FT104b-tyyppien aiheuttamia tartuntoja todettiin poikkeuksellisen paljon henkilöillä, jotka eivät olleet käyneet ulkomailla⁽⁵⁾.

Siipikarjanlihassa salmonellaa todettiin yhdessä näytteessä (N=124) eli yhdessä erässä (1,6 %) 62 tutkitusta erästä ja siipikarjan raakalihavalmisteissa kahdessa näytteessä (N=30), jotka oli-

vat kahdesta erästä (13,3%; N=15). Tässä tutkimuksessa salmonellan esiintyvyys siipikarjan lihassa ja siipikarjan raakalihavalmisteissa oli alhainen verrattuna muihin vastaaviin tutkimuksiin^(6, 7, 8). Osasyynä tähän lienee, että erää kohti otettiin vain kaksi osanäytettä.

Muiden eläinlajien lihassa esiintyi salmonellaa yhdessä 70 näytteestä (1,4 %) tutkituista 35 erästä. Positiivinen löydös oli australialaisesta kengurun lihasta. Muiden lihalajien raakalihavalmisteissa ei todettu salmonellaa. Salmonellan esiintyminen tutkituissa näytteissä on esitetty **taulukossa 4**.

Kaikki salmonella-lisävakuumien piiriin kuuluvat lihalajit huomioon ottaen salmonellaa esiintyi kahdeksassa erässä 220 erästä (3,6 %).

Kampylobakteereja todettiin 16 siipikarjanlihanäytteestä (N=124), jotka edustivat 12 erää (19,4 %) 62 näyte-erästä sekä yhdessä 15 tutkitusta siipikarjanlihavalmiste-erästä (6,7 %). *Campylobacter jejuni* todettiin 12 näytteestä ja *Campylobacter coli* viidestä näytteestä. Kampylobakteerin esiintyminen tutkituissa lihanäytteissä ja -erissä on esitetty **taulukossa 5**. Kampylobakteerin esiintyvyys tässä tutkimuksessa oli samaa tasoa kuin v. 2002 toteutetussa projektissa, jossa tutkittiin kampylobakteerin esiintyvyyttä suurtalouksissa käytetyssä siipikarjanlihassa⁽⁹⁾. Lukuisissa muualla tehdyissä tutkimuksissa kampylobakteerin esiintyvyys vähittäiskaupan broilerinlihassa on ollut huomattavasti suurempi: mm. Italiassa ja Britanniassa on raportoitu esiintyvyyden olevan 73 - 83 % vähittäiskaupan tuoreista näytteistä^(10, 11, 12) ja 71 % pakastetusta broilerinlihasta⁽¹²⁾. Kampylobakteerin esiintyvyys oli vähäisempää suolatoissa raakalihavalmisteissa (3,3 %; N=15) kuin siipikarjanlihassa (12,9 %; N=62).

Todetut salmonellaserotyypit ja kampylobakteerilajit lihalajeittain on esitetty **taulukoissa 6 ja 7**.

4 Salmonellan, kampylobakteerin ja *Escherichia coli* O157:n esiintyminen...

Taulukko 3. Näytteenoton toteutuma tuoteryhmittäin

Näytemäärä	Naudan liha	Sian liha	Siipikarjan liha	Muun eläimen liha	Siipikarjan raakaliha-valmiste	Muun eläimen raakaliha-valmiste	Yhteensä
Suunniteltu	200	230	230	170	140	110	1080
Toteutunut	188	128	124	70	30	68	608
	94 %	56 %	54 %	41 %	21 %	62 %	56 %

Taulukko 4. Salmonellan esiintyminen tutkituissa lihanäytteissä ja –erissä

Lihalaji	Näytteet			Erät		
	Tutkitut	Positiiviset		Tutkitut	Positiiviset	
	N	n	%	N	n	%
Naudanliha	188	1	0,5	94	1	1,1
Sianliha	128	8	6,3	64	6	9,4
Siipikarjanliha	124	1	0,8	62	1	1,6
Muun eläimen liha	70	1	1,4	35	1	2,9
Siipikarjan raakaliha-valmisteet	30	2	6,7	15	2	13,3
Muut raakaliha-valmisteet	68	0	0	34	0	0
Yhteensä	608	13	2,1	304	11	3,6

Taulukko 5. Kampylobakteerin esiintyminen tutkituissa lihanäytteissä ja –erissä

	Näytteet			Erät		
	Tutkitut	Positiiviset		Tutkitut	Positiiviset	
	N	n	%	N	n	%
Siipikarjanliha	124	16	12,9	62	12	19,4
Siipikarjan raakaliha-valmisteet	30	1	3,3	15	1	6,7
Yhteensä	154	17	11,0	77	13	16,9

4 Salmonellan, kampylobakteerin ja *Escherichia coli* O157:n esiintyminen...

Taulukko 6. Todetut salmonellaserotyypit lihalajeittain

Lihalaji	Alkuperämaa	Positiiviset näytteet (n)	Salmonellaserotyyppi
Suolattu kanafile	Thaimaa	1	<i>Salmonella</i> Enteritidis FT 6
Naudanliha	Irlanti	1	<i>Salmonella</i> Dublin
Kengurun liha	Australia	1	<i>Salmonella</i> Anatum
Sian ulkofile	Saksa	2	<i>Salmonella</i> Typhimurium, multiresistentti, FT 104b
Sian paahtopaisti	Saksa	2	<i>Salmonella</i> Goldcoast
Sian ulkofilee	Saksa	2	<i>Salmonella</i> Typhimurium FT 120 ja FT NST
Sian paahtopaisti	Belgia	2	<i>Salmonella</i> Derby
Suolattu broilerin rintafile (raakalihavalmiste)	Brasilia	1	<i>Salmonella</i> Mbandaka
Maissikanan rinta	Ranska	1	<i>Salmonella</i> Agona

Taulukko 7. Todetut kampylobakteerilajit lihalajeittain

Lihalaji	Alkuperämaa	Positiiviset näytteet (n)	Kampylobakteerilaji
Ankanliha	Ranska	1	<i>Campylobacter coli</i>
Ankanliha	Ranska	3	<i>Campylobacter jejuni</i>
Broilerinkoipi	Tanska	2	<i>Campylobacter jejuni</i>
Helmikanan rintafile	Ranska	2	<i>Campylobacter coli</i>
Kokonainen broileri	Tanska	1	<i>Campylobacter jejuni</i>
Kokonainen broileri	Tanska	1	<i>Campylobacter coli</i>
Kana	Tanska	3	<i>Campylobacter jejuni</i>
Broilerin rintafile	Brasilia	1	<i>Campylobacter jejuni</i>
Kananrinta	Ranska	1	<i>Campylobacter coli</i>
Kananrinta	Ranska	1	<i>Campylobacter jejuni</i>
Kanankoipi	Tanska	1	<i>Campylobacter jejuni</i>

4 Salmonellan, kampylobakteerin ja *Escherichia coli* O157:n esiintyminen...

Näytteenottajia oli pyydetty tarkastamaan lihaerien salmonella- ja terveystodistukset näytteenoton yhteydessä. Tämän projektin yhteydessä ei raportoitu puutteita vaadittavissa todistuksissa, mikä ei liene vastannut todellista tilannetta. Todennäköisesti valvontakäynnillä oli keskitytty enemmän näytteenoton tekniseen puoleen, jolloin todistukset ovat jääneet vähemmälle huomiolle. Salmonellatodistuksen teknisestä muodosta tuli syksyllä 2003 esille tiedusteluita, joiden johdosta EVI antoi tulokinnan, että myös kaupalliseen asiakirjaan liitetty salmonellalauseke katsotaan erillisten todistusten ohella riittäväksi asiakirjaksi.

4.3.1 Toimenpiteet

Näytteet ottaneet viranomaiset tekivät maa- ja metsätalousministeriön ensisaapumispaikkojen valvonnasta antaman päätöksen (879/97) 19 §:n mukaiset hylkäyspäätökset kaikista niistä salmonellaa sisältäneistä eristä, joita tutkimustuloksen varmistuttua oli vielä jäljellä ensisaapumispaikassa. RASFF-ilmoitus lähetettiin EU:n hälytysjärjestelmän kautta kaikista muista salmonellapositivisista lihaeristä paitsi kengurunlihaerästä (15 kg).

4.4 YHTEENVETO JA JOHTOPÄÄTÖKSET

EVI toteutti vuonna 2003 yhteistyössä ensisaapumispaikkoja valvovien kunnallisten viranomaisten ja valtion tarkastuseläinlääkärien sekä EELAn kanssa laajan tutkimusprojektin, jossa kartoitettiin patogeenisten bakteerien esiintyvyyttä ensisaapumispaikkoihin toimitetussa lihassa ja raakalihavalmisteissa ja tarkastettiin tavaraerien mukana seuranneita asiakirjoja.

Projektin näytteenotto onnistui vain 56 prosenttisesti. Tavoitteena olleesta noin tuhannesta näytteestä saatiin tutkimuksiin 608 näytettä (304 erää) eri lihalajeista ja raakalihavalmisteista. Naudanlihassa salmonellan esiintyvyys oli 1,4 %. *E. coli* O157-bakteeria ei todettu naudanlihassa. Noin yhdeksässä prosentissa sianlihaeristä esiintyi salmonellaa. Positiiviset erät olivat tuoreena toimitettua tavaraa. Yhdestä sianlihaerästä todettiin multiresistentti *S. Typhimurium*. Tutkimus osoitti, että salmonella-lisävakuumedellytykset eivät toteutuneet riittävästi. Siipikarjanlihassa todettiin salmonellaa vain noin 2 prosentissa eristä tässä tutkimuksessa ja siipikarjan raakalihavalmisteissa noin 13 prosentissa. Alhaista esiintyvyyttä selittää osaltaan vähäinen näytemäärä ja vähäinen osanäytteiden määrä erää kohti. Salmonella ei ole tasaisesti jakautuneena lihaerässä. Salmonellan esiinty-

vyttä maahan toimitettavassa siipikarjan lihassa onkin syytä tarkastella uudelleen. Kampylobakteeria todettiin noin 19 prosentissa siipikarjanlihaeriä siitä huolimatta, että näytemateriaali oli pakastettua.

Salmonellaa esiintyi yhteensä noin neljässä prosentissa sellaisista lihaeristä, jotka kuuluvat salmonella-lisävakuuksien piiriin. Projektiin liittyneessä asiakirjatarkastuksessa ei todettu puutteita, mikä ei todennäköisesti vastannut todellista tilannetta. Tilanne kuvastaa osaltaan myös sitä, että koska lainsäädäntö ei määritellyt salmonellatodistuksen muotoa, on valvonta käytännössä ollut hankalaa. Yhteenvetona voidaan todeta, että salmonellalisävakuuksien toteutumisen varmistamiseksi on sekä asianomaista lainsäädäntöä että valvontaa edelleen tarpeen kehittää.

KIITOKSET

EVI ja EELA kiittävät näytteitä ottaneiden 18 kunnan valvontaviranomaisia sekä valtion tarkastuseläinlääkäreitä ja virallisia elintarviketutkimuslaitoksia hyvästä yhteistyöstä.

4 Salmonellan, kampylobakteerin ja *Escherichia coli* O157:n esiintyminen...

4.5 VIITTEET

- (1) Elintarvikeviraston kirje 13.3.2003 Dnro 773/44/03
- (2) Maa- ja metsätalousministeriön päätös eläimistä saatavien elintarvikkeiden valvonnasta ensisaapumispaikoissa (1997/879)
- (3) Hald T, Wingstrand A, Swanenburg M, von Altrock A, Thornberg BM, 2003, Epidemiol Infect. 2003. 131(3):1187-2034. Berends BR, Van Knapen F, Mossel DA, Burt SA, Snijders JM, 1998, Int J Food Microbiol. 1998 Nov 10;44(3):207-17
- (5) KTL 2004. Tartuntataudit Suomessa 2003. Kansanterveyslaitoksen julkaisuja, KTL B7/2004.
- (6) Elintarvikeviraston julkaisuja 13/2001, Euroopan unionin jäsenvaltioista toimitettavien lihaerien valvonta ja mikrobiologinen laatu – valvontaprojekti
- (7) Livsmedelsverket 2000, Garantiprojekt, 30 s.
- (8) Livsmedelsverket 2002: Granskning av salmonellaförekomst i köttberedningar införda till Sverige från annat EU-land, 9 s.
- (9) Hatakka M ja Maijala R 2004, Patogeenien viranomaistutkimukset vuonna 2002, Kaari pellolta pöytään 2/2004: 28-29
- (10) Pezzotti G, Serafin A, Luzzi I, Mioni R, Milan M & Perin R, 2003.. Int. J. Food Microbiol. 82, 281-287.
- (11) Kramer JM, Frost JA, Bolton FJ, Wareing DRA, 2000. J. Food Prot 63: 1654-1659.
- (12) Meldrum RJ, Tucker D, Smith RMM, Edwards C, 2005. J. Food Prot 68: 1447-1449.



5

LISTERIA MONOCYTOGES -BAKTEERIN ESIINTYMINEN GRAAVI- JA KYLMÄSAVUKALOISSA JA MÄDISSÄ

Tuula Johansson ja Maija Nuppunen

5.1 JOHDANTO

Elintarvikevirasto (EVI) ja Eläinlääkintä- ja elintarvike tutkimuslaitos (EELA) toteuttivat vuonna 2004 yhteistyössä Kokkolan seudun, Mikkelin seudun, Porvoon kaupungin ja Vantaan kaupungin elintarvikevalvontaviranomaisten ja paikallisten laboratoriorien kanssa projektin (Listeria-kalat-04), jossa tutkittiin *Listeria monocytogenes* -bakteerin esiintymistä graavi- ja kylmäsavukaloissa ja mädissä.

Eriyisesti tyhjiöpakatut, graavi- ja kylmäsavukalavalmisteet ovat listerian suhteen riskielintarvikkeita, koska niiden valmistusprosessi ei tuhoa listeriaa, ne syödään kuumentamatta ja niiden myyntiaika on pitkä. Lisäksi tyhjiöpakkaus tarjoaa suotuisat kasvuolosuhteet listerialle. Tyhjiöpakatuissa graavi- ja kylmäsavukalavalmisteissa onkin Suomessa

todettu esiintyvän *L. monocytogenes* -bakteereita useammin kuin muissa riskielintarvikkeissa. Siksi niitä on myös tutkittu enemmän kuin muita riskielintarvikkeita. Vastaava tutkimusprojekti toteutettiin edellisen kerran vuonna 2001 ja sitä edellinen vuonna 2000. Tyhjiöpakatun kylmäsavukirjolohen on myös raportoitu aiheuttaneen ruokamyrkytysepidemian vuonna 1997⁽⁷⁾. Lisäksi keväällä 2003 eristettiin seitsemältä listerioosipotilaalta sama *L. monocytogenes* -tyyppi, jota oli elintarvikevalvonnan pitkäaikaisseurannassa ja EELAn tutkimuksissa todettu tyhjiöpakatuista savustetuista ja graavatuista kalavalmisteista⁽²⁾. Myös mäti kuuluu riskielintarvikkeisiin. Mätejä ei kuitenkaan ole aiemmin tutkittu vastaavissa projekteissa.

5.2 NÄYTTEET**5.2.1 Näytteenotto**

Vantaan, Porvoon, Mikkelin ja Kokkolan valvontaviranomaiset keräsivät näytteitä kuntiensä vähittäismyyjiltä ja pysyivät naapurikuntiensä (Järvenpää, Kerava, Mäntsälä, Tuusula; Askola, Pornainen; Haukivuori, Kangasniemi, Kerimäki, Pieksämäki, Punkaharju, Rantasalmi, Ristiina, Savonlinna; Kälviä, Lohtaja) valvontaviranomaisia keräämään omiltaan. Näytteitä kerättiin yhteensä 596 maalimarraskuussa 2004. Näytteistä oli kalavalmisteenäytteitä 567 ja mätinäytteitä 29. Näytteet olivat

peräisin 51 valmistajalta. Näytteenottaja mittasi näytteiden lämpötilan omalla lämpömittarillaan näytteenoton yhteydessä. Jokaisesta valmistuserästä pyrittiin ottamaan kaksi rinnakkaisnäytettä, jotka tutkittiin erikseen. Palvelumyynnistä otetut näytteet tutkittiin heti. Pakattujen tuotteiden tutkimus aloitettiin viimeisenä käyttöpäivänä tai mahdollisimman lähellä viimeistä käyttöpäivää, kuitenkin ennen sitä. Tällöin näytteet säilytettiin laboratoriossa $7 \pm 1^\circ\text{C}$:ssa. Valvontaviranomaiset saivat tutkimustulokset käyttöönsä heti niiden valmistusta.

5 *Listeria monocytogenes* -bakteerin esiintyminen graavi- ja kylmäsavu...

5.2.2 Graavi- ja kylmäsavukalat

Kalavalmistenäytteet (N=567) olivat peräisin 46 valmistajalta. Valmistajista 26 oli kalalaitoksia, 18 myymälöitä ja kaksi yksityisiä kalastajia. 12 näytteen (6 graavikalaa ja 6 kylmäsavukalaa, joista 10 palvelumyynnistä ja 2 tyhjiopakattuna) osalta puuttui tieto valmistajasta. Näytteistä oli kirjolohia 418, lohia 127 ja siikoja 22. Näytteistä 285 oli graavattuja ja 279 kylmäsavustettuja (**Taulukko 1**). Kolmen tyhjiopakattun kirjolohen osalta tieto kalavalmistelijasta puuttui. Kaikki siikanäytteet olivat graavattuja. Lohista 40 ilmoitettiin olevan norjalaisia. Graavikaloista oli tyhjiopakattuja 204 ja palvelumyynnistä 81, kylmäsavustetuista kaloista vastavasti 223 ja 54. Kahden kylmäsavukalanäytteen osalta puuttui tieto myyntitavasta. Näytteistä 242 oli paloina, 251 viipaleina.

5.2.3 Mäti

Mätinäytteitä (N=29) saatiin 11 valmistajalta 12 myyntipisteestä. Valmistajista 8 oli kalalaitoksia, kaksi myymälöitä ja yksi yksityinen kalastaja. Näytteistä 17 oli peräisin Kokkolan seudulta, 8 Mikkelin seudulta ja 4 Vantaalta. Porvoon alueelta ei ollut näytteitä. Näytteistä 12 oli kirjolohen, 8 muikun, 6 siian ja 2 lohen mätiä. Yhden näytteen osalta tieto puuttui. Mätinäytteistä 8 oli peräisin palvelumyynnistä ja 19 oli myynnissä pakattuna, näistä 14 pakasteena ja 5 tuoreena. Kahden näytteen osalta tieto puuttui. Palvelumyynnistä peräisin olleista mäti tuotteista 2 oli sulatettu pakasteesta. Kaksi tuoreena myynnissä olleista mäti tuotteista oli ollut alun perin pakastettuna. Mäti tuotteista oli otettu kaksi rinnakkaisnäytettä yhtä tuotetta lukuun ottamatta.

5.3 TUTKIMUSMENETELMÄT

Näytteistä tutkittiin *L. monocytogenes* Kokkolan seudun elintarvike- ja ympäristölaboratoriossa, Porvoon elintarvikelaboratoriossa, Savolabissa tai Vantaan kaupungin elintarvike- ja ympäristölaboratoriossa. Näytteet tutkittiin sekä kvalitatiivisesti että kvantitatiivisesti käyttäen ISO 11290-1 (1996) ja 11290-2 (1998) -menetelmiä muunnettuna siten, että pakollisena valikoivana agaralustana käytettiin *L. monocytogenes* veri-agarua, LMBA:ta (magnesiumsulfaatti- ja nalidiksiinihappolisällä). Labo-

ratoriot lähettivät eristämänsä *L. monocytogenes* -viljelmät serotyypitettäväksi EELAn bakteriologian tutkimusyksikköön/elintarvike-mikrobiologia. Serotyypitys tehtiin agglutinaatio-menetelmällä käyttäen Denka Seikenin (Tokio, Japani/Menetelmäohje EELA3498) listeria-anti-seerumeita. Tarvittaessa EELAssa tehtiin myös biokemiallinen varmistus (API Listeria, bio Mérieux, Marcy-l'Etoile, Ranska).

5.4 TULOKSET

5.4.1 Graavi- ja kylmäsavukalat

5.4.1.1 Kvalitatiiviset tulokset

L. monocytogenes todettiin rikastusmenetelmällä 89/567 (15,7 %) kalavalmistenäytteestä, jotka olivat peräisin 16 valmistajalta. Valmistajista 13 oli kalalaitoksia. Elintarvikemyymälöiden palvelumyynniinsä valmistamia tuotteita oli 3 liikkeestä. Kah-

den positiivisen, palvelumyynnistä peräisin olleen graavikirjoloihinäytteen osalta ei ollut tietoa valmistajasta.

Graavikaloista 14,4 %:ssa ja kylmäsavukaloista 17,2 %:ssa todettiin *L. monocytogenes* (**Taulukko 1**). Tyhjiopakattuna myynnissä olleista kalavalmisteista *L. monocytogenes* -positiivisia oli 16,9 % ja palvelumyynnissä olleista 12,6 %. Positiivisista, tyhjiopakatuista kylmäsavukalanäytteistä

5 *Listeria monocytogenes* -bakteerin esiintyminen graavi- ja kylmäsavu...

Taulukko 1. *Listeria monocytogenes* -bakteerin esiintyminen graavi- ja kylmäsavukaloissa vuonna 2004.

	GRAAVIKALAT			KYLMÄSAVUKALAT			YHTEENSÄ		
	Tutkitut	Positiiviset		Tutkitut	Positiiviset		Tutkitut	Positiiviset	
	N	n	%	N	n	%	N	n	%
Tyhjiöpakattu	204	28	13,7	223	44	19,7	427	72	16,9
Palvelumyynti	81*	13	16,0	54**	4	7,4	135	17	12,6
Yhteensä	285	41	14,4	279***	48	17,2	567****	89	15,7

* kahdeksan graavikalalan ilmoitettu puretun palvelumyyntiin tyhjiöpakkauksesta

** 24 kylmäsavukalan ilmoitettu puretun palvelumyyntiin pakkauksesta/tyhjiöpakkauksesta

*** kahden kylmäsavukalan osalta puuttuivat tiedot siitä, oliko kyseessä tyhjiöpakattuna vai palvelumyynnistä peräisin oleva tuote

**** kolmen tyhjiöpakatun kirjolohen osalta puuttui tieto siitä, oliko kyseessä graavi- vai kylmäsavukala

(n=44) 65,9 % oli peräisin laitokselta A. Palvelumyynnistä peräisin olleista kylmäsavukalanäytteistä (n=54) vain neljässä (7,4 %) todettiin *L. monocytogenes* eikä tutkituissa näytteissä ollut laitoksen A tuotteita. Palvelumyynnistä peräisin olleista graavikaloista (n=81) 43 oli kalalaitosten (n=11) valmistamia, 32 myymälöiden (n=13) valmistamia ja 6 näytteen osalta ei ollut tietoa valmistajasta. Kalalaitosten palvelumyyntiin valmistamista graavikaloista 9,3 %:ssa todettiin *L. monocytogenes* ja myymälöiden valmistamista vastaavasti 21,9 %:ssa. Positiiviset näytteet olivat peräisin 3 kalalaitoksesta ja 3 myymälän palvelumyynnistä. Positiiviset tyhjiöpakatut graavikalänäytteet (n=28) olivat peräisin 9 kalalaitokselta, joista laitoksen A näytteitä oli 42,7 %.

5.4.1.2 Kvantitatiiviset tulokset

Kvantitatiivinen määrittäminen tehtiin 84/89 rikastamalla positiiviseksi todetusta kalavalmistuksenäytteestä (Taulukko 2). *L. monocytogenes* -pitoisuus oli alle 100 pmy/g 71 näytteessä eli 12,5 %:ssa kaikista tutkituista (N=567) ja 130 - 250 000 pmy/g 13 näytteessä eli 2,3 %:ssa kaikista tutkituista. Yhtä näytettä ei ollut laimennettu riittävästi kvantitatiivista tutkimusta varten ja pitoisuudeksi ilmoitettiin yli 90 000 pmy/g. Yli 100 pmy/g *L. monocytogenes* -bakteeria sisältäneistä näytteistä oli kylmä-

savukaloja 9 eli 3,2 % tutkituista kylmäsavukaloista (N=279) ja graavikaloja 4 eli 1,4 % tutkituista graavikaloista (N=285).

5.4.1.3 Tulokset valmistajittain

Valmistajalta A oli otettu eniten näytteitä (N=121) ja niistä 41:ssä (34 %) todettiin *L. monocytogenes* (Taulukko 2). Kahdeksan yli 100 pmy/g *L. monocytogenes* -bakteeria sisältäneistä näytteistä (n=13) oli peräisin valmistajalta A, loput viisi neljältä muulta valmistajalta (D-G). Valmistajan A tyhjiöpakatusta kylmäsavukirjolohinäytteestä todettiin myös suurin *L. monocytogenes* -pitoisuus, 250 000 pmy/g. Valmistajan A kalavalmisteista oli otettu 28 - 34 näytettä näytteenottoalueittain. Näytteistä todettiin positiiviseksi Porvoon seudulla 67 %, Vantaan seudulla 35 %, Kokkolan seudulla 29 % ja Mikkelin seudulla 4 %.

Toiseksi eniten näytteitä (N=72) oli otettu valmistajalta B ja niistä 14 % oli positiivisia, tosin kaikkien pitoisuudet alle 100 pmy/g (Taulukko 2). Valmistajan C 68 näytteestä sen sijaan vain 4 %:ssa todettiin *L. monocytogenes*. Valmistajilta D - G oli otettu 12 - 32 näytettä/valmistaja, joista kultakin 2 - 5 oli positiivisia ja niistä 1 - 2 sisälsi *L. monocytogenes* -bakteeria yli 100 pmy/g. Yli 90 000 pmy/g *L. monocytogenes* -bakteeria sisältänyt näyte oli peräisin valmistajalta D. Valmistajilta H - P oli

5 *Listeria monocytogenes* -bakteerin esiintyminen graavi- ja kylmäsavu...

otettu vain 2 - 10 näytettä/valmistaja ja niistä todettiin 1 - 5 positiivista/valmistaja. Jopa kaikki näytteet saattoivat olla positiivisia. Tosin kaikkien pitoisuudet olivat alle 100 pmy/g. Valmistajien H ja N kaikkia positiivisia näytteitä ei kuitenkaan ollut tutkittu kvantitatiivisesti. Valmistajista H - P kolme oli myymälöitä. (Taulukko 2).

Valmistajan G kalavalmisteet myytiin tuotemerkillä, jonka valmistajaa myyvä kauppakettu ei paljastanut eikä näytetiedoissa ollut laitosnumeroa, jonka perusteella valmistaja olisi voitu identifioida. Tämän valmistajan 12 kalavalmisteenäytteestä 8 oli ilmoitettu valmistetun norjalaisesta lohesta ja niistä viidessä todettiin *L. monocytogenes*.

Kolmenkymmenen valmistajan näytteistä (N=158) ei yhdessäkään todettu *L. monocytogenes*-bakteeria. Valmistajista 13 oli kalalaitoksia, 15 myymälöitä ja kaksi yksityisiä kalastajia. Näiltä otetut näytemäärät olivat yleensä pieniä, 1 - 8 näytettä/valmistaja. Tosin viideltä kalalaitokselta oli peräsin 10 - 28 näytettä/laitos.

5.4.1.4 Serotyypitys

Laboratoriot lähettivät rikastus- ja/tai kvantitatiivisella menetelmällä 14 valmistajan näytteistä eristämässä 101 listeriakantaa EELAn bakteriologian tutkimusyksikköön/elintarvikemikrobiologia. Kahden elintarvikemyymälän (valmistajat N ja O) palvelumyyntiin valmistamista tuotteista eristettyjä *L. monocytogenes*-kantoja ei saatu eikä myöskään kantoja, jotka oli eristetty kahdesta rinnakkaisnäytteestä, joiden näytetiedoista puuttui valmistaja. Kannoista 90 kuului lajiin *L. monocytogenes* ja 11 lajiin *L. innocua*. Kolmen valmistajan (F, J ja M) viidestä näytteestä (3 graavi- ja 2 kylmäsavukalaa) eristetyt *L. monocytogenes*-kannat olivat non-hemolyttisiä.

Eristetyistä *L. monocytogenes*-kannoista 81 kuului serotyyppiin 1/2a, neljä serotyyppiin 4b ja yksi serotyyppiin 3a. Valmistajan G kahdesta rinnakkaisnäytteestä eristetyt neljä *L. monocytogenes*-kantaa eivät serotyyppittyneet. Serotyyppiä 1/2a

Taulukko 2. *Listeria monocytogenes*-positiivisten graavi- ja kylmäsavukalanäytteiden jakautuminen valmistajittain ja pitoisuuksien (pmy/g) perusteella vuonna 2004

Valmistaja	Näytteet			Pitoisuus (pmy/g)			
	Tutkitut N	Positiiviset n	%	≤100	>100- 1.000	>1.000- 10.000	>10.000
A	121	41**	34	31	3	4	1
B	72	10	14	10			
C	68	3	4	3			
D	32	3	9	1	1		1
E	30	2	7	1		1	
F	20	3	15	2	1		
G	12	5	42	4		1	
H	10	5**	50	3			
I	8	1	13	1			
J	6	1	17	1			
K	4	4	100	4			
L	4	1	25	1			
M*	4	3	75	3			
N*	2	2***	100	1			
O*	2	2	100	2			
P	2	1	50	1			
Muut (N=30)	158	0	0				
Tieto puuttui	12	2	17	2			
Yhteensä	567	89	15,7	71	5	6	2

* myymälä

** kahta positiiviseksi todettua näytettä ei tutkittu kvantitatiivisesti

*** yhtä positiiviseksi todettua näytettä ei tutkittu kvantitatiivisesti

5 *Listeria monocytogenes* -bakteerin esiintyminen graavi- ja kylmäsavu...

esiintyi 13/14 valmistajan kalavalmisteissa. Serotyyppi 1/2a oli ainoa todettu serotyyppi 10 valmistajan tuotteissa. Valmistajien A ja B kalavalmisteissa esiintyi serotyyppiin 1/2a lisäksi serotyyppiä 4b: valmistajalla A kahdessa näytteessä ja valmistajalla B yhdessä näytteessä. Valmistajan G norjalaisesta lohesta valmistamista tuotteista eristetyt *L. monocytogenes* -kannat kuuluivat serotyyppiin 1/2a ja 3a. Valmistajan L neljästä tutkitusta näytteestä yhdessä todettiin *L. monocytogenes* ja kanta oli serotyyppiä 4b. Non-hemolytyttiset kannat kuuluivat serotyyppiin 1/2a.

5.4.2 Mäti

Tutkituissa mätinäytteissä (N=29) ei todettu *L. monocytogenes* -bakteeria.

5.4.3 Lämpötilat

Lainsäädännön edellyttämä enimmäissäilytyslämpötila 8,0 °C ylittyi 13 näytteenotokerralla, 12 myymälässä, 32 (5,6 %) kalavalmistenäytteen osalta. Näiden lämpötilaksi mitattiin 8,1 - 14,3 °C. *L.*

monocytogenes -positiivisista näytteistä (N=89) viiden (5,6 %) tyhjiöpakatun kalavalmisteen lämpötila oli näytteenottohetkellä 8,2 - 10,4 °C sekä yhden palvelumyynnistä peräisin olleen ja yhden tyhjiöpakatun kalavalmisteen 8,0 °C.

Mätinäytteistä (N=29) 14 pakastetun tuotteen lämpötila oli -13,5 - -24,6 °C ja 8 kylmäaltaasta peräisin olleen 0 - 6,0 °C. Seitsemän näytteen osalta näytteenottajan lämpötilatiedot puuttuivat. Näistä kolme myytiin pakattuna, kaksi palvelumyynnistä ja kahden näytteen osalta puuttui tieto myyntitavasta.

Näytteeksi otetuista kalavalmisteista 228/567 (40,2 %) oli säilytetty EVIn suosittlemassa alle 3 °C lämpötilassa⁽¹⁾, *L. monocytogenes* -positiiviseksi todetuista vastaavasti 32/89 (36,0 %). Tyhjiöpakatuista kalavalmisteista lämpötilasuositukset toteutuivat 158/427 (37,0 %) näytteen osalta ja tyhjiöpakatuista, *L. monocytogenes* -positiivisista 19/72 (26,4 %) näytteen osalta. Näiden säilytyslämpötila oli 0,1 - 3,0 °C. Positiivisista, palvelumyynnistä peräisin olleista kalavalmisteista EVIn lämpötilasuositukset täytti 13/17 (76,5 %) näytettä. Niiden säilytyslämpötila oli -0,1°C - 1,8 °C.

5.5 POHDINTA

5.5.1 Graavi- ja kylmäsavukalat

Tässä tutkimuksessa 14,4%:ssa graavi- ja 17,2 %:ssa kylmäsavukalavalmisteita todettiin *L. monocytogenes*. Tilanne on säilynyt kutakuinkin ennallaan verrattuna vuoteen 2001, jolloin tutkimus kohdistui tyhjiöpakattuihin kylmäsavukaloihin ja niistä 13%:ssa (46/356) todettiin *L. monocytogenes*⁽⁴⁾. Vuoden 2000 tilanne oli poikkeuksellisen hyvä kalalan laitosten hygieniatason parantamiseen tähtävien toimenpiteiden ansiosta⁽³⁾. Tuolloin *L. monocytogenes* todettiin vain 5%:ssa (15/314) tyhjiöpakattuja kalavalmisteita ja kaikkien positiivisten näytteiden pitoisuudet olivat alle 100 pmy/g. Vuonna 2001 *L. monocytogenes* -pitoisuus oli yli 100 pmy/g 30%:ssa (13/43) kvantitatiivisella menetelmällä tutkituista, positiiviseksi todetuista näytteistä, tässä tutkimuksessa vastaavasti vain 15 %:ssa (13/84). Tosin tässä tutkimuksessa todettu

suurin *L. monocytogenes* -pitoisuus, 250 000 pmy/g, oli kymmenkertainen verrattuna vuoteen 2001.

L. monocytogenes -positiiviset näytteet olivat vuoden 2001 tutkimuksessa peräisin 7/37 (19 %) kalalaitokselta, tässä tutkimuksessa vastaavasti 16/46 (35 %) raportoidulta valmistajalta. Kummassakin tutkimuksessa todettiin eniten positiivisia näytteitä samalta kalalaitokselta (A). Laitokselta A positiiviseksi todettujen näytteiden osuus (34 %) oli kasvanut vuoden 2001 tutkimukseen verrattuna, jolloin se oli 22 % (19/87). Ilman laitosta A tässä tutkimuksessa todettiin *L. monocytogenes* -bakteeria vain noin 10 % sekä kaikista tutkituista että tyhjiöpakatuista kalavalmistenäytteistä. Laitoksilta D ja E positiiviseksi todettujen näytteiden osuus oli sen sijaan vähentynyt verrattuna vuoteen 2001, laitoksella D 48 %:sta (10/21) 9 %:ään (3/32) ja laitokselta E 40 %:sta (12/30) 7 %:ään (2/30). Laitosten B ja C näytteistä todettiin tässä tutkimuk-

5 *Listeria monocytogenes* -bakteerin esiintyminen graavi- ja kylmäsavu...

nessa positiiviseksi vastaavasti 14 % (10/72) ja 4 % (3/68), vuoden 2001 tutkimuksessa positiivisia ei sen sijaan todettu näytteeksi otetuista 53:sta ja 31:stä näytteestä, vastaavasti. Muilta valmistajilta (varsinkin G - P) oli otettu tässä tutkimuksessa vain vähän näytteitä ja ne saattoivat kaikki olla positiivisia. Nämä valmistajat olivat todennäköisesti pieniä paikallisia kalalaitoksia tai myymälöitä, joten niiden näytteitä on ollut rajoitetusti tarjolla vähittäismyynnissä.

Eristetyistä *L. monocytogenes* -kannoista valtaosa (81/90) kuului serotyypin 1/2a kuten aiemmissakin tutkimuksissa. Seroryhmä 1/2 on ollut viime vuosina yleisin seroryhmä myös humaanipuolella. Tämä seroryhmä aiheutti 73 % humaanilisterioositapauksista Suomessa vuonna 2004 (Kansanterveyslaitos, 2005). Muita serotyyppejä on todettu kalavalmisteista vain satunnaisesti. Tässä tutkimuksessa todettiin yhdestä näytteestä harvinaisen serotyyppi 3a. Tämä serotyyppi aiheutti epidemian Suomessa voimavälityksellä 1998 - 1999.

5.5.2 Mäti

Tässä tutkimuksessa yhdessäkään mätinäytteessä (N=29) ei todettu *L. monocytogenes* -bakteeria. Vuonna 1999 toteutetussa tutkimuksessa 147 mätinäytteestä 5 %:ssa todettiin *L. monocytogenes*⁽⁶⁾. Nämä näytteet olivat peräisin 26 kala-yrityksestä ja niistä 50 oli kirjolohen, 45 siian, 46 muikun ja 6 mateen mätiä.

5.5.3 Lämpötilat

Listerian lisääntymisen ehkäisemiseksi on tärkeää, etteivät kuljetus-, säilytys- ja myyntilämpötilat nouse liian korkeiksi. Vähimmäisvaatimus on, että lainsäädännössä asetettuja lämpötiloja noudatetaan. Tässä tutkimuksessa lainsäädännön edellyttämä enimmäissäilytyslämpötila (8 °C) ylittyi 12 myymälässä 32 (5,6 %) kalavalmisteenäytteen osalta ja korkeimmaksi säilytyslämpötilaksi mitattiin jopa 14,3 °C. Vuoden 2001 tutkimuksessa⁽⁴⁾ sen sijaan vain kahdessa tapauksessa raportoitiin kaupan säilytyslämpötilan ylittäneen 8 °C. Elintarvikevirasto kuitenkin suosittelee (E11/212/2000) säilytyslämpötilaksi tyhjiöpakatuille kalavalmisteille enintään 3 °C. Tässä tutkimuksessa suositus to-

teutui melko hyvin eli 40,2 %:ssa näytteeksi otetuista kalavalmisteista ja 37,0 %:ssa tyhjiöpakatuista kalavalmisteista. Vuoden 2001 tutkimuksesta⁽⁴⁾ ei vastaavia lukuja ole raportoitu.

5.5.4 Tutkimuksen suunnittelu

Toteutetuissa tutkimuksissa näytteeksi on otettu kalavalmisteita, joita on ollut tarjolla vähittäismyynnissä tutkimukseen valittujen paikallisviranomaisten valvonta-alueella. Tällöin saadaan käsitys *L. monocytogenes* -bakteerin esiintymisestä vähittäismyynnissä olevissa kalavalmisteissa. Tuloksia voidaan verrata aikaisempiin tuloksiin positiivisten näytteiden osuuden ja *L. monocytogenes* -pitoisuuksien sekä niiden valmistajien osalta, joiden näytteitä on tutkittu myös aiemmissa tutkimuksissa. Esimerkiksi valmistajan A tuotteita on ollut runsaasti tarjolla laajalla alueella sekä vuonna 2001 että 2004, koska niitä on otettu eniten näytteeksi kumpanakin vuotena. Tässä selvityksessä ei näytteenottoa suunniteltaessa ole ollut käytettävissä tietoa laitosten tuotantoluvuista eikä markkinointialueista, joten kuluttajalle aiheutuvaa listeriariskiä ei voida tämän selvityksen perusteella luotettavasti arvioida.

Tutkimustuloksia käsiteltäessä kävi ilmi, että tutkimusselosteisiin kirjatut valmistajatiedot saattoivat olla puutteellisia tai selosteesta puuttui tieto valmistajasta ja siihen oli kirjattu vain näytteenottpiste. Tällöin valmistajan jäljittäminen vaati lisätyötä tai saattoi olla vaikeaa, esimerkiksi sellaisissa tapauksissa, joissa laitoksella oli useampi kuin yksi toimipiste. Lisäksi valmistajan nimi oli saatettu kirjoittaa näytetietoihin usealla tavalla, mikä hankaloitti aineiston käsittelyä. Edellä mainitut epäkohdat voitaisiin välttää tarkentamalla ohjeistusta siten, että pyydetäisiin näytteenottajia ilmoittamaan näytetiedoissa valmistajan nimen lisäksi myös laitosnumero, jonka laboratorio kirjaa tutkimusselosteeseen. Tällöin pystytään ilman lisäselvityksiä jäljittämään myös tuotemerkillä esiintyvät, näytteeksi otetut tuotteet. Lisäksi tutkimusselosteessa tulisi aina olla tila myös valmistajatietojen kirjaamiseen. Valmistajatiedot ovat saatavissa, koska lainsäädännön vaatimusten mukaan kaikista kaupan olevista tuotteista on myymälässä oltava tieto, missä ne on valmistettu: laitoksessa, myymälässä tai kalastajan toimesta.

5 *Listeria monocytogenes* -bakteerin esiintyminen graavi- ja kylmäsavu...

5.6 YHTEENVETO

Elintarvikevirasto (EVI) ja Eläinlääkintä- ja elintarviketutkimuslaitos (EELA) toteuttivat vuonna 2004 yhteistyössä Kokkolan seudun, Mikkelin seudun, Porvoon kaupungin ja Vantaan kaupungin elintarvikevalvontaviranomaisten ja paikallisten laboratoriodien kanssa projektin (*Listeria*-kalat-04), jossa tutkittiin *Listeria monocytogenes* -bakteerin esiintymistä graavi- ja kylmäsavukaloissa ja mädissä. Myös näytteiden lämpötila mitattiin näytteenoton yhteydessä. Näytteet (N=596) kerättiin edellä mainittujen kuntien ja niiden naapurikuntien (N=16) valvontaviranomaisten toimesta vähittäismyyjiltä maalimarraskuussa 2004. Jokaisesta valmistuserästä pyrittiin ottamaan kaksi rinnakkaisnäytettä, jotka tutkittiin erikseen.

Kalavalmistenäytteet (N=567) olivat peräisin 46 valmistajalta. Mätinäytteitä (N=29) saatiin 11 valmistajalta 12 myyntipisteestä. Näytteistä tutkittiin *L. monocytogenes* edellä mainituissa, paikallisissa elintarviketutkimuslaitoksissa sekä kvalitatiivisesti että kvantitatiivisesti käyttäen muunneltuja ISO 11290-1 (1996) ja 11290-2 (1998) -menetelmiä. Kannat serotyyppitettiin EELAn bakteriologian tutkimusyksikön elintarvikemikrobiologian ryhmässä.

L. monocytogenes todettiin rikastusmenetelmällä 15,7 %:ssa kalavalmistenäytteitä, jotka olivat peräisin 16 valmistajalta. Graavikaloista 14,4 %:ssa ja kylmäsavukaloista 17,2 %:ssa todettiin *L. monocytogenes*. Tyhjiopakattuna myynnissä olleista kalavalmisteista *L. monocytogenes* -positiivisia oli 16,9 % ja palvelumyynnissä olleista 12,6 %. Kvantitatiivinen määrittäminen tehtiin 84/89 rikastamalla positiiviseksi todetusta kalavalmistenäytteestä. *L. monocytogenes* -pitoisuus oli alle 100 pmy/g 12,5 %:ssa ja 130 - 250.000 pmy/g 2,3 %:ssa tutkituista näytteistä. Kuten aiemmissakin tutkimuksissa, eristetyistä *L. monocytogenes* -kannoista valtaosa, 81, kuului serotyyppiin 1/2a, neljä serotyyppiin 4b ja yksi serotyyppiin 3a.

Tutkituissa mätinäytteissä (N=29) ei todettu *L. monocytogenes* -bakteeria.

Lainsäädännön edellyttämä enimmäissäilytyslämpötila 8,0 °C ylittyi 13 näytteenotokerralla, 12 myymälässä, 5,6 %:ssa kalavalmistenäytteitä. EVIn

suosittelemassa alle 3 °C lämpötilassa oli säilytetty 40,2 % näytteeksi otetuista ja 37,0 % tyhjiopakatuista kalavalmisteista. Mätinäytteistä 14 pakastetun tuotteen lämpötila oli -13,5 - -24,6 °C ja 8 kylmäaltaasta peräisin olleen 0 - 6,0 °C.

KIITOKSET

Kirjoittajat kiittävät:

Maija Hatakkaa EVIn Terveystieteiden yksiköstä hänen panoksestaan tutkimusprojektin suunnittelussa.

Näytteitä keränneitä valvontaviranomaisia ja Kokkolan seudun elintarvike- ja ympäristölaboratoriota, Porvoon elintarvikelaboratoriota, Savolabia ja Vantaan kaupungin elintarvike- ja ympäristölaboratoriota hyvästä yhteistyöstä.

Kaija Pajusta, Mira Kankareta, Lea Nygårdia, Maaret Hyppöstä ja Kirsi Eklundia EELAn bakteriologian tutkimusyksikön elintarvikemikrobiologian ryhmästä listeriakantojen jatkotutkimuksista.

Auli Vaaralaa EVIn Liha- ja kalahygienian yksiköstä hänen raporttiin antamistaan rakentavista kommentteista.



5 *Listeria monocytogenes* -bakteerin esiintyminen graavi- ja kylmäsavu...

5.7 VIITTEET

- (1) Elintarvikevirasto. 2000. Suositus tyhjiöpakkattujen kylmäsavustettujen ja graavisuolattujen kalavalmisteiden enimmäissäilytysajaksi. E11/212/2000.
- (2) Eläinlääkintä ja elintarviketutkimuslaitos, Elintarvikevirasto ja Kansanterveyslaitos. 2003. Savustetut ja graavatut kalatuotteet voivat sisältää listeriaa. Tiedote 28.5.2003. 2 s. http://www.eela.fi/ajankohtaista/tiedotteet_r.html?&Id=1054116661.html
- (3) Hatakka, M., Johansson, T., Rantala, L., Pakkala, P. & Honkanen-Buzalski T. Reduced *Listeria monocytogenes* occurrence in Finnish vacuum-packed fish products. 2001. In: Proc. of the International Symposium on Problems of Listeriosis, ISOPOL XIV Mannheim, May 13 – 16, 2001.
- (4) Hatakka, M., Johansson, T. 2002. *Listeria monocytogenes* tyhjiöpakatuissa kylmäsavukaloissa. 2002. Kaari - pelloilta pöytään. 6, 18-19.
- (5) Kansanterveyslaitos. 2005. Tartuntataudit Suomessa 1995-2004. Kansanterveyslaitoksen julkaisuja, KTL B12/2005, Edita Prima Oy, Helsinki. 78 s.
- (6) Miettinen, H. 2000. Mätituotteiden turvallisuus. Kalaseminaari VTT Biotekniikka, Otaniemi, Espoo. 5.4.2000. 4 s.
- (7) Miettinen, M. K., Siitonen, A., Heiskanen, P., Haajanen, H., Björkroth K. J. & Korkeala, H. J. 1999. Molecular epidemiology of an outbreak of febrile gastroenteritis caused by *Listeria monocytogenes* in cold-smoked rainbow trout. 37, 2358-2360.

6 Salmonellan ja termofiilisten kamylobakteerien esiintyminen

6

SALMONELLAN JA TERMOFIILISTEN KAMBYLOBAKTEERIEEN ESIINTYMINEN TUOREESSA SIIPIKARJAN LIHASSA

Raija Törmä-Oksanen

6.1 JOHDANTO

EU:n Komission suositukseen virallisesta elintarvikkeiden tarkastusta koskevasta yhteisen sovite-tusta ohjelmasta vuodeksi 2004 ⁽¹⁾ sisältyi hanke arvioida tuoreen, jäädytetyn siipikarjanlihan bakteriologisesta turvallisuudesta. Hankkeen tar-koituksena oli näytteenoton ja analysoinnin avulla arvioida siipikarjanlihan bakteriologista turvallisuutta termofiilisten kamylobakteerien kannalta sekä kerätä tietoa salmonellan esiintymisestä siipikarjan-lihassa. Suomi osallistui hankkeeseen ottamalla

näytteitä vähittäismyymälöistä ja ravintoloista. Näytteenoton toteuttivat Hämeenlinnan, Kuopion ja Vaasan elintarvikeviranomaiset touko-lokakuun ai-kana vuonna 2004. Mikrobiologiset laboratoriotut-kimukset tehtiin kunnallisissa elintarviketutkimus-laitoksissa ja löydösten jatkotutkimukset kamylo-bakteerien tunnistamiseksi Eläinlääkintä- ja elin-tarviketutkimuslaitoksen (EELA) bakteriologian tutkimusyksikön elintarvikemikrobiologian ryhmäs-sä.

6.2 NÄYTTEENOTTO JA TUTKIMUSMENETELMÄT

Näytteenottoa varten kolmeen kuntaan Hämeen-linnaan, Vaasaan ja Kuopioon lähetettiin näytteen-ottopyyntökirjeet, joissa kuntia pyydettiin ottamaan näytteitä vähittäismyymälöistä ja ravintoloista raaoista ja marinoimattomista broilerin, kalkkunan ja kanan lihasta. Näytteenoton yhteydessä val-vontaviranomaisia pyydettiin myös kirjaamaan näyt-teiden lämpötila ja lihan alkuperämaa. Näytteen-ottopyyntö koski yhteensä 220 näytettä.

Näytteitä otettiin yhteensä 130 kpl. Näytteitä otet-tiin broilerin ja kananpojan lihasta yhteensä 104 kpl (80%) ja kalkkunan lihasta 26 kpl (20%). Val-miiksi pakattujen tuotteiden tutkiminen aloitettiin

ilmoitettuna viimeisenä käyttöpäivänä tai mahdolli-simman lähellä sitä. Palvelumyynnistä otettujen näytteiden tutkiminen aloitettiin heti niiden saavut-tua laboratorioon. Kunnallisia laboratorioita pyydet-tiin toimittamaan näytteistä mahdollisesti eristetyt kamylobakteerikannat EELAn Helsinkiin jatko-tutkimuksiin ja salmonellabakteeri-kannat Kuopi-on alueyksikköön.

Näytteistä tutkittiin salmonella ja termofiiliset kamylobakteerit kvalitatiivisesti. Bakteeritutkimus aloitettiin näytteen hierontaliemestä EELAn ohjei-den mukaisesti. Kamylobakteerien rikastuksessa käytettiin Bolton-lientä.

6 Salmonellan ja termofiilisten kampylobakteerien esiintyminen

6.3 TULOKSET

6.3.1 Mikrobiologinen laatu

Vähittäismyymälöistä ja ravintoloista otetuissa näytteissä ei todettu salmonellaa. Kampylobakteereita todettiin 26 (20%) näytteessä. Kampylobakteereita sisältäneistä näytteistä 21 kpl (81%) oli broilerin tai kananpojan lihaa ja viisi (19%) kalkkunan lihaa. Kaikki broilereista tai kananpojista eristetyt kampylobakteerikannat kuuluivat EELAn jatkotutkimusten perusteella lajiin *Campylobacter jejuni*. Viidestä kalkkunanlihanäytteestä eristetyistä kampylobakteerikannoista kuului lajiin *C. jejuni* ja yksi lajiin *C.coli*.

6.3.2 Alkuperämaa

Näytteistä viisi (4%) oli alkuperämaaltaan brasilialaisia. Muiden osalta ja merkintöjen perusteella todettiin muiden olevan suomalaisia. Näistä näytteistä kahdessa oli *C. jejuni* -bakteeri.

6.3.3 Lämpötila

Näytteenottotodistusten perusteella todettiin, että näytteistä 8 kpl oli pakasteita. Vain yhden näytteen osalta lämpötila oli näytteenottohetkellä yli pakasteille annetun raja-arvon, -18 °C. Näytteen lämpötila oli -1,2 °C. Tuoreen ja raa'an siipikarjanlihan lakisääteinen säilytyslämpötila (7 °C) ylittyi 17 (14%) vähittäismyynnistä tai ravintoloista otetun näytteen osalta.

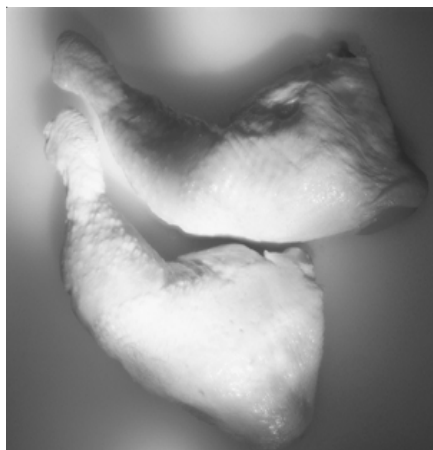
6.3.4 Toimenpiteet

Tutkimustulokset toimitettiin näytteenottokohteisiin sekä osa tuloksista toimitettiin myös tuotteiden valmistajille. Tarkastuksissa lämpötiloissa todettujen puutteiden johdosta annettiin näytteenottokohteisiin sekä suullisia että kirjallisia huomautuksia.

6.3 VIITTEET

(1) Komission suositus (2004/24/EY) virallista elintarvikkeiden tarkastusta koskevasta yhteen sovi-

tetusta ohjelmasta vuodeksi 2004. Euroopan unionin virallinen lehti L 6.10.1.2004.



7

STREPTOCOCCUS EQUI SSP. ZOOEPIDEMICUS, ESCHERICHIA COLIO157 JA KOKONAISBAKTEERIT RAAKAMAIDOSSA JA LÄMPÖKÄSITELLYSTÄ MAIDOSTA VALMISTETUSSA JUUSTOSSA

Elina Lahti, Marjaana Hakkinen, Maija Nuppunen,
Tuula Johansson ja Pirkko Kostamo

7.1 JOHDANTO

Kuluttajien suosimien pehmeiden juustojen valmistus on vuosisatainen perinne. Juustonvalmistuksessa voidaan käyttää raakamaitoa tai lämpökäsiteltyä maitoa, joka voidaan pastöroida tai termisoida. Raakamaidolla tarkoitetaan maitoa, jota ei pastöroida taudinaiheuttajien tuhoamiseksi, pastöroinnilla maidon kuumentamista joko 63 °C 30 min tai 72 °C 15 s. Termisointi on pastörointia lievempi lämpökäsittely (62 - 65°C 15 - 20 s), jota käytetään lähinnä emmentaltyyppisten juustojen valmistuksessa. Mikäli juustonvalmistukseen ei liity myöhempiä kuumennuskäsittelyjä, jotka tuhoisivat taudinaiheuttajan, maitoon lypsyt tai muun käsittelyn yhteydessä joutuneet bakteerit voivat aiheuttaa ruokamyrkytyksiä. Maitotuotteet ovat olleet välittäjäelintarvikkeena 2 - 6 % ruokamyrkytyksistä, ja juustot ovat merkittävä lähde maitotuotteisiin liittyneissä ruokamyrkytyksissä (De Buyser ym.

2001). Tavallisimpia aiheuttajamikrobeja ovat olleet *S. aureus*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ja patogeeniset *E. coli*-bakteerit.

Elintarvikevirasto (EVI), Eläinlääkintä- ja elintarvike-tutkimuslaitos (EELA) ja kuntien elintarvikevalvontaviranomaiset toteuttivat vuonna 2004 tutkimusprojektin, joka kuului EU:n yhteiseen valvontaohjelmaan. Tutkimusprojektin tarkoituksena oli selvittää raakamaidosta ja lämpökäsitellystä maidosta valmistettujen pehmeiden juustojen mikrobiologista laatua ja *Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus*- ja *Escherichia coli* O157 -bakteerien esiintymistä, sillä *S. equi* ssp. *zooepidemicus* aiheutti vakavan epidemian Pirkanmaalla syksyllä 2003 pastöroimattomasta vuohen maidosta valmistetun kotimaisen tuorejuuston välityksellä (Kuusi ym. 2006).

7.2 MATERIAALI JA MENETELMÄT

7.2.1 Näytteet

Raakamaidosta ja lämpökäsitellystä maidosta valmistettuja vuohen- (n=46) ja lehmänjuustonäytteitä (n=18) tutkittiin 64. Näytteistä 10 oli leipäjuustoja, 35 muita tuorejuustoja ja 22 kypsytettyjä juustoja (Taulukko 1). Raakamaitojuustonäytteitä oli 29 (45

%). Lisäksi tutkittiin yksi kutunmaitojogurtti. Näytteet kerättiin 26 eri valmistajalta eri puolilta Suomea. Samoilta valmistajilta tutkittiin näytteet ensin heinä-elokuussa 2004 ja toiset näytteet syys-joulukuussa 2004. Näytteet tutkittiin heti niiden saavuttua tai kylmäsäilytyksen (4 °C) jälkeen, kuitenkin ennen viimeistä käyttöpäivää.

7 *Streptococcus Equi* ssp. *zoepidemicus*, *Escherichia coli* O157 ja

7.3 Tutkimusmenetelmät

Näytteistä tutkittiin *Streptococcus equi* ssp. *zoepidemicus* (EELA 3519) ja näytteen kokonaispesäkeluku naudanveriagarilla (EELA 3416). Raakamaitojuustoista tutkittiin myös *Escherichia coli* O157 (ISO 16654:2001, muunnos [EELA 3414]).

S. equi ssp. *zoepidemicus* -bakteerin osoitusmenetelmä kehitettiin ja validoitiin EELA:n bakteriologian tutkimusyksikön elintarvikemikrobiologian ryhmässä vuoden 2003 epidemian jälkeen osana pro gradu -työtä. *S. equi* ssp. *zoepidemicus* -bakteerin osoittaminen maitotuotteista koostuu kahdesta eri vaiheesta: näyte rikastetaan taustaflooraa vähentävää antibiootteja sisältävässä liemessä ja bakteeri eristetään selektiivimajoilla. Eristetyt kannat tunnistetaan morfologisten ja biokemiallisten ominaisuuksien perusteella.

Taulukko 1. Tutkitut vuohen- ja lehmänmaitojuustot

Vuohenmaitojuustot	Raakamaito (kpl)	Lämpökäsitelty maito (kpl)	Yhteensä
Cheddar		2	2
Feta		9	9
Muu kypsytetty juusto		2	2
Piimäjuusto		1	1
Muu tuorejuusto	14	13	27
Valkohomejuusto		5	5
Yhteensä	14	32	46
Lehmänmaitojuustot			
Leipäjuusto	10		10
Piimäjuusto		1	1
Muu tuorejuusto	4	2	6
Valkohomejuusto	1		1
Yhteensä	15	3	18
Kaikki yhteensä	29	35	64

Taulukko 2. Tuorejuustojen kokonaisbakteerilukumäärät naudanveriagarilla

	N	Keskiarvo	Minimi	Maksimi
Vuohenmaitojuustot	25	$5,7 \times 10^6$	<100	$5,4 \times 10^7$
Raakamaito	13	$5,2 \times 10^6$	$6,1 \times 10^3$	$5,4 \times 10^7$
Lämpökäsitelty maito	13	$6,2 \times 10^6$	$5,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^7$
Lehmänmaitojuustot	17	$4,0 \times 10^6$	<100	$5,8 \times 10^7$
Raakamaito	14	$4,2 \times 10^6$	<100	$5,8 \times 10^7$
Lämpökäsitelty maito	3	$3,3 \times 10^6$	$5,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^7$
Kaikki näytteet	42	$5,0 \times 10^6$	<100	$5,8 \times 10^7$

7 *Streptococcus Equi* ssp. *zooepidemicus*, *Escherichia coli* O157 ja

7.3 TULOKSET

7.3.1 *Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus*

Tutkituissa juustoissa (n= 64) ja jogurtissa (n=1) ei todettu *S. equi* ssp. *zooepidemicus* -bakteeria. Yhdestä kutun raakamaitojuustonäytteestä eristettiin G-ryhmän streptokokki *Streptococcus canis* ja toisesta kutun raakamaitojuustonäytteestä C-ryhmän streptokokki *Streptococcus equisimilis* ssp. *dysgalactiae*.

7.3.2 *Escherichia coli* O157

Tutkituissa raakamaitojuustoissa (n =29) ei todettu *E. coli* O157- bakteeria.

7.3.3 Kokonaisbakteerit

Vuohen raakamaidosta valmistettujen tuorejuustojen kokonaisbakteerien keskiarvo oli $5,2 \times 10^6$ pmy/g ja lämpökäsitellystä kutun maidosta valmistettujen tuorejuustojen $6,2 \times 10^6$ pmy/g. Lehmän raakamaidosta valmistetuista tuorejuustoista 10 oli leipäjuustoja ja 4 muita tuorejuustoja. Näytteiden kokonaisbakteerien keskiarvo oli $4,5 \times 10^6$ pmy/g. Lämpökäsitellystä lehmän maidosta valmistettujen tuorejuustojen kokonaisbakteerien keskiarvo oli $3,3 \times 10^6$ pmy/g.

7.4 POHDINTA

Tutkituissa näytteissä ei todettu *S. equi* ssp. *zooepidemicus* - eikä *E. coli* O157 -bakteeria. Tutkimuksen näytemäärä oli pieni, mutta tutkimus oli kattava, sillä näytteitä otettiin lähes kaikista kutunjuustoa valmistavista laitoksista. Näytemääriä ei suhteutettu tuotantomääriin, mutta suurin osa laitoksista oli pienimuotoisia. Tutkimus ajoitettiin kesään ja syksyyn, koska *E. coli* O157 –bakteerin esiintyvyys eläimillä on suurinta loppukesästä ja oletettiin *S. equi* ssp. *zooepidemicus* –bakteerin esiintyvyyden olevan syksyllä suurempaa kuin muina vuodenaikoina. Aikaisempaa tietoa *S. equi* ssp. *zooepidemicus* –bakteerin esiintymisestä kotimaisissa juustoissa ei ole. Vuonna 1998 EELA ja EVI tutkivat *E. coli* O157-bakteerin esiintymistä raakamaidossa ja ternimaidossa sekä pienjuustoloiden valmistamissa juustoissa. Tutkituista näytteistä ei eristetty *E. coli* O157-bakteeria. Muiden STEC-bakteereiden esiintyvyyttä juustoissa ei ole Suomessa tutkittu.

Lämpökäsitellystä ja raakamaidosta valmistettujen tuorejuustojen kokonaisbakteerilukujen välillä ei ollut eroja. Maidon pastörointi tuhoaa patogeeneit ja vähentää pilaajabakteerien määrää. Osa valmiiden juustojen mikrobeista on todennäköisesti peräisin pastöroinnin jälkeisestä juustonvalmistusprosessista. Lehmän raakamaidosta valmistettujen leipäjuustojen kokonaismikrobipitoisuudet olivat pääasiassa melko pieniä, koska juusto kuumentetaan uunissa valmistuksen loppuvaiheessa.

S. equi ssp. *zooepidemicus* kuuluu Lancefieldin C-ryhmän streptokokkeihin. Muita ryhmään kuuluvia streptokokkeja ovat useilla eläinlajeilla ja ihmisillä tautia aiheuttava *S. equisimilis*, hevosen päntaudin aiheuttaja *S. equi* sp. *equi* sekä nautojen utaretulehduksen aiheuttaja *S. dysgalactiae*. *S. equi* ssp. *zooepidemicus* on hevosten hengitysteiden ja sukuelinten limakalvojen bakteeri, mutta voi aiheuttaa monenlaisia infektioita useilla muilla

7 *Streptococcus Equi* ssp. *zooepidemicus*, *Escherichia coli* O157 ja

eläinlajeilla^(17, 16, 14). Ihmisillä bakteeri aiheuttaa vakavan zoonoosin, joka usein alkaa ylähengitystieoireilla, mutta voi johtaa keuhkokuumeeseen, nivel tulehdukseen, verenmyrkytykseen, aivokalvontulehdukseen, sydänlappätulehdukseen ja munuaiskerästulehdukseen^(2, 3, 16). Yleisinfektioissa kuolleisuus on suuri, etenkin vastasyntyneillä ja iäkkäillä ihmisillä⁽¹⁶⁾. Ihmisten tartunnat ovat yleensä liittyneet hevoshetimitiin⁽¹⁶⁾ tai pastöroidattoman maidon tai juuston käyttöön^(6, 8, 1), kuten Pirkanmaalla syksyllä 2003 esiintyneessä epidemiasa⁽¹³⁾. Brasiliassa juustoa valmistaneiden oireettomien työntekijöiden nielusta eristettiin genotyybiltään samanlainen *S. equi* sp. *zooepidemicus* -bakteeri kuin potilaista⁽¹⁾.

S. equi ssp. *zooepidemicus* -bakteerin aiheuttamat epidemiat voivat jäädä havaitsematta, sillä ihmisistä eristettyjä streptokokkeja ei aina Suomessa tyypitetä lajitasolle eivätkä oireet välttämättä ole lieviä ylähengitystieoireita vakavampia. Vuosina 1998-2002 vain kolme invasiivista *S. equi* ssp. *zooepidemicus* -infektiota raportoitiin tartuntatauti-rekisteriin⁽¹²⁾. Samana ajanjaksona ilmoitettiin vuosittain vain 7 - 11 C-ryhmän streptokokki-infektioita.

Escherichia coli O157- bakteeri kuuluu shigatoksisiin *E. coli*-bakteereihin (STEC), jotka voivat aiheuttaa ihmisillä veristä ripulia. Tartunta voi olla myös oireeton tai lievä. Noin 5 - 8 %:lle potilaista voi kehittyä jälkitautina hemolyyttis-ureeminen syndrooma (HUS), johon liittyy munuaisvaurio⁽¹⁵⁾. *E. coli* O157- bakteerin tärkeimpänä varastona pidetään nautoja, joiden ulosteisiin bakteeria ajoittain erittyy, vaikka bakteeria voikin esiintyä kaikkialla ruuansulatuskanavassa. *E. coli* O157 -bakteeria esiintyy noin 1 % suomalaisista teurasnau-doista, muita shigatoksisia *E. coli*-bakteereita noin 30 %.

E. coli O157 tai muut EHEC-bakteerit eivät ole aiheuttaneet tuorejuuston välityksellä epidemioita Suomessa, mutta kylläkin pastöroidattoman maidon välityksellä. Maito- ja maitotuotteet ovat olleet tavallisimpia välittäjäelintarvikkeita Englannissa ja Walesissa esiintyneissä *E. coli* O157 epidemioissa^(9, 10). *E. coli* O157 aiheutti 33 % Englannissa ja Walesissa vuosina 1992 - 2000 todetuista maitopereisissä epidemioista⁽¹⁰⁾. EHEC serotyyppi O157 on aiheuttanut Yhdysvalloissa tuorejuuston⁽⁴⁾, Ranskassa vuohenjuuston⁽⁷⁾ ja Kanadassa raakamaidosta valmistetun goudajuuston välityksellä vakavia infektioita⁽¹¹⁾.

Mikäli eläimet erittävät shigatoksisia bakteeria ulosteessaan, bakteereita voi huonon lypsyhygienian takia päätyä juustonvalmistuksessa käytettävään maitoon ja edelleen juustoihin, ellei edeltävä lämpökäsittely ole riittävä. *S. equi* ssp. *zooepidemicus* voi joutua maitoon, mikäli eläin sairastaa *S. equi* ssp. *zooepidemicus* -bakteerin aiheuttamaa utaretulehdusta. Bakteeria saattaa esiintyä myös eläimen sukupuolielinten limakalvoilla, jolloin maito saattaa saastua bakteerilla myös lypsyt yhteydessä, mikäli lypsyhygieniasta ei ole huolehdittu riittävästi. Sekä STEC-bakteerit että *S. equi* ssp. *zooepidemicus* säilyvät hyvin juustoissa, joten hyvä lypsyhygienia, maidon pastörinti ja hyvä tuotantohygienia ovat parhaat tavat estää juustojen saastuminen.

KIITOKSET

Kiitämme ylitarkastaja Maija Hatakkaa merkittävästä avusta tutkimusprojektin suunnittelussa ja Kirsi-Maria Eklundia, Lea Nygårdia, Kaija Pajusta ja Marja Rasinperää osaavasta laboratorio-analytiikasta.

7 *Streptococcus Equi* ssp. *zooepidemicus*, *Escherichia coli* O157 ja

7.5 VIITTEET

- (1) Balter S, Benin A, Pinto SWL, Teixeira, LM, Alvim GG, Luna E, Jackson D, LaClaire L, Elliott J, Facklam R, Schuchat A. 2000. Epidemic nephritis in Nova Serrana, Brazil. *Lancet* 355:1776-1780.
- (2) Barnham M, Ljunggren Å, McIntyre M. 1987. Human infection with *Streptococcus zooepidemicus* (Lancefield group C): three case reports. *Epidemiol. Infect.* 98:183-190.
- (3) Bradley SF, Gordon JJ, Baumgartner DD, Marasco WA, Kauffman CA. 1991. Group C streptococcal bacteremia: analysis of 88 cases. *Rev. Infect. Dis.* 13:270-280.
- (4) Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2000. Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with eating fresh cheese curds - Wisconsin, June 1998. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 49:911-913.
- (5) De Buyser ML, Dufour B, Maire M, Lafarge V. 2001. Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries. *Int. J. Food Microbiol.* 67:1-17.
- (6) Edwards AT, Roulson M, Ironside MJ. 1988. A milk-borne outbreak of serious infection due to *Streptococcus zooepidemicus* (Lancefield group C). *Epidemiol. Infect.* 101:43-51.
- (7) Espié E, Vaillant V, Mariani-Kurkdjian P, Grimont F, Martin-Schaller R, De Valk H, Vernozy-Rozand C. 2006. *Escherichia coli* O157 outbreak associated with fresh unpasteurized goats' cheese. *Epidemiol. Infect.* 134:143-146.
- (8) Francis AJ, Nimmo GR, Efstratiou A, Galanis V, Nuttall N. 1993. Investigation of milk-borne *Streptococcus zooepidemicus* infection associated with glomerulonephritis in Australia. *J. Infect.* 27:317-323.
- (9) Gillespie IA, O'Brien SJ, Adak GK, Cheasty T, Willshaw G. 2005. Foodborne general outbreaks of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 in England and Wales 1992-2002: where are the risks? *Epidemiol. Infect.* 133:803-808.
- (10) Gillespie IA, Adak GK, O'Brien SJ, Bolton, FJ. 2003. Milkborne general outbreaks of infectious intestinal disease, England and Wales, 1992-2000. *Epidemiol. Infect.* 130:461-468.
- (11) Honish L, Predy G, Hislop N, Chui L, Kowalewska-Grochowska K, Trottier L, Kreplin C, Zazulak I. 2005. An outbreak of *E. coli* O157:H7 hemorrhagic colitis associated with unpasteurized gouda cheese. *Can. J. Public Health.* 96:182-184.
- (12) Kansanterveyslaitos. Tartuntataudit Suomessa 1995-2004.
- (13) Kuusi M, Lahti E, Virolainen A, Hatakka M, Vuento R, Rantala L, Vuopio-Varkila J, Seuna E, Karppelin M, Hakkinen M, Takkinen J, Gindonis V, Siponen K, Huotari K. An outbreak of *Streptococcus equi subspecies zooepidemicus* associated with consumption of fresh goat cheese. *BMC Infect. Dis.* 2006, 6:36
- (14) Las Heras A, Vela AI, Fernández E, Legaz E, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF. 2002. Unusual outbreak of clinical mastitis in dairy sheep caused by *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*. *J. Clin. Microbiol.* 40:1106-1108.
- (15) Mead PS, Griffin PM. 1998. *Escherichia coli* O157:H7. *Seminar. Lancet* 352:1207-1212.
- (16) Shah SS, Matthews RP, Cohen C. 2001. Group C streptococcal meningitis: case report and review of the literature. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 20:445-448.
- (17) Sharp MW, Prince MJ, Gibbens J. 1995. *S. zooepidemicus* infection and bovine mastitis. *Vet Rec.* 137:128.