

Henry Kuronen

EURL-Salmonella workshop XXIV, 28.-29.5.2019, Amersfoort, Alankomaat

Vuosittain järjestettävän EURL-Salmonella workshopin esitykset tulevat EU:n vertailulaboratorion nettisivuille <https://www.eurlsalmonella.eu/workshops> . Osallistujia oli 27 EU maasta, 4 ehdokasmaasta ja 3 EFTA maasta yhteensä 51.

Kirsten Mooijman kävi läpi esityksessään ISO / CEN toimintaan liittyviä ajankohtaisia asioita. 2017 julkaistussa ISO 6579 standardin osassa 1 (salmonellojen osoittaminen) oli havaittu virhe kohdassa D 3.1.3.1 eli L-kysteiini liuoksen määrän tulee olla 10 ml eikä 100 ml ja ohjeen MSRV agar antaa MgCl₂ pitoisuudeksi 14,9 g/l, vaikka pitäisi olla 10,9 g/l. Lisäksi myös kaikille selektiivisille elatusaineille, joiden lämpötila on ollut 37±1 °C, voidaan käyttää 34-38 °C. Tähdennettiin myös, että Annex D:n (S. Typhi ja Paratyphi) mukaisesti toimitaan vain, jos erityisesti epäillään näitä serotyyppejä, ei aina. Äänestyksen alla on lisäosan tulosta standardiin. Monofaasisen S. Typhimurium – kantojen tunnistusmenetelmien testaus jatkuu. Hän piti myös standardin ISO 16140-3: Protocol for verification of reference and validated alternative methods implemented in single laboratory käyttöä tärkeänä laboratorioille niiden akkreditoidessa menetelmiä.

Workshopissa esiteltiin EURL Bivalves Molluscien tehtävien jakautumista eri EURL laboratorioille UK:n tehtävien siirryttyä muille 2019 alusta. EURL-Salmonella ei ollut vielä saanut tietoa kovinkaan monesta maasta, mikä on ko. maan kansallinen referenssilaboratorio näiden salmonellatutkimusten osalta (lopputuote siis tutkitaan) ja odottavat varmistusta ja yhteistietoja eri maista mm. vertailututkimuksien järjestämistä varten.

2018-2019 aikana EURL-Salmonella oli lähettänyt kansallisille laboratorioille 7 kyselyä liittyen monikansallisiin epidemioihin (esim. Bareilly, Coeln, monofaasisen S. Typhimurium) ja osasta niistä oli esitykset workshopissa.

Muuttunutta siipikarjalainsäädäntöä käytiin läpi. Serotyypityksen osalta lainsäädäntöön jäi viittaus White-Kauffman Le Minor – serotyypiluetteluun (viimeisin v. 2007, lisäosia tullut), koska kaikissa jäsenmaissa ei ISO 6579-3:2014 -serotyypitysosalla ole samaa statusta.

Frank Boelart EFSA:sta kävi puhumassa siitä, missä mennään EU:n tavoitteessa saada aikaan eläimistä, elintarvikkeista ja ihmisistä eristettyjen patogeenisten kantojen (salmonella, listeria ja EHEC) molekylaaristen tyyppitysten tuloksia yhdistävä tietojärjestelmä, jonka avulla päästäisiin epidemioiden aiempaan tunnistamiseen ja selvittämiseen sekä siitä, mitä vaatimuksia osallistuville laboratorioille on tietojen siirrossa. Tätä pyritään laajentamaan WGS:n suuntaan. Eri patogeenien ja antibioottiherkkyden EURL:stä on koottu työryhmä valmistelemaan asiaan liittyviä eri osa-alueita (mm. vertailututkimukset, menetelmäohjeet, bioinformatiikan välineet, klusterianalyysit, koulutus jne.).

Ihmisten osalta salmonellatartuntojen pitkän aikavälin trendi on ollut laskeva vuodesta 2005, mutta 2013 - 2017 tartuntojen määrä on pysynyt aika lailla samalla tasalla. Siipikarjan osalta verrattaessa vuosia 2016 ja 2017, kalkkunoiden siitosparvissa tartunnat olivat vähän lisääntyneet, mutta muussa siipikarjassa vähentynyt tai pysynyt samana. Yleisesti prevalenssi viranomaisten ottamissa näytteissä oli korkeampi kuin toimijoiden ottamissa näytteissä. Kysyinkin Frankilta tauolla, mistä hän ajattelisi sen voivan johtua (näytteenotosta, vaihtoehtoisten menetelmien käyttämisestä toimijoiden näytteille tms.), mutta hän ei pystynyt antamaan siitä arviota. Ruokamyrkytyksiä oli raportoitu noin 5000, joista alle 300 oli vahva näyttö salmonellasta ja yhteensä epäily salmonellasta noin 1200. S. Enteritidis oli näissä yleisin serotyyppi. Noin 34 % tartunnoista oli saatu kotona ja noin 30 % erilaisissa ruokaloissa ja ravintoloissa.

On arvioitu, että jos kaikki jäsenmaat saavuttaisivat vähennystavoitteen, noin puolet *S. Enteritidis* aiheuttamista ihmistartunnoista vähensivät. Frankin esityksessä pohdittiin myös sitä, pitäisikö vähennystavoitteiden saavuttamiseksi tehdä muutoksia eli pitäisikö siirtyä esim. vastustamaan kaikkia serotyyppejä (tehokkainta) tai vaihtaa osaa vastustettavista serotyypeistä, koska esim. multiresistentti *S. Kentucky* levinnyt siipikarjassa monissa EU – maissa.

Szabo puhui Saksassa tehdystä laajasta selvityksestä liittyen *S. Agona* rehuissa. 2017 oli ihan eri puolilta Saksaa todettu *S. Agona* yhdessä soija ja yhdessä rypsi -erässä. *S. Agona* on aiheuttanut mm. äidinmaitovastikkeen kautta monikansallisia epidemioita. Niinpä Saksan ministeriö oli pyytänyt tieteellisen näkemyksen *S. Agonan* riskistä levitä rehuista ruokittujen eläinten kautta elintarvikkeisiin. NRL lähetti pyynnön kaikille laboratorioille Saksassa kesästä 2017 eteenpäin eristetyistä *S. Agona* – kannoista. WGS:ssä vuoden 2017 rehut klusteroivat, mutta ei ollut yhteyttä aikaisempiin isoihin epidemioihin. Vahingossa löytyi linkki parin kalkkuna- ja parin ihmistapauksen välille.

Chattaway UK:sta puhui englantilaisten tekemistä tutkimuksista Betel / Paan lehdistä (huom. näistä eristyksiä myös Suomessa). Esim. vuonna 2011 oli todettu 44 eri *enterica* -alalajin serotyyppejä ja lisäksi alalajia *diarizonae* ja *salamae*. WGS – tutkimuksissa ei linkkiä ruokamyrkytystapauksiin, mutta ehkä serotyypin runsaus ja oireiden lievyys johtavat aliraportointiin. Joka tapauksessa WGS todettu tehokkaaksi erottelemaan.

Wullings esitteli multiplex Real-Time PCR:n salmonellojen osoittamiseen sekä *S. Typhimurium* – ja *S. Enteritidis* – kantojen tunnistamiseen. PPV:n jälkeen tehdään qPCR, jossa *InvA* – geeni salmonellan osoittamiseen ja STM4200 *Typhimuriumin* ja SEN1392 *Enteritidis* osoittamiseen. *InvA* – geenistä yli 30 tieteellistä julkaisua ja se todettu n. 99,7 %:lla salmonelloista. Tutkimusten mukaan soveltuivat vertailukelpoisesti ISO-menetelmään nähden elintarvikkeiden ja rehujen nopeassa skriinauksessa.

Cerny puhui Tšekissä todetusta *S. Bareilly* epidemiasta (325 tapausta 7/2017-10/2018). Epidemiologinen tutkimus ei antanut selvyyttä. WGS tutkimuksiin yhteensä 82 *S. Bareilly* -kanta. Erään laitoksen kuivatusta munajauheesta löytyi ihmiskantojen kanssa samankaltaiset kannat (ero 8 alleelin sisällä). Edelleen vähän epäselvää oliko tartunta munissa vai laitoksen saastuneessa kuivauslaitteessa. Jälkimmäistä pidetään todennäköisempänä.

Van Hoek kertoi monikansallisesta *S. Coeln* epidemiasta 2018 ja sen selvittelystä. Eri lähteistä kertyi 213 kannasta WGS – tietoa tästä harvinaisesta serotyypistä. Lähde ei pystytty määrittelemään. Lähimpänä kanta oli vuoden 2012 ihmiskantoja ja 2018 ympäristökantoja. NGS:llä todettu 233 virulenssigeeniä ja näissä kannoissa niissä esiintyi keskimäärin 167 eri virulenssigeeniä.

Tanskan, Italian, Ranskan, Latvian ja Sveitsin edustajat kertoivat omien laboratoriodensa toimimisesta kansallisina vertailulaboratorioina. Toiminnathan ovat luonnollisesti aika saman tyyppisiä, mutta Latvian esityksessä tuli ilmi, että heillä näytteet tiloilta kerätään laboratorion omilla pikkubusseilla, joissa on +4 °C jääkaapit ja -20 °C pakastimet.

Syksyn 2018 vertailututkimukseen salmonellan osoittamisesta siipikarjan tossunäytteistä osallistui yhteensä 36 laboratoriota ja kaikki menestyivät hyvin. Tutkimuksessa jäi kaiken kaikkiaan löytymättä vain kaksi alemman tason positiivista ja yksi korkeamman tason positiivinen.

Kun kevään 2018 rehunäytetutkimusta ei oltu voitu arvioida, keväällä 2019 järjestettiin tutkimus pellavansiemenillä, jolloin voitiin ajatella sen vastaavan sekä rehu- että elintarviketutkimusta. Tutkimukseen osallistui 42 laboratoriota, joista 40 menestyi hyvin ja kaksi kohtalaisesti (mm. kirjausvirhe). ISO-menetelmän rinnalla oli 12 laboratoriota tehnyt PCR-tutkimuksen ja yksi Mini Vidaksella ja tulokset olivat olleet vastaavat.

Syksyn 2018 serotyypitysvertailututkimukseen osallistui 36 laboratoriota, joista kaksi joutui tekemään lisänäytteet, mutta menestyivät niissä hyvin. Muut menestyivät suoraan hyvin. Tutkimukseen valitaan vuosittain 20 kantaa, joiden joukossa ovat ainakin viisi tärkeintä serotyyppiä EU:n alueella sekä kantoja, jotka voidaan sotkea edellisiin tai muuten aiheuttavat vaikeuksia tyypityksessä. Tutkimuksissa O-antigeenit olivat 98 % oikein, H-antigeenit 97 % ja serovarien nimet 96 % oikein.

Syksyllä 2019 järjestetään vertailututkimus salmonellan osoittamisesta siipikarjan ulostenäytteistä. Syksyn 2019 tyypitystutkimuksessa on mukana serotyypitys sekä vapaaehtoinen 11 kannan klusterianalyysi PFGE ja / tai MLVA ja / tai WGS:llä. 2019 keväällä järjestetään elintarviketutkimus tai äyriäisten salmonellavertailututkimus, kunhan selviää kansalliset vertailulaboratoriot.

EURL-Salmonellan nettisivut ovat uudistuneet ja yli 5 vuotta vanhat asiat siirtyvät katsottavaksi arkistoon.

Seuraava EURL-Salmonella workshop on keväällä 2019 todennäköisesti myös Alankomaissa alun peräisen Unkarin sijaan, koska kyseessä on 25. workshop.