

Matkakertomus

EURL-Campylobacter workshop 8.10.2019 ja koulutus vertailunäytekierrosten järjestämisestä/ulkoistamisesta 9.10.2019

EURL-Campylobacter workshop

Vuosittainen kansallisten kampylobakteerireferenssilaboratorioiden (NRL) workshop pidettiin Uppsalassa 8.10.2019. Osallistujia oli yhteensä 57, Maltaa lukuun ottamatta kaikista EU-jäsenmaista, kolmesta EFTA-maasta, viidestä EU-jäsenyyttä hakevasta maasta sekä DG SANTEsta ja ECDC:stä. Ohjelmassa oli EURL:n, kansallisten referenssilaboratorioiden sekä DG SANTE:n, ECDC:n, EFSA:n ja EURL:n esityksiä.

Vanhempainvapaalla oleva EURL:n johtaja Hanna Skarin oli saapunut avaamaan tilaisuuden ja kertoi tulossa olevista tutkimuksista, jotka liittyvät valmisteilla olevaan harmonoituun protokollaan kampylobakteerien eristämisestä resistensiseurannassa. Tutkimuksissa tullaan selvittämään näytteenoton ja tutkimuksen aloituksen välisen ajan vaikutusta kampylobakteerien toteamiseen sekä mCCDAn rinnalla käytettävän toisen selektiivialustan (Preston/Butzler) vaikutusta eri kampylobakteerilajien (*Campylobacter jejuni*/ *C. coli*) toteamiseen. Jälkimmäiseen haetaan EURL:n lisäksi osallistujiksi vapaaehtoisia kansallisia referenssilaboratorioita.

Saara Kotila esitteli ECDC:n toimintaa; ECDC kerää tiedot humaanitapauksista ja niistä eristettyjen kantojen antibioottiresistensistä ja kokoaa vuosittain raportin EU-tasolla. Ensi vuonna pidetään FWD-Net (Food and waterborne diseases network) -kokous, jossa pääpaino on kampylobakteereissa, sekä elintarvike- ja vesivälitteisten salmonellojen ja kampylobakteerien antibioottiresistenssiä käsittelevä workshop. ECDC tarjoaa myös mm. WGS-analyysityökaluja monikansallisten elintarvike-epidemioiden selvittämiseen. Tällä hetkellä työ on painottunut Listeriaan. Käytettävissä on olemassa olevia laskenta- ja visualisointityökaluja, joita lisätään tarpeen mukaan. ECDC:n Data Warehouse -mallissa on mahdollista yhdistää dataa useista eri laskentajärjestelmistä.

Helena Höök EURL:sta kertoi CENin ja ISO:n ajankohtaisia kuulumisia standardoinnista. Työn alla on informatiivinen lisäosa ISO 10272 -standardiin. Siihen tulee varmistusmenetelmäksi reaaliaikainen PCR ja tunnistusmenetelmäksi vaihtoehtoiksi konventionaalinen tai reaaliaikainen PCR. Nämä menetelmät validoidaan ISO 16140-6:n mukaisesti vuoden 2020 aikana. Lisäksi elatusaineiden laadunvarmistukseen ehdotetaan vaihdettavaksi *Proteus mirabilis* (WDCM 00023) -kannan tilalle *Staphylococcus aureus* (WDCM 0032 tai 0034).

Frank Boelartin (EFSA) esitys käsitteli EU-tason zoonosiseurantaa sekä vuoden 2017 kampylobakteeritilannetta EU:ssa. Zoonosidirektiivin perusteella jäsenmaiden on raportoitava EFSAan vuosittain kampylobakteerien esiintyminen eläimissä, elintarvikkeissa ja rehuissa sekä kampylobakteerien aiheuttamat ruokamyrkytykset. EU-tasolla on mahdollista tehdä vain kuvailevia yhteenvetoja kampylobakteeritilanteesta, sillä datan tuottamista jäsenmaissa ei ole harmonoitu. Vuonna 2017 EU:ssa raportoitiin lähes 250 000 kampylobakterioositapausta, joista n. 30 % vaati sairaalahoitoa ja kuolemaan johtaneita oli 0,04%. Raportoiduista elintarvike- tai vesivälitteisistä kampylobakteeriepidemioista 34:ssä saatiin vahva näyttö. Niistä 18:ssä välittäjänä oli maito ja 9:ssä broilerinliha. Maidon osuus epidemioiden välittäjänä oli vuonna 2017 selvästi suurempi (52,9%) kuin vuosina 2010-2016 (20,8%), kun taas broilerinlihan osuus samalla ajanjaksolla on pienentynyt (44,9% →26,5%). Aiempien vuosien nouseva trendi tapausmäärissä on tasaantunut eikä viimeksi kuluneiden viiden vuoden aikana ole ollut nähtävissä tilastollisesti merkitsevää muutosta. Vuodesta 2020 alkaen jäsenmaiden on raportoitava EFSAan myös kampylobakteerien esiintyminen jäädytetyissä broilerinruhoissa, mikä perustuu vuoden 2018 alussa voimaan tulleeseen prosessihygieniakriteeriin, raja-arvona 1000 pmy/g.

Helena Höök esitteli EURL:n vuonna 2019 järjestämien viljelymenetelmien vertailunäytekierrosten tulosten yhteenvedon. Kvantitatiivisen kierroksen (PT23) matriisina oli siipikarjanliha, osoittamisessa ja tunnistamisessa (PT24) tossunäytteet. Suurin osa laboratorioista suoriutui kierroksista erinomaisesti tai hyvin. Lisäksi EURL järjesti vapaaehtoisen vertailunäytekierroksen kampylobakteerien tyyppityksestä (PT25), jonka tulokset esitti Joakim Skarin. Suurin osa laboratorioista käytti sekvensointiin Illumina-teknologiaa ja sai tulokseksi oikeat sekvenssityypit sekä oikean tuloksen klusterianalyysistä. EURL järjestää myös vuonna 2020 kolme vertailunäytekierrosta: kvantitointi kaulanahasta, osoittaminen umpisuolinäytteistä sekä DNA-eristys ja sekvensointi. Näytteet lähetetään maaliskuun alussa.

Greetje Castelijin Wageningenin yliopistosta piti esityksen kampylobakteerien kokogenomisekvenssoinnin (WGS) validoinnista, johon oli sisällytetty MLST, genomivarianttien havaitseminen ja klusterointi sekä ResFinder. Validoinnissa käytettiin aineistona aiemmin julkaistua kampylobakteeriaineistoa, johon MLST-tuloksia ja klusteroitumista verrattiin. ResFinderilla WGS-datasta saatuja resistenssituloksia verrattiin fenotyyppiseen resistenssiin. Lisäksi Greetje esitti tuloksia Bolton- ja Preston-liemien vertailusta kampylobakteerien osoittamisessa prosessoidusta raa'asta siipikarjanlihasta: tutkimuksessa kampylobakteereita todettiin huomattavasti useammasta näytteestä Bolton-liemessä rikastamalla (152/550; 27%) kuin Preston-rikastuksesta (102/550; 18%).

Frieda Jorgensen (Public Health England) esitti tutkimustuloksia kampylobakteerien esiintymisestä vähittäismyynnin broilerinlihassa ja kampylobakteerikantojen antibioottiresistenssistä Britanniassa, jossa broilerinlihaa pidetään tärkeimpänä kampylobakteeri-infektioiden välittäjänä. Vuosien 2014-2018 välillä tutkittiin kvantitatiivisesti n. 15000 näytettä, joista 19,5% ylitti raja-arvon 1000 pmy/g vuosina 2014-2015 ja 9% vuosina 2017-2018. Ihmisten raportoidut kampylobakteeri-infektiot vähenivät vuodesta 2014 (108,2/100 000) vuoteen 2016 (88,4/100 000), mutta ilmaantuvuus lähti sen jälkeen nousuun (103,7 vuonna 2018), mikä viittaa siihen, että broilerinlihan ohella myös muilla tartunnanlähteillä ja -reiteillä on merkitystä ihmisten tartunnoissa. Kantojen resistenssi siprofloksasiinille/nalidiksiinihapolle ja tetrasykliinille oli yleistä, erytromysiini- ja streptomysiiniresistenssi paljon harvinaisempaa. Siprofloksasiinille resistenttien isolaattien osuus ei muuttunut merkittävästi vuosien 2014-2018 välillä. Moniresistenssi oli harvinaista.

NRL-verkoston on liittynyt uutena laboratoriona Kosovon eläinlääkintä- ja elintarvikelaboratorio. Laboratorio toimii KFVAn (Kosovo Food and Veterinary Agency) alaisuudessa ja laitoksen johtaja Kutim Uka esitteli sen organisaatiota ja toimintaa.

Elisabeth Repèrant Ranskan NRL:stä kertoi esityksessään elatusaineiden valmistukseen liittyvistä tutkimuksista. Ranskalaisten rutiinilaboratorioiden käyttämän kaupallisen, valmiina saatavan ja laboratoriossa itse valmistetun Preston -liemen vertailussa niiden toimivuudessa ei havaittu oleellista eroa. Toinen tutkimus koski pakastetun lampaanveren käyttöä elatusaineissa. Tulosten perusteella lampaanveren säilytys pakastettuna (-20 °C) vuoden ajan ei vaikuttanut veriagarin eikä Butzler n:o 2 -agarin saantoon eikä selektiivisyyteen.

Helena Höök esitteli CHRO 2019 -konferenssissa olleen posterin *C. jejuni* säilymisestä broilerin nahassa liittyen vuonna 2018 julkaistuun prosessihygieniakriteeriin. Johtopäätös tuloksista oli, että lainsäädännön mukaisen maksimilämpötilan (8 °C) ja -ajan (72 h) ylittyessä näytteenoton ja tutkimuksen aloittamisen välillä kampylobakteerien määrä näytteissä vähenee siinä määrin, ettei se enää kuvaa tilannetta näytteenottohetkellä.

Elina Lahden (SVA) esitys käsitteli NRL:ille tehdyn kyselyn tuloksia prosessihygieniakriteerin käyttöönotosta jäsenmaissa. Kyselyyn vastanneista 17 maasta 15:ssä näytteitä otetaan ympäri vuoden ja näytteenotto on useimmiten toimijan vastuulla. Yleisimmin analyysit tehdään muissa laboratorioissa kuin NRL:issä, vain neljässä maassa NRL analysoi näytteet. Menetelmänä on yleisimmin käytössä ISO 10272-2. Laboratorioilla ei ollut tietoa, millaisiin toimenpiteisiin teurastamot ryhtyvät kriteerin ylittyessä.

Vuonna 2020 Campylobacter-workshop pidetään syyskuun loppupuolella. Lisäksi EURL järjestää vuoden alkupuolella koulutusta campylobakteerien viljelymenetelmistä, tunnistamisesta, sekä loppuvuodesta kokogenomisekvensoinnista ja sekvenssianalysistä.

Workshopin esitykset ovat SVAn sivuilla: <https://www.sva.se/en/service-and-products/eurl-campylobacter/workshops>.

Koulutus vertailunäytekierrosten järjestämisestä/ulkoistamisesta

Vertailunäytekierrosten järjestämistä ja ulkoistamista käsittelevä koulutus pidettiin workshopin jatkoksi 9.10.2019. Koulutukseen osallistujia oli 42.

Helena Höök muistutti johdannossa valvonta-asetuksesta NRL:ille tulevasta velvoitteesta vertailunäytekierrosten järjestämisestä ja laboratorioden menestyksen seuraamisesta. Esityksessä kuultiin aiheeseen liittyvistä standardeista ja ohjeistuksista. Pätevyytestauksen vaatimuksia koskeva yleisstandardi on ISO/IEC 17043, jota täydentää mikrobiologisten vertailunäytekierrosten järjestämistä ohjeistava vuonna 2019 uusittu ISO 22117 mikrobiologisiin näytteisiin liittyvien teknisten vaatimusten kuten näytteiden homogeenisuuden ja stabiilisuuden osalta sekä tulosten arviointiin liittyvillä ohjeilla. Tilastollisista menetelmistä ohjeistaa ISO 13528:2015 ja referenssimateriaalien stabilisuus- ja homogeenisuustestauksesta ISO Guide 35:2017. Lisäksi EURL:t (campylobakteeri, stafylokokit, listeria, salmonella ja *E. coli*) ovat laatineet ohjeen, jossa esitetään kriteerit vertailunäytekierrosten alihankinnalle ja kierrosten järjestäjien valinnalle sekä ohjeistusta NRL:ille, jotka järjestävät vertailunäytekierroksia. Näiden standardien ja ohjeistusten sisältöä, vertailunäytekierroksen suunnittelussa huomioon otettavia kysymyksiä, tilastollisia menetelmiä ja tulosten arviointia käytiin tarkemmin läpi Helena Höökin toisessa esityksessä

Therese Jernberg ja Linda Svensson (SVA) pitivät EURL:n kokemuksiin perustuvan yksityiskohtaisen esityksen vertailunäytekierrosten valmistelusta käytännössä. Sevinc Ferrari käsitteli esityksessään referenssimateriaalien valmistuksen vaatimuksia ja ohjeistuksia (ISO 17034, ISO Guide 35, ISO Guide 31, ISO Guide 30). Kvantitatiivisia campylobakteerireferenssimateriaaleja valmistaa kaksi laboratoriota: SLV Ruotsissa ja Biosisto Hollannissa.

Esitykset ovat nähtävissä SVAn sivuilla: <https://www.sva.se/en/service-and-products/eurl-campylobacter/training-courses>.