

Ruokaviraston raportti

# Patogeenit pakatuissa lehtivihanneksissa 2018-2020

Valtakunnallinen valvonta- ja patogeeniprojekti



**RUOKAVIRASTO**  
Livsmedelsverket • Finnish Food Authority

Päiväys:	16.3.2023
Asianumero:	1382/04.02.00.03/2023
	Ruokavirasto
Linja, osasto ja/tai yksikkö:	ELLI/ELITA/MITU/ELMA ja LABRA/MIBO/ELRE
Hyväksyjä:	Pia Mäkelä
Laatija/laatijat:	Elina Leinonen, Saija Hallanvuo, Maria Aarnio, Annukka Markkula
Lisätietoja:	

## SISÄLLYSLUETTELO

<b>Tiivistelmä</b> .....	<b>3</b>
<b>Sammandrag</b> .....	<b>3</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>4</b>
<b>1. Johdanto</b> .....	<b>5</b>
<b>2 Aineisto ja menetelmät</b> .....	<b>6</b>
2.1 Projektin toteutus .....	6
2.2 Näyttemateriaali.....	6
2.3. Menetelmät.....	7
<b>3 Tulokset</b> .....	<b>7</b>
3.1 STEC ja EPEC .....	7
3.2 <i>Bacillus cereus</i> -ryhmä ja <i>Bacillus thuringiensis</i> .....	8
3.3 <i>Escherichia coli</i> .....	9
<b>4 Pohdinta</b> .....	<b>10</b>
<b>5. Johtopäätökset</b> .....	<b>12</b>
<b>6. Viitteet</b> .....	<b>12</b>
Liite 1. Projektin liittyneet tutkimukset ja vastuunjako .....	14
Liite 2. Projektin toteutukseen osallistuneet ympäristöterveydenhuollon valvontayksiköt vuosina 2018–2020.....	15

## Tiivistelmä

### Patogeenit pakatuissa lehtivihanneksissa 2018–2020

Ruokaviraston koordinoimassa valtakunnallisessa projektissa tutkittiin taudinaiheuttajien esiintymistä vähittäismyynnissä olleissa, sellaisenaan syötävissä pakatuissa lehtivihanneksissa, salaattisekoituksissa ja tuoreyrteissä. Projektin toteutettiin vuosien 2018–2020 aikana. Näytteistä tutkittiin shigatoksiinia tuottavan *Escherichia coli* -bakteerin (STEC), enteropatogeenisen *E. coli* -bakteerin (EPEC) sekä *Bacillus cereus* -ryhmän bakteerien ja niihin kuuluvan *B. thuringiensis* -bakteerin esiintyminen. Lisäksi näytteistä tutkittiin hygieenistä laatua kuvaava *E. coli* -bakteeri. Näytteenoton ja näytteistä tehtävät perustutkimukset toteuttivat paikalliset ympäristöterveydenhuollon valvontayksiköt. Ruokavirasto vastasi projektin suunnittelusta, näytteisiin liittyvistä jatkotutkimuksista ja tulosten kokoamisesta. Projektissa tutkittiin 259 näytettä, jotka oli otettu vähittäisliikkeistä 16 eri ympäristöterveydenhuollon valvontayksikön alueelta. Näytteet otettiin satunnaisesti markkinoilla olleista tuotteista.

STEC todettiin yhdestä näytteestä 250 tutkitun joukosta ja EPEC neljästä sellaisesta näytteestä, jolle tehtiin EPEC-viljelyvarmistus alustavan tuloksen perusteella. *B. cereus* -ryhmän bakteerien pitoisuus oli vähintään 10 000 pmy/g yhteensä 16 näytteessä. Jatkotutkimuksissa kaikista tutkituista näytteistä (12 kpl) todettiin *B. thuringiensis*. *E. coli* -bakteerin pitoisuus oli 231 näytteessä <math><10</math> pmy/g ja kaikissa näytteissä kahta lukuun ottamatta <math><10^3</math> pmy/g. Yhden näytteen osalta tulosta ei ollut raportoitu.

Projektin tulosten perusteella STEC- ja EPEC-bakteerien esiintyminen pakatuissa lehtivihanneksissa on vähäistä. On kuitenkin mahdollista, että lehtivihannekset toimivat ihmisten STEC- ja etenkin EPEC-tartuntojen lähteenä. Riittävä osanäytteiden määrä on olennaista, kun tutkitaan satunnaisesti esiintyviä patogeeneja. *E. coli* -bakteerin pitoisuudet pakatuissa lehtivihanneksissa ovat pääosin pieniä. *E. coli* -määritysmenetelmä on käyttökelpoinen ulosteperäisen saastumisen asteen arvioimisessa, mutta se ei sovellu patogeenisten *E. coli* -bakteerien seulomiseen. Projektissa näytteistä, joissa *B. cereus* -ryhmän bakteerien pitoisuus oli korkea, todettiin usein *B. thuringiensis*.

## Sammandrag

### Patogener i förpackade bladgrönsaker 2018–2020

I ett nationellt projekt samordnat av Livsmedelsverket undersöktes förekomsten av patogener i ätfärdiga förpackade bladgrönsaker, salladsblandningar och färska örter i detaljhandeln. Projektet genomfördes 2018–2020. I proverna undersöktes förekomsten av shigatoxinproducerande *Escherichia coli*-bakterien (STEC), enteropatogena *E. coli*-bakterien (EPEC) samt av bakterier i *Bacillus cereus*-gruppen och *B. thuringiensis*-bakterien som tillhör denna grupp. Dessutom undersöktes förekomsten av *E. coli*-bakterie som är en indikator för den hygieniska kvaliteten. Provtagningen och grundundersökningarna av proverna genomfördes av lokala tillsynsenheter för miljö- och hälsoskyddet. Livsmedelsverket svarade för planeringen av projektet, den fortsatta undersökningen av proverna och sammanställningen av resultaten. I projektet undersöktes 259 prover som hade tagits i detaljhandelsföretag inom områden för 16 olika tillsynsenheter för miljö- och hälsoskyddet. Proverna togs slumpmässigt i produkter som fanns på marknaden.

STEC konstaterades i ett prov av de 250 undersökta proverna, och EPEC i fyra prover som genomgick en EPEC-odlingsverifiering på basis av det preliminära resultatet. Halten av *B. cereus*-gruppens bakterier var minst 10 000 cfu/g i sammanlagt 16 prover. I fortsatta undersökningar påträffades *B. thuringiensis* i samtliga undersökta prover (12 st.). Halten av *E. coli*-bakterien var <10 cfu/g i 231 prover och <10<sup>3</sup> cfu/g i alla prover med undantag av två. I fråga om ett prov hade resultatet inte rapporterats.

Projektets resultat visar att förekomsten av STEC- och EPEC-bakterier i förpackade bladgrönsaker är låg. Det är dock möjligt att bladgrönsaker är en källa för människors STEC- och särskilt EPEC-smittor. Ett tillräckligt antal delprover är väsentligt när man undersöker sporadiskt förekommande patogener. *E. coli*-bakteriehalterna är huvudsakligen låga i förpackade bladgrönsaker. *E. coli*-analysmetoden kan användas för bedömning av nivån av fekal kontamination, men den lämpar sig inte som en indikator för förekomst av patogena *E. coli*-bakterier. I projektet konstaterades ofta *B. thuringiensis* i prover med hög halt av *B. cereus*-gruppens bakterier.

## Abstract

### Pathogens in pre-packaged leafy vegetables 2018–2020

Coordinated by the Finnish Food Authority, this national project focused on studying the prevalence of pathogens in pre-packaged ready-to-eat leafy vegetables, salad mixes and fresh herbs sold to consumers. The project was active between 2018 and 2020. The samples were tested for Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC), enteropathogenic *E. coli* (EPEC), and bacteria in the *Bacillus cereus* group and *B. thuringiensis* belonging to that group. In addition, *E. coli* bacteria was tested for as a hygiene indicator. The sampling and the basic analyses were carried by local environmental health control units. The Finnish Food Authority was responsible for project planning, further studies on the samples, and compiling the results. A total of 259 samples collected at retail in the areas of 16 environmental health control units were analysed in the project. The samples were selected randomly from products available for purchase.

STEC was found in one sample of the 250 samples analysed, and EPEC was found in four of the samples on which confirmatory tests were performed after positive presumptive tests. The number of bacteria in the *B. cereus* group was 10,000 cfu/g or more in 16 samples. In further studies, *B. thuringiensis* was found in all analysed samples (12 samples). In 231 samples, the concentration of *E. coli* was <10 cfu/g, and it was <10<sup>3</sup> cfu/g in all samples but two. No results were reported for one sample.

Based on the project results, the occurrence of STEC and EPEC bacteria in pre-packaged leafy vegetables is low. However, it is possible that leafy vegetables are a source of STEC and especially EPEC infections of humans. A sufficient number of sub-samples is vital when the samples are analysed for pathogens that occur sporadically. In general, the concentrations of *E. coli* in pre-packaged leafy vegetables are low. The method for quantification of *E. coli* can be used to assess the degree of faecal contamination, but it is not suitable as indicator for the presence of pathogenic *E. coli* bacteria. In the project, *B. thuringiensis* was often found in samples with high concentrations of bacteria from the *B. cereus* group.

## 1. Johdanto

Ruokaviraston koordinoimassa valtakunnallisessa projektissa tutkittiin vuosina 2018–2020 taudinaiheuttajien esiintymistä vähittäismyynnissä olleissa, sellaisenaan syötävissä pakatuissa lehtivihanneksissa, salaattisekoituksissa ja tuoreyrteissä. Näytteistä tutkittiin shigatoksiinia tuottavan *Escherichia coli* -bakteerin (STEC), enteropatogeenisen *E. coli* -bakteerin (EPEC) sekä *Bacillus cereus* -ryhmän bakteerien ja niihin kuuluvan *B. thuringiensis* -bakteerin esiintyminen. Lisäksi näytteistä tutkittiin hygieenistä laatua kuvaava *E. coli* -bakteeri.

Kasvien roolia patogeenisten bakteerien välittäjänä ihmisten sairastumisissa on selvitetty Euroopassa useissa tutkimushankkeissa ja työryhmissä (EFSA 2015). Vihreiden lehtikasvien on todettu olevan ihmisten zoonoottisten bakteeritartuntojen kannalta merkittävin ei-eläinperäinen riskielintarvike Euroopassa (EFSA 2013). Kattavaa tietoa vihreiden lehtikasvien ja yrttien merkityksestä patogeenisten bakteerien levittäjinä Suomessa ei ole. Salmonellan esiintymistä salaateissa, tuoreissa yrteissä ja iduissa selvitettiin valtakunnallisella projektilla 2010–11. Salmonellaa ei todettu tuolloin tutkituissa tuotteissa.

STEC-bakteeri ovat *E. coli* -bakteereja, jotka tuottavat shigatoksiineja (Stx1, Stx2 tai molempia) ja niistä voidaan käyttää myös nimitystä VTEC (verotoxin-producing *E. coli*). STEC-bakteerit tunnistetaan toteamalla toksiinigeenit *stx1* ja/tai *stx2* *E. coli* -bakteerikannalta. STEC-bakteeri voi aiheuttaa ihmiselle vakavaoireisen tartunnan. Tällaisista STEC-bakteereista käytetään myös nimitystä EHEC (enterohemorraginen *E. coli*). STEC-tartunnat voivat olla myös lieväoireisia tai oireettomia.

EPEC-bakteerit voivat niin ikään aiheuttaa tautia ihmiselle. STEC ja EPEC yhdessä aiheuttivat rucolan välityksellä laajan epidemian Suomessa vuonna 2016 (Kinnula ym. 2018). EPEC-bakteerien taudinaiheuttamiskyky perustuu LEE (locus of enterocyte effacement) -geenialueeseen. Merkkigeeninä EPEC diagnostiikassa toimii intimiiniä koodaava *eae*-geeni. Myös osa STEC-bakteereista hyödyntää taudinaiheuttamisessa LEE-geenialuetta, joten STEC-bakteereilla voi olla *stx*-geenien lisäksi olla *eae*-geeni. EPEC-bakteereilla ei esiinny *stx*-geenejä.

*B. thuringiensis* -bakteeria käytetään torjunta-aineena kasvien tuotannossa sen luontaisesti tuottaman hyönteisille toksisen yhdisteen takia. Lisäksi joillain *B. thuringiensis* -kannoilla on kyky tuottaa samanlaisia ruokamyrkytyksiä aiheuttavia toksiineja kuin *B. cereus* -bakteerilla (EFSA 2016). *B. thuringiensis* -bakteeria ei pystytä rutiinidiagnostiikassa erottamaan muista *B. cereus* -ryhmän bakteereista ja siksi sen roolia kotimaisten ruokamyrkytysten aiheuttajana ei tunneta.

Projektin suunnittelussa hyödynnettiin Ruokaviraston mikrobiologian yksikön aiemmin toteuttaman projektin ”Patogeenisten bakteerien esiintyminen kasviksissa” tuloksia. Vuonna 2017 tehdyssä ns. pilottitutkimuksessa oli tutkittu EPEC- ja STEC-bakteerien esiintymistä salaattisekoituksissa, lehtivihanneksissa ja yrteissä. Pilottiprojektin tulokset julkaistaan erillisessä raportissa.

## 2 Aineisto ja menetelmät

### 2.1 Projektin toteutus

Projektin näytteet otettiin 1.2.2018–31.12.2020 välisenä aikana. Koronaviruspandemian vuoksi projekti oli keskeytettynä 19.3.2020–6.10.2020. Näytteenoton ja näytteistä tehtävät perustutkimukset toteuttivat paikalliset ympäristöterveydenhuollon valvontayksiköt (liite 1). Ruokavirasto vastasi projektin suunnittelusta, näytteisiin liittyvistä jatkotutkimuksista ja tulosten kokoamisesta.

### 2.2 Näytemateriaali

Projektissa tutkittiin 259 näytettä, jotka oli kerätty vähittäisliikkeistä 16 eri ympäristöterveydenhuollon valvontayksikön alueelta (liite 2). Näytteet olivat sellaisenaan syötäviä, pakattuja lehtivihanneksia (taulukko 1). Osassa lehtivihanneksia sisältäneistä sekoituksista oli mukana myös juureksia tai kaaleja. Näytteet otettiin satunnaisesti markkinoilla olleista tuotteista.

Ruukussa myytäviä tuotteita tai kokonaisia salaattikeriä ei otettu näytteiksi. Myöskään ituja sisältäneitä tuotteita tai sellaisia tuotteita, joiden joukossa oli irrallisina komponentteina esimerkiksi lihaa tai juustoa, ei otettu näytteiksi.

Näytteeksi otetut tuotteet sisälsivät pääasiassa Suomesta ja muista EU-maista peräisin olevia valmistusaineita. Osa valmistusaineista oli peräisin EU:n ulkopuolelta (taulukko 2).

*Taulukko 1. Projektissa tutkitut näytetyypit.*

Tuotteen tyyppi	Näytteiden lukumäärä (%)
Sisälsi yhtä lehtivihannesta	151 (58)
Sisälsi useampaa kuin yhtä lehtivihannesta	98 (38)
Sisälsi lehtivihannesten lisäksi juuresta ja/tai kaalia	10 (4)
Yhteensä	259 (100)

*Taulukko 2. Tuotteiden sisältämien valmistusaineiden alkuperämaat.*

Valmistusaineiden alkuperämaa	Näytteiden lukumäärä (%)
EU <sup>a</sup>	143 (55)
Suomi	81 (31)
Muu kuin EU-maa	14 (5)
Suomi ja muu(t) EU-maa(t)	9 (3)
Ei tiedossa <sup>b</sup>	12 (5)
Yhteensä	259 (100)

<sup>a</sup> Pois lukien Suomi

<sup>b</sup> Alkuperämaita ei ilmoitettu lainkaan tuotteen pakkauksessa tai ne ilmoitettiin vain osasta valmistusaineita

Kunkin näytteen koko oli vähintään 300 g ja se koostui yhdestä tai useammasta samaan tuote-erään kuuluvasta pakkauksesta. Näytteiksi otettiin avaamattomia pakkauksia.

## 2.3. Menetelmät

Valvontayksiköt toimittivat näytteet paikallislaboratorioon *E. coli*-, *B. cereus* -ryhmä- (eli alustava *B. cereus*-) sekä STEC/EPEC-analyysejä varten. Näytteet tutkittiin viranomaisnäytteinä Ruokaviraston nimeämissä laboratorioissa.

Jokaisesta näytteestä tutkittiin yksi osanäyte.

STEC- ja EPEC-tutkimukset tehtiin ISO/TS 13136:2012-menetelmän mukaisesti. Kun paikallislaboratorion tutkimuksissa todettiin alustava STEC (eli *stx1* ja/tai *stx2* -signaali PCR-tutkimuksessa), tehtiin viljelyvarmistus Ruokaviraston laboratorioissa ISO/TS 13136-menetelmällä. Viljelyvarmistuksessa eristetyille kannoille tehtiin WGS sekvensointi (Ruokaviraston sisäinen menetelmä, perustuu standardiin ISO 23418:2022) Ruokaviraston mikrobiologian yksikössä. Kun paikallislaboratorion tutkimuksissa todettiin alustava EPEC (eae-signaali PCR-tutkimuksessa) ja saatiin viljelyvarmistuksen mahdollistava, riittävän voimakas eae-signaali, tehtiin jatkotutkimuksena viljelyvarmistus (muunneltu ISO/TS 13136:2012-menetelmä). Myös viljelyvarmistuksessa eristetyt EPEC-kannat sekvensoitiin. Sekvensoinnissa määritettiin bakteerin Enterobasen MLST skeeman mukainen tyyppi (<https://enterobase.warwick.ac.uk/species/index/ecoli>, Achtman 7 gene).

*B. cereus* -bakteeriryhmän tutkimukset tehtiin käyttäen menetelmää EN/ISO 7932:2004 tai NMKL 67: 2010. Jos näytteessä todettujen *B. cereus* -ryhmän bakteerien pitoisuus ylitti 10 000 pmy/g, paikallislaboratorio toimitti 1–5 eristämäänsä bakteerikantaa Ruokaviraston mikrobiologian yksikköön. Ruokaviraston mikrobiologian yksikkö tutki ISO 7932:2004/Amd1:2020, liitteen F mukaisella menetelmällä, edustivatko kannat *B. thuringiensis* -lajia.

*E. coli* -tutkimukset tehtiin käyttäen menetelmiä EN/ISO 16649–2:2001 tai NMKL 125:2005, muunneltu tai Ruokaviraston hyväksymää vaihtoehtoista menetelmää, jonka vastaavuuden edellä mainittujen viitemenetelmien kanssa Ruokavirasto oli todennut nimeämisen yhteydessä.

Näytteet säilytettiin tutkimusten alkamiseen asti +0–6 °C lämpötilassa. Näytteet tutkittiin heti niiden saavuttua laboratorioon tai niiden pakkauksessa ilmoitetun säilyvyysajan puitteissa.

## 3 Tulokset

### 3.1 STEC ja EPEC

EPEC- ja STEC-bakteerien esiintyminen tutkittiin 250 näytteestä. STEC-bakteeri todettiin (viljelyvarmistettu tulos) yhdestä näytteestä ja EPEC- bakteeri neljästä näytteestä.

Alustava STEC todettiin neljästä näytteestä. Viljelyvarmistuksen tulos oli negatiivinen kaikkien neljän näytteen osalta. STEC varmistui kuitenkin yhdestä sellaisesta näytteestä, joka oli toimitettu jatkotutkimuksiin alustavan EPEC-löydöksen vuoksi. Varmistuneella STEC-bakteerilla todettiin kokogenomisekvensoinnilla toksiinialatyyppi *stx2f*, se oli serotyyppiä O63:H6 ja MLST tyyppiä ST 583.



Alustava EPEC todettiin 20 näytteestä. Viljelyvarmistus tehtiin 12 näytteelle. EPEC todettiin viljelymenetelmällä neljästä alustavasti EPEC-positiiviseksi todetusta näytteestä.

Tuotteet, joista STEC tai EPEC todettiin (viljelyvarmistettu tulos), oli valmistettu Suomesta tai muista EU-maista peräisin olevista raaka-aineista. Alustavia EPEC-havaintoja tehtiin useammin sellaisista tuotteista, joiden raaka-aineet olivat peräisin EU:n ulkopuolelta (taulukko 4).

EPEC- tai STEC-bakteerin toteaminen (viljelyvarmistettu tulos) ei ollut yhteydessä *E. coli* -bakteerin toteamiseen. Alustavia EPEC-löydöksiä tehtiin useammin sellaisista näytteistä, joissa *E. coli* -bakteeria todettiin  $10^1$ – $10^3$  pmy/g kuin näytteistä, joissa *E. coli* -bakteerin pitoisuus oli alle määrittäysrajan (<10 pmy/g).

*Taulukko 4. Alustavat ja varmistetut EPEC- ja STEC-löydökset eri alkuperää olevia raaka-aineita sisältäneissä näytteissä*

Tutkimus	Raaka-aineiden alkuperämaat (todetut/tutkitut näytteet (%))					
	Suomi	Suomi + muu(t) EU- maa(t)	EU <sup>a</sup>	Muu kuin EU	Ei ilmoitettu	Yhteensä
Alustava EPEC <sup>b</sup>	2/78 (2,5)	0/8 (0)	12/138 (8,7)	5/14 (35,7)	1/12 (8,3)	20/250 (8,0)
Varmistettu EPEC	0/- <sup>d</sup>	0/- <sup>d</sup>	3/- <sup>d</sup>	0/- <sup>d</sup>	1/- <sup>d</sup>	4/- <sup>d</sup>
Alustava STEC <sup>c</sup>	0/78 (0)	0/8 (0)	4/138 (2,3)	0/14 (0)	0/12 (0)	4/250 (1,6)
Varmistettu STEC	0/78 (0)	1/8 (12,5)	0/138 (0)	0/14 (0)	0/12 (0)	1/250 (0,4)

<sup>a</sup> Pois lukien Suomi

<sup>b</sup> Näytteestä todettu eae-signaali mutta ei stx-signaalia

<sup>c</sup> Näytteestä todettu stx-signaali ja lisäksi mahdollisesti eae-signaali

<sup>d</sup> Osuutta ei määritetty, koska varmistus tehtiin vain osalle näytteistä, joista oli todettu alustava EPEC

Kaikki alustavat tai varmistetut STEC- ja EPEC-löydökset tehtiin tuotteista, jotka eivät sisältäneet muita ainesosia lehtivihanneksien lisäksi.

### 3.2 *Bacillus cereus* -ryhmä ja *Bacillus thuringiensis*

*B. cereus* -ryhmän bakteerien esiintyminen tutkittiin kaikista projektissa otetuista 259 näytteestä. *B. cereus* -ryhmän bakteerien pitoisuus oli vähintään 10 000 pmy/g yhteensä 16 (6,1 %) näytteessä (taulukot 5 ja 6). Kaikki 16 näytettä sisälsivät ainoastaan lehtivihanneksia.

*Taulukko 5. Bacillus cereus -ryhmän bakteerien pitoisuus tutkituissa näytteissä.*

Pitoisuus <sup>a</sup> (pmy/g)	Näytteiden lukumäärä (%)
<10 <sup>2</sup>	206 (79,5 %)
10 <sup>2</sup>	28 (10,8 %)
10 <sup>3</sup>	9 (3,5 %)
10 <sup>4</sup>	11 (4,2 %)
10 <sup>5</sup>	4 (1,5 %)
10 <sup>6</sup>	1 (0,4 %)
Yhteensä	259 (100 %)

<sup>a</sup>Pitoisuuden suuruusluokka: 1-9x10<sup>x</sup>

Taulukko 6. Näytteiden lukumäärä *Bacillus cereus* -ryhmän bakteerien pitoisuuden ja raaka-aineen alkuperämaan mukaan.

Raaka-aineiden alkuperämaa	Näytteiden lukumäärä (%), joissa <i>B. cereus</i> -ryhmän bakteerien pitoisuus <sup>a</sup> (pmy/g) oli						Yhteensä
	<10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	
Suomi	65 (80,2)	9 (11,1)	4 (4,9)	2 (2,4)	1 (1,2)	0	81 (100)
Suomi + muu(t) EU-maa(t)	9 (100)	0	0	0	0	0	9 (100)
EU <sup>b</sup>	111 (77,6)	15 (10,5)	5 (3,5)	8 (5,6)	3 (2,1)	1 (0,7)	143 (100)
Muut kuin EU-maat	10 (71,4)	4 (28,6)	0	0	0	0	14 (100)
Ei ilmoitettu pakkauksessa	11 (91,7)	0	0	1 (8,3)	0	0	12 (100)
<b>Yhteensä</b>	<b>206 (79,5)</b>	<b>28 (10,8)</b>	<b>9 (3,5)</b>	<b>11 (4,2)</b>	<b>4 (1,5)</b>	<b>1 (0,4)</b>	<b>259 (100)</b>

<sup>a</sup> Pitoisuuden suuruusluokka: 1-9x10<sup>x</sup>

<sup>b</sup> Pois lukien Suomi

Ruokaviraston mikrobiologian yksikköön toimitettiin 15 sellaisesta näytteestä eristettyjä bakteerikantoja, joissa *B. cereus* -ryhmän bakteerien pitoisuus oli vähintään 10 000 pmy/g. Mikrobiologian yksikön jatkotutkimuksissa 12 näytteestä eristetyistä kannoista todettiin *B. thuringiensis* (taulukko 7). Kolmen näytteen osalta saapuneet kannat olivat sekaviljelmii, joille ei tehty *B. thuringiensis* -analyysia.

Taulukko 7. *Bacillus thuringiensis* -bakteerin esiintyminen jatkotutkimuksiin toimitetuissa näytteissä.

<i>B. cereus</i> -ryhmän bakteerien pitoisuus <sup>a</sup> näytteessä (pmy/g)	<i>B. thuringiensis</i> -tutkimuksen tulos			Yhteensä
	Todettu	Ei todettu	Ei tutkittu <sup>b</sup>	
10 <sup>4</sup>	9	0	1	10
10 <sup>5</sup>	3	0	1	4
10 <sup>6</sup>	0	0	1	1
<b>Yhteensä</b>	<b>12</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>15</b>

<sup>a</sup> Pitoisuuden suuruusluokka: 1-9x10<sup>x</sup>

<sup>b</sup> Näytteestä jatkotutkimuksiin toimitetut bakteerikannat todettiin sekaviljelmiksi, joista ei tutkittu *B. thuringiensis*-bakteereita

### 3.3 *Escherichia coli*

*E. coli* -bakteerin pitoisuus oli suurimmassa osassa näytteitä alle menetelmän määrittämisen rajan (<10 pmy/g) ja kaikissa näytteissä kahta lukuun ottamatta alle 10<sup>3</sup> pmy/g (taulukot 8 ja 9). Yhden näytteen osalta tulosta ei ollut raportoitu.

Kaikki näytteet, joissa *E. coli* -bakteerin pitoisuus oli vähintään 10 pmy/g, sisälsivät ainoastaan lehtivihanneksia.

*Taulukko 8. Escherichia coli -bakteerin pitoisuus tutkituissa näytteissä.*

Pitoisuus <sup>a</sup> (pmy/g)	Näytteiden lukumäärä (%)
<10	231 (89,2)
10 <sup>1</sup>	14 (5,4)
10 <sup>2</sup>	11 (4,2)
10 <sup>3</sup>	2 (0,8)
Ei raportoitu	1 (0,4)
Yhteensä	259 (100)

<sup>a</sup> Pitoisuuden suuruusluokka: 1-9x10<sup>x</sup>

*Taulukko 9. Näytteiden lukumäärä Escherichia coli -bakteerin pitoisuuden ja raaka-aineen alkuperämaan mukaan.*

Raaka-aineiden alkuperämaa	Näytteiden lukumäärä (%), joissa <i>E. coli</i> -bakteerin pitoisuus <sup>a</sup> (pmy/g) oli					Yhteensä
	<10	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	Ei raportoitu	
Suomi	77 (95,1)	1 (1,2)	3 (3,7)	0	0	81 (100)
Suomi + muu(t) EU-maa(t)	9 (100)	0	0	0	0	9 (100)
EU <sup>b</sup>	124 (86,7)	12 (8,4)	5 (3,5)	1 (0,7)	1 (0,7)	143 (100)
Muut kuin EU-maat	9 (64,3)	1 (7,1)	3 (21,4)	1 (7,1)	0	14 (100)
Ei ilmoitettu pakkauksessa	12 (100)	0	0	0	0	12 (100)
Yhteensä	231 (89,2)	14 (5,4)	11 (4,2)	2 (0,8)	1 (0,4)	259 (100)

<sup>a</sup> Pitoisuuden suuruusluokka: 1-9x10<sup>x</sup>

<sup>b</sup> Pois lukien Suomi

## 4 Pohdinta

Tulosten perusteella STEC- tai EPEC-bakteerien esiintyminen pakatuissa lehtivihanneksissa on vähäistä. Varmistettu STEC todettiin yhdestä näytteestä. Kaikki STEC-kannat eivät aiheuta tautia ihmiselle, mutta tulosta tulkitaan valvonnassa terveysvaaraan viittaavana tuloksena. Kyseisen STEC-bakteerin toksiinialatyypin *stx2f* ei kuulu STEC-analytiikassa käytettävän ISO/TS 13136 standardin sovellusalueeseen, mikä selittää, ettei näytteestä todettu alustavaa STEC-bakteeria. Kyseinen löydös tehtiin sattumalta, koska eristetyt EPEC-bakteerit sekvensoitiin. Alatyypin *stx2f* STEC-bakteerit eristettiin alun perin kyyhkysistä (Schmidt ym. 2000). Uusimpien tutkimustulosten mukaan kyseisen alatyypin serotyypin O63:H6, ST 583 tyyppin lähteenä eivät kuitenkaan toimi kyyhkys (van Hoek et al. 2019). Todennäköisempänä lähteenä pidetään ihmistä, koska tietoa muista lähteistä ei ole (van Hoek et al. 2019). Kyseistä sero- ja toksiinityyppejä on tavattu myös ihmisiltä Suomessa (THL 2021). Alatyypin taudinaiheuttamiskyvystä ihmisille tarvitaan lisätietoa (EFSA 2020).

EPEC-bakteeri todettiin neljästä näytteestä (viljelyvarmistettu tulos). Elintarvikevalvonnassa EPEC-bakteerin toteamista ei pidetä perusteena edellyttää toimijaa toteuttamaan kyseisen tuote-erän takaisin vetoa, jollei esimerkiksi todeta epidemiaselvityksen perusteella löydöksen olevan yhteydessä ihmisten sairastumiseen. Alustavia EPEC-havainnointeja tehtiin useista näytteistä. Alustavan EPEC-havainnon kriteerinä olevan *eae*-geenin havaitseminen ei

kuitenkaan osoita varmasti EPEC-bakteerin olemassaoloa näytteessä. *eae*-geeniä esiintyy satunnaisesti myös muilla enterobakteereilla, joita voi esiintyä luontaisesti salaatisissa. Lisäksi viljelymenetelmällä eristetty EPEC-kantakaan ei välttämättä ole tautia aiheuttava.

Alustava EPEC tai STEC todettiin nyt harvemmin kuin vuonna 2017 toteutetussa pilottiprojektissa. Pilottitutkimuksessa tutkittiin 102 näytettä, joista 96 näytettä vastasi tämän projektin näytteille asetettuja kriteereitä. Pilotissa alustava STEC (stx-signaali ja lisäksi mahdollisesti *eae*-signaali) todettiin 12 näytteestä ja alustava EPEC (*eae*-signaali) 28 näytteestä. EPEC-viljelyvarmistus tehtiin 20 näytteelle, joista oli saatu riittävän voimakas alustava PCR-signaali ja varmistettu EPEC todettiin pilottitutkimuksessa yhdeksästä näytteestä (Ruokavirasto, julkaisematon tieto). Tulosten eroavaisuutta projektien välillä saattaa selittää ero tutkittujen osanäytteiden määrissä: pilottiprojektin kohdalla jokainen näyte tutkittiin viitenä osanäytteenä, kun taas tässä projektissa kukin näyte muodostui yhdestä osanäytteestä. Viljelyvarmistettu STEC todettiin kummassakin projektissa yhdestä näytteestä.

STEC-bakteerin esiintyminen Suomessa myynnissä olleissa lehtivihanneksissa oli vähistä myös vuonna 2013 tehdyssä tutkimuksessa (Nousiainen ym. 2016). Sadan tutkitun näytteen joukosta alustava STEC (stx-signaali) todettiin silloin seitsemästä näytteestä, mutta tulos ei varmistunut viljelymenetelmällä yhdenkään näytteen kohdalla.

Projektissa yhdestä alustavan EPEC-löydöksen vuoksi jatkotutkimuksiin toimitetusta näytteestä todettiin viljelymenetelmällä STEC: sillä oli *eae*-geenin lisäksi myös *stx*-geeni, jolla oli poikkeava alatyppi. EPEC-bakteerin tutkiminen lehtivihanneksista STEC-bakteerin rinnalla ja myös EPEC-kantojen tarkempi tyypittäminen kokogenomisekvensoinnilla voi tuoda esiin sellaisia STEC-kantoja, joita ei muuten havaittaisi. Bakteerit voivat myös esiintyä samoissa näytteissä. Vuonna 2016 rucolan välityksellä levinneessä epidemiassa aiheuttajabakteerit STEC ja EPEC eristettiin samoista ruoka-annoksista, joiden maustamiseen tai koristeluun oli käytetty rucolaa (Kinnula ym. 2018).

*E. coli* -bakteerin pitoisuudet olivat pääsääntöisesti pieniä. Bakteeria todettiin enemmän tuotteista, joiden valmistamiseen oli käytetty EU:n ulkopuolelta peräisin olevia valmistusaineita. Havainto perustuu kuitenkin pieneen näytemäärään ja vaatii siten lisätutkimuksia. Alustavia EPEC-havaintoja (*eae*-geeni) tehtiin useammin näytteistä, joista oli todettu *E. coli* -bakteeria vähintään menetelmän määritysrajan verran, mutta *E. coli* -tutkimus ei indikoinut EPEC- tai STEC-bakteerin läsnäoloa (varmistettu tulos) näytteissä.

Tutkimusta edeltäneessä pilottiprojektissa *E. coli* tutkittiin kahdeksasta sellaisesta näytteestä, joista oli todettu EPEC viljelymenetelmällä. *E. coli* -pitoisuudet olivat pieniä (<10 tai <100 pmy/g) eikä *E. coli* -tutkimus niin ollen indikoinut EPEC-bakteerin läsnäoloa näidenkään näytteiden kohdalla (Ruokavirasto, julkaisematon tieto). *E. coli* -määritysmenetelmä on käyttökelpoinen ulosteperäisen saastumisen asteen arvioimisessa, mutta se ei sovellu patogeenisten *E. coli* -bakteerien toteamiseen. Vuonna 2013 tutkituista pakatuista lehtivihanneksista *E. coli* todettiin 15 % näytteistä (Nousiainen ym. 2016). Bakteerin keskimääräinen pitoisuus näytteissä oli matala (mediaani 34 MPN/100 ml). Pitoisuus vaihteli välillä 3 ja 6533 MPN/100 ml.

*B. cereus* -ryhmän bakteerien pitoisuus oli vähintään 10 000 pmy/g yhteensä 16 näytteessä. Jatkotutkimuksissa 12 näytteestä todettiin *B. thuringiensis*. *B. thuringiensis* -bakteeria sisältävän biopestisidin käyttö voi selittää korkeita *B. cereus* -ryhmän bakteerien pitoisuuksia. Ruokavirasto suosittelee hylkäämään tuoreet kasvikset mahdollisen terveystuoreuden vuoksi

viimeistä silloin, kun *B. cereus* -ryhmän bakteerien pitoisuus ylittää 100 000 pmy/g. Tulosten tulkinnassa on syytä ottaa huomioon mahdollinen biopestisidin käyttö (Ruokavirasto 2021).

10 näytteen kohdalla tuote sisälsi lehtivihanneksen lisäksi myös juureksia ja/tai kaalia. Alustavat tai varmistetut EPEC- ja STEC-löydökset todettiin yksinomaan lehtivihanneksia sisältäneistä tuotteista eivätkä niin ollen olleet seurausta juuresten tai kaalien käytöstä tuotteissa. Myös *B. cereus* -ryhmän bakteerien ja *E. coli* -bakteerin pitoisuus oli matala juureksia ja/tai kaalia sisältäneissä näytteissä.

## 5. Johtopäätökset

- STEC- ja EPEC-bakteerien esiintyminen pakatuissa lehtivihanneksissa on vähäistä.
- On mahdollista, että lehtivihannekset toimivat ihmisten STEC- ja etenkin EPEC-tartuntojen lähteenä.
- Riittävä osanäytteiden määrä on olennaista, kun tutkitaan satunnaisesti esiintyviä patogeeneja.
- *E. coli* -bakteerin pitoisuudet pakatuissa lehtivihanneksissa ovat pääosin pieniä.
- *E. coli* -määritysmenetelmä on käyttökelpoinen ulosteperäisen saastumisen asteen arvioimisessa, mutta se ei sovellu patogeenisten *E. coli* -bakteerien seulomiseen.
- Projektissa näytteistä, joissa *B. cereus* -ryhmän bakteerien pitoisuus oli korkea, todettiin usein *B. thuringiensis*. *B. Thuringiensis* -bakteeria käytetään biologisena torjunta-aineena.

## 6. Viitteet

[EFSA] EFSA BIOHAZ Panel, Koutsoumanis K, Allende A, Alvarez-Ordóñez A, Bover-Cid S, Chemaly M, Davies R, De Cesare A, Herman L, Hilbert F, Lindqvist R, Nauta M, Peixe L, Ru G, Simmons M, Skandamis P, Suffredini E, Jenkins C, Monteiro Pires S, Morabito S, Niskanen T, Scheutz F, da Silva Felício MT, Messens W, Bolton D. 2020. Scientific Opinion on the pathogenicity assessment of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the public health risk posed by contamination of food with STEC. *EFSA J.* 18(1):5967. doi: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.5967>

[EFSA] EFSA Panel on Biological Hazards. 2013. Scientific Opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin. Part 1 (outbreak data analysis and risk ranking of food/pathogen combinations). *EFSA J.* 11(1):3025. doi: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3025>

[EFSA] EFSA Panel on Biological Hazards. 2016. Scientific opinion on the risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs. *EFSA J.* 14(7):4524. doi: 10.2903/j.efsa.2016.4524

[EFSA] Euroopan elintarviketurvallisuusviranomainen. 2015.

<https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/150313>. Viitattu 28.11.2022.

Kinnula S, Hemminki K, Kotilainen H, Ruotsalainen E, Tarkka E, Salmenlinna S, Hallanvuo S, Leinonen E, Ollgren J, Rimhanen-Finne R. 2016. Outbreak of multiple strains of non-O157 Shiga toxin-producing and enteropathogenic *Escherichia coli* associated with rocket salad,

Finland, autumn 2016. *Euro Surveill.* 23(35). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.35.1700666>

Nousiainen L-L, Joutsen S, Lunden J, Hänninen M-L, Fredriksson-Ahmoaa M. 2016. Bacterial quality and safety of packaged fresh leafy vegetables at the retail level in Finland. *Int J Food Microbiol.* 232:73-79. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.05.020>

Rossi M, Silva MS, Ribeiro-Gonçalves BF, Silva DN, Machado MP, Oleastro M, Borges V, Isidro J, Viera L, Halkilahti J, Jaakkonen A, Palma F, Salmenlinna S, Hakkinen M, Garaizar J, Bikandi J, Hilbert F, Carriço JA. 2018. INNUENDO whole genome and core genome MLST schemas and datasets for *Escherichia coli* (Version 1.0). <http://doi.org/10.5281/zenodo.1323690>. Viitattu 28.11.2022.

Ruokavirasto. 2021. Elintarvikkeiden mikrobiologiset vaatimukset komission asetuksen (EY) No 2073/2005 soveltaminen sekä yleisiä ohjeita elintarvikkeiden mikrobiologisista tutkimuksista - Ohje elintarvikealan toimijoille. Ohje 4095/04.02.00.01/2020/4. [https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/tietoa-meista/asiointi/oppaat-ja-lomakkeet/yritykset/elintarvikeala/elintarvikealan-oppaat/elintarvikkeiden-mikrobiologiset-vaatimukset\\_4095\\_04\\_02\\_00\\_01\\_2020\\_4\\_liitteet-yhdistetty.pdf](https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/tietoa-meista/asiointi/oppaat-ja-lomakkeet/yritykset/elintarvikeala/elintarvikealan-oppaat/elintarvikkeiden-mikrobiologiset-vaatimukset_4095_04_02_00_01_2020_4_liitteet-yhdistetty.pdf). Viitattu 28.11.2022.

Schmidt H, Scheef J, Morabito S, Caprioli A, Wieler LH, Karch H. 2000. A new Shiga toxin 2 variant (Stx2f) from *Escherichia coli* isolated from pigeons. *Appl Environ Microbiol.* 66(3):1205–8. doi: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.66.3.1205-1208.2000>

van Hoek AHAM, van Veldhuizen JNJ, Friesema I, Coipan C, Rossen JWA, Bergval IL, Franz E. 2019. Comparative genomics reveals a lack of evidence for pigeons as a main source of stx2f-carrying *Escherichia coli* causing disease in humans and the common existence of hybrid Shiga toxin-producing and enteropathogenic *E. coli* pathotypes. *BMC Genomics* 20, 271 (2019). doi: <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5635-z>

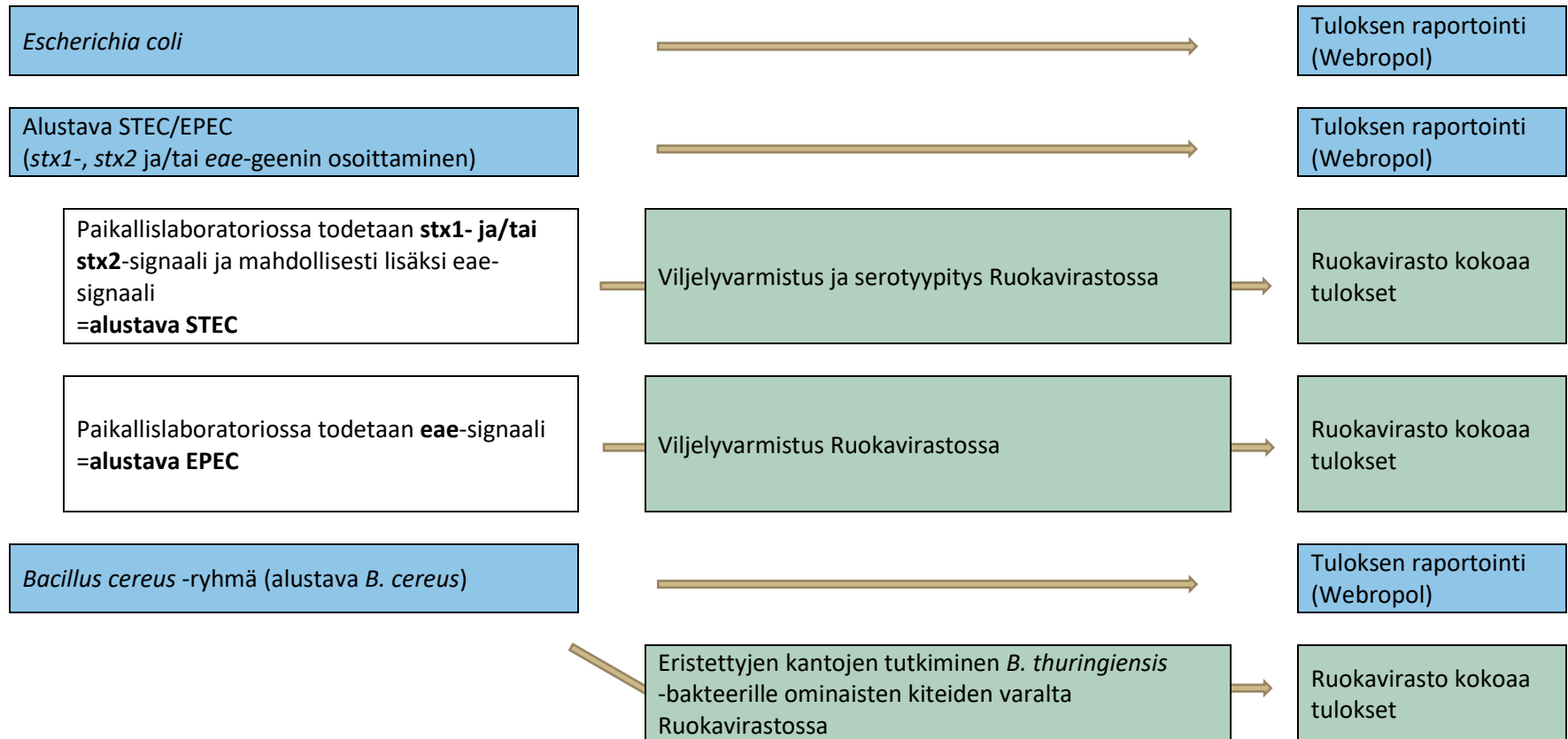
Tartuntataudit Suomessa 2021. Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2022. <https://thl.fi/documents/533963/593236/Tartuntataudit+Suomessa+2021.pdf/fe3ebfd7-5dcd-16b5-d3fc-48bbef19881c?t=1655727852495> Viitattu 28.11.2022.

# Liite 1. Projektiin liittyneet tutkimukset ja vastuunjako

Patogeenit pakatuissa lehtivihanneksissa 2018–2020

Sininen väri: valvontayksikkö vastaa

Vihreä väri: Ruokavirasto vastaa



## Liite 2. Projektin toteutukseen osallistuneet ympäristöterveydenhuollon valvontayksiköt vuosina 2018–2020

Espoon seudun ympäristöterveys  
Helsingin kaupunki, ympäristöpalvelut  
Hyvinkään kaupunki  
Hämeenlinnan kaupunki  
Jyväskylän kaupunki, ympäristöterveydenhuolto  
Kainuun sosiaali- ja terveydenhuollon kuntayhtymä  
Kuopion kaupunki, kaupunkiympäristön palvelualue, ympäristöterveydenhuolto  
Liedon kunta, ympäristöterveyspalvelut  
Oulun seudun ympäristötoimi liikelaitos  
Pietarsaaren kaupunki, sosiaali- ja terveysvirasto  
Pohjois-Karjalan ympäristöterveys  
Porvoon kaupunki, ympäristöterveydenhuolto  
Rauman kaupunki, ympäristöterveydenhuolto  
Riihimäen seudun terveyskeskuksen kuntayhtymä  
Vaasan ja Laihian ympäristöterveydenhuollon yhteistoiminta-alue  
Vantaan kaupunki