



LISTERIA MONOCYTOGENES 'E LEVIMUS VALMISTOIDUS

LISTERIA MONOCYTOGENES PREVALENCE IN READY-TO-EAT FOOD PRODUCTS

Mati Roasto¹, Kadriin Meremäe¹, Toomas Kramarenko², Mihkel Mäesaar², Maiu Kuningas²

¹ Eesti Maaülikool, Veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, Toiduhügieeni osakond, Kreutzwaldi 56/3, Tartu 51014

² Veterinaar- ja toidulaboratoorium, Kreutzwaldi 30, Tartu 51006

Saabunud: 05.06.17
Received:
Aktsepteeritud: 15.06.17
Accepted:

Avaldatud veebis: 15.06.17
Published online:

Vastutav autor: Mati
Corresponding author: Roasto
e-mail: mati.roasto@emu.ee

Keywords: *Listeria monocytogenes*, RTE food products, prevalence.

Link: http://agrt.emu.ee/pdf/2017_1_roasto.pdf

DOI: <http://dx.doi.org/10.15159/jas.17.02>

ABSTRACT. RTE meat and fish products with a long shelf-life are associated with the high risk of transmission of *L. monocytogenes* to human. Also, soft and semi-soft cheeses are in focus according to potential contamination with *L. monocytogenes* bacteria. The aim of the study was to give an overview about the prevalence of *L. monocytogenes* in ready-to-eat food products obtained at food business operator's self-control and at official control level. It was found that the highest *L. monocytogenes* prevalence was in RTE fish products (11.6%), followed by fruit and vegetable based products (3.9%), mixed salads (2.2%), culinary products (2.0%), non-categorized RTE food products (1.4%), RTE meat products (0.9%) and meals from retail outlets (0.7%). *L. monocytogenes* was not found in food intended for infants and for medical purposes, and in gravy products. Generally, the prevalence of *L. monocytogenes* was low, except among RTE fish products, especially salted fish and fish products, smoked fish and cold-smoked fish products among which the prevalence of *L. monocytogenes* was 28.6%, 28.3% and 14.3%, respectively.

© 2017 Akadeemiline Põllumajanduse Selts. Kõik õigused kaitstud. 2017 Estonian Academic Agricultural Society. All rights reserved.

Sissejuhatus

Listeria perekonda kuuluvad bakterid on Gram-positiivsed ümarate otstega pulkbakterid suurusega 0,4–0,5 µm × 0,5–2,0 µm, mis esinevad üksikute rakkudena või lühikeste ahelatena. Sellesse perekonda kuuluvad mikroorganismid on fakultatiivsed anaeroobid, spoore ja kapslit mittemoodustavad ning omavad viburit ja on seetõttu liikumisvõimelised (NHS, 2014).

Listeria perekonda kuulub hetkel 17 erinevat liiki: *L. aquatica*, *L. booriae*, *L. cornellensis*, *L. fleischmannii*, *L. floridensis*, *L. grandensis*, *L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. marthii*, *L. monocytogenes*, *L. newyorkensis*, *L. riparia*, *L. rocourtiae*, *L. seeligeri*, *L. weihenstephanensis*, ja *L. welshimeri* (Weller jt, 2015). Ametlikult registreeritud haigusjuhtumid inimestel on siiski põhjustatud üksnes *L. monocytogenes*'e poolt (NHS, 2014). Inimeste haigestumist on põhjustanud kolmteist *L. monocytogenes* serotüüpi, kusjuures ligikaudu 90% haigusjuhtudest on põhjustatud serotüüpide 1/2a, 1/2b ja 4b poolt (Ward jt, 2004). Aastal 2015 registreeriti Euroopa Liidus (EL) 2206 listerioosi haigestumist, mis teeb 0,46 haigusjuhtu 100 000 inimese kohta (EFSA,

2016). Perioodi 2008–2015 lõikes on täheldatav statistiliselt oluline listerioosi juhtude arvukuse tõus ning 2015. aastal registreeriti EL-is 270 listerioosist tingitud surmajuhtu, mis on 2008. aastast alates kõrgeim aastane suremusnäitaja. Listerioosi juhtum-surmlõppe määr oli 2015. aastal EL-is 17,7% (EFSA, 2016). Eestis registreeriti 2015. aastal üksteist haigusjuhtu ning haigestumus 100 000 elaniku kohta oli 0,8. Kliiniliselt avaldusid haigusjuhud meningiidina (45,4%), septitseemiana (27,3%) ning muude vormide või täpsustamata listerioosina 27,3% haigusjuhtudest. Kõik haiged olid vanuses üle 50 aasta ning hospitaliseeriti 100% haigetest. Esines kolm surmajuhtu (VTA, 2015). *L. monocytogenes*'e poolt põhjustatud haigus võib esineda kergekujulise gripi-sarnaste ning kõhulahtisuse sümptomitega haigusest kuni eluohtlike infektsioonideni nt meningoentsefaliit, septitseemia ja endokardiit. Riskigruppi kuuluvad rasedad, kuna toiduga saadud haigustekitaja võib levida lootesse ning põhjustada aborte või vastsündinute raskekujulist haigestumist, millesse suremus on kõrge. Inimese vanus omab listerioosi haigestumises ning haiguse tõsiduses olulist

rolli, kuna haigestunute seas on suurem suurim üle 60-aastaste ning alla aasta vanuste laste hulgas (Painter, Slutsker, 2007).

L. monocytogenes kandub inimeseni peamiselt saastunud toidu kaudu, millest tingituna peetakse haigustekitajat eelkõige oluliseks toidupatogeeniks, kuigi listerioidid nakatavad ka loomi (Allerberger, Wagner, 2010).

Suurem osa listerioosi haiguspuhangutest on põhjustatud pika säilimisajaga valmistoodete, eelkõige liha- ja kalatoodete, tarbimisest, mis omakorda on seotud *L. monocytogenes*'e võimega kasvada madalatel temperatuuridel nii vaakumisse kui modifitseeritud atmosfääri pakendatud toodetes (Gottlieb jt, 2006; Stephan jt, 2015). Valmistoodete all mõeldakse tooteid, mis on mõeldud tarbimiseks ilma eelneva kuumtöötlemiseta. Potentsiaalset ohtu tarbijate tervisele võivad kujutada tooted, kus *L. monocytogenes*'e arvukus toote ühe grammi või milliliitri kohta on suurem kui 100 *L. monocytogenes*'e bakterit (Hächler jt, 2013). Sellest tingituna kehtivad EL-is ametlikud toiduohutuse kriteeriumid. Mikrobioloogilisi toiduohutuskriteeriume rakendatakse kolmele valmistoidu kategooriale. Valmistoidud, mis on ette nähtud väikelastele, ja spetsiaalsed raviotstarbelised valmistoidud. Nendes toodetes ei tohi *Listeria monocytogenes*'t esineda 25 grammis tootes ($n = 10$, $c = 0$) kogu kõlblikkusaja jooksul. Teistele valmistoituledele kehtivad reeglilt 100 pmü-d grammi toote kohta ei tohi ületada kogu toote kõlblikkusaja jooksul ($n = 5$, $c = 0$). Valmistoitulel, mis soodustavad *L. monocytogenes*'e kasvu, ei tohi tekitajat tuvastada 25 grammis tootes ($n = 5$, $c = 0$) selle valmistamise lõpus ehk lõpptootes. Erandi moodustavad juhud, kus tootja suudab pädevale asutusele tõestada, et kogu säilimisaja jooksul ei ületata kriteeriumi 100 pmü-d grammi toote kohta. Vastavalt Euroopa Toiduohutusametile andmetele (EFSA, 2016) oli eelmainitud kriteeriumi ületamisi EL-i jaemüügi tasandil vähem kui 0,3% üksikproovide ja 0–1,4% analüüsituid toidupartiide lõikes. Tootmise ehk toidukäitlemise ettevõtte tasandil võetud proovidest ei vastanud nõuetele 0–3,5% üksikproovidest ning 0–6,1% analüüsituid toidupartiidest. Mikrobioloogilistele toiduohutuse nõuetele mittevastavusi tootmise tasandil tuvastati enim kala (eelkõige suitsukala) ja piimatoodete ning kuumtöödeldud lihatoodete kategoorias. Jaemüügi tasandil tuvastati kriteeriumite ületamisi EL-is enim kalatoodete ning pehmete ja poolpehmete juustude kategoorias (EFSA, 2016). Võttes aluseks teadmise, et kõrgesse riskikategooriasse kuuluvad eelkõige valmistooded, mida enne tarbimist ei pea kuumutama, oli antud töö eesmärgiks hinnata *L. monocytogenes*'e levimust ettevõtete enesekontrolli ja riikliku järelevalve raames kogutud ning Veterinaar- ja Toidulaboratooriumis analüüsituid valmistoodetes ehk RTE (*ready-to-eat*, söömiseks valmis) toodetes.

Materjal ja meetodika

L. monocytogenes'e levimuse uurimusega seondult koguti ning analüüsi aastatel 2012–2016 ühtekokku 30 016 valmistoodete proovi, millest liha-, kala- ja

piimatoodeteid oli vastavalt 8334, 7291 ning 6276. Proovid võeti nii ettevõtete enesekontrolli raames kui ka riikliku järelevalve eesmärgil. Käesolev uurimus ei käsitle *L. monocytogenes* arvukuse määramiseks kogutud ning analüüsituid toidu proove.

Listeria monocytogenes'e tuvastamine

L. monocytogenes'e tuvastamine teostati vastavalt EVS-EN ISO 11290-1:2000/A1:2004 standardi juhistele Veterinaar- ja Toidulaboratooriumis. Meetod sisaldas nii esmast kui sekundaarset rikastust. Lühidalt, proovimaterjal (25 g) kanti esmalt pool-Fraser puljongisse (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England) ning inkubeeriti 30 °C juures 24 tundi. Pärast inkubeerimist kanti 0,1 ml esmast rikastusvedelikku tuubi, mis sisaldas 10 ml täis-Fraser puljongit, mida omakorda inkubeeriti 37 °C juures 48 tundi. Pärast inkubeerimist tehti nii pool-Fraser kui täis-Fraser puljongitest välja külvid ALOA (Lab M Ltd., Bury, Lancashire, UK) ja PALCAM (Oxoid) agarile. Eelmainitud selektiivsed agarid inkubeeriti 37 °C juures 24 kuni 48 tundi. Tüüpilised ning oletatavalt *L. monocytogenes* kolooniad ($n = 5$) kanti edasi PALCAM ja ALOA agaritelt trüptoon-soja-pärmi ekstrakti agarile (TSYEA), mis valmistati laboris üksikomponentidest (Oxoid) ning plaate inkubeeriti temperatuuril 37 °C 24 tundi. Tõestustestide tegemiseks kasutati TSYEA agarilt saadud puhaskultuuri. Isolaadid, mis olid katalaas- ning Gram-positiivsed ning iseloomuliku liikumisega, külvati edasi 5% lambavere agarile (Oxoid), et määrata *L. monocytogenes*'le omane β -hemolüütiline aktiivsus. Täiendavalt teostati süsivesikute kasutamise ning CAMP test. Kõik tõestatud *L. monocytogenes*'e isolaadid säilitati edasisteks uuringuteks – 80 °C juures spetsiaalsetes krüotubides (TSC Ltd, Heywood, Lancashire, UK).

Statistiline analüüs

Andmete töötlemisel kasutati MS Excel 2013 tarkvara (Microsoft Corporation; Redmond, WA, USA) ja andmete statistiline analüüs tehti tarkvarapaketi R. Tegemaks kindlaks, kas erinevate toidugruppide *L. monocytogenes* levimusnäitajates esineb statistiliselt olulisi erinevusi, leiti usalduspiirid usaldusnivoo 0,95 juures ning kasutati Hii-ruut testi.

Tulemused ja arutelu

Uurimistulemustest selgus, et aastatel 2012–2016 analüüsituid 30 016 proovist tuvastati *L. monocytogenes*'t kokku 1086-es (3,6%, CI_{95} 3,4–3,8%) RTE (*ready-to-eat*, söömiseks valmis) valmistootes (tabel 1). Kõige enam tuvastati *L. monocytogenes*'t RTE kalatoodetes, kus ühtekokku 11,6% (CI_{95} 10,9–12,3%) analüüsituid proovidest osutus positiivseks. Teistes uuritud RTE valmistoodetes jäi *L. monocytogenes*'e levimus oluliselt madalamaks. Kulinaartoodetes, salatites, puu- ja köögiviljatoodetes ning kategoriseerimata RTE toodetes tuvastati *L. monocytogenes*'t vahemikus 2,0–3,9%. Sellele järgnesid kondiitri- ja pagaritooted, piima- ja lihatooded ning valmistoidud, kus *L. monocytogenes*'t esines vahemikus 0,2–0,9%.

Tabel 1. *Listeria monocytogenes* erinevates RTE toodetes aastatel 2012–2016
Table 1. *Listeria monocytogenes* in various RTE food categories in 2012–2016

| Proov Sample | Positiivseid proove / proovide üldarv (% positiivseid) / Number of positive / total number of samples (positive %) | | | | | Kokku / Total |
|--|--|--|--|--|--|---|
| | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | |
| Lihatooted Meat products | 23/1871 (1,2) | 15/1781 (0,8) | 18/1885 (1,0) | 2/1288 (0,2) | 17/1509 (1,1) | 75/8334 (0,9%, CI₉₅ 0,7–1,1%) |
| Kalatooted Fish products | 54/701 (7,7) | 389/1742 (22,3) | 286/2086 (13,7) | 76/1738 (4,4) | 80/1385 (5,8) | 885/7652 (11,6%, CI₉₅ 10,9–12,3%) |
| Piimatooted Milk products | 2/1335 (0,2) | 16/1444 (1,1) | 8/1229 (0,7) | 4/1020 (0,4) | 3/1259 (0,2) | 33/6287 (0,5%, CI₉₅ 0,4–0,7%) |
| Kulinaartooted Culinary products | 5/307 (1,6) | 4/270 (1,5) | 3/221 (1,4) | 0/262 (0,0) | 16/308 (5,2) | 28/1368 (2,1%, CI₉₅ 1,4–3,0%) |
| Kastmed Gravy | 0/37 (0,0) | 0/53 (0,0) | 0/38 (0,0) | 0/37 (0,0) | 0/35 (0,0) | 0/200 (0,0%, CI₉₅ 0,0–2,4%) |
| Kondiitri- ja pagaritooted Pastry products | 0/78 (0,0) | 0/75 (0,0) | 0/132 (0,0) | 1/116 (0,9) | 0/60 (0,0) | 1/461 (0,2%, CI₉₅ 0,0–1,4%) |
| Puu- ja köögiviljatooted Fruit and vegetable based products | 1/163 (0,6) | 17/150 (11,3) | 0/38 (0,0) | 4/84 (4,8) | 0/130 (0,0) | 22/565 (3,9%, CI₉₅ 2,5–5,9%) |
| Salatid Mixed salads | 0/95 (0,0) | 0/75 (0,0) | 0/35 (0,0) | 7/75 (9,3) | 0/32 (0,0) | 7/312 (2,2%, CI₉₅ 0,9–4,8%) |
| Valmistoidud jaekaubandusest Meals from retail outlets | 1/885 (0,1) | 14/1086 (1,3) | 1/763 (0,1) | 11/884 (1,2) | 2/581 (0,3) | 29/4199 (0,7%, CI₉₅ 0,5–1,0%) |
| Eritoit Food intended for infants and for medical purposes | 0/55 (0,0) | 0/40 (0,0) | 0/40 (0,0) | 0/20 (0,0) | 0/40 (0,0) | 0/195 (0,0%, CI₉₅ 0,0–2,4%) |
| Muud RTE tooted Other RTE products | 0/60 (0,0) | 6/84 (7,1) | 0/52 (0,0) | 0/116 (0,0) | 0/131 (0,0) | 6/443 (1,4%, CI₉₅ 0,6–3,1%) |
| Kokku Total | 86/5587 (1,5%, CI₉₅ 1,2–1,9%) | 461/6800 (6,8%, CI₉₅ 6,2–7,4%) | 316/6519 (4,9%, CI₉₅ 4,4–5,4%) | 105/5640 (1,9%, CI₉₅ 1,5–2,3%) | 118/5470 (2,2%, CI₉₅ 1,8–2,6%) | 1086/30016 (3,6%, CI₉₅ 3,4–3,8%) |

Aastatel 2012–2016 ei tuvastatud *L. monocytogenes*'t kastme- ja eritoidu proovides.

Aastate lõikes varieerus *L. monocytogenes*'e levimus RTE toodetes vahemikus 1,5–6,8%. Enim tuvastati *L. monocytogenes*'t aastal 2013, mil 6,8% (CI₉₅ 6,2–7,4%) proovidest osutus uuritud toidupatogeeni suhtes positiivseteks. Aastatel 2014 ja 2016 oli *L. monocytogenes*'e levimus vastavalt 4,9% (CI₉₅ 4,4–5,4%) ja 2,2% (CI₉₅ 1,8–2,6%) ning aastatel 2012 ja 2015 esines *L. monocytogenes*'t RTE valmistoodetes alla 2% proovides. Tabel 2 annab detailsema ülevaate *L. monocytogenes*'e levimusest RTE kalatoodetes. Aastatel 2012–2016 analüüsitud 7652 proovist osutus *L. monocytogenes*'e suhtes positiivseks 885 (11,6%, CI₉₅ 10,9–12,3%) kalatoodete proovi. Enim tuvastati *L. monocytogenes*'t soolatud kalas ja kalatoodetes (28,6%, CI₉₅ 26,0–31,3%) ning suitsutatud kalas (28,3%, CI₉₅ 25,9–30,7%), millele järgnesid külmsuitsukalatooted (14,3%; CI₉₅ 9,9–20,2%), muud kategoriseerimata kalatooted (14,1%, CI₉₅ 10,5–18,5%) ja kalapreservid (9%, CI₉₅ 6,9–11,7%). Kuumsuitsukalatoodetes ja kuumtöödeldud kalatoodetes tuvastati *L. monocyto-*

genes't vahemikus 3,0–4,3%. Madal *L. monocytogenes*'e levimus tuvastati kalamarjaproovides (1,8%, CI₉₅ 0,5–5,5%), kuivatatud kalas ja kalatoodetes (0,9%, CI₉₅ 0,2–2,8%) ning kalapõhistes kulinaartoodetes (0,7%, CI₉₅ 0,4–1,1%). *L. monocytogenes*'t ei tuvastatud kalakonservides. Aastate lõikes oli kõige kõrgem (22,3%, CI₉₅ 20,4–24,4%) *L. monocytogenes*'e levimus RTE kalatoodetes 2013. aastal ning kõige madalam (4,4%, CI₉₅ 3,5–5,5%) 2015. aastal.

Tabel 3 annab ülevaate *L. monocytogenes*'e levimusest RTE lihatoodetes. Uurimisperioodi jooksul analüüsitud 8334 proovist osutus *L. monocytogenes*'e suhtes positiivseks 75 (0,9%, CI₉₅ 0,7–1,1%) RTE lihatoodet, mis on oluliselt madalam levimus võrreldes RTE kalatoodetega (11,6%, CI₉₅ 10,9–12,3%). Enim positiivseid proove tuvastati *L. monocytogenes*'t suitsuliha toodetes (2,5%, CI₉₅ 1,6–3,9%), millele järgnesid keedutooted (1,4%, CI₉₅ 0,8–2,3%) ja teised lihatooted (0,7%, CI₉₅ 0,5–1,0%). Praetoodetes ja suitsuvorstides tuvastati *L. monocytogenes*'t vahemikus 0,1–0,2%. Aastate lõikes varieerus *L. monocytogenes*'e levimus RTE lihatoodetes vahemikus 0,2–1,2%.

Tabel 2. *Listeria monocytogenes* erinevates RTE kalatoodetes aastatel 2012–2016**Table 2.** *Listeria monocytogenes* in selected RTE fish products in 2012–2016

| Proov Sample | Positiivseid proove / proovide üldarv (% positiivseid) / Number of positive / total number of samples (positive %) | | | | | Kokku / Total |
|---|--|---|---|---|---|---|
| | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | |
| Kuumsuitsukalatooted <i>Hot-smoked fish products</i> | 4/80 (5,0) | 5/75 (6,7) | 0/60 (0) | 4/61 (6,6) | 2/72 (2,8) | 15/348 (4,3%, CI₉₅ 2,5–7,2%) |
| Külmsuitsukalatooted <i>Cold-smoked fish products</i> | 6/30 (20,0) | 4/45 (8,9) | 7/41 (17,0) | 2/45 (4,4) | 9/35 (25,7) | 28/196 (14,3%, CI₉₅ 9,9–20,2%) |
| Suitsutatud kala* <i>Smoked fish</i> | 7/61 (11,5) | 252/534 (47,2) | 82/582 (14,1) | 17/79 (21,5) | 28/110 (25,5) | 386/1366 (28,3%, CI₉₅ 25,9–30,7%) |
| Soolatud kala ja kalatooted <i>Salted fish and fish products</i> | 16/105 (15,2) | 72/228 (32,9) | 169/489 (34,6) | 35/177 (19,8) | 35/145 (24,1) | 327/1144 (28,6%, CI₉₅ 26,0–31,3%) |
| Kuivatatud kala ja kalatooted <i>Dried fish and fish products</i> | 0/80 (0) | 1/82 (1,2) | 0/68 (0) | 0/47 (0) | 2/55 (3,6) | 3/332 (0,9%, CI₉₅ 0,2–2,8%) |
| Kalapreservid <i>Preserved fish products</i> | 20/208 (9,6) | 13/162 (8,0) | 17/90 (18,9) | 3/86 (3,5) | 2/63 (5,6) | 55/609 (9,0%, CI₉₅ 6,9–11,7%) |
| Kalakonservid <i>Canned fish products</i> | 0/5 (0) | 0/7 (0) | 0/10 (0) | 0/10 (0) | 0/5 (0) | 0/37 (0,0%, CI₉₅ 0,0–11,7%) |
| Kalamari <i>Caviar</i> | 1/21 (4,8) | 2/22 (9,1) | 0/37 (0) | 0/42 (0) | 0/48 (0) | 3/170 (1,8%, CI₉₅ 0,5–5,5%) |
| Kuumtöödeldud kalatooted <i>Heat-treated fish products</i> (non-smoked) | 0/35 (0) | 4/35 (11,4) | 0/25 (0) | 0/30 (0) | 0/10 (0) | 4/135 (3,0%, CI₉₅ 1,0–7,9%) |
| Kala kulinaariatooted <i>Fish culinary products</i> | 0/31 (0) | 0/438 (0) | 5/596 (0,9) | 15/1142 (1,3) | 0/795 (0) | 20/3002 (0,7%, CI₉₅ 0,4–1,1%) |
| Teised kalatooted <i>Other fish products</i> | 0/45 (0) | 36/114 (31,6) | 6/88 (6,8) | 0/19 (0) | 2/47 (4,3) | 44/313 (14,1%, CI₉₅ 10,5–18,5%) |
| Kokku Total | 54/701 (7,7%, CI₉₅ 5,9–10,0%) | 389/1742 (22,3%, CI₉₅ 20,4–24,4%) | 286/2086 (13,7%, CI₉₅ 12,3–15,3%) | 76/1738 (4,4%, CI₉₅ 3,5–5,5%) | 80/1385 (5,8%, CI₉₅ 4,6–7,2%) | 885/7652 (11,6%, CI₉₅ 10,9–12,3%) |

* Termotöötlemisviisi täpsustamata / The mode of thermal treatment unspecified

Aastatel 2012–2016 analüüsitud RTE piimatoodetest annab ülevaate tabel 4. Ühtekokku uuriti 6287 RTE piimatoodet ning *L. monocytogenes* tuvastati 33 (0,5%, CI₉₅ 0,4–0,7%) tootes. RTE piimatoodetes oli *L. monocytogenes*'e levimus võrreldes RTE kalatoodetega oluliselt madalam, kuid võrreldes RTE lihatoodetega samaväärsed, varieerudes uurimisperioodi jooksul vahemikus 0,1–1,1%. Enim tuvastati *L. monocytogenes*'t pehmetes ja poolpehmetes juustudes (1,5%, CI₉₅

0,7–3,2%), millele järgnesid muud juustutooted (1,1%, CI₉₅ 0,7–1,8%), muud kategoriseerimata piimatooted (0,6%, CI₉₅ 0,2–1,9%) ja hapupiimatooted (0,4%, CI₉₅ 0,1–1,1%). Uurimisperioodi jooksul *L. monocytogenes*'t ei tuvastatud pastöriseeritud joogipiimas, kohupiimatoodetes, kõvades ja poolkõvades juustudes, jäätises ning võis ja piimarasvatoodetes.

Tabel 3. *Listeria monocytogenes* erinevates RTE lihatoodetes aastatel 2012–2016**Table 3.** *Listeria monocytogenes* in RTE meat products in 2012–2016

| Proov Sample | Positiivseid proove / proovide üldarv (% positiivseid) / Number of positive / total number of samples (positive %) | | | | | Kokku / Total |
|--|--|---|---|---|---|--|
| | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | |
| Suitsuliha tooted <i>Smoked meat products</i> | 7/159 (4,4) | 3/211 (1,4) | 11/171 (6,4) | 1/189 (0,5) | 0/140 (0) | 22/870 (2,5%, CI₉₅ 1,6–3,9%), |
| Praetooted <i>Fried meat products</i> | 1/58 (1,7) | 0/60 (0) | 0/238 (0) | 0/110 (0) | 0/104 (0) | 1/570 (0,2%, CI₉₅ 0,01–1,1%) |
| Keedutooted <i>Cooked products</i> | 1/292 (0,3) | 10/256 (3,9) | 1/250 (0,4) | 0/94 (0) | 4/269 (1,5) | 16/1161 (1,4%, CI₉₅ 0,8–2,3%) |
| Suitsuvorstid <i>Smoked meat sausages</i> | 1/209 (0,5) | 0/128 (0) | 0/110 (0) | 0/156 (0) | 0/193 (0) | 1/796 (0,1%, CI₉₅ 0,8–2,3%) |
| Teised lihatooted <i>Other meat products</i> | 13/1153 (1,1) | 2/1126 (0,2) | 6/1116 (0,5) | 1/739 (0,1) | 13/803 (1,6) | 35/4937 (0,7%, CI₉₅ 0,01–0,8%) |
| Kokku (%) Total (%) | 23/1871 (1,2%, CI₉₅ 0,8–1,9%) | 15/1781 (0,8%, CI₉₅ 0,5–1,4%) | 18/1885 (1,0%, CI₉₅ 0,6–1,5%) | 2/1288 (0,2%, CI₉₅ 0,03–0,6%) | 17/1509 (1,1%, CI₉₅ 0,7–1,8%) | 75/8334 (0,9%, CI₉₅ 0,7–1,1%) |

Tabel 4. *Listeria monocytogenes* erinevates RTE piimatoodetes aastatel 2012–2016
Table 4. *Listeria monocytogenes* in selected RTE milk products in 2012–2016

| Proov Sample | Positiivseid proove / proovide üldarv (% positiivseid) / Number of positive/total number of samples (positive %) | | | | | Kokku / Total |
|--|--|---|--|--|---|---|
| | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | |
| Pastöriseeritud joogipiim <i>Pasteurized milk</i> | 0/26 (0) | 0/43 (0) | 0/58 (0) | 0/51 (0) | 0/41 (0) | 0/219 (0,0%, CI₉₅ 0,0–2,2%) |
| Hapupiimatooted <i>Fermented milk</i> products | 0/200 (0) | 0/253 (0) | 0/160 (0) | 4/186 (2,2) | 0/180 (0) | 4/979 (0,4%, CI₉₅ 0,1–1,1%) |
| Kohupiimatooted <i>Curd cheese products</i> | 0/387 (0) | 0/262 (0) | 0/164 (0) | 0/113 (0) | 0/80 (0) | 0/1006 (0,0%, CI₉₅ 0,0–0,5%) |
| Kõvad ja poolkõvad juustud <i>Hard and semi-hard</i> <i>cheeses</i> | 0/55 (0) | 0/50 (0) | 0/70 (0) | 0/87 (0) | 0/70 (0) | 0/332 (0,0%, CI₉₅ 0,0–1,4%) |
| Pehmed ja poolpehmed juustud <i>Soft and semi-soft</i> <i>cheeses</i> | 2/70 (2,9) | 0/80 (0) | 5/135 (3,7) | 0/105 (0) | 0/76 (0) | 7/466 (1,5%, CI₉₅ 0,7–3,2%) |
| Teised juustutooted <i>Unspecified cheese</i> products | 0/373 (0) | 16/341 (4,7) | 0/361 (0) | 0/252 (0) | 3/354 (0,8) | 19/1681 (1,1%, CI₉₅ 0,7–1,8%) |
| Jäätis <i>Ice cream</i> | 0/74 (0) | 0/161 (0) | 0/100 (0) | 0/47 (0) | 0/278 (0) | 0/660 (0,0%, CI₉₅ 0,0–0,7%) |
| Või ja piimarasvatooted <i>Butter and milkfat</i> products | 0/73 (0) | 0/85 (0) | 0/90 (0) | 0/97 (0) | 0/93 (0) | 0/438 (0,0%, CI₉₅ 0,0–1,1%) |
| Teised piimatooted <i>Other milk products</i> | 0/77 (0) | 0/169 (0) | 3/91 (3,3) | 0/82 (0) | 0/87 (0) | 3/506 (0,6%, CI₉₅ 0,2–1,9%) |
| Kokku Total | 2/1335 (0,1%, CI₉₅ 0,03–0,6%) | 16/1444 (1,1%, CI₉₅ 0,7–1,8%) | 8/1229 (0,7%, CI₉₅ 0,3–1,3%) | 4/1020 (0,4%, CI₉₅ 0,1–1,1%) | 3/1259 (0,2%, CI₉₅ 0,06–0,8%) | 33/6287 (0,5%, CI₉₅ 0,4–0,7%) |

Kokkuvõte ja järeldused

L. monocytogenes'e levimust aastatel 2012–2016 hindavas uuringus leidsime, et enim olid haigus-tekitaajast saastunud RTE kalatooted (11,6%). Eestis varasemalt (2008–2010) teostatud uuringus (Kramarenko jt, 2013), mis hindas *L. monocytogenes*'e levimust ja serotüüpilist kooslust erinevates toitudes, leiti *L. monocytogenes*'e levimuseks RTE kalatoodetes 5,4%. Varasemaga võrreldes on *L. monocytogenes* levimus RTE kalatoodetes suurenenud ning seda ka võrreldes Euroopa Toiduohutusameti üle-euroopaliste andmetega 2015. aasta kohta, kus *L. monocytogenes* levimuseks RTE kalatoodetes on märgitud 3,5% (EFSA, 2016). Käesolevas uuringus leitud kõrget *L. monocytogenes*'e levimust kalatoodetes saab põhjendada eelkõige sellega, et kalatoodete kategoorias olid enim saastunud soolatud kalatooted (28,6%), suitsutatud kala (28,3%) ning külmsuitsukalatooted (14,3%). Kalatoodete kategooria teistes tooterühmades nt kuumsuitsukalatoodetes ja kuumtöödeldud kalatoodetes oli *L. monocytogenes*'e levimus tunduvalt madalam, vastavalt 4,3% ja 3,0%. Soolatud kalatoodete puhul on enamasti tegemist õrnsoola kalatoodetega, kus NaCl sisaldus lõpptootes jääb vahemikku 1,3–1,5%, mis ei ole piisav *L. monocytogenes*'e hävitamiseks. Sama saab väita suitsutamise, eriti külmsuitsuga töötlemise kohta, kus temperatuurid ei ole *L. monocytogenes*'e hävitamiseks piisavalt

kõrged. Kuumtöödeldud kalatoodete k.a kuumsuitsukalatoodete madalamad *L. monocytogenes*'e levimuse näitajad (vastavalt 3,0% ja 4,3%) viitavad aga märkimisväärselt tõhusamate temperatuuri režiimide rakendamisele, mis enamikel juhtudel tagab listeeriate hävitamise valmistoodetes. Kuumtöödeldud kalatoodete v.a kalakonservide puhul on võimalik ka kuumtöötlemise järgne saastumine nt saastunud tööpindade või töötlemisseadmete kaudu. Meie uuringu tulemustega sarnaselt on kõrge *L. monocytogenes*'e levimuse näitajad soolatud ja külmsuitsukalatoodetes tuvastatud nt Bulgaarias (Gyurova jt, 2015), Soomes (Lyhs jt, 1998), Iraanis (Fallah jt, 2013) ja Hispaanias (Garrido, García-Jalón, 2009). Külmsuitsu- ja õrnsoola kalatooted kuuluvad uuritud haigustekitaja suhtes kõrge riski kategooria toodete hulka, sest lisaks efektiivse bakteritsiidse tehnoloogia puudumisele pakendatakse kalatooted sageli vaakumisse või modifitseeritud atmosfääri, mis pärsib küll enamike mikroorganismide kasvu, kuid kuna *L. monocytogenes*'e puhul on tegemist fakultatiivselt anaeroobse ning lisaks psührotroofse ehk madalaid temperatuure taluva mikroorganismiga, siis on ta võimeline antud keskkonnatingimustes hõlpsasti eluvõimet säilitama ning isegi kasvama (Lado, Yousef, 2007). Sarnaselt meie uuringule, kus *L. monocytogenes*'e levimus RTE lihatoodetes oli 0,9%, on enamikes avaldatud uuringutes leitud, et RTE lihatoodete saastumismäärad on madalad (EFSA, 2016). Samas on *L. monocytogenes*'e levimus Kreeka RTE lihatoodetes olnud koguni 28% (Manios jt,

2014). Sarnaselt kalatoodetele kehtib ka RTE lihatoodete puhul reegel, et mida leebema toimega kuumtöötlemist rakendatakse, seda suurem on võimalus *L. monocytogenes*'e esinemiseks eelnevalt saastunud toodetes. Võrreldes RTE kuumsuitsu lihatoodetega on *L. monocytogenes*'e levimus RTE külmsuitsu lihatoodetes reeglina kõrgem. Toores lihas nt hakkilihas ja toores ulukilihas on listeriatest saastunud toodete proportsioon olnud koguni 37,5% ja 36,4% (Kramarenko jt, 2013). Eeltoodu viitab sellele, et toores liha on sageli listeriatega saastunud, mistõttu on oluline, et saaste ei leviks toorme alalt valmistoote alale. Kõrge riski kategooria toodete hulka arvatakse ka pastöriseerimata või vähese kuumtöötlemisega piimatooted nt pehmed ja poolpehmed juustud. Käesolevas uuringus tuvastati *L. monocytogenes* pehmetes ja poolpehmetes juustudes 1,5% ulatuses uuritud toodetest, mis on väga sarnane 1,3%-ga avaldatuna hiljuti EFSA poolt (EFSA, 2016). Üldiselt võib käesoleva uuringu andmetele toetudes öelda, et Eesti RTE piimatoodetes esineb *L. monocytogenes*'t vaid harvadel juhtudel. Teistes antud uuringus käsitletud valmistoote kategooriates oli *L. monocytogenes* levimus madal. Vaid puu- ja köögiviljatoodetes oli *L. monocytogenes*'e levimus 3,9%, mis võib olla tingitud puu- ja köögiviljatoodete tükeldamisest ja riivimisest ehk saastunud töötlemisseadmetest tingitud kontaminatsioonist. Täiendavast töötlemisest ning suuremast toote pinnast tingituna on tükeldatud ja riivitud puu- ja köögiviljad töötlemata puu- ja köögiviljadega võrreldes reeglina mikrobioloogiliselt enam saastunud. Kokkuvõtteks soovime öelda, et *L. monocytogenes*'e levimus Eestis müüdavates valmistooidetes on sarnane Euroopa Liidu keskmistele enamikes valmistoitude kategooriates. Mõnedes valmistoitude kategooriates oli levimus EL-i keskmisest madalam ning mõnedes kõrgem, kuid arvestades tõsiasjaga, et listerioosi haigestumisel on surmlõppe määr kõrge, tuleb toidu käitlejal teha pingutusi, et tagada *L. monocytogenes*'e puudumine nii tootmiskeskkonnas kui valmistoidus. *L. monocytogenes*'st tingitud toiduohu ennetamine või minimeerimine saavutatakse läbi tõhusa enesekontrolli, mis peab sisaldama ka *L. monocytogenes* suhtes proovide võtmist nii tootmiskeskkonnast, toorainetest kui lõpptoodetest ning positiivsete tulemuste korral adekvaatsete korrigeerivate meetmete rakendamist. Eesti riigi tasandil on oluline, nagu enamikes teistes EL-i maades, arendada molekulaarepidemioloogilisi uuringuid, mis eeldab toiduseireprogrammi raames isoleeritud *L. monocytogenes*'e isolaatide molekulaarset kirjeldamist ja tüpiperimistulemuste haldamiseks vastava andmebaasi loomist. Samuti on riiklikul tasandil oluline haigusrisiki vähendamiseks ennetavate tegevuste rakendamine elanike hulgas, et selgitada riskigrupi kuuluvatele inimestele nt vanuritele ning rasedatele toitumise ning listerioosi vahelisi seoseid. Tervetele täiskasvanutele *L. monocytogenes* madalates kontsentratsioonides kõrget terviseriski ei kujuta. Riskirühmadesse kuuluvad inimesed peavad välistama pika säilimisajaga valmistoitude tarbimist, milles *L. monocytogenes* kasv on tõenäoline.

Tänuavaldused

Täname Eesti toidukäitlemise ettevõteteid ning Veterinaar- ja Toiduametit.

Huvide konflikt / Conflict of interests

Autor kinnitab artikliga seotud huvide konflikti puudumist.

The authors declares that there is no conflict of interest regarding the publication of this paper.

Autorite panus / Author contributions

Uuringu kava ja planeerimine: MR, TK, KM, MM.

Andmete kogumine: MK, TK, MM.

Andmete analüüs ja interpretatsioon: MR, KM, TK.

Käskkirja koostamine: MR, KM, TK.

Käskkirja ülevaatamine ja heaks kiitmine: MR, KM, TK.

Study conception and design: MR, TK, KM, MM.

Acquisition of data: MK, TK, MM.

Analysis and interpretation of data: MR, KM, TK.

Drafting of manuscript: MR, KM, TK.

Critical revision and approve the final manuscript: MR, KM, TK.

Kasutatud kirjandus

- Allerberger, F., Wagner, M. 2010. Listeriosis: a resurgent foodborne infection. – *Clinical Microbiology and Infection*, 16, 16–23.
- EFSA, European Food Safety Authority, 2015. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. – *EFSA Journal* 2016, 14(12), 4634.
- Fallah, A.A., Saei-Dehkordi, S.S., Mahzounieh, M. 2013. Occurrence and antibiotic resistance profiles of *Listeria monocytogenes* isolated from seafood products and market and processing environments in Iran. – *Food Control*, 34, 630–636.
- Garrido, V., Vitas, A.I., García-Jalón, I. 2009. Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat products: Prevalence by brands and retail establishments for exposure assessment of listeriosis in Northern Spain. – *Food Control*, 20, 986–991.
- Gottlieb, S.L., Newbern, E.C., Griffin, P.M., Graves, L.M., Hoekstra, R.M., Baker, N.L., Hunter, S.B., Holt, K.G., Ramsey, F., Head, M., Levine, P., Johnson, G., Schoonmaker-Bopp, D., Reddy, V., Kornstein, L., Gerwel, M., Nsubuga, J., Edwards, L., Stonecipher, S., Hurd, S., Austin, D., Jefferson, M.A., Young, S.D., Hise, K., Chernak, E.D., Sobel, J. & Listeriosis Outbreak Working Group. 2006. Multistate outbreak of listeriosis linked to turkey deli meat and subsequent changes in US regulatory policy. – *Clinical Infectious Diseases*, 42, 29–36.
- Gyurova, E., Krumova-Vulcheva, G., Daskalov, H., Gogov, Y. 2015. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods in Bulgaria. – *Journal of Hygienic Engineering and Design*. UDC 579.67:579.869.1, 112–118.

- Hächler, H., Marti, G., Giannini, P., Lehner, A., Jost, M., Beck, J., Weiss, F., Bally, B., Jermini, M., Stephan, R., Baumgartner, A. 2013. Outbreak of listeriosis due to imported cooked ham. – Switzerland 2011. *Eurosurveillance*, 18(18), 1–5.
- Kramarenko, T., Roasto, M., Meremäe, K., Kuningas, M., Põltsama, P., Elias, T. 2013. *Listeria monocytogenes* prevalence and serotype diversity in various foods. – *Food Control* 30, 24–29.
- Lado, B.H., Yousef, A.E. 2007. Characteristics of *Listeria monocytogenes* important to food processors. In: *Listeria, Listeriosis, and Food Safety* (eds. E.T. Ryser and E.H. Marth). 3rd ed. – CRC Press, Boca Raton, FL. p. 157–213.
- Lyhs, U., Hatakka, M., Maki-Petays, N., Hyytiä, E., Korkeala, H. 1998. Microbiological quality of Finnish vacuum-packaged fishery products at retail level. – *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 49, 146–150.
- Manios, S.G., Grivokostopoulos, N.C., Bikouli, V.C., Doultos, A., Zilelidou, E.A., Gialitaki, M.A., Skandamis, P.N. 2014. A 3-year hygiene and safety monitoring of a meat processing plant which uses raw materials of global origin. – *International Journal of Food Microbiology*, doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.12.028.
- NHS, National Health Service in England. 2014. UK standards for microbiology investigations. Identification of *Listeria* species, and other non-sporing gram-positive rods (except *Corynebacterium*). – *Bacteriology Issue No. 3.1*, pp. 9–10.
- Painter, J., Slutsker, L. 2007. Listeriosis in humans. In: *Listeria, Listeriosis and Food Safety* (eds. E.T. Ryser and E.H. Marth), 3rd ed. – CRC Press, pp. 85–109.
- Stephan, R., Althaus, D., Kiefer, S., Lehner, A., Hatz, C., Schmutz, C., Jost, M., Gerber, N., Baumgartner, A., Hächler, H., Mäusezahl-Feuz, M. 2015. Foodborne transmission of *Listeria monocytogenes* via ready-to-eat salad: A nationwide outbreak in Switzerland, 2013–2014. – *Food Control*, 57, 14–17.
- VTA, Veterinaar- ja Toiduamet. 2015. Zoonooside aruanne, Listerioos, lk 14–15.
- Ward, T.J., Gorski, L., Borucki, M.K., Mandrell, R.E., Hutchins, J., Papedis, K. 2004. Intraspecific phylogeny and lineage group identification based on the *prfA* virulence gene cluster of *Listeria monocytogenes*. – *Journal of Bacteriology*, 4994–5002.
- Weller, D., Andrus, A., Wiedmann, M., Den Bakker, H.C. 2015. *Listeria booriae* sp. nov. and *Listeria new-yorkensis* sp. nov., from food processing environments in the USA. – *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65, 286–292.

Listeria monocytogenes prevalence in ready-to-eat food products

Mati Roasto¹, Kadrin Meremäe¹, Toomas Kramarenko², Mihkel Mäesaar², Maiu Kuningas²

¹ Estonian University of Life Sciences,

Institute of Veterinary Medicine and Animal Sciences,

F.R. Kreutzwaldi 56/3, 51014 Tartu, Estonia

² Estonian Veterinary and Food Laboratory

Kreutzwaldi 30, Tartu 51006

Summary

The main aim of the study is to give an overview about the prevalence of *L. monocytogenes* in ready-to-eat food products obtained at food business operator's self-control and at official control level. Samples were collected during the period of 2012–2016 and altogether 30 016 RTE food product samples were analyzed. The isolation of *L. monocytogenes* was carried out in Estonian Veterinary and Food Laboratory and all the analyses and confirmation tests were performed in accordance with instructions of the detection methods described by EVS-EN ISO 11290-1:2000/A1:2004. According to our findings the highest *L. monocytogenes* prevalence was found in RTE fish products (11.6%), followed by fruit and vegetable based products (3.9%), mixed salads (2.2%), RTE culinary products (2.0%), non-categorized RTE food products (1.4%), RTE meat products (0.9%) and meals from retail outlets (0.7%). *L. monocytogenes* was not found among RTE food products such as food intended for infants and for medical purposes and gravy products. Generally, the prevalence of *L. monocytogenes* was found to be low, except certain RTE fish products, such as salted fish and fish products (28.6%), smoked fish (28.3%) and cold-smoked fish products (14.3%). Due to the fact that human listeriosis is a relatively rare but serious zoonotic disease which can be life threatening to vulnerable populations, especially to elderly persons, pregnant women, and persons with weakened immune systems, it is very important to keep *L. monocytogenes* contamination in RTE food products as low as possible. At state level there is need for systematic *L. monocytogenes* molecular characterization together with creation and maintenance of typing results database. Further actions are needed to lower the *L. monocytogenes* prevalence in certain RTE fish products, which showed high prevalence in present study.