



Osaamista  
ja oivallusta  
tulevaisuuden  
tekemiseen

Katariina Anttila

# Listeria- ja salmonellakontaminaatioiden ennaltaehkäisy leipomossa

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Insinööri (AMK)

Bio- ja elintarviketekniikka

Insinöörityö

2.4.2020

Tekijä Otsikko Sivumäärä Aika	Katariina Anttila Listeria- ja salmonellakontaminaatioiden ennaltaehkäisy leipomossa. 37 sivua + 2 liite 2.4.2020
Tutkinto	insinööri (AMK)
Tutkinto-ohjelma	bio- ja kemiantekniikka
Ammatillinen pääaine	bio- ja elintarviketekniikka
Ohjaajat	tutkintovastaava Carola Fortelius-Sarén leipomon laatupäällikkö
<p>Työssä perehdyttiin ruokamyrkytyksiä aiheuttaviin salmonella- ja listeriabakteereihin, jotka ovat maailmanlaajuisesti yleisimpiä ruokamyrkytysbakteereja. Työn tarkoituksena oli analysoida kontaminaatoriskejä ja näytteenottomenetelmien tarvetta leipää valmistavassa leipomossa. Tuotteista tehdään tarvittavia patogeeni määrityksiä, joten työssä oli oleellista keskittyä varmistustoimenpiteisiin, kuten mahdollisiin leviämisreitteihin ja ympäristönäytetesteihin.</p> <p>Salmonellaepidemiat ovat yleisempiä maailmalla, mutta patogeeni kontaminoi pääasiassa lihatuotteita. Listeriatapaukset ovat lisääntyneet viimeisen kymmenen vuoden aikana, ja leipomot sekä konditoriat käyttävät tuotteissaan usein listeriakontaminaatiolle alttiita raaka-aineita, kuten maitoa, voita ja kananmunia. Leivät täytettyjä leipiä lukuun ottamatta ovat kuitenkin mikrobiologisesti melko turvallisia elintarvikkeita, sillä ne aiheuttavat vakavia ruokamyrkytyksiä äärimmäisen harvoin.</p> <p>Tässä tutkimuksessa seurantaan valittiin 18 näytteenottopistettä, jotka sijaitsivat leipomon lattiatasoilla, lattiakaivoissa, riskialttiilla tuotantolinjalla ja kylmäsäilytyspaikoissa. Tärkeintä oli, että patogeenisiä bakteereja ei löytyisi etenäkään sellaisilta pinnoilta, joihin elintarvike on kosketuksissa kuumennuskäsittelyn jälkeen. Pintanäytetestit valittiin sen perusteella, millaiset resurssit leipomolla olisi ottaa ja viljellä näytteitä. Pikanäytetesteiksi valikoitui Salmonella Isolation Transwab, SwabSURE ListeriaP ja DipSlide Listeria.</p> <p>Tulokset olivat negatiivisia listerian ja salmonellan osalta. Kahdessa salmonellatestissä tulokset viittaasivat <i>E. coli</i>n ja/tai enterobakteerin aiheuttamiin reaktioihin. Listeria Dipslide -testeissä todennäköisenä pidettiin enterokokki- ja hiivakasvustoa. Minkäänlaisia muutoksia ei havaittu SwabSURE Listeria näytteissä, joilla voitiin varmistaa Listeria Dipslide -testien listerianegatiiviset tulokset.</p> <p>Listerian ja salmonellan testausta pinnoilta ei pidetty välttämättömänä säännöllisen näytteenoton kannalta. Vaaratilanteita epäiltäessä leipomolla on kuitenkin hyvä olla tietoa, millaisilla pikatestimenetelmillä voidaan testata patogeeneja pinnoilta, miten ne toimivat ja mitä tulisi ottaa huomioon.</p>	
Avainsanat	listeria, salmonella, patogeeni, leipomo, ympäristönäytetesti, elintarviketeollisuus

Author Title Number of Pages Date	Katariina Anttila Prevention of <i>Listeria</i> and <i>Salmonella</i> Contamination in a Bakery 37 pages + 2 appendices 24 February 2020
Degree	Bachelor of Engineering
Degree Programme	Biotechnology and Chemical Engineering
Professional Major	Biotechnology and Food Engineering
Instructors	Carola Fortelius-Sarén, Head of Biotech. and Food Eng. Dept Quality Manager in the company
<p>The thesis focused on the food poisoning bacteria <i>Salmonella</i> and <i>Listeria</i>, which are the most common food poisoning bacteria worldwide. The purpose of this thesis was to analyze the risks of contamination and the need for sampling methods in a bakery. The necessary pathogen assays were made from the products, thus it was essential to focus on the precautionary measures, such as possible pathways of propagation and environmental sample testing.</p> <p><i>Salmonella</i> epidemics are more common, but the pathogen contaminates mainly meat products. <i>Listeria</i> cases have increased in the last decade and bakeries and confectioneries often use raw materials such as milk, butter and eggs, which are susceptible to <i>Listeria</i> contamination. Breads other than stuffed sandwiches are microbiologically safe foods because they often do not cause serious food poisoning.</p> <p>In this study 18 sampling points located at bakery floor levels, floor drains, high-risk production lines, and cold-storages were selected for monitoring. The worst option was that pathogenic bacteria would be found on the production line surfaces to which the bread is exposed after the heat treatment. Surface sample tests were selected so that the bakery had the necessary resources to process the samples. <i>Salmonella</i> Isolation Transwab, SwabSURE <i>Listeria</i>P and DipSlide <i>Listeria</i> were selected for the rapid tests.</p> <p>The results were negative for <i>Listeria</i> and <i>Salmonella</i>. In two <i>Salmonella</i> tests, the results referred to <i>E. coli</i> and / or enterobacterial reactions. In <i>Listeria</i> Dipslides tests, enterococci and yeast growth were the most probable results. There were no changes in SwabSURE <i>Listeria</i> samples, which was good because they confirmed the negative results of <i>Listeria</i> Dipslide tests.</p> <p>Surface testing of <i>Listeria</i> and <i>Salmonella</i> is not considered necessary in the future. However, in case of suspected hazards, it is useful for the bakery to know what kind of rapid test methods can be used to test pathogens on surfaces, how they work and what should be considered.</p>	
Keywords	<i>Listeria</i> , <i>Salmonella</i> , pathogen, bakery, environmental sample test, food industry

## Sisällys

### Lyhenteet

1	Johdanto	1
2	Salmonella	2
2.1	Yleistä salmonellasta	2
2.2	Salmonelloosi	3
2.3	Salmonellatilanne Suomessa	4
2.4	Salmonellaepidemiat EU:ssa	5
2.5	Salmonellan leviäminen	5
2.5.1	Leviäminen elintarvikkeiden välityksellä	6
2.5.2	Leviäminen tuotantotiloissa	7
2.6	Salmonellan näytteenottoa koskeva lainsäädäntö	8
3	Listeria	9
3.1	Listerian ominaisuudet	9
3.2	Listerioosi	9
3.3	Listerian yleisyys ja epidemiat	10
3.4	Listerian leviäminen	11
3.4.1	Leviäminen elintarvikkeiden välityksellä	11
3.4.2	Elintarvikkeiden jälkikontaminoituminen	13
3.4.3	Biofilmien muodostuminen	14
3.5	Listerian näytteenottoa koskeva lainsäädäntö	15
4	Hygieniariskien määrittäminen	18
4.1	Leipomon raaka-aineiden merkitys kontaminaatiossa	18
4.2	Pintojen puhtaus leipomossa	18
4.3	Ihmisten ja tuhoeläinten merkitys välittäjinä	20
5	Materiaalit ja menetelmät	22
5.1	Pintanäytemenetelmät	22
5.2	Salmonellan näytteenotto	26
5.3	Listerian näytteenotto	27
5.3.1	SwabSURE ListeriaP	27

5.3.2	Listeria Dipslide	28
6	Työn kokeellinen osa	30
6.1	Näytteenottokohtien määrittely	30
6.1.1	Työvaatteet	31
6.1.2	Lattiataso	32
6.1.3	Kuljetusvälineet	33
6.1.4	Tuotantolinjan laitteet	33
6.1.5	Jääkaappi	33
6.2	Tulokset	34
6.2.1	Salmonella -testien tulosten tulkinta	34
6.2.2	Listeria -testien tulosten tulkinta	34
7	Yhteenveto	37
	Lähteet	38
	Liitteet	
	Liite 1. Dipslide- testien tulokset	
	Liite 2. Salmonellatestin kasvualustan ainesosat	

## 1 Johdanto

Teollistuneissa maissa ruokamyrkytyksiin sairastuu vuosittain noin 30 prosenttia ihmisistä, mutta suurin osa myrkytyksistä jää raportoimatta epidemian ollessa pieni tai oireiltaan lievä. Yhä vapaampi ihmisten ja tavaroiden liikkuminen valtioiden välillä on lisännyt yleisesti ruokamyrkytysepidemioiden riskejä. [1, s. 28, 83.]

Elintarvikkeiden turvallisuuteen vaikuttavat monet tekijät, joihin elintarvikkeen tuottajalla on velvollisuus perehtyä mahdollisimman kattavasti. Ennaltaehkäisevillä toimenpiteillä voidaan taata kuluttajille hygieeninen elintarvike, estää ruoan kontaminoituminen ja sitä kautta aiheutuvat ruokamyrkytysepidemiat. Biologisia vaaratekijöitä elintarvikkeen kontaminaatiossa ovat ihmiselle näkymättömät mikrobit sekä muut eliöt, kuten tuhoeläimet ja hyönteiset, jotka voivat välillisesti kantaa tauteja tuotantolaitoksiin.

Tässä työssä perehdyttiin ruokamyrkytyksiä aiheuttaviin salmonella- ja listeriabakteereihin, jotka kuuluvat maailmanlaajuisesti tutkituimpiin ruokamyrkytysbakteereihin. Kontaminaatioita voidaan ennaltaehkäistä elintarviketeollisuustehtaiden tiloissa ja ympäristössä ottamalla säännöllisesti näytteitä, kehittämällä parempia toimintatapoja ja parantamalla omavalvontasuunnitelmaa. Kaikki edistävät toimet lisäävät sekä kuluttajien että työntekijöiden varmuutta harjoitettavasta toiminnasta.

Opinnäytetyön tavoitteena oli etsiä sopivia mikrobiologisia pintanäytemenetelmiä leipomolle listerian ja salmonellan seuraamiseksi sekä etsiä näiden kannalta kriittiset kultureitit ympäristöstä tehtaaseen. Tehtävänä oli analysoida näiden ruokamyrkytysbakteerien näytteenottomenetelmien tarvetta leipomossa ja tarpeen ilmentyessä lisätä menetelmät yrityksen näytteenottosuunnitelmaan.

## 2 Salmonella

### 2.1 Yleistä salmonellasta

Salmonellasuku kuuluu *Enterobacteriaceae*-heimoon ja suvulla on kaksi lajia: *Salmonella enterica* ja *Salmonella bongori*. *Salmonella enterica* jaetaan lisäksi kuuteen alalajiin. Bakteerin tyyppikanta on *Salmonella enterica* (subsp. *enterica*) serovar *Typhimurium* LT2. Salmonellan serotyyppejä tunnetaan yhteensä noin 2 500, joista 1 500 serovaria kuuluu *S. enterica* subsp. *entericalle*. Serotyypit jaetaan O- ja H-antigeenien mukaan. Tunnistuksessa nähtävä O-antigeeni lähtee salmonellasolun lipopolysakkaridin (LPS) sokeriketjusta. H-antigeeni taas sijaitsee bakteerin värekarvojen eli flagellojen pinnalla. Flagellojen avulla salmonella pystyy liikkumaan. [1, s. 79.]

Salmonella on gramnegatiivinen sauva ja fakultatiivisesti anaerobinen bakteeri, eli se kykenee käyttämään hapenpuutteessa nitraattia. Tämän vuoksi se pystyy lisääntymään sekä hapellisessa että hapettomassa ympäristössä. Salmonellalla on kemoorganotrofinen ominaisuus, jolloin se käyttää orgaanisia yhdisteitä aineenvaihdunnassa käymisen tai soluhengityksen kautta. Salmonella fermentoi D-glukoosia ja on katalaasipositiivinen (hajottaa vetyperoksidia) sekä oksidaasinegatiivinen. Bakteeri myös dekarboksyloi lysiniä ja ornitiinia sekä tuottaa rikkivetyä ja kaasua mutta ei hydrolysoi ureaa. [1, s. 79.]

Salmonellan kasvulämpötilarajat ovat noin 7 °C ja 47 °C, jolloin sitä voidaan sanoa mesofiiliseksi bakteeriksi. Optimikasvulämpötila salmonellalla on 37 °C. Salmonella-bakteerin pH-rajat ovat 4,5 ja 9,5, mutta pH-optimalueena pidetään 6,5–7,5. Salmonellan  $A_w$ -minimiarvo on 0,94. Bakteeri pystyy säilymään elävänä pakastetuissa ja kuivatuissa elintarvikkeissa mutta vaatii lisääntyäkseen kosteutta. Bakteerit säilyvät siten esimerkiksi jauhoissa ja suklaassa. Salmonellan tuhoaa normaalisti +70-asteinen kuumennuskäsittely, mutta siipikarjan tapauksessa + 75-asteinen käsittely on tarpeen. Lisäksi 5-prosenttista suolaliuosta käytetään salmonellan kasvun estäjänä. [1, s. 79–80.]

## 2.2 Salmonelloosi

Salmonellabakteeri elää suolistoissa, ja siksi se luokitellaankin suolistobakteereihin. Bakteerien aiheuttamia tauteja kutsutaan salmonellooseiksi. Salmonelloosin inkubatioaika on 8–28, vuorokautta ja oireina esiintyy tavallisesti ripulia, vatsakipuja ja pitkäaikaista kuumetta, jotka kestävät alle 30 vuorokautta. Niveltaudit voivat olla salmonelloosin jälkitauteja. [1, s. 81–82.]

Suomessa esiintyvät salmonellatyypit ovat yleensä *S. enterica* Enteritidis ja *S. enterica* Typhimurium, joista jälkimmäinen on tyypillisin kotimaista alkuperää oleva infektoija. Suurin osa aiheutuneista suolisto- ja yleisinfektioista on peräisin ulkomailta saaduista tartunnoista, ja salmonellan esiintyminen muualla Euroopassa on huomattavasti yleisempää kuin Suomessa. Tämä on hyvä ottaa huomioon myös elintarviketeollisuudessa, sillä kontaminaatioreittejä on joskus vaikea arvioida jälkikäteen, mikäli mahdollisia vaaroja ei ole ajoissa otettu huomioon. [1, s.83.]

Yleisinfektiot voidaan jakaa lavantautiin ja pikkulavantautiin. Lisäksi muut salmonellat aiheuttavat oireita, mutta lievempänä. Pikkulavantaudissa aiheuttajana on *S. enterica* Paratyphi A ja lavantaudissa *S. enterica* Typhi. Lavantaudissa kantajuus on pitkäaikaisempaa. Noin 50 prosenttia salmonelloosipotilaista kantaa tautia 2–4 viikon jälkeen ja 10–20 prosenttia 4–8 viikon jälkeen. Infektioannos on yleensä yli  $10^5$  salmonellasolua, mutta lavantaudissa se voi olla huomattavasti pienempikin. [1, s. 81–82.]

Uusimpien tutkimustulosten mukaan osa salmonellatyypeistä näyttäisi tuottavan samaa solumyrkkyä kuin lavantaudin aiheuttajabakteeri. Myrkky vaurioittaa ihmissolujen DNA:ta, jolloin terveyshaitat ovat huomattavasti pitkäaikaisempia. Vastustuskyvyltään heikot ihmiset ovat alttiita jopa kuolemalle. WHO:n (World Health Organization) mukaan salmonella aiheuttaa eniten kuolemia ruokamyrkytyksiä aiheuttavista bakteereista. Kuolemantapauksia aiheutuu maailmanlaajuisesti noin 59 000 vuosittain. [2.]



## 2.3 Salmonellatilanne Suomessa

Suomen poikkeuksellisen erinomaiseen salmonellatilanteeseen vaikuttavat kylmä ilmasto, elintarvikeketjun kattava valvonta, tehokas tuottajien ja viranomaisten välinen yhteistyö sekä suomalainen keksintö, kompetitiivinen ekskluusio. Kompetitiivista ekskluusiot on käytetty jo vuodesta 1976 lähtien ja siinä vastakuoriutuneet broileri untuvikot saavat terveiden broilereiden suolesta eristettyjä mikrobeja. Nämä valtaavat untuvikkojen suoliston, jossa salmonelloilla on huomattavasti suuremmat mahdollisuudet selviytyä. Suomalaisilla tiloilla ei käytetä salmonellaa sisältävää rehua, ja sitä kantavat linnut poistetaan tuotannosta. [2.] Alla olevassa taulukossa 1 on esitetty kotimaisten salmonella tartuntojen yleisimmät serotyypit vuosilta 2008–2017.

Taulukko 1. Vuosien 2008–2017 yleisimmät salmonellan serotyypit Suomessa. [3, s. 19–20.]

	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Lähde: THL Asiantuntijamikrobiologia										
S.Enteritidis	48	51	44	47	83	46	49	59	83	79
S.ryhmä B	5	7	8	40	35	38	32	30	22	51
S.Typhimurium	85	140	132	94	98	94	92	79	55	34
S.Bareilly	0	1	3	2	2	2	0	2	1	25
S.Infantis	7	2	9	10	36	12	9	10	7	19
S.Agona	15	2	2	11	33	12	8	4	2	15
S.Newport	71	9	8	6	7	11	9	27	5	7
S.Stanley	8	6	7	1	3	1	6	6	6	5
S.Senfenberg	2	0	5	5	1	1	3	1	6	4
Salmonella ssp.IIIb	2	3	1	0	1	3	2	0	2	4
S.Derby	2	1	0	0	0	2	0	0	0	4
S.ryhmä D	0	1	1	0	1	0	0	0	0	4

Salmonelloositapaukset ovat vähentyneet viimeisen 10 vuoden aikana, ja tapausten määrä on laskenut melko tasaisesti vuosien aikana. Vuonna 2010 tapauksia raportoitiin noin 2 400 kun taas vuonna 2018 luku oli noin reilut 1 400. [4.] Arvioiden mukaan todellinen sairastumisten lukumäärä on yli kymmenkertainen, sillä suurin osa tapauksista ei päädy raportoitavaksi.

## 2.4 Salmonellaepidemiat EU:ssa

Zoonooseja koskevan vuosikertomusraportin mukaan elintarvikkeiden kautta leviävien salmonellaepidemioiden ja siitä aiheutuvien kuolemien määrä EU:ssa oli kuitenkin lisääntynyt vuonna 2018 verrattuna vuoteen 2017. Salmonella aiheutti joka kolmanneksen EU:n ruokamyrkytys-epidemiaista. EU:n jäsenvaltioista 24, ilmoitti yhteensä 1 580 elintarvikkeiden kautta levinnyttä salmonellaepidemiaa vuonna 2018. Kaikista elintarvikkeista munatuotteet aiheuttavat edelleen suurimman riskin salmonellan leviämislle ja niiden osuus salmonellatapauksista vuonna 2018 oli 45,6 %. Lähes kaikkien salmonellaepidemioiden aiheuttajakantana oli *S. enteritidis*. Toiseksi eniten epidemioita aiheutti *S. typhimurium*. Eniten ilmoituksia tuli Slovakiasta, toiseksi eniten Puolasta ja kolmanneksi eniten Espanjasta. Nämä maat ilmoittivat jopa 67 % kaikista EU-maiden ilmoituksista. Puolassa ja Slovakiassa salmonellaepidemiat ovat kasvaneet merkittävästi vuosina 2014–2018. [5.]

## 2.5 Salmonellan leviäminen

Tuotantoeläimet ovat selkeästi suurin salmonellan välittäjä. Yleinen tartunnan lähde eläimille on saastunut rehu. Ihmisten ja eläinten suolistosta bakteerit leviävät jätevesiin ja ympäristöön, joista kulkureitit voivat olla hyvinkin moniulotteisia aina maasta toiseen eläinten, rehujen kuin elintarvikkeidenkin mukana. Myös lemmikkieläimet ja luonnonvaraiset eläimet, kuten siilit voivat levittää salmonellaa.

Tuotantoeläinten suolistojen kautta salmonella siirtyy ihmisten ravinnoksi tarkoitettuihin elintarvikkeisiin, joita voivat olla erilaiset liha-, maito- ja kananmunatuotteet. Lavantaudin ja pikkulavantaudin aiheuttaja bakteereja ei esiinny eläimillä, sillä tapauksissa aiheuttajina ovat muut salmonellakannat. Lavantauti leviää feko-oraisesti ensisijaisesti elintarvikkeiden ja veden välityksellä. [1, s. 83–84.]

### 2.5.1 Leviäminen elintarvikkeiden välityksellä

Maailmanlaajuisesti yleisin *kananmunan* välityksellä leviävä patogeeninen bakteeri on *Salmonella enterica*. Ihminen voi saada kananmunasta tartunnan syömällä raa'an tai puolikypsän kananmunan, tai esimerkiksi näitä sisältävien konditoriatuotteiden kautta. Suuri vesiaktiivisuus tuotteessa ja huono kylmäsäilytys lisäävät patogeenin mahdollisuuksia selviytyä elintarvikkeessa. [1, s. 223, 238.] Siipikarjassa salmonellan esiintyminen on kuitenkin vähäistä, koska tutkimusten mukaan vain alle 0,2 prosentissa todetaan salmonellaa [6, s. 37].

Suomessa *maitovalmisteet* valmistetaan enimmäkseen pastöroidusta maidosta (kuumennetaan vähintään +72 asteen lämpötilaan), mutta erilaiset käsittelyvaiheet lisäävät kontaminaation riskiä. Salmonellan on esimerkiksi todettu aiheuttavan joissain maitojauheissa jälkikontaminaatiota alttiin valmistusprosessin takia. [1, s. 207.] Myös voi sisältää vähintään 80 prosenttia maitorasvaa ja majoneesin valmistukseen käytetään usein maitoa ja kananmunaa, joten ei siis ihme, että näistäkin elintarvikkeista on raportoitu salmonellabakteerin aiheuttamia infektiota. [1, s. 242–243.]

*Jauhoista* löydetään erittäin harvoin salmonellaa mutta eräässä tutkimuksessa sitä löydettiin vaaleasta vehnäjauhosta 1,3 prosenttia 4000 näytteestä. Jauhot ovat yleensä liian kuivia luodakseen otollisen kasvuympäristön salmonellalle, mutta solut voivat kuitenkin säilyä jauhoissa elinkykyisenä lepotilassaan useita kuukausia ja näin ylläpitää selviytymisstrategiaansa. [7.] Lisäksi muut kuivat elintarvikkeet, kuten maapähkinävoi, suklaa ja maitojauhe eivät tue salmonellan kasvua. Tutkimuksissa on kuitenkin arvioitu, että korkealla rasvapitoisuudella yhdistettynä tuotteen matalaan veden aktiivisuusarvoon saattaa olla synergistinen vaikutus patogeenin selviytymiseen. Kokeellisissa olosuhteissa on huomattu lisäksi, että kuivissa olosuhteissa salmonella on vastustuskykyisempi kuin enterobakteeri tai *E. coli*. Salmonellan lämmönkestävyyteen kuivissa elintarvikkeissa vaikuttaa monet tekijät ennen lämpökäsittelyä (esimerkiksi kasvualustan koostumus, lämpötila ja muut stressin aiheuttajat, kuten happo) sekä tekijät kuumentamisen aikana (esimerkiksi happamuus, rasvapitoisuus, aineiden lisääntyminen matriisissa ja eri salmonellakannat).

## 2.5.2 Leviäminen tuotantotiloissa

Varastoinnissa olisi syytä keskittyä varastoympäristön kuivuuteen ja oikeanlaiseen lämpötilaan, jotta patogeeneilla olisi mahdollisimman huonot olosuhteet säilyä elinkykyisenä. Elintarviketurvallisuusriski voi kuitenkin ilmentyä, kun kontaminaatio tapahtuu kuumennuskäsittelyn jälkeen. Ristikontaminaation syitä salmonellatapauksissa ovat olleet huonot puhdistuskäytännöt, huono raaka-aineiden kontrollointi ja käsittely, epäsoyvät välineet ja laitteistot sekä työntekijöiden kautta tapahtuva leviäminen. Englannissa eräissä tapauksissa, joissa epidemioiden syyt saatiin selville, oli ristikontaminaatioiden osuus 57 % kaikista otannassa olleista 99 tapahtumasta. [8, s. 1–3.]

Japanilaisessa Moritan tutkimuksessa havaittiin selkeä yhteys salmonellan leviämiseen ympäristössä, jossa 100 %:sta työntekijöiden kengistä, 90 %:sta työhansikkaista ja 65 %:sta lattiapyyhkeistä löydettiin salmonellapositiivinen tulos. Tulos havainnollisti sen, että toiminnanharjoittajien liikkumisen rajoittaminen tehdasalueiden välillä (esimerkiksi vastaanottaminen ja valmistus) ja työkenkien desinfiointi eri hygienia-alueiden välillä tehtaassa ovat merkittäviä tekijöitä salmonellan leviämisen ehkäisyssä. [8, s. 1–3.]

Tehdassuunnittelussa lattiamateriaaleilla on myös merkitystä ja sillä, miten käytetyt desinfiointiaineet ottavat kontaktia lattian materiaaliin. Mikrobiepäpuhtauksien lisäksi heikko laitosten ja niiden laitteiden suunnittelu sekä huonosti organisoidut huoltotoimenpiteet, kuten vuotavat katot tai putket, voivat lisätä kosteutta normaalisti kuivaan ympäristöön, mikä taas altistaa paremmat olosuhteet salmonellakontaminaatioille. [8, s. 1–3.]

Salmonellabakteeri voi kulkeutua tuhoeläinten ja työntekijöiden kautta myös muihin kuin eläinperäisiä tuotteita käsitteleviin tehtaisiin. Suomessa ei kuitenkaan ole raportoitu tällaisia tilanteita ja todennäköisyys on arvioitu niin pieneksi, ettei salmonellan laajempaa tutkimista, kuten pintanäytteiden ottoa tällaisista tehdasympäristöistä, pidetä kovinkaan aiheellisena. Suomessa elintarvikkeiden tuotantotilojen ja läheisen ympäristön hyvä hygienia-aste edistää elintarvikkeiden puhtautta ja turvallisuutta.

## 2.6 Salmonellan näytteenottoa koskeva lainsäädäntö

Elintarvikehuoneistojen ja elintarvikkeiden säilytys-, kuljetus- ja käsittelyolosuhteiden tulee täyttää lainsäädännön vaatimukset, joista elintarviketoimijaa pidetään kuitenkin päävastuullisena. Nautaeläinten ja sikojen salmonellavalvontaa koskevassa maa- ja metsätalousministeriön asetuksessa A 1030/2013 määritellään tuotantoympäristönäytteenottoa seuraavalla tavalla:

Tuotantoympäristönäytteet otetaan pitopaikan rakenteista, erityisesti salmonellan pesiytymisen kannalta oleellisista kohdista kuten lattiakaivoista, kulkukäytävien lattioista ja ruokintapöydiltä ja -kaukaloista sekä juomakupeista ja -altaista. Näytteiden on riittävässä määrin edustettava pitopaikan eri osia. Pitopaikasta otetaan yhteensä 5—50 tuotantoympäristönäytettä. Näytteet otetaan kostutetulla sienellä, kankaalla, vaahtomuovikuutiolla tai vastaavalla näytteenottovälineellä hankamalla tutkittavaa kohdetta voimakkaasti. Enintään viisi samasta kohteesta tai alueesta otettua tuotantoympäristönäytettä voidaan yhdistää yhteisnäytteeksi. [9.]

Mikäli tätä asetusta halutaan hyödyntää leipomossa, näytteenottokohtat ovat hieman erilaisia. Tiedon soveltamisessa hyvinä näytteenottokohtina voidaan pitää leipomon lattiakaivoja ja kulkukäytävien lattioita. Lisäksi muuta asetuksen sisältävää tietoa, kuten näytteiden lähettämistä ja säilyttämistä koskevaa tietoa voidaan hyödyntää leipomon pintanäytteenotossa, jota määritellään seuraavalla tavalla:

- Näytteet on lähetettävä laboratorioon ensisijaisesti näytteenottopäivänä. Jos tämä ei ole mahdollista, näytteet on säilytettävä jäädytettynä ennen lähettämistä.
- Näytteet voidaan kuljettaa ympäristön lämpötilassa, kunhan vältetään niiden altistuminen korkeille lämpötiloille (yli 25 °C) ja auringonvalolle. Laboratoriossa näytteitä on säilytettävä jäädytettynä tutkimukseen saakka.
- Näytteiden tutkiminen on aloitettava viimeistään 48 tunnin kuluttua niiden vastaanottamisesta ja 96 tunnin kuluttua näytteenotosta. [9.]

Tuotantoympäristön näytteenotto-ohjelma sisältää kuvailtuna näytteenoton tuotteiden kanssa kosketuksissa olevilta pinnoilta ja kohteista, joista voidaan saada selville laitoksen yleinen puhtaustaso (lattiat, viemärit, koneiden päällykset, keskuspölynimurijauhe jne.) sekä näytteenottoaikataulu. [1, s. 371.]

Ruokavirasto ottaa vastaan salmonellaa tutkivilta laboratorioilta tuloksia, joita kerätään kuukausi- ja vuosi-ilmoituksina. Kerätyillä tiedoilla pystytään osoittamaan muun muassa Suomen alhainen salmonellan esiintyvyys. Salmonella -näytteet perustuvat seuraaviin asetuksiin:

- Maa- ja metsätalousministeriön asetus nautaeläinten ja sikojen salmonellavalvonnasta 1030/2013 (24 pykälä)
- Maa- ja metsätalousministeriön asetus kanojen ja kalkkunoiden salmonellavalvonnasta 1037/2013 (34 pykälä)
- Maa- ja metsätalousministeriön asetus salmonellavalvonnasta liha-alan laitoksissa 134/2012 (8 pykälä). [10.]

### 3 Listeria

#### 3.1 Listerian ominaisuudet

Listeriasuku jaetaan kuuteen bakteerilajiin: *L. gray*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes*, *L. seeligeri* ja *L. welshimeri*. *L. monocytogenes* on ainoa humaanipatogeeni ja tunnettu eläinpatogeeni. *L. monocytogenes* on grampositiivinen sauva, joka lisääntyy sekä hapellisessa että hapettomassa ympäristössä. Bakteeri on psykrotrofinen, ja sen kasvun lämpötila-alue on laaja: -0,4–45 °C. Listeriabakteerin tapauksessa pH-rajoina pidetään 4,4 ja 9,6 väliä. Suuret suolapitoisuudet eivät haittaa bakteerin kasvua, sillä sen on todettu lisääntyvän jopa 10–12 prosenttisessa suolaliuoksessa.  $A_w$ -minimi-arvo on 0,92 mutta alhaisemmat veden aktiivisuusarvot eivät kuitenkaan ole este bakteerin säilymiselle. [1, s. 55.]

#### 3.2 Listerioosi

Listerioosi esiintyy ihmisillä invasiivisessa ja ei-invasiivisessa muodossa. Invasiivinen listerioosi esiintyy etenkin riskiryhmillä, joita ovat vanhukset, raskaana olevat naiset, syntymässä olevat lapset ja sellaiset, joiden immuunijärjestelmä on heikentynyt. Ei-invasiivinen muoto aiheuttaa kuumeisen gastroenteriitin ja sairastuminen tapahtuu ilman altistavaa tekijää, joka voidaan todeta riskiryhmään kuuluvalla. [1, s. 57–58.]

Listerioosin itämisaika on 2–70 vuorokautta, mutta tavallisimmin 2–3 vuorokautta. Tavallisimpia oireita ovat kuume, vatsakivut ja ripuli. Infektiossa bakteeri tunkeutuu verenkiertoon ja voi pahimmillaan aiheuttaa aivokalvontulehduksen tai verenmyrkytyksen. Raskaana oleville listerioosi saattaa aiheuttaa keskenmenon. Kuolleisuus riskiryhmään kuuluvilla pääasiassa invasiiviseen listerioosiin infektoituneilla on noin 20–30 %. Todetut listerioosipotilaat ovat kuitenkin lähes poikkeuksetta olleet riskiryhmään kuuluvia. [11, s. 200–201.]

### 3.3 Listerian yleisyys ja epidemiat

*L. monocytogenes*in aiheuttamat listeriainfektiot ovat lisääntyneet Suomessa vuodesta 2009 lähtien, sillä tapauksia on raportoitu viimeisen kymmenen vuoden aikana vuosittain noin 35–90 kun taas vuosien 1995–2005 tapauksia ilmeni vuosittain noin 20–50. Vuonna 2018 Suomessa infektioita todettiin 79 ja vuonna 2017 määrä oli jopa 92. Listerioosin ilmaantuvuus on noin 2–10 sairastumistapausta miljoonaa asukasta kohden. [12.]

Viimeisimmät listeriasta saadut kotimaisista elintarvikkeista lähtöisin olevat ruokamyrkytys-epidemiat Suomessa ovat olleet peräisin lihahyytelöstä vuonna 2012, graavilohesta vuonna 2010 ja itse säilötyistä suolasienistä vuonna 2006. [13.] Listerioosia todetaan vuosittain alle sadalla suomalaisella. Listerioosin lisääntyminen johtuu pitkälti väestön vanhenemisesta, ja joka viides suomalainen kuuluu listerioosin riskiryhmään. Suomessa ei ole ilmoitettu leipomosta lähtöisin olevia listeriaepidemioita. Toisaalta esimerkiksi marraskuussa vuonna 2019 tuotteiden takaisinvedot koskivat täytettyjä leipiä, kuten kolmioleipiä ja voileipäkakkuja. [14.]

EU-maissa ilmoitettujen listeriaepidemioiden määrät ovat kuitenkin laskeneet, vaikka Suomessa sairastuneiden lukumäärät ovatkin nousseet. Eniten vuosina 2015–2018 listeriaruokamyrkytyksiä on raportoitu Saksasta, Tanskasta ja Yhdistyneestä kuningaskunnasta. Pääasiallisia tartuntalähteitä ovat olleet juusto, naudanlihasta valmistetut tuotteet, valmisruuat, vihannekset ja mehut. [5.]

### 3.4 Listerian leviäminen

*L. monocytogenes* on maaperän hajottajabakteeri, jota esiintyy maaperässä, säilörehussa, eläinten ulosteissa, jätevesissä ja vesissä. *L. monocytogenesiä* voi esiintyä missä tahansa eläin- tai kasvipööräisessä elintarvikkeessa.

#### 3.4.1 Leviäminen elintarvikkeiden välityksellä

Kontaminaatioita on tavattu eri raaka-aineissa, tavallisesti siipikarjassa, kaloissa, maidossa ja kasviksissa. Etenkin kylmäsavu- ja graavikalat ovat olleet riskielintarvikkeita. Lisäksi riskielintarvikkeina on pidetty eläin- ja kasvipööräisiä tuotteita ja valmisruokia, joita säilytetään kylmässä pitkiä aikoja, sillä psykrotrofisena bakteerina listeria säilyy esimerkiksi jääkaappiolosuhteissa. *L.monocytogenes* viihtyy myös ympäristöissä, joissa esiintyy etenkin maitohappobakteereita. [1, s. 58.] Jääkaapin lämpötila olisi hyvä säätää riittävän kylmäksi, mikä tarkoittaa kalatuotteille korkeintaan +3 °C ja muille elintarvikkeille +5 °C. Listeria sietää myös 0–3°C:ta, mutta lisääntyminen on silloin huomattavasti hitaampaa. [12, s. 201–202.]

Vuosien saatossa elintarvikkeiden säilyvyyden parantamiseksi on otettu käyttöön toimintoja, jotka vaikeuttavat pilaajabakteerien kasvua ja pidentävät tuotteiden myyntiaikaa, mutta saattavat samalla antaa *L. monocytogesille* paremman kilpailukyvyyn. Merkittävimpinä näistä ovat kylmäketjun parantaminen, tyhjiö- ja suojakaasupakkaaminen sekä lisäaineiden ja suolan käytön vähentäminen. [1, s. 59–60.]

Listerian kasvua on esimerkiksi tutkittu yhdessä riskinarvioinnissa, jossa kylmäsavu- ja graavisuolattuja kalatuotteita säilytettiin eri lämpötiloissa. Listerioositapaukset lisääntyivät ikääntyneillä lähes kaksikymmenkertaiseksi, kun tuotteita säilytettiin kymmenessä asteessa. Jääkaappilämpötilasuositus kyseisille tuotteille on kuitenkin nolasta kolmeen astetta. Lisäksi terveillä aikuisilla riski sairastua listerioosiin kasvoi kolminkertaiseksi. Listeriabakteerit eivät myöskään huononna elintarvikkeiden aistinvaraista laatua ja voivat täten kontaminoida tuotteita salakavalasti. [15.]

Useat epidemiat ovat olleet peräisin saastuneesta raakamaidosta tai siitä valmistetuista tuotteista. Maidon pastöroinnin yleistyminen on kuitenkin vähentänyt merkittävästi listerioosiepidemioita. Pastöroiduissa maitovalmisteissa, etenkin pehmeissä juustoissa, sopiva pH ja vesipitoisuus ovat *L. monocytogenesille* edullisia. [1, s. 209.]



Yhdysvalloissa listerioositapauksia esiintyy noin 0,27 sataatuhatta asukasta kohden. Lääkärinhoitoon hakeutuvat yleensä vain ne potilaat, joilla todetaan vakava infektio, ja siksi suurin osa tapauksista jääkin huomaamatta. Vuonna 2007 erään Yhdysvaltain Massachusettsin osavaltiossa tapahtuneen epidemian aiheutti pastöroitu maito ja siitä valmistetut maustetut maitotuotteet. Kaikki, jotka sairastuivat tässä epidemiassa, olivat listerian riskiryhmään kuuluvia. Selvityksessä otettiin meijerin jalostuslaitoksesta ympäristönäytteitä, joista esimerkiksi lopputuotannon alueen lattiakaivoista löytyi positiivinen tulos *L. monocytogenes* -bakteerin suhteen.

Epidemiassa pastörintimenetelmät todettiin riittäviksi, joten tuotteiden pilaantuminen aiheutui todennäköisesti kuumennuksen jälkeen, kun laitoksen fyysinen suunnittelu ja ylläpitomenettelyt osoittautuivat puutteellisiksi. Vuoteen 2007 mennessä tämä oli kuitenkin vasta kolmannes *L. monocytogenes* -bakteerin aiheuttama infektio, jossa pastöroitu maito oli osallisena. Viimeisen kymmenen vuoden aikana toimintamenettelyt ovat kuitenkin parantuneet, joten pastöroidun maidon listeriariski nykyään onkin erittäin pieni. Epidemioiden ehkäisyssä painotetaan laitteiden suunnittelun ja ristikontaminaatioiden valvonnan merkitystä. [16.]

Listeriaa on löydetty myös nestemäisistä munavalmisteista, mutta munavalmisteiden kautta ilmenneitä listerioositapauksia ei ole raportoitu [1, s. 224]. Salmonellabakteerin lisäksi listeriabakteerit ovat aiheuttaneet ruokamyrkytyksiä voin ja majoneesin kautta, koska näissä käytetään raaka-aineina maitorasvaa ja kananmunia. [1, s. 242–243.] Suomessa eräs raportoitu tapaus koski vuonna 1999 tapahtunutta listeriaepidemiaa, jossa kontaminoitunut pakkauskone aiheutti voinappien saastumisen. Voinapit päätyivät infektoimaan useita heikkokuntoisia listerian riskiryhmään kuuluneita sairaalapotilaita. [12, s. 69.]

### 3.4.2 Elintarvikkeiden jälkikontaminoituminen

*L. monocytogenes* torjunta elintarvikkeiden valmistuksessa on otettava huomioon myös tehdassuunnittelussa. Raaka-aineiden ja kypsennettyjen tuotteiden käsittelyosastot tulisi eristää toisistaan tehokkaasti ja ylimääräistä työntekijöiden liikkumista osastojen välillä tulisi välttää ristikontaminaatioiden estämiseksi. Koneiden ja kuljettimien hyvällä sijoittamisella helpotetaan niiden puhtaanapitoa ja edistetään hygieenisyyttä.

Jälkikontaminaatiolle altteinta aluetta kutsutaan korkean hygienian alueeksi, jossa tuote ei yleensä käy läpi enää kuumennuskäsittelyä. [1, s. 60–61]. Taulukossa 2 on esitetty esimerkkejä elintarviketeollisuuden hygienialueista. [17.]

Taulukko 2. Esimerkkejä elintarviketeollisuuden hygienialueista [17].

Likainen tila	Jätehuone, tekniset tilat
Perustason tila (neutraali)	Tuote tai raaka-aine suljetussa pakkauksessa
Keskitason tila (hyvän hygienian tila)	Raaka-aine tai puolivalmiste avonaisena, lämpökäsittely seuraa
Korkean hygienian tila (esim. pakkaamo)	Herkästi pilaantuva elintarvike, tuote pakkaamaton, ei enää lämpökäsittelyä

Kuumennus tuhoaa bakteerit, jolloin elintarvikkeessa ei ole enää luonnollisia kilpailijoita. *L. monocytogenes* säilyy erittäin hyvin elintarvikkeiden tuotantotiloissa ja voi jälkikontaminaationa saastuttaa valmiin tuotteen ennen pakkaamista. Listeria voi muodostaa biofilmejä pintamateriaaleihin, kuten ruostumattomaan teräkseen ja siksi huolelliseen pintojen puhdistuksen on syytä kiinnittää huomiota [6, s. 37].

### 3.4.3 Biofilmien muodostuminen

Biofilmin syntymistä edesauttavat epätasaiset pinnat, joissa sijaitsee mikrobeille edullisia ”piilopaikkoja”. Biofilmit koostuvat mikrobisoluista, jotka tuottavat esimerkiksi polysakkaridihmastoja ja glykoproteiineja eli glykokalyksiä. Polysakkaridit suojaavat biofilmejä antibakteerisilta aineilta, kuten desinfiointiaineilta. Ne muodostavat biofilmille suojaeroksen, jonka sisällä mikrobit jatkavat lisääntymistään. Tämän vuoksi biofilmejä (esimerkiksi listeriaa) on joskus erittäin hankala tuhota. Lisäksi biofilmeille ominainen piirre on niiden limanmuodostus.

Biofilmien syntymistä edesauttaa lisäksi pieni vesimäärä, kuten kondenssivesi, jota voi syntyä elintarviketeollisuudessa, kuten leipomoiden tuotantolinjoilla herkästi erinäisistä syistä. Biofilmien muodostumisen kannalta otollisia paikkoja ovat putkistoissa ja laitteissa esiintyvät kuolleet kulmat ja ylimääräiset taskut sekä liian pitkät yhteydet, jotka muodostavat katvealueita ja hankaloittavat hyvän pesutuloksen onnistumista. Laitteiden tulisi olla mahdollisimman sileitä ja hyväkuntoisia, eikä niissä saisi esiintyä hiushalkeamia tai säröjä. [18, s. 14–19.]

Laitoskannoiksi tai persistenteiksi kannoiksi kutsutaan tuotantotiloissa useasti tavattavia bakteerikantoja. Tunnetaan esimerkiksi tilanteita, joissa *L. monocytogenes* -kannat ovat säilyneet seuratussa tuotantotilassa peräti seitsemän vuoden ajan. Tavallisesti bakteereille riskipaikkoja ovat lattiakaivot sekä erilaiset pinnat, joissa esiintyy orgaanista jätettä. Yleensä tuotteet kontaminoituvat kuitenkin pinnoilta, joiden kanssa elintarvike on kosketuksessa. Ilmavälitteistä *L. monocytogenes*in saastuttamista ei ole raportoitu.

Persistentit kannat alkavat pesiä helpommin teräspinnoille kuin ei-persistentit kannat sekä kestävät paremmin tuhoamiskäsittelyjä. Desinfiointiainekestävyyksissä on kuitenkin eroja. Yleisesti otollisimmat paikat ovat sellaisia, joita desinfiointikäsittely ei helposti saavuta. Rakenteeltaan monimutkaiset laitteet ovat vaikeasti puhdistettavia ja kerryttävät usein orgaanista jätettä pitkiksi ajoiksi. Laitteita, jotka pystyvät täten helpoiten saastuttamaan elintarvikkeen, ovat suolauskoneet, kuutioimiskoneet, siivutuskoneet ja kuljettimet. [1, s. 58–59.]

Hygieeniset työskentelytavat ovat oleellisimpia keinoja välttää ristikontaminaatioita ja välillinen bakteerien saastuttaminen. Bakteerikantojen ilmaantuessa syy kontaminaatioille tulee selvittää ja poistaa. Saneerauspesuissa koneet puretaan niiden desinfioimiseksi ja pesuissa käytetään vahvoja happo- ja emäsluoksia. *L. monocytogenes* -määriä tulee seurata, sillä ne riippuvat suuresti tuotantolaitoksen hygieniasta. Riskielintarvikkeet on syytä tunnistaa, jotta voidaan määritellä sopiva seurantaohjelma tuotantolaitokselle. [1, s. 60–61]

### 3.5 Listerian näytteenottoa koskeva lainsäädäntö

Listerian valvonta kuuluu yleisesti elintarviketehtaan omavalvontaan sekä viranomaisvalvontaan. Valvonta kohdistetaan erityisesti sellaisenaan syötäviin valmiisiin tuotteisiin, joissa *L. monocytogenes* voi kasvaa. Vähittäismyyntipaikkojen yleinen vähimmäisäädäntö tällaisille tuotteille on, että tuotteita säilytetään kylmässä. Yrityksen valmistamista elintarvikkeista, joista voi aiheutua listeriariski, tulee tutkia listeriaa etenkin kuumentetuista valmiista tuotteista sekä tuotantolinjoista. Euroopan elintarviketurvallisuusvirasto eli EFSA määrittelee elintarvikkeen turvallisuusrisikin pieneksi, jos listeriapitoisuus kulutushetkellä jää alle 100 pmy/g (EU-lainsäädännön raja-arvo). Pitoisuus ei saa ylittyä tuotteissa niiden viimeisenä käyttöpäivänä. [19.]

Leipomoissa ja konditorioissa, joissa valmistetaan helposti pilaantuvia, sellaisenaan syötäviä leipomotuotteita, otetaan listerian tutkimiseksi näytteitä, muussa tapauksessa näytteenotto ei ole pakollista. Pintapuhtausnäytteiden näytteenottotiheys määräytyy ”Elintarvikehuoneiston riskiluokitus ja valvontatarpeen määrittäminen” -oppaan (Evira 10503) toimintaluokittelun mukaan. Toimintaluokissa 3 ja 4 näytteenottotiheyteen vaikuttaa valmiiden helposti pilaantuvien tuotteiden tuotantomäärien suuruus leipomossa. Tuotenäytteiden osalta näytteenotosta voidaan luopua, kun tutkittavaksi nähtyjen tuotteiden valmistusmäärä on alle 100 000 kg vuodessa. Näytteenottoa voidaan harventaa, mikäli tulokset ovat hyväksytyjä kolmena peräkkäisenä vuonna tai valvontaviranomaisen sallimana, kun tuotteen turvallisuus ei nähdä vaarantuvan näytteenoton harventamisen vuoksi.

Virallisten Eviran ohjeiden määritelmien mukaan sellaisenaan syötävät leipomotuotteet, joissa *L. monocytogenes* ei voi kasvaa ja joiden säännöllisestä testauksesta ei nähdä olevan hyötyä, on määritelty kohdissa 1 ja 2.

1 Elintarvikkeet, joille on tehty kyllin tehokas *Listeria monocytogenes* -bakteerin tuhoava lämpökäsittely tai muu käsittely, jolloin uudelleen saastuminen käsittelyn jälkeen ei ole mahdollista (esim. lopullisessa pakkauksessaan lämpökäsitellyt tuotteet) - leipä, keksit ja vastaavat tuotteet

2 Tuotteet, joiden pH on  $\leq 4,4$  tai  $A_w \leq 0,92$  tai joiden pH on  $\leq 5,0$  ja  $A_w \leq 0,94$  TAI tuotteet, joiden myyntiaika on alle 5 vrk, katsotaan automaattisesti kuuluvan tähän luokkaan. Myös muut tuoteluokat voivat kuulua tähän luokkaan, jos se on tieteellisesti perusteltua. [20.]

Näytteiden ottaminen tuotantoympäristöstä ja -laitteista nähdään aiheelliseksi, kun valmistetaan sellaisia elintarvikkeita, jotka ovat määritelty kohdissa 1 ja 2. Ympäristönäytteistä tutkitaan pääasiassa indikaattoribakteereita, joita ovat esimerkiksi aerobiset mikro-organismit ja enterobakteerit. Tarvittaessa listerian osalta suositeltu näytteenototiheys on 4–12 krt/v, silloin kun valmistetaan tuotteita, joissa *L. monocytogenes* voi kasvaa. Hyvät työohjeet, niiden noudattaminen ja aistinvaraiseen arviointiin luottaminen siivousjälkeä tarkasteltaessa ovat oleelliset keinot. Pintapuhtausnäytteillä pystytään kuitenkin osoittamaan konkreettisesti siivoustyön laatua ja luotettavuutta. [20.]

Leipomotuotteita voidaan jakaa pH-arvon mukaan kolmeen ryhmään. Happamiksi leipomotuotteet voidaan ryhmitellä, kun pH jää alle arvon 4,6 pH, vähän happamiksi arvon sijoittuessa välille 4,6–7 ja hapottomiksi, kun pH ylittää arvon 7. Vaalean ja kokojyväleivän pH on noin 5,5–5,8, ja tällaisia leipiä tuottaa myös työn kohteena oleva yritys. Leivän erilaiset raaka-aineet nostavat tai laskevat pH:ta niiden kemiallisten ominaisuuksien mukaan.

Veden aktiivisuus eli  $A_w$ -arvo on myös tärkeä tekijä määriteltävä leivän pilaantumisherkkyyttä. Leipomotuotteissa matalana  $A_w$ -arvona voidaan pitää, kun  $A_w < 0,6$ , keskiasusteena kun  $A_w$  on 0,6–0,85 ja korkeana kun  $A_w > 0,85$ . Useimmat bakteerit, jotka pilaaavat elintarvikkeita, tarvitsevat korkeaa ympäristön vesiaktiivisuutta, yleensä yli 0,90. Hiivojen kasvun kannalta tarvittava  $A_w$ -arvo on vähintään 0,88, kun taas homeet tarvitsevat vähemmän vapaata vettä ja kasvua tapahtuu jopa arvossa 0,80. Taulukossa 3 on esitetty esimerkkejä leipomotuotteista eri veden aktiivisuusarvoilla.

Taulukko 3. Eri­laisille leipomotuotteille esitettyjä keskimääräisiä veden aktiivisuusarvoja [7].

Product	$a_w$
Low moisture content	
Cookies	0.2–0.3
Crackers	0.2–0.3
Intermediate moisture content	
Chocolate coated doughnuts	0.82–0.83
Danish pastries	0.82–0.83
Cream filled cake	0.78–0.81
Soft cookies	0.5–0.78
High moisture content	
Bread	0.96–0.98
Pita bread	0.9
Fruit pies	0.95–0.98
Carrot cake	0.94–0.96
Cheese cake	0.91–0.95
Pizza crust	0.94–0.95
Pizza	0.99

Kohteena olleen leipomon leipä­tuotteet vaikuttaisivat olevan kuvan taulukon mukaan veden aktiivisuusarvoiltaan 0,96–0,98, mikä on leipomotuotteille korkea arvo, mutta elintarviketeollisuudessa yleisesti nähdään matalana arvona. Tarkempia mää­rityksiä varten leivistä pitäisi kuitenkin ottaa tuotekohteittain veden aktiivisuusarvot, jotta voitai­siin varmistaa leipien kuuluvan korkean  $A_w$ :n luokkaan. Kuten aikaisemmin todettiin, virallisten määritelmien mukaan sellaisenaan syötävät leipomotuotteet, joissa *L. mono­cytogenes* ei voi kasvaa, ovat kun tuotteissa pH on  $\leq 4,4$  tai  $A_w \leq 0,92$  tai joiden pH on  $\leq 5,0$  ja  $A_w \leq 0,94$  sekä tuotteet, joiden myyntiaika on alle 5 vrk. Kohteena olevan lei­pomon leivät eivät sisälly tällaisten määritelmien sisälle, joten listerianäytteitä ei ole kovinkaan perustelua ottaa leipää valmistavassa leipomossa. [7.]

## 4 Hygieniariskien määrittely

### 4.1 Leipomon raaka-aineiden merkitys kontaminaatiossa

Viljatuotteita pidetään mikrobiologisesti melko turvallisina elintarvikkeina, sillä ne eivät pilaannu helposti ja aiheuttavat ruokamyrkytyksiä äärimmäisen harvoin. Yleensä *Bacillus subtilis*- ja *Bacillus cereus*-bakteerit sekä homeet ovat viljatuotteiden, kuten leivän, tyypillisimpiä pilaaja mikrobeja. [11, s. 71.]

Salmonellan esiintyminen leipomoissa on erittäin harvinaista etenkin Suomessa mutta myös ulkomailla. Toisaalta salmonella on ruokamyrkytysbakteerina huomattavasti yleisempi ja epidemioita esiintyy useammin listeriaan verrattuna.

Kyseinen leipomo on keskittynyt tuotannossaan leivän tuottamiseen. Leipomon myymälässä myydään kuitenkin laajemmin erilaisia leipomo- ja konditoriatuotteita, joissa pääraaka-aineena on viljatuotteiden lisäksi käytetty kananmunaa tai maitotuotteita, jotka taas ovat listerialle tyypillisimpiä elintarvikkeita.

Listeriaepidemiat ovat lisääntyneet vuoden 2009 jälkeen (toisin kuin salmonellaepidemiat), mikä tarkoittaa käytännössä sitä, että elintarviketeollisuudelta vaaditaan jatkossa tarkempaa valvontaa, ennaltaehkäiseviä toimenpiteitä ja varasuunnitelmien kehittämistä.

### 4.2 Pintojen puhtaus leipomossa

Hygieniavalvonta tulisi kohdistaa leipomon tuotantolinjoilla etenkin sellaisille pinnoille, joissa elintarvikkeet ovat kosketuksissa ennen niiden pakkaamista, eli kuumennuskäsittelyn jälkeen. Vaakojen näppäimistöt peitetään muovilla, joka vaihdetaan riittävän väliajoin tai näppäimistöt pyyhitään puhtaaksi. Turvallisinta on kuitenkin käyttää laitteistoa, joissa ei ole näppäimiä. Tällaisten pintojen puhtaus perustuu silmämääräiseen arviointiin sekä mikrobiologisiin pintapuhtausnäytteisiin. Siirtopöydät ja -välineet sekä jäteastiat ja niiden pyörät tulisi pestä tietyin väliajoin, etenkin jos niitä liikutellaan likaisilla alueilla. Laitteiden pinnoilta tulee pyyhkiä likaa ja pölyä sekä pestä lattioita. Märkämenetelmien jälkeen puhtaiden pintojen tulee antaa kuivua riittävän kauan, jotta mikrobit eivät lisääntyisi ja siirtyisi paikasta toiseen.

Pesutulokseen vaikuttaa pesu- ja desinfiointiaineiden, lämpötilan, vaikutusajan, pesuvälineiden, orgaanisen jätteen läsnäolon ja puhtaan veden lisäksi veden kovuus, joka vaikuttaa pesuaineen valintaan ja sen annosteluun. Kovaa vettä käytettäessä tarvitaan rinnalle tehokas pesuaine. Maaperä, josta vesi otetaan, vaikuttaa veden kovuuteen, ja sen määrittämiseksi mitataan veden suolojen määriä. Veden kovuus voi siis vaihdella eripuolilla Suomessa. Yleisimmin vesi on pehmeää, mutta se voi olla myös keskikovaa tai kovaa, etenkin porakaivoveden tapauksessa. Kovuus ilmoitetaan °dH-asteikolla, jossa 1 dH vastaa 10 mg/l kalsiumoksidia CaO. [6, s. 52–53.]

Leipomossa leivät kulkevat ennaltapakkausalueella repijän eli siivutuskoneen kautta. Siivutuksessa terät ovat kosketuksissa leivän kanssa ja leivistä irtoaa usein niiden pehmeää sisusta, joka kuivuu ja kovettuu repijän teriin. Repijä voi siis toimia bakteerien levittäjänä, ja sen puhtauteen on kiinnitettävä erityistä huomiota. Tällä hetkellä leipomossa mekaanisen lian irrottamisen jälkeen käytetään desinfiointiainetta, Exitolia, joka on pääasiassa etanolia eli alkoholia. Alkoholin käyttö on nopea ja helppo ratkaisu, sillä se kuivuu nopeasti, eikä sitä tarvitse huuhdella pois pinnoilta. Etanolin määrä liuoksessa olisi hyvä olla vähintään 70 tilavuusprosenttia.

Resistenttikantojen ennaltaehkäisemiseksi desinfiointiaineita olisi hyvä vaihtaa silloin tällöin. Mikäli desinfiointiainetta ei huuhdella, sen on oltava myrkytöntä. Ammattikäyttöön tuotekehitetty TEVAN Panox 200 on suomalaisen Kiilto Oy:n valmistama desinfektioaine, jota voidaan käyttää elintarvikkeille kosketuksessa oleville pinnoille, silloin kun pinnat huuhdellaan jälkeenpäin tai liuoksen annetaan haihtua täysin pinnoilta.

Tuotteen koostumus sisältää vetyperoksidia 2 % ja peretikkahappoa <0,1 %. Käsiteltävien pintojen tulee sietää happamia aineita. Tällaisia pintoja eivät ole marmori-, kupari- ja messinkipinnat eivätkä sinkitetyt pinnat. [21.]

Leipomon työntekijöiltä vaaditaan terveydentilan selvitys ennen työsuhteen alkua ja samalla heiltä otetaan salmonellanäyte, jonka tulee olla negatiivinen. Lisäksi tulee ottaa huomioon salmonellan ominaisuudet suolistobakteerina ja sen leviämisen kautta mahdolliset kulkureitit. Riskien minimoimiseksi Yleinen elintarvikehygieniasetus 852/2004 määrittelee käymälöiden, käsienpesupisteiden ja viemärijärjestelmien sijoittamisesta seuraavasti:



Elintarvikehuoneistoissa on oltava riittävä määrä käymälöitä, joissa on vesihuuh-telu ja jotka on liitetty tehokkaaseen viemärijärjestelmään. Käymälät eivät saa avautua suoraan tiloihin, joissa elintarvikkeita käsitellään.

Tiloissa on oltava riittävä määrä asianmukaisesti sijoitettuja ja käsienpesuun tar-koitettuja pesualtaita.

Viemärijärjestelmät on suunniteltava ja rakennettava siten, että niistä ei aiheudu saastumisriskiä. Jos viemärikourut ovat kokonaan tai osittain avoimia, niiden suunnittelulla on varmistettava, että jäte ei valu saastuneelta alueelta puhdasta aluetta kohti tai puhtaalle alueelle, varsinkaan sellaisten elintarvikkeiden käsitte-lyalueelle, jotka saattavat aiheuttaa huomattavan riskin lopulliselle kuluttajalle. [22.]

Lisäksi elintarvikejätteitä koskevaa lainsäädäntöä määritellään samassa asetuksessa seuraavalla tavalla:

Elintarvikejätteiden, syötäväksi kelpaamattomien sivutuotteiden ja muiden jätteiden säilyttämisestä ja hävittämisestä on huolehdittava asianmukaisesti. Kaikki jätteet on poistettava hygieenisellä ja ympäristöä säästävällä tavalla asiaa koskevan yhteisön lainsäädännön mukaisesti, eivätkä ne saa saastuttaa suoraan tai epäsuorasti. Astioiden on oltava rakenteeltaan tarkoituksenmukaisia, ne on pidet-tävä hyvässä kunnossa ja niiden on oltava helposti puhdistettavia ja tarvittaessa desinfioitavia. [22.]

#### 4.3 Ihmisten ja tuhoeläinten merkitys välittäjinä

Useimmiten ruokamyrkytykset liittyvät virheelliseen kuumennukseen tai jäähtytykseen, mutta joskus niitä aiheuttavat myös laitoksen henkilökunnan mukana kulkeutuneet mik-robit. Tämän työn tarkoituksena oli kartoittaa salmonella- ja listeriabakteerien kulkureit-tejä tehtaassa ja määritellä niihin sisältyviä leipomon tuotteisiin kohdistuvia kontami-naatoriskejä. Leipomo, jonka kanssa yhteistyössä tämä työ tehtiin, on suurin kyseisen leipomoyrityksen oma Suomessa sijaitseva leipomo. Leipomo toimii ympärivuorokauti-esti, ja työntekijöiden määrä on suuri. Mitä suurempi elintarvikelaitos on, sitä enem-män toimintaan sisältyy riskejä ja sitä tarkempaa toiminnan on oltava.

Työntekijöiden hygieniosaamista määritellään hygieniosaamisen todistavalla kokeel-la, joka tulee läpäistä ennen työsuhteen alkua. Sen suorittaminen ei kuitenkaan vielä takaa hygienian ymmärtämystä vaan hygieniakoulutusta tulisi antaa säännöllisesti ja kohdennetusti eri työpaikoissa ja työvaiheissa. Työntekijöiden käsistä otetaan säännöl-lisesti käsihygienianäytteitä, joista määritellään kokonaisbakteerimääriä sekä stafylo-kokki- ja enterobakteereita. Hygieenisesti tyypillisimmät kriittiset työvaiheet ovat pak-kaaminen ja jäähdyttäminen, joissa työskentelevillä työntekijöillä pitäisi olla enemmän

tietoa ja koulutusta, kuin vähemmän kriittisissä työvaiheissa työskentelevillä. Kuumentettu pakkaukseen menevä elintarvike kuljettaa mukanaan pinnan mikrobien lisäksi tuotetta koskeneen työntekijän mikrobeja. Kartoitetut hygieeniset työolot tukevat ja helpottavat työntekijöiden oikein toimimista. Tässä työssä lähdettiin selvittämään leipomon henkilökunnan toimintaan liittyviä kohtia, joita olisi hyvä tarkastella hygieenisyyden näkökulmasta. Asiat, joihin kannattaisi tulevaisuudessa kiinnittää huomiota, ovat seuraavanlaisia:

- Sosiaalityötilojen ja tuotantotilojen väliset reitit mahdollisimman suoraviivaisia
- Työntekijöiden kulkureitit eivät kulje hygienia-alueelta toiselle
- Käsienpesupisteitä riittävästi, myös lähellä työpistettä
- Jätteiden kuljettamisreitit organisoitu.

Vanhoissa kiinteistöissä muutosten suoraviivainen tekeminen ei aina ole helppoa ja tällöin vaihtoehtoisten toimintamenettelyjen kautta voidaan varmistaa yhtä hyvä lopputulos esimerkiksi erilaisilla puhdistus- ja jalkineiden vaihto-ohjeilla. Monimutkaisia ohjeita tulee kuitenkin välttää, jotta kynnyksien toteuttamiseen voidaan pitää matalana. Vakiintuneet käytännöt tuovat usein ongelmia ja niiden muuttaminen vaatii työtä. Usein haasteet liittyvät pukeutumiseen, ruokalassa käymiseen ja kulkemista koskeviin ohjeisiin. [1, s. 373–374.]

Kohdeyrityksenä oleva leipomo valmistaa pääasiassa vain leipää, ja siksi etenkin kuiville elintarvikkeille ominaisimmat tuohyönteiset voivat liata tuotteita. Niveljalkaislajeista erityisesti russakka voi levittää salmonellaa ja pilata jauhoja, leipää, pähkinöitä sekä vihanneksia ja hedelmiä. Russakat muodostavat yhdyskuntia lämpimiin ja kosteisiin paikkoihin, kuten uunien ympäristöön ja lämpöputkistojen läheisyyteen. Russakat leviävät useimmiten kuljetuslaatikoiden mukana. Päiväsaikaan ne viihtyvät kätköissä ja öisin lähtevät etsimään ravintoa, jota ovat esimerkiksi viljatuotteet ja kasvikset. Russakat saadaan esille sumuttamalla pyretriini-sumutetta niiden esiintymispaikkoihin. [1, s. 376; 23, s. 19–20.]

Jyrsijöistä rotat, hiiret ja myyrät voivat levittää tauteja, kuten salmonelloosia. Lisäksi haittalintuina pidetään rakennuksiin hakeutuvia lintuja, jotka ovat myös hygieeninen ongelma ja voivat levittää salmonellaa [1, s. 376; 23, s. 19–20]. Jyrsijöiden ennaltaehkäisemiseksi voidaan käyttää alla lueteltuja toimenpiteitä ja välineitä:

- Ulko-ovien tarkistaminen, tarvittaessa asennetaan alareunaan jyrsijäeste.
- Mahdollisten aukkojen paikkaus esimerkiksi paksulla metalliverkolla.
- Tehokkaasti hoidettu jätehuolto.
- Myrkyttömiä syöttejä säännöllisesti tarkastettuina jyrsijöiden seuraamiseksi.
- Ultraäänikarkottimien käyttö. Nämä estävät jyrsijöiden tunkeutumisen sisätiloihin. Ei suositella käytettäväksi yhtäjaksoisesti, jotta jyrsijät eivät tottuisi ääneen. [23, s. 84.]

Lintujen torjumiseksi voidaan käyttää seuraavia toimenpiteitä:

- Erilaisten lintuesteiden asennus (piikkilevyt, metallilangat ja verkot). Vaikeuttavat istuskelua ulokkeilla, ikkunalaudoilla ja muilla vastaavilla paikoilla.
- Varastojen ovien tiivistäminen esimerkiksi muoviliuskoilla.
- Loukkupyöntien käyttö. Elävänä vangitseminen myöhempää vapauttamista varten.
- Varastojen sisätiloihin erilaisten pyydysten asentaminen esimerkiksi varpusille rengastusverkot. [23, s. 91.]

## 5 Materiaalit ja menetelmät

### 5.1 Pintanäyttemenetelmät

Mikrobiologisessa pintahygienian seurannassa menetelmät jaetaan sivelymenetelmään ja kontaktiagarmenetelmään. Sivelymenetelmässä pintaa sivellään sienellä, harsolla tai pumpulitikulla, minkä jälkeen kontaminoitu väline siirretään laimennusliuokseen. Laimennusliuosta siirretään elatusaineelle viljeltäväksi. Näytteiden otossa tarkkuus vaikuttaa tuloksiin herkästi. Käytettävä hankausvoima vaikuttaa mikrobien saantiin, ja tämä riippuu siten usein näytteenottajasta. Tämän vuoksi näytteenottajan on syytä olla sama kaikkien näytteiden kohdalla, jotta tuloksia voidaan pitää vertailukelpoisina.

Laitoksissa suositaan yleensä kontaktiagarmenetelmää, sillä laitoksilla harvemmin on sivelymenetelmään vaadittavaa laboratoriolaitteistoa. Kontaktiagarmenetelmä perustuu agarpintaan, joka painetaan haluttua kohdetta vasten. Tämän työn näytteenotoissa

käytettiin muun muassa kontaktiagariin perustuvia *Listeria* Dipslide -testejä (kuva 1). Pinnan mikrobit tarttuvat tahmeaan agariin. Vaadittava laitteisto kyseisessä menetelmässä on vain lämpökaappi. Dipslide -menetelmässä kontaktiagarpinta taipuu ja mukautuu kontaktipinnan muotoon. Sivelymenetelmällä saadaan kuitenkin usein enemmän bakteereja talteen kuin kontaktiagarmenetelmällä, koska hankausvoima ja yleisesti ottaen parempi mukautuminen epätasaisiin pintoihin ja ahtaisiin paikkoihin tuovat sille paremman edun. Molemmissa menetelmien nopeus on 1–3 vuorokautta riippuen bakteeriryhmästä. [1, s. 371–372.]



Kuva 1. Kontaktiagarmenetelmään perustuva *Listeria* Dipslide -testi.

Validoituja pintanäytteenottomenetelmiä näyttäisi löytyvän enemmän listerian kuin salmonellan tutkimiseen. Näytteenottoa listerian ehkäisemiseksi myös suositellaan enemmän leipomoissa, ja pintapuhtausnäytteiden ottaminen kaksi kertaa vuodessa olisi silloin arvioiden mukaan sopiva määrä [24].

Suurin osa validoituihin listerian ja salmonellan ympäristönäytteenottomenetelmiin kuuluu seuraavia vaiheita tai osaa näistä:

- esirikastusta ja rikastusta
- näyteliemen pipetoimista ja viljelyä
- useita inkuboimiskertoja
- oksidaasi- ja katalaasi -pikatestejä
- PCR- ja elektroforeesigeelija.

Tämän työn yhteistyöyrityksenä olevassa leipomossa ei kuitenkaan ole edellisiin menetelmiin sopivia laitteita tai välineitä ja näihin investoimista ei nähdä riittävän tarpeellisenä muun muassa kustannusten ja vähäisen käytön vuoksi. Muutamia erittäin nopeita validoituja ja validoimattomia testejä listerian ja salmonellan tutkimiseen kuitenkin löytyy, ja näiden positiivisten tulosten antamina voidaan edetä haastavampiin ja tarkempiin tutkimuksiin.








Kohteena oleva leipomo tilaa tutkimuksiinsa välineitä suomalaiselta toimittajalta Labema Oy:lta, joka koettiin tutuksi ja luotettavaksi. Tämän vuoksi pikanäytemenetelmiä salmonellan ja listerian tutkimiseen päätettiin valita kyseiseltä toimittajalta.

Labema Oy on Life Science- ja bioteknologia-alan asiantuntijayritys. Yritys maahantuo ja toimittaa diagnostisia välineitä ja laboratoriotuotteita muun muassa teollisuuden ja tutkimuksen tarpeisiin. Yritykseltä voi tilata testejä ja välineitä hygieenisyyden testaamiseen sekä mikrobiologisiin ja kemiallisiin analyysihin, joita käytetään osana oma-valvonnan (HACCP) toteutumista. Yhtenä keskeisenä erikoistumisalueena Labeman sivuilla mainitaan elintarvikediagnostiikka, jonka tavoitteena on parantaa elintarvikealan toimijoiden laadunvalvontaa esimerkiksi patogeenien, hometoksiinien ja allergeenien määrittämisellä. [25.]

Ulkomailta tilattavia validoituja testejä, jotka ovat Labemalta tilattavien testien suhteen vastaavanlaisia pikatestimenetelmiä, löydettiin muutamia hyviä vaihtoehtoja: Listeria PDX-LIB ja Salmonella PDX-LIB (kuva 2) sekä listerialle tarkoitettu InSite L.mono Glo (kuva 3). Kaikille kyseisille ympäristönäytteiden pikatesteille on tehty AOAC-validointiorganisaation sertifiointi. Menetelmien käyttöön tarvittava laite on inkubaattori, joka nopeuttaa näytteiden viljelyä ja antaa kasvustolle staattiset olosuhteet ja lämpötilan. Testeissä inkubomisaika on pikatesteille tyypillinen 24–48 tuntia. Positiivisten tulosten varmistamiseen tarvitaan kuitenkin lisämääritelmien tekemistä ja jatkoviljelyitä. [26; 27.]



Kuva 2. Listeria- ja Salmonella PDX-LIB -pikatestit [26].

NATURAL LIGHT			UV LIGHT	
NEGATIVE	<i>LISTERIA SPP.</i>	<i>LISTERIA SPP.</i>	<i>LISTERIA SPP.</i>	<i>L. MONO</i>
—	+ spp.	+ spp.	+ spp.	+ spp. <i>L. mono</i>
			 	 
YELLOW	GREY	BLACK	NO FLUORESCENCE	GREEN FLUORESCENCE
	PRESUMPTIVE POSITIVE FOR <i>LISTERIA SPP.</i>		NEGATIVE FOR <i>L. MONO</i>	PRESUMPTIVE POSITIVE FOR <i>L. MONO</i>

Kuva 3. InSite *L.mono* Glo -pikatesteillä voidaan etsiä patogeenisia *Listeria Spp.* ja *L. monocytogenes* bakteereita [27].

## 5.2 Salmonellan näytteenotto

Salmonellan testaamiseen käytettiin Labemalta tilattuja Salmonella Isolation Transwab -testejä, jotka on tarkoitettu salmonellan tunnistamiseen ympäristönäytteistä. Testejä toimittaa Labemalle englantilainen Medical Wire & Equipment Co Ltd. Valmistaja käyttää kyseisissä testeissään kasvualustana XLT-4:ää (Xylose Lactose Tergitol™ 4). Liitteessä 2 on tarkemmin lueteltuna ravinnepohjan ainesosat ja niiden määrät litraa kohden.

Kyseinen agaripohja alustaa ksyloosin, laktoosin ja sakkaroosin fermentoitumisen sekä lysiinin dekarboksyloinnin. Kasvualustan pH:n pysyminen neutraalina edesauttaa käymis- ja dekarboksylointireaktioita, jotka saavat fenolinpunaisen muuttamaan väriä agarissa. Proteoosi peptone nro 3 XLT-4-agarissa toimii lähteenä monimutkaisille typpiyhdisteille, ja hiivauutetta taas lisätään vitamiinien ja kofaktoreiden vuoksi. Tergitol 4 (tunnetaan myös nimellä Niaproof 4 tai natriumtetradekyyli-sulfaatti) on anioninen pintaaktiivinen aine ja estää grampositiivisten bakteerien ja homeiden sekä lukuisten gramnegatiivisten bakteerien kasvua, sisältäen *Proteus*-, *Providencia*- ja *Pseudomonas*-lajit. Nämä edellä mainitut ominaisuudet edesauttavat salmonellan eristämistä ja havaitsemista XLT-4-agarilla.

18–24 tunnin inkubaation jälkeen *Salmonella enteritidis* näyttäytyy kauttaaltaan mustina tai punaisen/keltaisen reunuksen ympäröiminä mustina pesäkkeinä. Mikäli testejä inkuboidaan edelleen, pesäkkeet muuttuvat täysin mustiksi tai vaaleanpunaisen sakan ympäröimiksi mustiksi keskuksiksi. Salmonellat kykenevät pelkistämään tiosulfaatin rikkivedyksi, joka aiheuttaa ferri-ioneiden läsnäolon ja pesäkkeiden mustumisen. Salmonellakannat, jotka eivät tuota rikkivetyä, ilmenevät pinkkinä/keltaisena agarilla.

Enterobakteereihin kuuluvan sitrobakteerin aiheuttama kasvusto taas voidaan erottaa alustalla keltaisena värin muutoksena ilman mustia värireaktioita. Lisäksi *E. coli* ja *Enterobakteeri aerogenes* -pesäkkeet, jotka eivät inhiboidu, näyttäytyvät myös keltaisina, ilman mustumista. *E.coli* fermentoi laktoosia aiheuttaen pH-arvon laskun, jonka seurauksena fenoli-indikaattorin väri muuttuu punaisesta keltaiseksi. Bakteerien, kuten *Proteuksen*, *Providencian*, *Pseudomonaksen*, *Alteromonas putrefaciensin*, *Yersinia enterocolitican* ja *Acinetobacter calcoaceticuksen* kasvun on tarkoitus inhiboitua, jotta halutut kannat saataisiin kasvamaan XLT-4-agarilla. [28, 29.]

Testit ovat helppokäyttöisiä ja vaativat vain inkuboimiskaapin, jotta näytteet pysyvät tasaisessa lämpötilassa. Näytteenotossa käytetään pumpulipuikkoa, joka bakteerien keräämisen jälkeen siirretään elatusaineputkeen. Inkubointi suoritetaan 37 °C:ssa 24–36 tuntia. Salmonellan tunnistaminen tapahtuu elatusaineen värireaktion avulla, jossa liuos muuttuu positiivisessa tuloksessa punaisesta keltaiseksi tai tummanpunaiseksi/mustaksi. Kuvassa 4 näkyy salmonellatestin värin muutos, negatiivisessa tuloksessa värimuutosta ei tapahdu lainkaan. [30.]



Kuva 4. Salmonella Isolation Transwab -testin värinmuutos. [30.]

### 5.3 Listerian näytteenotto

Listerian tutkimiseen valittiin Labemalta kaksi pikanäyttemenetelmää: SwabSURE ListeriaP ja DipSlide Listeria. Molempia testejä käytetään tuotantopintojen ja ympäristössä mahdollisesti lisääntyvien listeriabakteerien osoittamiseen. Lisäksi DipSlide -testillä voidaan tutkia listeriaa vedestä.

#### 5.3.1 SwabSURE ListeriaP

SwabSURE ListeriaP erottelee *L. monocytogenes*sen, *L. ivanoviin* ja *L. innocuan* sekä muut listeriat muista ympäristön mikrobeista. Lisäksi testi on ISO 18593:2004:n mukainen. Näytteenotossa käytetään pumpulipuikkoa, joka on upotettu putkessa neutralointiliemeen. Liuos neutraloi mahdollisten pintojen desinfiointiaineiden vaikutukset ja edistää listerian elpymistä. Näytteenoton jälkeen tikku laitetaan takaisin liuokseen viipymään mahdollisten kuljetusten ajaksi. Näytetikku siirretään lopuksi elatusaineputkeen, jossa mahdollinen patogeeni voi kasvaa.



Putkia inkuboidaan vaakatasossa 37 °C:n lämpötilassa 24–48 tuntia. Inkubaatiokaapissa lämpötila voidaan säätää patogeenien kasvulle optimaaliseksi ja häiriötekijät minimoidaan. Testi perustuu kromogeeniseen värireaktioon, jossa kasvatusliuos muuttuu oljenkeltaisesta turkoosin siniseksi, mikäli tulos on positiivinen. Kuvassa 5 on esimerkki positiivisesta *L. monocytogenes* -löydöksestä. [31.]



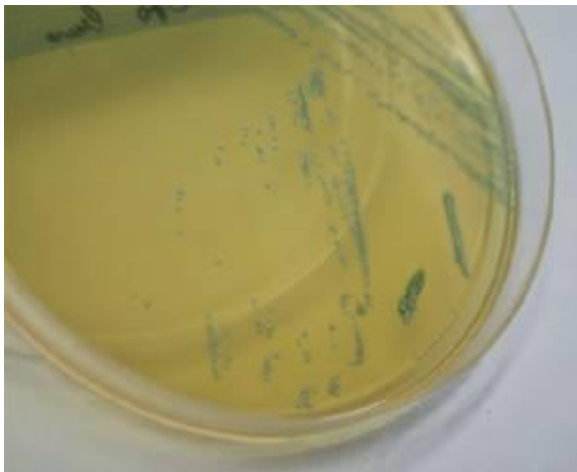
Kuva 5. Värimuutos turkoosiksi ilmaisee fosfoliipaasi C -entsyymin läsnäolon, mikä liitetään patogeenisyyteen. [32.]

### 5.3.2 Listeria Dipslide

Dipslide voidaan luokitella kontaktiagarmenetelmään, sillä testiväline on päällystetty molemmiin puolin elatusaineella. Dipslide upotetaan joko nesteeseen, elatusainepinta painetaan tutkittavaa pintaa vasten tai näyte siirrostetaan Dipslidelle näytteenottotikulla. Näytteenoton jälkeen Dipslide laitetaan takaisin steriiliin pakkaukseensa, jonka kanssa näyte inkuboidaan. Testejä on käytetty osana elintarvikehuoneiston puhtauden omavalvontasuunnitelmaa sekä sairaalahygienian ja teollisuusvesien mikrobiologiseen tarkkailuun. [33.]

Listeria Dipslidessa on käytetty Columbia agar -ravinnepohjaa. Ravinnepohja sisältää litiumkloridia, joka inhiboi enterokokkien kasvua. Lisäksi se sisältää akriflaviinia, joka estää tai hidastaa joidenkin gramnegatiivisten ja grampositiivisten bakteerien kasvua. Elatusaineen eskuliini taas toimii indikaattorina eli paljastaa *L.monocytogenesin* kasvun. *L. monocytogenes* hydrolysoi eskuliinin eskuliitiksi, joka reagoi rautasuolan kanssa, mikä havaitaan kasvualustalla mustana sakkana pesäkkeiden ympärillä.

Näytteitä inkuboidaan 24–48 tuntia 35–37 asteessa. Valmistajan mukaan *L. monocytogenes* pesäkkeet ovat kooltaan 0,5–1,0 mm ja näyttävät alustalla yleensä harmaan vihertävinä tai joskus myös pesäkkeiden ympärillä nähtävänä mustan ruskeana sakkana. Enterokokkien kasvu alustalla on myös mahdollista hieman pidemmän, noin 40 tunnin inkuboimisajan jälkeen, positiivisissa löydöksissä pesäkkeet näyttävät mustina noin 0,5 mm:n suuruisina. Useimmat tutkittavat lajit testissä tulevat näkyviin kuitenkin jo 24 tunnin kuluttua, mutta jotkin hitaasti kasvavat kannat tarvitsevat pidemmän inkuboimisajan. [34.]

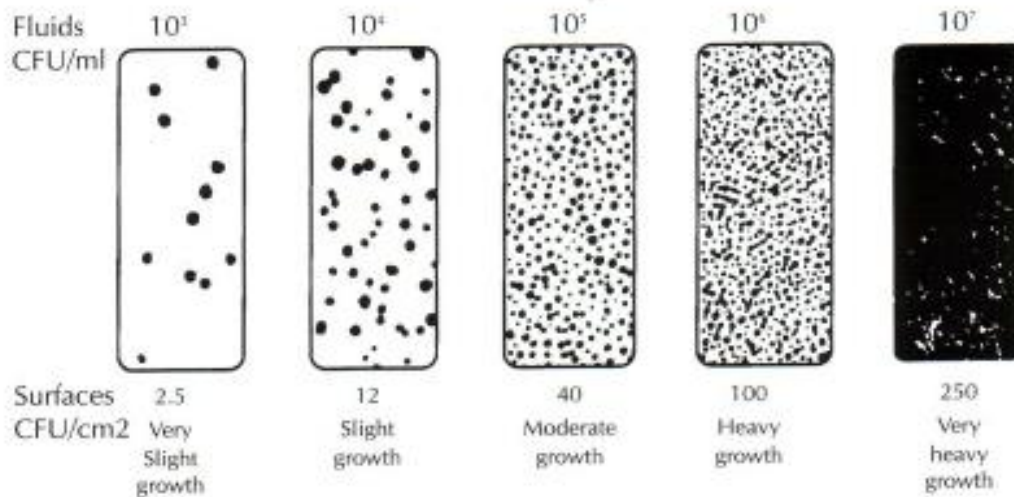


Kuva 6. *L. monocytogenes*in vihertävä kasvusto Listeria Dipslide:n Columbia-agarilla.



Kuva 7. Listeria Dipslide -testin mustanruskea kasvusto elatusaineella. [35.]

Vertailemalla testitulosta vertailukuvaan (kuva 8) voidaan määrittellä kuinka puhtaa/epäpuhtaa näytteenottoa ja mahdollisesti sen lähiympäristöä voidaan pitää.



Kuva 8. Dipslide-testitulosten bakteerikasvustoja voidaan arvioida vertailemalla tuloksia kuvan määritelmiin. [36.]

Työssä näytteitä ei otettu nesteistä, joten tuloksien määritelmänä käytetään CFU/cm<sup>2</sup>, joka tarkoittaa pesäkkeen muodostamaa yksikköä per neliösenttimetri.

## 6 Työn kokeellinen osa

### 6.1 Näytteenottokehtien määrittely

Näytteenotto kohdat leipomolla määriteltiin tietyin perustein sen mukaan, miten salmonellalla ja listerialla on kyky selviytyä eri paikoissa ja mitkä voisivat olla niiden kriittiset kulkureitit tehtaaseen ja lopulta tuotantoon. Tässä työssä ei julkaista kuvia näytteenottokehteistä yrityksen liikesalaisuuksien suojaamiseksi. Kohteet kuvaillaan verbaalisesti.

Näytteenottokohdat numeroitiin, jotta näytteet eivät sekoittuisi keskenään ja niiden merkitseminen lyhentyisi ja helpottuisi. Taulukossa 4 on lueteltu, mikä numero vastaa mitään näytteenottoa. Kohteista 1–6 näytteet otettiin lattiasta ja pakkaamon puolelta näytteet otettiin tuotantolinjastolta 4.

Taulukko 4. Näytteenottokohteet numeroituina

1	Konttori	10	Roska-astian pyörät L4
2	Tuotannon sisäänkäynti	11	Tiskihuoneen lattiakaivo
3	Saapuvan tavaran tila	12	Pakkaamon lattiakaivo L4
4	Myymäälä	13	Pakkaamon kuljetin L4
5	Lähtöhuone	14	Pakkaamon sahanterä L4
6	Jätehuone	15	Pakkaamon muoviläpät L4
7	Leipomolaatikko puhdas	16	Taukokuoneen jääkaappi
8	Leipomolaatikko likainen	17	Maitojauheen astia
9	Puulava	18	Työntekijän kenkä

Tehdasta kierrettäessä näytteenottokohteet käytiin loogisessa järjestyksessä tehtaan pohjapiirroksen mukaan seuraavanlaisesti 3, 6, 7, 10, 11, 12, 17, 13, 8, 5, 9, 4, 2, 1, 16, 18 sekä lopuksi 14 ja 15. Näytteenottokierrokseen kului yhteensä aikaa noin puolitoista tuntia.

#### 6.1.1 Työvaatteet

Huomioitavana seikkana nähtiin työntekijöiden kulkeminen pukuhuoneisiin ja taukotilaan. Tällä hetkellä ulko-oven ja tehdastilaan avautuvan oven välinen käytävä on melko lyhyt ja samalta käytävältä avautuvat ovet myös naisten ja miesten pukuhuoneisiin, sekä kulkureitti taukotilaan. Tauolle tultaessa tehtaan työntekijät kulkevat pukuhuoneisiin ja kahvihuoneeseen, mutta samalla kulkureitit risteävät suoraan ulkoa tulevien kanssa. Kenkien ja ulkovaatteiden riisumisen olisi hyvä tapahtua aikaisessa vaiheessa, jotta risteämistä jo työasuun pukeutuneiden kanssa voitaisiin välttää ja ulkopuolelta kantautuvat mikrobit eivät siirtyisi henkilökunnan työkenkiin ja -vaatteisiin. Ulkona olevissa eläinten jätöksissä voi elää salmonellabakteereja, joiden on mahdollista levitä ihmisten kenkiin ja sitä kautta eri ympäristöihin ja tiloihin. Tämän todennäköisyys on pieni mutta olemassa [37].

Työvaatteita pestään ja niitä vaihdetaan joka viikko. Jokaisella työntekijällä on oma pukukaappi, jossa säilytetään sekä työvaatteet että omat henkilökohtaiset vaatteet ja tavarat. Ristikontaminaatioiden välttämiseksi tämä ei kuitenkaan ole optimaalisin vaihtoehto.

Lisäksi kenkien puhdistamiseen aika-ajoin olisi hyvä keksiä ratkaisu, sillä lattiataso on likaisinta aluetta tehtaassa. Alhaisemman hygienian tilasta kulkeutuu enemmän mikro-  
beja korkean hygienian tilaan, mikäli kulkua ei ole estetty tai jalkineita ei puhdisteta eri  
hygienialueiden välillä [1, s. 375]. Työpäivän aikana liikutaan usein myös esimerkiksi  
varastossa, lastauslaiturilla ja jätteiden keräyspisteillä ilman käsien tai kenkien puhdis-  
tamista. Yhdeksi näytteenottokohdaksi valittiinkin työntekijän kengänpohja.

### 6.1.2 Lattiataso

Lattiataso on yleisesti yksi likaisimmista alueista tehtaassa, sillä siellä bakteerit leviävät  
paikasta toiseen. Näytteenotto lattiatasolta suoritettiin kuudesta eri tilasta, jotka olivat  
konttori, tuotannon sisäänkäynti, saapuvan tavaran tila, myymälä, lähtöhuone ja jäte-  
huone. Työntekijät saapuvat leipomoon pääasiassa kahdesta sisäänkäynnistä, joista  
toinen avautuu konttorin tiloihin ja toinen käytävälle, mistä kulkee reitti pukuhuoneisiin,  
taukotilaan ja tuotantotiloihin. Jälkimmäisestä käytetään tässä työssä nimeä tuotannon  
sisäänkäynti.

Saapuvan tavaran tilassa, jossa sijaitsee raaka-ainevarasto, risteävät sekä suomalais-  
ten että ulkomailta tulevien kuljettajien ja leipomon työntekijöiden kulkureitit. Lisäksi  
tehtaan myymälässä ja lähtöhuoneessa asioivat asiakkaat ja muut ulkopuoliset tehtaan  
vierailijat. Jätehuone voidaan määritellä likaiseksi tilaksi jo itse nimenkin perusteella,  
sillä sinne tuodaan jätteitä ympäri tehdasta. Pääasiassa isot jäteastiat, eli mollat, tyh-  
jennetään jätehuoneessa ja nämä sisältävät tuotannon sivuvirtaa. Jätehuoneen betoni-  
lattiassa havaittiin myös muutamia isompia kolhuja, jotka ovat alttiita kondenssiveden  
kertymiselle. Kondenssivesi on riski patogeenisten bakteerien lisääntymiselle, minkä  
vuoksi näytteitä päätettiin ottaa lattian nirhaumakohdista.

Salmonellan ja listerian ympäristönäytteenottoa suoritetaan usein lattiakaivoista [38].  
Työssä kohteiksi valittiin tiskihuoneen ja pakkaamon lattiakaivot. Tiskihuoneen lattia-  
kaivoon kulkeutuu tehtaan likaisinta vettä, ja pakkaamon lattiakaivot sijaitsevat korkean  
hygienian alueella, jossa mahdolliset kontaminantti-bakteerit voivat aiheuttaa eniten  
riskejä valmiisiin tuotteisiin.

### 6.1.3 Kuljetusvälineet

Kuljetukseen ja varastointiin käytetään leipomon laatikoita ja puulavoja, jotka voivat käydä hetkellisesti ulkotiloissa ja päätyä takaisin sisätiloihin. Kuljetuslaatikoita ja etenkin lavoja siirrellään usein lattiatasolla, mikä johtaa helposti niiden likaantumiseen. Laatikoita pestään, mutta ennen sitä niiden kulkureitit voivat olla pitkiä ja niiden käsittely usein epähygieenistä. Puulavojen päälle kasataan esimerkiksi raaka-ainetavaraa ja valmiita tuotteita laatikoituina. Leipomon laatikoista päätettiin ottaa näytteitä sekä puhtaista että likaisista. Tuholaisista russakka voi levitä kuljetuslaatikoiden mukana ja levittää salmonellaa ulosteissaan. Lisäksi jäteastioita siirrellään leipomossa paikasta toiseen ja tyhjennysten aikana ne käyvät jätehuoneessa, eikä niitä myöskään pestä joka tyhjennyksen välissä. Tämän vuoksi päädyttiin ottamaan näytteet myös isosta jäteastista pakkaamon puolelta.

### 6.1.4 Tuotantolinjan laitteet

Leipomossa tuotantolinjalla 4 valmistetaan leipää, jonka yhtenä raaka-aineena käytetään maitojauhetta. Maitojauheesta tutkitaan listeriaa ja salmonellaa ennen maitojauheen käyttöä. Tuotantolinjalla neljä tuotettavan kyseisen leivän kohdalla nähtiin aiheelliseksi tutkia varmuuden vuoksi myös pakkaamon puolelta patogeenejä pintanäytteenotolla. Valituiksi näytteenottokohteiksi tuotantolinjalla neljä päätyivät jäähdytysradoilta lähtevä kuljetin, viipaloinnin suorittavat sahanterät sekä muoviliuskat, jotka ohjaavat leipiä pussitukseen. Tehtaan kylmiössä säilytetään maitojauheen astiaa, jonka sisäseinämästä päädyttiin myös ottamaan näytteet.

### 6.1.5 Jääkaappi

Viimeiseksi kohteeksi valittiin taukotilan jääkaappi, koska listeria kasvaa monia muita pilaajabakteereja paremmin kylmissä olosuhteissa. Jääkaapissa säilytetään työntekijöiden eväitä, joiden biologista laatua on vaikea arvioida, ja etenkin eläinperäiset ruoat voivat muodostaa riskin listerian leviämiselle. Tämän vuoksi taukotilojen jääkaappien puhtauteen on hyvä kiinnittää huomiota ja siellä sijaitsevien jäteastioiden kuljetus tulisi organisoida lyhintä reittiä ulkotiloihin laitoksen jätekeräyspisteelle. Esimerkiksi ristisaastumisen mahdollisuus on olemassa silloin, kun jätteet viedään tehtaan läpi ja ne risteävät valmiiden tuotteiden kanssa.

## 6.2 Tulokset

### 6.2.1 Salmonellatestien tulosten tulkinta

Opinnäytetyön salmonellatestien tulos 40 tunnin inkuboisajan jälkeen näytteenotto-kohteiden 4 ja 11 näytteissä oli selvä keltainen värinmuutos. Testejä inkuboitii 37 asteessa. Muissa näytteissä ei tapahtunut värinmuutoksia lainkaan, joten nämä luettiin negatiivisiksi tuloksiksi. Kemiallisten reaktioiden ja värinmuutosten seurauksena kuitenkin voidaan päätellä, että kohteiden 4 ja 11 testeissä ei ollut salmonellaa, sillä mustaa tai pinkkiä sakkua ei ollut erotettavissa. Tulokset viittasivat selkeästi E. colin ja/tai enterobakteerin muun muassa sitrobakteerin aiheuttamiin reaktioihin. Testit jätettiin inkuboisikaappiin vielä yhden päivän ajaksi mutta tämä ei vaikuttanut tuloksiin. Salmonellatestien positiiviset tulokset E. colin ja/tai enterobakteerin osalta ovat alla olevassa kuvassa 9.



Kuva 9. Kuvassa Salmonella Isolation Transwab pintanäytetestiä positiiviset tulokset E. colin ja/tai enterobakteerin osalta näytteenotto-kohteista 4 ja 11.

### 6.2.2 Listeriatestien tulosten tulkinta

Listeria Dipslide -testejä käytettiin kaikissa muissa näytteenotto-kohteissa lukuun ottamatta kohtaa 18, eli työntekijän työkengänpohjaa, sillä salmonellan leviäminen tätä kautta on todennäköisempää kuin listerian. Lähes aina pintapuhtautta testaavissa Dipslide -näytteissä esiintyy kasvustoa, vaikka juuri kyseisen etsittävän patogeenin kasvus-

toa ei havaittaisi. Otetuista Dipslide -näytteistä ei havaittu tyypillistä listerialle ominaista kasvustoa, jossa pesäkkeet olisivat olleet vihertävän harmaita. Vaikka muita bakteereja löytyi runsaasti näytteistä, on otettava huomioon, että näytteenotto suoritettiin suurimmaksi osaksi tehtaan likaisimmista kohdista, kuten esimerkiksi lattiatasolta.

Liitteessä 1 näkyy Dipslide -testien tulokset järjestyksessä kohteista 1–12 sekä 16 ja 17. Kasvustoa esiintyi siis lähes kaikissa Dipslide -näytteissä paitsi linjastolta 4 otettavista näytteistä 13–15. Tämä oli erittäin toivottu tulos, sillä näytteenottokohteet sijaitsivat korkean hygienian alueella, jossa leipien kuuluu olla hygieenisesti puhtaimpia ja syötäväksi valmiita tuotteita. Voidaan kuitenkin todeta, että taukokuoneen jääkaapin Dipslide -tulos olisi voinut olla myös täysin puhdas, sillä jääkaapissa säilytetään työntekijöiden eväitä ja tämän vuoksi haitallisia bakteereja pitäisi esiintyä mahdollisimman vähän. Taukokuoneen jääkaapin lämpötila on säädetty viiteen plusasteeseen, jota pidetään listerian ennaltaehkäisyyn ja elintarvikkeiden kannalta oikeana lämpötilana.

Mustanruskea kasvusto (liite 1) elatusaineilla voisi olla listerian aiheuttamaa, mutta todennäköisempi tulos viittaisi kuitenkin enterokokkibakteeriin tai hiivakasvustoon. Päätelmää tukee vahvasti myös sakan/kasvuston esiintyminen samannäköisenä jokaisessa näytteessä, myös lattiatasolta, kuten konttorin ja tuotannon sisäänkäynnin luota otetuissa näytteissä. Lisäksi varmistuksena otetut SwabSURE Listeria -näytteet olivat negatiivisia.

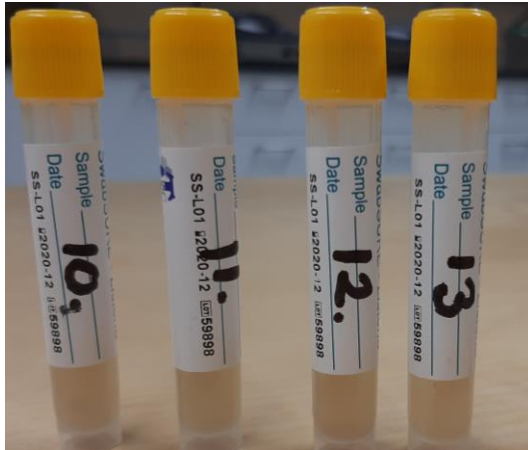
Liitteen 1 kuvien perusteella voidaan päätyä seuraavanlaisiin tuloksiin (taulukko 6) bakteerikasvuston runsautta analysoidessa, kun näytteitä vertaillaan inkuboinnin jälkeen kuvan 6 määritelmiin.

Taulukko 5. Dipslide-näytekasvustojen arviointi viidellä asteikolla näytteenottokohteittain

Very slight growth/ hyvin vähäinen kasvu	Slight growth/ vähäinen kasvu	Moderate growth/ kohtalainen kasvu	Heavy growth/ voimakas kasvu	Very heavy growth/ hyvin voimakas kasvu
Kohteet 1, 5, 7, 8 ja 16	Kohteet 2 ja 17	Kohde 12	Kohteet 3 ja 9	Kohteet 4, 6, 10 ja 11



SwabSURE Listeria -näytteet otettiin niistä paikoista, joissa listeria todennäköisimmin voisi esiintyä ja joissa se voisi pahimmassa tapauksessa aiheuttaa tuotteiden takaisin- vetoja. Nämä kohteet liittyivät etenkin linjaston 4 ympäristöön, mutta myös lattiakaivois- ta ja jääkaapista otettiin varmistusnäytteitä. SwabSURE Listeria -näytteissä ei tapahtu- nut värireaktioita turkoosiksi, mikä oli hyvä varmistuskeino Dipslide -näytteiden liste- ringatiivisten tulosten osoittamiseen. Kuvassa 10 nähdään tulokset 40 tunnin inku- boinnin jälkeen.



Kuva 10. Negatiiviset SwabSURE Listeria tulokset esimerkkinä näytteenotto kohteista 10–13.

Listerian ja salmonellan testausta pinnoilta ei nähty välttämättömäksi ainakaan sää- nöllisen näytteenoton kannalta. Suomessa leipää valmistavista leipomoista ei ole todet- tu salmonellasta tai listeriasta aiheutuneita ruokamyrkytys epidemioita, ja lisäksi ne ovat erittäin harvinaisia myös muualla maailmassa. Pikatestimenetelmistä löytyi kuitenkin jonkin verran positiivisia tuloksia muiden bakteerien osalta, joten puhdistustoimenpitei- den tiukentamista voisi olla hyvä pohtia tulevaisuudessa. Listerian ja salmonellan osal- ta vaaratilanteita epäiltäessä leipomolla on kuitenkin hyvä olla tietoa, millaisilla pikates- timenetelmillä voidaan testata patogeeneja pinnoilta, miten ne toimivat ja mitä tulisi ottaa huomioon.

## 7 Yhteenveto

Insinööriyössä selvitettiin listeria- ja salmonellabakteerien osalta säännöllisen ympäristönäytteenoton tarvetta leipomossa, etenkin leipää valmistavassa tehtaassa.

Näytteenottoa tehtaassa voisi teoriassa puoltaa erilaiset syyt. Mainittavia syitä ovat leipomon suuri tuotantomäärä ja maitojauheen käyttö yhdellä tuotantolinjalla sekä lisäksi se, että tehtaaseen saapuu vierailijoita ympäri maailmaa, missä piilee etenkin lisääntynyt salmonellatartuntojen riski. Konditoriatuotteet ja eläinperäisiä ainesosia sisältävät leipomotuotteet ovat taas riskialttiita listerialle. Lisäksi listeriainfektiot ovat lisääntyneet Suomessa vuodesta 2009 lähtien.

Suomessa näiden patogeenien hallinta ja seuranta on tarkasti organisoitua ja täten myös näistä aiheutuvat ruokamyrkytyspidemiat ovat harvinaisia. Lainsäädäntö kohdistaa ohjeistukset pääasiassa eläinperäisiä tuotteita käsitteleville elintarviketuotantolaitoksille, mutta yleispätevät hygieniaohjeistukset koskevat kaikkia elintarviketehtaita. Viljatuotteet kuivina elintarvikkeina tarjoavat huonot kasvumahdollisuudet patogeenisille bakteereille, ja etenkin leivän vedenaktiivisuus- ja pH-arvot harvoin sijoittuvat riskialttiina pidettyjen raja-arvojen sisälle.

Ympäristöpikanäytetestejä otettiin tehtaassa kyseisten patogeenien kannalta kriittisimmiltä alueilta. Korkean hygienian alue, jossa tuotteet eivät enää läpikäy kuumennuskäsittelyä, on hygieniavalvonnankannalta kriittisintä aluetta. Salmonellaa tutkittiin lattiata-son kohteista sekä lattiakaivoista. Listerianäytteitä otettiin paitsi lattiakaivoista, mutta myös pakkaamon puolelta, etenkin linjastolta neljä sekä bakteerin psykotrofisen ominaisuutensa vuoksi jääkaapista ja kylmähuoneesta. Pikatesteillä ei saatu positiivisia salmonella- tai listeriatestituloksia.

Edellä mainitut syyt johtivat siihen lopputulokseen, että ympäristönäytteenottoja ei ole tarvetta lisätä kyseisen yrityksen näytteenottosuunnitelmaan. Mahdolliset tulevaisuudessa esille tulevat listeria- tai salmonellapositiiviset tulokset raaka-aineita tai tuotteita tutkittaessa voivat antaa syyn ottaa ympäristönäytetestejä pinnoilta. Tässä tapauksessa yritys voisi käyttää nopeita pikanäytemenetelmiä, mutta lisäksi tarkemmat ympäristönäytteiden tutkimusmenetelmät ja jatkoviljelyt olisivat tarpeellisia positiivisten/negatiivisten tulosten varmistamiseksi.

## Lähteet

- 1 Korkeala, Hannu. 2007. Elintarvikehygieniä, ympäristöhygieniä, elintarvike- ja ympäristötoksikologia. Helsinki: WSOY.
- 2 Aarnio Maria. Luke luonnonvarakeskus. Eläköön salmonellavapaa Suomi. 17.5.2017. Verkkoaineisto. <<https://www.luke.fi/ruokafakta/yleista-tietoa/salmonellatilanne/elakoon-salmonellavapaa-suomi/>>. Luettu 14.11.2019.
- 3 Tartuntataudit Suomessa 2017. Raportti 6/2018, s.19-20. Terveiden ja hyvinvoinnin laitos. Helsinki. Verkkoaineisto. <[http://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/136615/THL\\_RAP\\_6\\_2018\\_Tartuntataudit%20Suomessa%202017KORJ27.8.2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/136615/THL_RAP_6_2018_Tartuntataudit%20Suomessa%202017KORJ27.8.2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y)>. Luettu 30.11.2019.
- 4 Salmonellan esiintyvyys Suomessa. Terveiden ja hyvinvoinnin laitos. Verkkoaineisto. <<https://thl.fi/fi/web/infektiotaudit/seuranta-ja-epidemiat/tartuntatautirekisteri/tartuntataudit-suomessa-vuosiraportit/tautien-esiintyvyys/salmonellan-esiintyvyys>>. Päivitetty 13.9.2019. Luettu 30.11.2019.
- 5 Whitworth Joe. EU notes rise in foodborne outbreak illnesses and deaths in 2018. Food Safety News. Julkaistu 13.12.2019. Verkkoaineisto. <[https://www.foodsafetynews.com/2019/12/eu-notes-rise-in-foodborne-outbreak-illnesses-and-deaths-in-2018/?utm\\_source=feedburner&utm\\_medium=feed&utm\\_campaign=Feed%3A+foodsafetynews%2FmRcs+%28Food+Safety+News%29](https://www.foodsafetynews.com/2019/12/eu-notes-rise-in-foodborne-outbreak-illnesses-and-deaths-in-2018/?utm_source=feedburner&utm_medium=feed&utm_campaign=Feed%3A+foodsafetynews%2FmRcs+%28Food+Safety+News%29)>. Luettu 14.2.2020.
- 6 Ijäs, Tuija & Välimäki, Maija-Liisa. Tunne hygieniaosaaminen. Keuruu 2007. Otava.
- 7 P.Smith, James; Daifas, Daphne Phillips; El-Khoury, Wassim; Koukoutsis, John & El-Khoury, Anis. Shelf life and safety concerns of bakery products- a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, sivut 19-55. Kanada 2004.
- 8 Podolak, Richard; Enache, Elena; Stone, Warren; G.Black Darryl & H.Elliott, Philip. Sources and Risk Factors for Contamination, Survival, Persistence, and Heat Resistance of Salmonella in Low-Moisture Foods. Journal of Food Protection, sivut 1919–1936, No. 10, USA 2010.
- 9 A 1030/2013. Maa- ja metsätalousministeriön asetus nautaeläinten ja sikojen salmonellavalvonnasta. Annettu 18.12.2013. Verkkoaineisto. <<https://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2013/20131030>>. Luettu 15.11.2019.

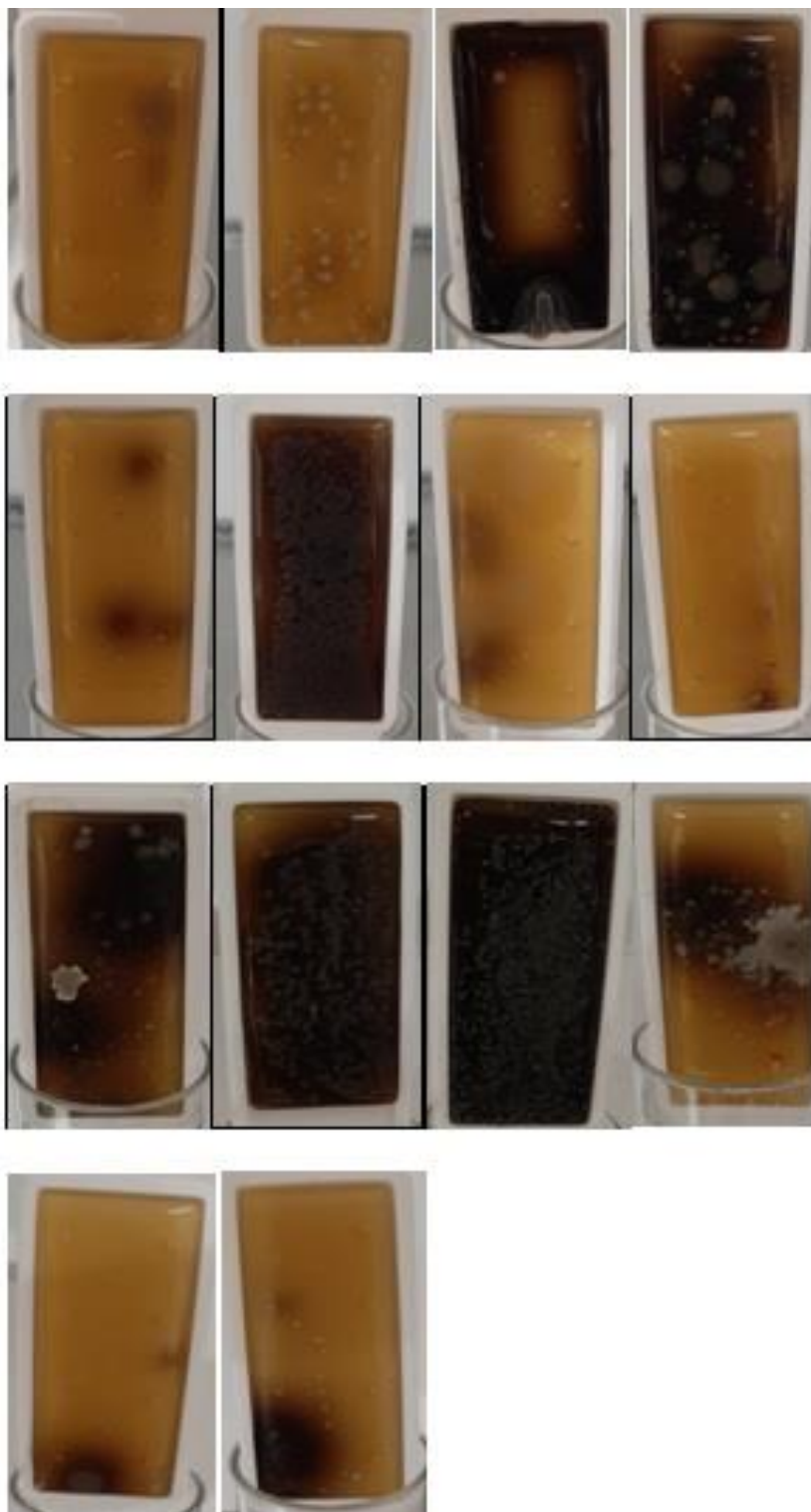
- 10 Salmonella ilmoitukset. Ruokavirasto. Verkkoaineisto. <<https://www.ruokavirasto.fi/laboratoriopalvelut/ruokaviraston-hyvaksymat-laboratoriot/salmonellailmoitukset/>>. Luettu 15.11.2019.
- 11 Niemi, Veli-Mikko; Rahkio, Marjatta & Siitonen, Anja. 2004. Ruojuturvallisuuden käsi kirja. WS Bookwell Oy.
- 12 Listerian esiintyvyys Suomessa. Terveiden ja hyvinvoinnin laitos. Verkkoaineisto. <<https://th.fi/fi/web/infektiotaudit/seuranta-ja-epidemiatautirekisteri/tartuntataudit-suomessa-vuosiraportit/tautien-esiintyvyys/listerian-esiintyvyys>>. Päivitetty 3.12.2019. Luettu 19.11.2019.
- 13 Lumio, Jukka. Listerioosi. Duodecim Terveyskirjasto. 6.11.2019. Verkkoaineisto. <[https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=dlk00581](https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00581)>. Luettu 19.11.2019.
- 14 Repo, Päivi. Joulukaloista leviävää listeriaa liikkeellä Suomessa ja Euroopassa. Helsingin Sanomat. Julkaistu 2.12.2019. Verkkoaineisto. <<https://www.hs.fi/kotimaa/art-2000006328375.html>>. Luettu 14.12.2019.
- 15 Pasonen, Petra. Lämmin Jääkaappi sallii listerian kasvaa. Ruokavirasto. Julkaistu 17.9.2019. Verkkoaineisto. <<https://www.ruokavirasto.fi/yhteisot/riskinarviointi/ajankohtaista-riskinarvioinista/lammin-jaakaappi-sallii-listerian-kasvaa/>>. Luettu 14.12.2019.
- 16 Outbreak of *Listeria monocytogenes*, infections associated with pasteurized milk from a local dairy- Massachusetts 2007. MMWR. Verkkoaineisto. <<https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5740a1.htm>>. Päivitetty 10.9.2008>. Luettu 15.2.2020.
- 17 Niemitalo, Vuokko. Hygienia elintarviketuotannossa 2017. Savogrow kehitysyhtiö. Verkkoaineisto. <[https://www.pikes.fi/documents/89847/4960006/PIKES,%20Hygienia+elintarviketuotannossa+4\\_2017+Niemitalo.pdf/7f899d9d-ebbb-4646-a409-5064a04b2446](https://www.pikes.fi/documents/89847/4960006/PIKES,%20Hygienia+elintarviketuotannossa+4_2017+Niemitalo.pdf/7f899d9d-ebbb-4646-a409-5064a04b2446)>. Luettu 25.11.2019.
- 18 Wirtanen, Gun. Laitehygienia elintarviketeollisuudessa, hygieniaongelmien ja *Listeria monocytogenes* hallintakeinot. VTT:n julkaisema pdf-tiedosto. Espoo 2002. Verkkoaineisto. <<https://www.vtt.fi/inf/pdf/publications/2002/P480.pdf>>. Luettu 14.12.2019.
- 19 Listeria monocytogenes. Ruokavirasto. Verkkoaineisto. <<https://www.ruokavirasto.fi/henkiloasiakkaat/tietoa-elintarvikkeista/elintarvikkeiden-turvallisen-kayton-ohjeet/ruokamyrkytykset/ruokamyrkytyksia-aiheuttavia-bakteereja/listeria/>>. Luettu 16.12.2019.
- 20 Omavalvonnan suositellut näytteenottotiheydet leipomoissa ja konditorioissa. Eviran ohje 10501/2. Liite 7:Leipomot ja konditoriat. Verkkoaineisto.

- <<https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/tietoa-meista/asiointi/oppaat-ja-lomakkeet/yritykset/elintarvikeala/elintarvikealan-oppaat/leiohje-10501-liite-7-leipomo.pdf>>. Luettu 16.12.2019.
- 21 TEVAN panox 200- desinfectioaine. Kiilto. Verkkoaineisto. <<https://www.kiilto.com/fi/tuotteet/tevan-panox-200>>. Luettu 10.1.2020.
- 22 A 852/2004. Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus elintarvikehygieniasta. Annettu 29.4.2004. Verkkoaineisto. <<https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2004R0852:20081028:FI:PDF>>. Luettu 17.12.2019.
- 23 Jansson Lasse, Lindqvist Bengt ja Markkula Irmeli. 2012. Sisätilojen tuhoeläimet ja niiden torjunta. Kajaani: KS Paino Oy.
- 24 Omavalvontanäytteiden määrät elintarvikehuoneistossa, ohje. Kokkolan kaupunki. Julkaistu 29.8.2018. Verkkoaineisto. <[https://www.kokkola.fi/palvelut/sosiaali\\_ ja\\_ terveyspalvelut/terveysvalvonta/elintarvikevalvonta/omavalvonta/fi\\_FI/omavalvontaohjeet/](https://www.kokkola.fi/palvelut/sosiaali_ ja_ terveyspalvelut/terveysvalvonta/elintarvikevalvonta/omavalvonta/fi_FI/omavalvontaohjeet/)>. Päivitetty 28.11.2018. Luettu 9.1.2020.
- 25 Labema Oy. Labema. Verkkoaineisto. <<https://www.labema.fi/yritys/>>. Luettu 30.1.2020.
- 26 Environmental Listeria and Salmonella Rapid Test Methods (Paradigm Diagnostics). Weber scientific. Verkkoaineisto. <<https://www.weberscientific.com/environmental-listeria-and-salmonella-rapid-test-methods-paradigm-diagnostics>>. Luettu 12.1.2020.
- 27 InSite<sup>™</sup> L.mono Glo. Environmental L.mono test. Hygiena. Verkkoaineisto. <<https://www.hygiena.com/other-products/insite-lmonoglo-other.html>>. Luettu 12.1.2020.
- 28 XLT-4 agar. IFU, Infructions for Use. Hardy diagnostics. Verkkoaineisto. <[https://catalog.hardydiagnostics.com/cp\\_prod/Content/hugo/XLT4Agar.htm](https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/Content/hugo/XLT4Agar.htm)>. Luettu 30.1.2020.
- 29 XLT-4 agar. XLT-4 agar selective supplement. Thermo Scientific, Oxoid Microbiology Products. Verkkoaineisto. <[http://www.oxid.com/UK/blue/prod\\_detail/prod\\_detail.asp?pr=CM1061&org=124&c=UK&lang=EN](http://www.oxid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM1061&org=124&c=UK&lang=EN)>. Luettu 31.1.2020.
- 30 Salmonella Isolation transwab. Labema. Verkkoaineisto. <<https://www.labema.fi/tuote-MW572/25sta>>. Luettu 4.2.2020.
- 31 SwabSURE Listeria P yksittäin. Labema. Verkkoaineisto. <<https://www.labema.fi/tuote-SS-L01-1>>. Luettu 5.2.2020.

- 32 SwabSURE ListeriaP - Monitors *L. monocytogenes* in Food Processing Environments. Rapid microbiology. Verkkoaineisto. <<https://www.rapidmicrobiology.com/products/swabsure-listeriap>>. Luettu 5.2.2020.
- 33 DipSlide Listeria. Labema. Verkkoaineisto. <<https://www.labema.fi/tuote-LIST>>. Luettu 7.2.2020.
- 34 Product specification. Listeria Isolation Medium (Oxford). Neogen. Pdf-tiedosto. Verkkoaineisto. <<http://www.labm.com/product.asp?id=1684>>. Luettu 7.2.2020.
- 35 Listeria Isolation Medium (Oxford). Labema. Verkkoaineisto. <<https://www.labema.fi/tuote-LAB122>>. Luettu 7.2.2020.
- 36 Bacteria dipslide analysis. Houghton. Verkkoaineisto. <<http://hte.houghton.co.uk/bacteria-dipslide-analysis>>. Luettu 20.2.2020.
- 37 Oksanen, Antti. Eviran professori: Keräämättömistä koiran kakoista ihmiselle jopa keskushermosto-oireita. Savon sanomat. Julkaistu 15.3.2015. Verkkoaineisto. <<https://www.savonsanomat.fi/kotimaa/Koirankakoista-ihmiselle-jopa-keskushermosto-oireita/529193>>. Luettu 12.12.2019.
- 38 Rahkio Marjatta, Virtalaine Tuomas, Suontamo Tuula, Teirmaa Sanna, Wirtanen Gun, Salo Satu ja Syyrakki Sara. Pintahygieniaopas. Pori 2011. Vammalan Kirjapaino.

### Dipslide –testien tulokset

Kuvissa positiivisten Dipslide -testien tulokset muiden bakteerien kuin listerian osalta, jota ei todettu näytteistä. Kuvat ovat järjestyksessä 1–12 sekä 16 ja 17 kohteista.



**Salmonella -testin kasvualustan ainesosat**

Ravinnepohjan ainesosat ovat lueteltuna litraa kohden ionisoidussa vedessä [30].

Laktoosi (Lactose)	7.5gm
Sakkarooosi (Sucrose)	7.5gm
Natriumtiosulfaatti (Sodium Thiosulfate)	6.8gm
Natriumkloridi (Sodium Chloride)	5.0gm
L-Lysiini (L-Lysine)	5.0gm
Xyloosi (Xylose)	3.75gm
Hiivauute (Yeast Extract)	3.0gm
Proteoosi peptoni nro.3 (Proteose Peptone No. 3)	1.6gm
Rauta-ammoniumsitraatti (Ferric Ammonium Citrate)	0.8gm
Fenolin punainen (Phenol Red)	80.0mg
Tergitol 4	4.6ml
Agar	18.0gm