

Näytteiden tutkiminen elintarvike- ja talousvesivälitteisessä epidemiassa

1 Yleistä

Ohje on tarkoitettu laboratorioille ja elintarvikevalvontaviranomaisille. Ohjetta sovelletaan myös yksittäisten ruokamyrkytystapausten tutkimuksissa.

Elintarvikkeiden ja veden välityksellä leviävien epidemioiden selvittämisestä säädetään Valtioneuvoston asetuksessa 1365/2011. Asetusta sovelletaan myös yksittäisen tautitapauksen selvittämiseen, jos sen aiheuttaja on poikkeuksellisen vaarallinen, kuten esim. *Clostridium botulinum*, enterohemorraginen *E. coli* O157 (EHEC) tai *Listeria monocytogenes* (vakava taudinkuva). Asetuksen mukaan kunnan elintarvikevalvontaviranomaisen ja terveydensuojeluviranomaisen tulee yhdessä nimetä epidemioiden selvittämistä varten selvitystyöryhmä.

Saatuun tiedon epäilystä elintarvike- tai talousvesiepidemiasta, selvitystyöryhmän tulee viivyttämättä hankkia kaikki saatavilla olevat esitiedot, joiden perusteella arvioidaan tilanteen vakavuus ja päätetään tarvittavista toimenpiteistä. Näytteenotto tulee käynnistää välittömästi, jotta ei menetetä arvokasta näyttemateriaalia ja jotta epidemian selvittäminen ei hankaloidu. Tämä koskee niin sairastuneista ihmisistä kuin elintarvikkeista, vedestä ja ympäristöstä otettuja näytteitä. Myös elintarviketyöntekijöiden - sekä oireellisten että oireettomien - mahdollinen osuus epidemian lähteenä on selvittävää.

Koska alkuvaiheessa ei yleensä tiedetä epidemian laajuutta tai vakavuutta, tulee näytteenotto mieluummin ylivoimaisesti kuin päinvastoin. Ripeys näytteenotossa on tärkeää; esimerkiksi verkostovesiepidemian hallitsemiseksi tarkoitettujen desinfiointitoimenpiteiden jälkeen näytteiden otto on jo myöhäistä. Myös elintarvikkeista on näytteet otettava mahdollisimman nopeasti, jotta niitä ei ehditä hävittää. Selvitystyön edistyessä pystytään arvioimaan, miten laajasti otettuja näytteitä tulee tutkia.

Selvitystyöryhmän tulee etukäteen varmistaa, että näytteet tutkivilla laboratorioilla on ruokamyrkytystutkimuksiin vaadittava valmius ja pätevyys. Kliinisiä näytteitä tutkivalla laboratoriolla tulee olla aluehallintoviraston myöntämä toimilupa kyseisten tutkimusten suorittamiseen. Vesinäytteet tutkitaan Eviran hyväksymissä ympäristöterveydenhuollon laboratorioissa tai asiantuntijalaboratorioissa. Elintarvikenäytteet on tutkittava viranomaisnäytteitä tutkimaan hyväksytyssä laboratorioissa tai kansallisessa vertailulaboratorioissa. Elintarviketurvallisuusvirasto Evira hyväksyy elintarvike- ja vesitutkimuksia tekevät laboratoriot ja pitää niistä rekisteriä. Tiedot Eviran hyväksymistä virallisista elintarvike- ja vesitutkimuksia tekevästä laboratorioista löytyvät osoitteesta http://www.evira.fi/portal/fi/evira/esittely/toiminta/laboratoriotoiminta/eviran_hyvaksymat_laboratoriot/.

Näytteiden tutkiminen elintarvike- ja talousvesivälitteisessä epidemiassa

Kliinisten sekä elintarvike- ja talousvesitutkimuksia tekevien laboratorioiden kesken tulee olla toimiva yhteistyö tietojen ja tarvittaessa myös materiaalin vaihtoon. Yhteistyö on tärkeää koko epidemian selvitystyön ajan, jotta tutkimukset osataan suunnata oikein ja tarvittavat jatkotutkimukset voidaan käynnistää ajoissa. Sekä kliinisiä että elintarvike- ja talousvesitutkimuksia tekeviä laboratorioita on informoitava (esim. näytelähteessä) siitä, että näytteenotto liittyy epidemiaepäilyyn.

Genotyypitysmenetelmien, kuten PFGE (pulssikenttägeelielektroforeesi), avulla pystytään aiempaa varmemmin jäljittämään ruokamyrkytyksen aiheuttaja. Eviran Elintarvike- ja rehumikrobiologian ja Eläintautibakteriologian tutkimusyksiköt ovat luoneet yhteistyössä Terveystieteiden ja hyvinvoinnin laitoksen (THL) suolistoinfektioyksikön kanssa tietokonepohjaisen genomikirjaston, jonka avulla voidaan verrata epäilyistä välittäjästä ja sairastuneista eristettyjen kantojen PFGE-profiileja tietokonevälitteisesti epidemioiden selvittämiseksi. Vertailtavuus kattaa *Listeria monocytogenes* -, *Escherichia coli* O157-, *Yersinia enterocolitica* - ja *Y. pseudotuberculosis* - bakteerit, salmonellat ja kampylobakteerit.

2 Potilasnäytteiden tutkimukset

THL on antanut potilasnäytteiden tutkimiseksi ohjeen, ”**Ruokamyrkytysepidemian selvittäminen - potilasnäytteiden mikrobiologiset tutkimukset**”, joka löytyy osoitteesta: <http://urn.fi/URN:ISBN:978-952-245-731-8>

3 Elintarviketyöntekijöiden tutkimukset

Elintarviketyöntekijöiltä otettuja ulostenäytteitä tutkimalla voidaan tarvittaessa selvittää työntekijöiden aiheuttamaa kontaminaatiota. Elintarviketyöntekijä voi olla oireeton tai oireinen tartunnan kantaja. Näytteitä tulee ottaa erityisesti norovirus- ja salmonellaepäilyissä myös oireettomilta työntekijöiltä.

4 Elintarvikenäytteiden tutkimukset

4.1 Yleistä

Elintarvikenäytteet otetaan mahdollisimman pian sen jälkeen, kun paikallinen viranomais on saanut tiedon epäilyistä ruokamyrkytysepidemiasta. Epidemiaepäilystä tulee ilmoittaa heti tutkivalle laboratoriolle, jotta siellä voidaan tehdä tarvittavat esivalmistelut. Laboratoriotutkimukset tulee käynnistää nopeasti ja riittävän laajasti heti näytteiden saavuttua, jotta aiheuttaja saadaan selville mahdollisimman nopeasti ja voidaan ryhtyä asianmukaisiin toimenpiteisiin epidemian rajoittamiseksi. Tutkimukset suunnataan ensisijaisesti sairastuneiden oireiden ja/tai potilaseristysten perusteella, mutta koska analyysijä käynnistettäessä ei useinkaan ole viitteitä mahdollisesta aiheuttajasta, tulee laboratoriolle olla käytössään riittävän laaja perusanalyysivalikoima näytteiden tutkimiseksi. Jos laboratorio ei kuitenkaan pysty tekemään kaikkia tarvittavia tutkimuksia, on sillä oltava valmius lähettää näytteitä viivytyksettä sellaiseen laboratorioon, jolla on niihin valmiudet.

Tutkimus- ja laboratorio-osasto

Näytteiden tutkiminen elintarvike- ja talousvesivälitteisessä epidemiassa

Tutkimusten suunnittelussa on potilasoireiden lisäksi otettava huomioon epidemian laajuus ja vakavuus sekä onko kyseessä laajassa jakelussa oleva elintarvike ja virhe tapahtunut valmistus- tai jakeluketjussa vai onko virhe tapahtunut kotitaloudessa. Epidemian selvittämisen kannalta on kuitenkin tärkeää, että näytteitä otetaan riittävän laajasti. Jos epidemian alussa epäillään esimerkiksi potilasnäytteen tuloksen perusteella tiettyä aiheuttajamikrobia, tulee tutkimukset kohdistaa nimenomaan tähän mikrobiin.

Elintarvikevälitteisten epidemioiden tutkimuksissa tuki- ja referenssilaboratoriona toimii Elintarviketurvallisuusvirasto Eviran Elintarvike- ja rehumikrobiologian tutkimusyksikön elintarvikemikrobiologiajaosto.

4.2 Näytteenotto

Elintarvikenäytteiksi

otetaan valmiita, tarjoiltuja ruokia ja niiden raaka-aineita. Näytemäärän tulee olla vähintään 300 g. Ellei elintarviketta ole riittävästi jäljellä, otetaan niin suuri näytemäärä kuin mahdollista. Näytteet otetaan aseptisesti steriileihin näytteenottoastioihin, ei kuitenkaan biohajoaviin pusseihin. Näytetiedot kirjataan näytteenottotodistukseen. Näytteet otetaan ensisijaisesti samasta valmistuserästä kuin ruokamyrkytyksen aiheuttajaksi epäilty elintarvike, mutta jos tämä ei enää ole mahdollista, tulee tieto kirjata ylös. Jos näytettä on riittävästi, se tulee jakaa kahteen osaan, joista toinen säilytetään mahdollista uusintatutkimusta ja/tai jatkotutkimuksia varten (ks. tarkemmat säilytysohjeet kohdasta 5: Näytteiden ja eristettyjen bakteerikantojen säilytys ja lähettäminen jatkotutkimuksiin). Raaka-ainenäytteitä voidaan käyttää epäillyn ruuan valmistuksen simulointiin. Kuljetuksen aikana näytteet säilytetään alhaisessa lämpötilassa (+4 – +8 °) esimerkiksi kylmävaraajilla varustetuissa kylmälaukuissa.

Virustutkimusta varten

elintarvikenäyte/näytteet on otettava mahdollisimman pian. Tutkimuksiin tarvittava näytemäärä on n. 50-100g. Jos elintarviketta on jäljellä vähemmän, otetaan näytteeksi niin paljon kuin mahdollista. Näyte pakataan tiiviisti suljettuun astiaan, pakataan hyvin ja lähetetään kylmäkuljetuksena esimerkiksi kylmävaraajilla varustetuissa kylmälaukuissa mahdollisimman nopeasti.

Näytteiden lähettämisestä tulee ilmoittaa etukäteen Tullilaboratorioon (puh. 040-33 23236). Lähetykskulut tulee maksaa perille asti. Tullilaboratoriolla on Matkahuollon kanssa sopimus, jossa MH toimittaa näytteet suoraan laboratorioon.

Näytteen mukaan tulee liittää tutkimuslähete, jossa ilmenevät näytetiedot, haluttu tutkimus, tilaus- ja laskutustiedot. Tutkimuslähete on tulostettavissa Tullin internet-sivulta:

http://www.tulli.fi/fi/yrityksille/sahkoinenasiointi/lomakkeet/muut_tullilomakkeet/lomakkeet/561sr.pdf

Menetelmä on kehitetty osoittamaan virukset ensisijaisesti tuoretuotteista (salaatit, vihannekset, marjat, simpukat, osterit). Rasvaiset elintarvikkeet ja keitetyt ruoat soveltuvat yleensä huonosti näytteeksi virustutkimuksiin.

Tutkimus- ja laboratorio-osasto

Näytteiden tutkiminen elintarvike- ja talousvesivälitteisessä epidemiassa

Puhtausnäytteitä

otetaan tarvittaessa elintarvikkeen valmistuspaikasta hygieenisen tason ja mahdollisen saastumislähteen selvittämiseksi. Näytteistä tutkitaan hygienia-indikaattoreiden lisäksi patogeenisiä bakteereita epäillyn aiheuttajan perusteella. Kokonaisbakteerien ja indikaattoribakteerien tutkimista varten näytteet voidaan ottaa sivelynäytteinä tai käyttäen kontaktimaljoja. Näytteenottotekniikasta ja –välineistä on syytä neuvotella tutkivan laboratorion kanssa (esim. listerianäytteet pinnoilta, laitteista). Tutkittavilta pinnoilta näytteeksi tulisi kuitenkin saada normaalia hygieniakontrollia huomattavasti laajempi alue (50-100 cm²). Tutkittavia kohteita ovat leikkuulaudat, työtasot, mahdollisesti kylmiöiden hyllyt, säilytysastiat, veitset ja muut työvälineet, laitteet ja sisäilma. Useimmiten on syytä ottaa myös talousvesinäyte. Mikäli halutaan tietää yleiskontaminaatiosta, voidaan käyttää teollisuuslaitoksissa käytettävää menetelmää, jossa tutkitaan patogeenien esiintymistä lattiakaivoista ja viemäreistä otetuista näytteistä.

4.3 Ruokamyrkytyksen perustutkimus

Ruokamyrkytystutkimukset pyritään ensisijaisesti kohdentamaan sairastuneiden oireiden ja potilaseristysten perusteella. Mikäli tämä ei ole mahdollista, aloitetaan näytteiden tutkiminen laajalla perustutkimusvalikolla. Perustutkimus sisältää sekä **patogeenisten eli tautia aiheuttavien mikrobien että hygieniaindikaattorien tutkimuksen**. Hygieniaindikaattoritutkimuksella pyritään arvioimaan elintarvikenäytteiden hygieeninen laatu. Lisäksi arvioidaan, onko patogeenisilla bakteereilla mahdollisuus lisääntyä tutkittavana olevassa elintarvikkeessa. Tutkimusten suuntaamiseksi on tärkeää, että valvonta päivittää laboratorioon tiedot oireista ja potilasnäytteiden tuloksista.

Mikäli laboratoriolla ei itsellään ole valmiutta kaikkiin vaadittaviin analyyseihin, sen tulee välittömästi toimittaa osa näytteestä tutkittavaksi toiseen laboratorioon. Tapauskohtaisesti voidaan myös sopia näytteiden lähettämisestä Eviran elintarvike- ja rehumikrobiologian tutkimusyksikköön.

4.3.1 Patogeenitutkimus

- *Bacillus cereus* ja muut basillukset
- *Campylobacter jejuni/coli*
- *Clostridium perfringens*
- koagulaasipositiiviset stafylokokit
- *Listeria monocytogenes*, kvalitatiivinen ja kvantitatiivinen määrittely
- salmonellat
- *Yersinia enterocolitica*
- *Yersinia pseudotuberculosis*
- norovirus (kypsentämättömät marjat ja kasvikset, simpukat)

4.3.2 Hygieniaindikaattoritutkimus

- Aerobiset mikrobit (Plate Count agar ja/tai veriagar)
- *Enterobacteriaceae* (kuumennetut tuotteet)
- *Escherichia coli*

Tutkimus- ja laboratorio-osasto

Näytteiden tutkiminen elintarvike- ja talousvesivälitteisessä epidemiassa

- pH

Näytteen viljely pesäkelaskenta-agarin lisäksi veriagarille (aerobinen ja anaerobinen inkubointi 37°C) on suositeltavaa.

4.3.3 *Bacillus*-tutkimukset

Kun ruokamyrkytyksen aiheuttajaksi epäillään *Bacillus cereus* -bakteeria ja oireina esiintyy sekä oksentelua että ripulointia ja oireet alkavat 0,5–5 h kuluttua ruokailusta, ruoka saattaa sisältää sekä oksennustyyppin (emeettistä) että ripulityypin *B. cereus*. Varsinkin tällöin on syytä eristää kumpaakin tyyppiä jatkotutkimuksia varten. Nämä kaksi tyyppiä voidaan yleensä erottaa naudanveriagarilla β -hemolyyysin perusteella: oksennustyyppin kantojen pesäkkeitä ympäröivä hemolyyysivyöhyke on kapea (≤ 2 mm), ripulityypin leveä (4–5 mm). Ero on parhaiten nähtävissä, kun maljat luetaan 20 h kuluttua inkuboinnista. Polymyksiini-B-sulfaatin (8,0 mg/l) ja litiumkloridin (5,0 g/l) lisääminen naudanverialustaan estää oksennustyyppin pesäkkeitä ympäröivän kapean hemolyyysivyöhykkeen kasvamisen jatkettaessa inkubointia yli 20 h. Ripulityypin pesäkkeiden hemolyyysivyöhyke sen sijaan kasvaa ja muuttuu kaksoishemolyyksiksi.

Muista basilluksista *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus brevis* ja *Bacillus pumilus* -lajien on raportoitu aiheuttaneen ruokamyrkytyksiä. Näiden lajien kokonaislukumäärän määrittämiseksi elintarvikkeista ei ole olemassa standardimenetelmää. Sekä kokonaislukumäärän että eri lajien määrittämiseen käytetään verimaljoja, jotka kasvatetaan aerobisesti ja anaerobisesti sekä 37 °C:ssa että 55 °C:ssa vuorokauden ajan. *B. licheniformis* ja *B. brevis* kasvavat yleensä lämpötila-alueella 30–55 °C, *B. subtilis* ja *B. pumilus* 10–50 °C:ssa ja *B. sphaericus* 10–40 °C:ssa. Ruokamyrkytyksiin liittyvissä tutkimuksissa lajimäärityksen sijaan olisi kuitenkin tärkeintä lähettää eristetyt *Bacillus*-kannat Eviraan bakteerin toksiinintuottokyvyn tutkimiseksi. Toksiinintuottokykyyn liittyvät tutkimusmenetelmät ovat vasta kehitysvaiheessa.

4.3.4 Salmonellatutkimukset epäiltäessä ituja välittäjäksi

Epäiltäessä ituja salmonellaepidemian välittäjäksi tutkitaan salmonella laboratoriossa ensisijaisesti siemenistä idätettyjen itujen idätys- ja huuhteluvesisistä ja valmiista iduista (Liite 1). Myös itse siemeniä voidaan tutkia, mutta niistä ei useinkaan pystytä osoittamaan salmonellaa, koska bakteerit ovat stressaantuneita ja suojassa siemenkuoren alla eivätkä pysty elpymään ja lisääntymään esirikastuksen aikana riittävästi. Siemenkuori suojaa salmonelloja myös dekontaminaatiolta.

Salmonellan osoittaminen iduista edellyttää kattavaa näytteenottoa. Siemenerät ovat yleensä suuria ja salmonellasaastutus vähäistä ja jakaantunut epätasaisesti siemenerään, joten osanäytteitä tulee ottaa runsaasti ja niiden tulee olla riittävän suuria. Salmonella on pystytty osoittamaan esimerkiksi 1000 kg:n siemenerästä (40 säkkiä), kun 10 säkistä otettiin kustakin 400 g:n näyte, joista jokainen tutkittiin erikseen. Tutkimukset tehtiin laboratoriossa idätetyistä iduista sekä niiden idätys- ja huuhteluvesisistä, jotka todettiin salmonellapositiiviseksi yhden osanäytteen osalta. Salmonellaa ei kuitenkaan pystytty osoittamaan salmonellapositiivisia ituja tuottaneesta siemennäytteestä, vaikka tutkittu näyttemäärä oli yhteensä 186 g (MPN-menetelmä).

Tutkimus- ja laboratorio-osasto

Näytteiden tutkiminen elintarvike- ja talousvesivälitteisessä epidemiassa

4.4 Tutkimuksen laajentaminen

Kunnan epidemioiden selvitystyöryhmä voi tarvittaessa laajentaa tutkimusvalikkoa oireiden, potilasnäytteistä saatujen tulosten, elintarvikkeen luonteen tai muun erityisen syyn perusteella esim. johonkin seuraavista analyyseistä:

- enterohemorraginen *E. coli* (EHEC) O157 ja muut serotyypit (non-O157)
- shigellat
- patogeeniset vibriot
- *Clostridium botulinum*, toksiinin osoittaminen
- *Aeromonas*
- *Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus*
- biogeeniset amiinit, mm. histamiini ja tyramiini
- merelliset biotoksiinit (DSP, PSP, ASP), muut kemikaalit ja toksiinit
- virukset (norovirus ja hepatiitti A)
- alkueläimet: *Giardia*, *Cyclospora*, *Cryptosporidium*, ameba

Seuraavien tutkimusten osalta näytteet tulee lähettää tutkittavaksi seuraavasti (epäselvissä tapauksissa laboratorion tulee olla yhteydessä Eviraan tutkimusten kohdentamiseksi oikein):

EHEC O157 ja muut serotyypit (non-O157);

Shigellat;

***Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus*;**

Aeromonas*, *Giardia* ja *Cryptosporidium

Elintarviketurvallisuusvirasto Evira
Elintarvike- ja rehumikrobiologian tutkimusyksikkö/Elintarvikemikrobiologia
Mustialankatu 3
00790 Helsinki
Puh. 029 530 0400 (vaihde)

Patogeeniset vibriot

Paikallislaboratorio, Tullilaboratorio tai
Elintarviketurvallisuusvirasto Evira
Elintarvike- ja rehumikrobiologian tutkimusyksikkö/Elintarvikemikrobiologia
Mustialankatu 3
00790 Helsinki
Puh. 029 530 0400 (vaihde)

Botulismi-epäily, elintarvikenäytteet

Elintarviketurvallisuusvirasto Evira
Elintarvike- ja rehumikrobiologian tutkimusyksikkö/Elintarvikemikrobiologia
Mustialankatu 3
00790 Helsinki

Tutkimuksesta tulee sopia laboratorion kanssa etukäteen puhelimitse:

Tutkimus- ja laboratorio-osasto

Näytteiden tutkiminen elintarvike- ja talousvesivälitteisessä epidemiassa

puh. 0400 287 398 tai 0400 287 417 tai 040 489 3448 tai 040 162 1922 tai 050 435 1714

Toimenpideohje botulismi-tapausten varalta löytyy osoitteesta:http://www.thl.fi/fi_FI/web/infektiotaudit-fi/botulismi**Norovirus-epäily, marja- ja kasvispohjaiset raaka-aineet sekä simpukat**Mikrobiologi Elina Vatunen
Tullilaboratorio
Tekniikantie 13
02150 Espoo
puh. 040 332 3236**Biogeeniset amiinit**Tutkija Mervi Rokka
Elintarviketurvallisuusvirasto Evira
Kemian ja toksikologian tutkimusyksikkö
Mustialankatu 3
00790 Helsinki
puh. 029 530 4425 / 0400 622 371**Merelliset biotoksiinit**Evira on kansallinen vertailulaboratorio, mutta näytteet lähetetään analysoitaviksi Norjaan:
Dr John Aasen
Norwegian Veterinary Institute
Ullevålsveien 72, Oslo
NorgeNäytteiden lähetyksestä pyydetään ilmoittamaan Eviraan:
Erikoistutkija Pertti Koivisto
Kemian ja toksikologian tutkimusyksikkö
puh. 029 530 4434 / 040 481 1595**Mykotoksiinit rehuista, viljasta ja eläinperäisistä elintarvikkeista**Tutkija Marjo Kolmonen tai tutkija Anneli Niemi
Elintarviketurvallisuusvirasto Evira
Kemian ja toksikologian tutkimusyksikkö
Mustialankatu 3
00790 Helsinki
puh. 029 530 4097 / 050 569 5477 tai 029 530 4422 / 040 489 3413

Tutkimus- ja laboratorio-osasto

Näytteiden tutkiminen elintarvike- ja talousvesivälitteisessä epidemiassa

Mykotoksiinit kasviksista ja hedelmistä

Tullikemisti Kirsti Nuotio
Tullilaboratorio
Tekniikantie 13
02150 Espoo
puh. 040 332 3241

Epäiltäessä muuta kuin edellä mainittua aiheuttajaa, selvitetään tutkiva laboratorio tapauskohtaisesti.

5 Näytteiden ja eristettyjen bakteerikantojen säilytys ja lähettäminen jatkotutkimuksiin

Elintarvikelain (23/2006) 40 § 2 momentin mukaan laboratorio on velvollinen säilyttämään ja lähettämään kansalliseen vertailulaboratorioon eristetyn mikrobikannan ja/tai näytteen, kun laboratorio havaitsee terveystapaan viittaavia tutkimustuloksia viranomaisvalvonnan tai hyväksytyt omavalvontasuunnitelman näytteissä. Valtioneuvoston asetuksen (VNA 1365/2011 elintarvikkeiden ja veden välityksellä leviävien epidemioiden selvittämisestä 3 §, 2 momentti) mukaisesti vastuu elintarvikkeista, elintarvikehuoneistojen tuotantoympäristöstä ja alkutuotantopaikoista eristettyjen epidemian aiheuttajien tarkemmasta tutkimuksesta, tyyppityksestä ja seurannasta on Elintarviketurvallisuusvirasto Eviralla.

Tämä merkitsee sitä, että kaikki epidemiaselvityksen kannalta merkitykselliset, elintarvikkeista, niiden tuotantoympäristöstä (esim. tilat, koneet, laitteet, pinnat) ja alkutuotannosta (esim. rehu, vesi, raakamaito, eläinnäytteet) eristetyt bakteerikannat on lähetettävä Eviraan. Ohje laboratorioille bakteerikantojen ja elintarvikenäytteiden lähettämisestä Eviraan (LAB 009) löytyy osoitteesta:

<http://www.evira.fi/portal/fi/tietoa+evirasta/esittely/toiminta/laboratoriotuominta/vertailulaboratoriotuominta/ohjeita+laboratorioille/menetelma--+toiminta-+ja+tyoohjeet/>

Jäljelle jäänyt **näyte** on säilytettävä laboratoriossa mahdollisia lisä- ja jatkotutkimuksia varten. Kylmäsäilytystä vaativat elintarvikenäytteet jaetaan kahteen osaan, joista toinen pakastetaan ja toinen säilytetään 4–6°C:ssa. Mikäli näytemäärä on liian pieni jaettavaksi, näyte säilytetään pilaantumisen estämiseksi pakastettuna (n. -20°C). Stafylokokkienterotoksiinitutkimukseen lähetettäviä kalanäytteitä (raaka tai savustettu) ei tule pakastaa, sillä pakastaminen vaikeuttaa toksiinin toteamista kalasta.

Myös elintarvikenäytteistä eristetyt, merkitseviksi löydöksiksi arvioidut **bakteerikannat** tulee tallettaa jatkotutkimuksia varten. Periaatteena on, että kannat tulee lähettää mahdollisimman nopeasti jatkotutkimuksiin. Erityisesti *Clostridium perfringens* - ja *Yersinia* -bakteerien toistuvia viljelyjä tulee välttää, jotta niiden virulenssiominaisuudet eivät muutu. Selvittäessä ruokamyrkytys-epidemiaa, jossa epäillään useita aiheuttajia ja/tai tutkimukset pitkittyvät, kannat voidaan kuitenkin pakastaa ja lähettää kaikki samalla kertaa. Näin meneteltäessä kannat tulee pakastaa heti, kun laboratorio on ne eristänyt. Kämpylobakteerikantoja ei kuitenkaan saa pakastaa, vaan ne tulee

Tutkimus- ja laboratorio-osasto

Näytteiden tutkiminen elintarvike- ja talousvesivälitteisessä epidemiassa

lähettää Eviraan aina niin pian kuin mahdollista. Tarkempi ohjeistus bakteerikantojen lähettämisestä Eviraan löytyy Eviran ohjeesta LAB 009 (osoite ylempänä).

Tarvittaessa voidaan pakastaa myös salmonellarikastuksessa käytettyä puskuroitua peptonivettä, jota voidaan käyttää muiden patogeenien PCR-tutkimuksissa.

Kuljetuksen aikana näytteet on säilytettävä kylmässä (+4 – +8°C), esimerkiksi kylmävaraajilla varustetuissa kylmälaukuissa. Pakasteet eivät saa sulaa kuljetuksen aikana.

Näytteet, eristetyt bakteerikannat ja tarvittaessa primaarimaljat hävitetään vasta, kun kaikki epidemiaan liittyvät tutkimukset on saatu päätökseen ja on varmaa, että lisätutkimustarpeita ei enää ole. Kunnan epidemiaselvitystyöryhmän tehtävä on päättää, milloin tutkimusmateriaalin saa hävittää, ja ilmoittaa tästä laboratoriolle.

6 Jatkotutkimukset Evirassa

Eviralla on vastuu elintarvikkeista, elintarvikehuoneistojen tuotantoympäristöstä ja alkutuotantopaikoista eristettyjen epidemian aiheuttajien tarkemmasta tutkimuksesta, tyyppityksestä ja seurannasta (VNA 1365/2011). Eviran Tutkimus- ja laboratorio-osasto ylläpitää ja kehittää menetelmiä keskeisimpien ruokamyrkytysbakteereiden jatkotutkimuksia varten. Jatkotutkimuksiin kuuluvat biokemialliset tunnistukset, toksiiitutkimukset sekä bio-, sero- ja genotyyppitykset.

Hyväksytyjen laboratorioiden tulee lähettää ruokamyrkytyksen aiheuttajaksi epäilemänsä bakteerikannat ja ruokanäytteet jatkotutkimuksiin Eviran Elintarvike- ja rehu-mikrobiologian tutkimusyksikön Elintarvikemikrobiologiajaostoon taulukon 1 mukaisesti. Salmonellakantojen jatkotutkimukset tehdään Eläintautibakteriologian tutkimusyksikön Kuopion laboratoriojaostossa.

Taulukko 1. Ruokamyrkytyksen aiheuttajaksi epäiltyjen bakteerien ja/tai ruokanäytteiden lähettäminen Eviraan jatkotutkimuksiin.

Bakteeri	Puhdasviljelmä		Epäilty ruoka
	5 kpl	Toksiinitutkimus á 30-100g	Kvantitatiivinen määrittäminen á n.200g
<i>Bacillus cereus</i>	x	x	x (n. 50g)
Muut basillukset	x	x	x (n. 50g)
<i>Clostridium perfringens</i>	x	-	-
<i>Campylobacter jejuni/coli</i>	x	-	x
Koagulaasipositiiviset stafylokokit	x	x ²⁾	-
Termofiiliset kampylobakteerit	x	-	x
<i>Listeria monocytogenes</i>	x	-	x
VTEC O157	x	-	x
Patogeeniset <i>Vibrio</i> -lajit	x	-	x
<i>Yersinia enterocolitica</i>	x	-	x
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	x	-	x
Shigellat	x	-	x
Salmonellat ¹⁾	x	-	x (vähintään 100 g)

Tutkimus- ja laboratorio-osasto

Näytteiden tutkiminen elintarvike- ja talousvesivälitteisessä epidemiassa

¹⁾Tyypitys Eviran Eläintautibakteriologian tutkimusyksikön Kuopion laboratoriojaostossa salmonellaohjeistuksen mukaisesti.

²⁾vähintään 100 g

On tärkeää, että aiheuttajaksi epäillyistä bakteerista eristetään primäärimaljalta jatko-tutkimuksia varten useita puhdasviljelmiä, koska:

- kaikki selektiivisillä maljoilla tyypillisinä kasvavat, lasketut *C. perfringens*- tai *B. cereus*- bakteerien tai termofiilisten basillusten tai koagulaasipositiivisten stafylokokkien pesäkkeet eivät välttämättä tuota enterotoksiineja,
- rikastamalla eristetyn bakteerilajin primäärimaljalla kasvavista pesäkkeistä vain osa saattaa olla patogeenisiä,
- vaikka rikastamalla eristetyn bakteerilajin kaikki kannat olisivatkin patogeenisiä, niin primäärimaljalla voi kasvaa tyypitysmenetelmillä toisistaan erotettavia kantoja, joista vain joku on epidemiatyyppiä.

Kun ruokamyrkytyksen aiheuttajaksi epäillään koagulaasipositiivisia stafylokokkeja, emeettistä *B. cereus* -bakteeria tai termofiilisiä basilluksia (nopeasti alkavat oireet), on enterotoksiinitutkimuksiin lähetettävä bakteerikantojen lisäksi aina myös epäilty ruoka. Mikäli ruoan prosessointi tai käsittely on tuhonnut bakteerit, lähetetään vain ruokanäyte: enterotoksiinit kestävät kuumennusta ja säilyvät ruoassa, vaikka bakteerit tuhoutuisivatkin.

Uusimman kirjallisuuden mukaan muiden *Bacillus*-bakteerien kuin *B. cereus* – bakteerin aiheuttamat ruokamyrkytysoireet voivat muistuttaa paitsi emeettistä toksiniä tuottavan *B. cereus* –bakteerin, mutta myös ripulityypin *B. cereus* -bakteerin aiheuttamia oireita. Siksi muita *Bacillus*-kantoja tulee lähettää tutkimuksiin myös silloin, kun oireena on esiintynyt ripulointia.

Laboratorioita pyydetään lähettämään Eviraan kvantitatiivista tutkimusta (MPN = most probable number technique) varten ruokanäytteet, joista on eristetty aiheuttajaksi epäilty patogeeni rikastamalla. Tällöin on mahdollista saada tietoa annosvasteesta eli siitä, mistä bakteerimäärästä syöjä on sairastunut. Bakteerilukumäärän määrittämisen lisäksi pitäisi tällöin selvittää myös nautittu elintarvikemäärä.

7 Talousvesinäytteiden tutkimukset

Talousvesiepidemioissa koordinaatiovastuu kuuluu THL:n Vesi ja terveys –yksikölle (yksikön päällikkö Ilkka Miettinen, puh. 029 524 6371 / 029 524 6000 (vaihde)).

Lisätietoja osoitteista:

- THL:n verkkosivut:
www.thl.fi/vesi
http://www.thl.fi/fi_FI/web/fi/aiheet/tietopaketti/vesi/vesiepidemiat
- Valviran erityistilanneohje ”Talousveden laadun turvaaminen erityistilanteissa”:
http://www.valvira.fi/files/ohjeet/erityistilannesuunnitelma2009_310309.pdf

Tutkimus- ja laboratorio-osasto

Näytteiden tutkiminen elintarvike- ja talousvesivälitteisessä epidemiassa

Vettä tulee ottaa talteen heti epidemian alussa ennen epidemian hallitsemiseksi tarkoitettuja toimenpiteitä, kuten tehokloorausta tai verkoston huuhtelua. Näytteenotto ei kuitenkaan saa viivästyttää näiden toimenpiteiden aloittamista. Näytteitä otetaan heti alussa kattavasti raaka-, vesilaitos- ja verkostovedestä. Kloori on poistettava vedestä näytteenoton yhteydessä ja vesinäytteet säilytettävä noin +5 °C:n lämpötilassa.

Näytemäärän tulee olla riittävä tarvittaviin analyysihin. Esimerkiksi kampylobakteeritutkimusta varten tarvitaan vähintään viisi litraa ja virustutkimusta varten kaksi litraa vettä. Tarvittavat määrät voi tarkistaa Valviran erityistilanneoppaasta kappaleesta 3.6 (ks. yllä), vesinäytteitä analysoivista laboratorioista ja THL:n verkkosivuilta.

- Talousvesitutkimuksiin hyväksytyt laboratoriot:
http://www.evira.fi/portal/fi/evira/esittely/toiminta/laboratoriotoiminta/eviran_hyvaksymat_laboratoriot/hyvaksytyt_laboratoriot/talousvesi/
- Vesimikrobiologinen analytiikka (THL):
http://www.thl.fi/fi_FI/web/fi/tutkimus/palvelut/vesimikrobiologia

Ellei tutkivan laboratorion näytteenotto-ohjeissa toisin mainita, noudatetaan näytteenotossa, näytteen säilytyksessä ja analysoitavaksi toimittamisessa standardia SFS-EN ISO 19458: 2007 (Veden laatu. Näytteenotto mikrobiologista tutkimusta varten).

Vesiepidemiatilanteissa näytteistä voidaan tutkia virallisten valvontatutkimusten lisäksi ulostesaastutusta osoittavia indikaattoribakteereita (*Escherichia coli*, suolistoperäiset enterokokit ja joissakin tapauksissa myös *Clostridium perfringens*) tavanomaista suuremmista vesitilavuuksista ja pikamenetelmillä. Yksityiskohtaisia yleisiä analyysiohjeita ei voida antaa, sillä jokainen tapaus on erilainen.

Vesiepidemioita selvitettäessä indikaattoribakteerien lisäksi vesinäytteistä on yleensä syytä tutkia valikoidusti myös taudinaiheuttajamikrobien esiintymistä. Taudinaiheuttajatuloksia tarvitaan mm. epidemian vesivälitteisyyden varmistamiseksi ja siksi, että indikaattoribakteereiden esiintymisen ei läheskään aina ole todettu korreloivan taudinaiheuttajien esiintymisen kanssa. Tämä on käynyt ilmi mm. kampylobakteeri- ja norovirusepidemioissa.

Asiantuntijalaboratoriot tarjoavat vesinäytteiden erikoisanalytiikkaa (bakteeri-, virus- ja alkueläinanalytiikkaa) maksullisena palvelutoimintana. Lisätietoja:

- THL:n Vesi ja terveys –yksikön analytiikkasivusto:
http://www.thl.fi/fi_FI/web/fi/tutkimus/palvelut/vesimikrobiologia
(bakteeri-, virus- ja alkueläinanalyysit)
- Helsingin yliopiston Elintarvikehygienian ja ympäristöterveyden osaston analytiikkasivusto:
http://www.vetmed.helsinki.fi/elintar/tutkimus_maksupalvelu.html (virusanalyysit)
- Luettelo ympäristöterveydenhuollon laboratorioista:
http://www.evira.fi/portal/fi/evira/esittely/toiminta/laboratoriotoiminta/eviran_hyvaksymat_laboratoriot/hyvaksytyt_laboratoriot/

Salmonellan ja lämpökestoisten kampylobakteerien osoittamiseen vedestä on olemassa omat standardimenetelmänsä (ISO 19250:2010, salmonella; ISO 17995:2005, kampylobakteerit). Muiden patogeenisten bakteerien, kuten yersinia ja VTEC, tutkimiseen sovelletaan vastaavia elintarvikemenetelmiä. Kutakin analyysiä varten vettä

Tutkimus- ja laboratorio-osasto

Näytteiden tutkiminen elintarvike- ja talousvesivälitteisessä epidemiassa

suodatetaan useita litroja (mielellään vähintään 3 litraa). Mikäli vesi on vaikeasti suodatettavissa, voidaan suodatinkalvo vaihtaa useitakin kertoja suodatuksen aikana. Suodatinkalvo/kalvot siirretään vastaavassa elintarvike tutkimusmenetelmässä käytettyyn esirikastus- tai rikastusliemeen. Tutkimusta jatketaan vastaavan elintarvike tutkimusmenetelmän mukaisesti.

Vesinäytteet tutkitaan tarvittaessa myös virheellisen kemikaloinnin selvittämiseksi (esimerkiksi lipeän ylisyöttö). Vesinäytteistä saattaa myös olla tarvetta tutkia tiettyjä epäiltyjä kemikaaleja.

Terveyden ja hyvinvoinnin laitoksella on vastuu ihmisistä tai talousvedestä eristettyjen epidemian aiheuttajien tarkemmasta tyypityksestä. Tyypityksen mahdollistamiseksi vesiepidemioiden yhteydessä on potilasnäytteiden talteenoton lisäksi huolehdittava talousvedestä tai epäilystä saastelähteestä (kuten jätevesi, pintavesi) eristettyjen taudinaiheuttajamikrobien tai niiden genomin toimittamisesta THL:n Vesi ja terveys – yksikköön. Lisätietoa mikrobikantojen lähettämisestä:

http://www.thl.fi/fi_FI/web/fi/tutkimus/palvelut/vesimikrobiologia/mikrobikantojen_vastanotto

8 Muutokset edelliseen versioon

Joitakin muutoksia analyyseja tekevissä laboratorioissa

Liite

Siementen idättäminen salmonellatutkimusta varten