



## Matkakertomus

EURL-Listeria

29-31.1.2020

Maria Simola

MIBO/ELRE

### 14th Workshop of the European Union reference Laboratory (EURL) & National Reference Laboratories (NRLs) for *Listeria monocytogenes* (LM)

Osallistuin EU:n Listeria-referenssilaboratorioiden vuosittaiseen tapaamiseen 29-31.1.2020 Ansesissa, Pariisissa. Paikalla oli hieman yli 50 henkeä, referenssilaboratorioiden lisäksi edustajat DG Santesta, EFSA:sta ja ECDC:stä sekä paljon Ansesin henkilökuntaa. Kokouksen ajankohta poikkesi totutusta huhtikuusta, sillä EURL halusi keskustella kansallisten referenssilaboratorioiden edustajien kanssa toimintasuunnitelmastaan tuleville kahdelle vuodelle ennen komission asettamaa takarajaa suunnitelman toimittamiselle.

Tilaisuuden avasi Ansesin apulaisylijohtaja **Gilles Salvat** ja referenssilaboratorion toiminnassa erittäin pitkään mukana ollut **Bertrand Lombard**. Referenssilaboratorioiden edustajien esittelyn jälkeen **Martial Plantady** EC DG Santesta nosti esiin lainsäädännön uudistamiseen liittyviä aiheita. Liittyen vuoden 2017 pakastemaissin välityksellä levinneeseen listeriaepidemiaan, EU tasolla on pohdittu, että elintarvikkeita valmistavien yritysten pitäisi ottaa toiminnassaan huomioon kuluttajien mahdollinen ohjeistuksen vastainen toiminta, esimerkiksi kuumennettavaksi tarkoitettujen pakastevihannesten syöminen sellaisenaan. Asiaa pohditaan tieteellisessä paneelissa, joka kokoontuu kuukausittain (<https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/wgs/biological-hazards/wg-listeriaffvh.pdf>) ja siitä on ilmestymässä EFSA Opinion -raportti huhtikuussa 2020. Toisena asiana Martial nosti esiin helmikuussa jäsenmaiden edustajien kesken pohdittavan Mikrobikriteeriasetuksen ((EY) N:o 2073/2005) uudistamisen, jossa mm. nostetaan esiin osittainen ristiriitaisuus LM -bakteeria koskien: nykyinen lainsäädäntö mahdollistaa pienet määrät listeriaa sellaisenaan syötävissä elintarvikkeissa myyntiajan päättyessä, mutta kuluttajan terveys ei saisi tästä vaarantua. LM ei yleensä pieninä määrinä aiheuta oireellista tautia perusterveille ihmisille, mutta niille, joiden immuunipuolustus on syystä tai toisesta heikentynyt, pienikin määrä voi olla vaarallinen. Vaikuttaa siltä, että nämä ns. riskiryhmäläiset eivät aina tunnista itseään vaarassa oleviksi, mistä syystä sairastumisia tapahtuu sellaisistakin tuotteista, jotka ovat lainsäädännön mukaisia. Mikrobikriteeriasetuksen uudistamisessa kuunnellaan nyt ehdotusta, jossa sellaisenaan syötävissä elintarvikkeissa ei saisi olla listeriaa koko niiden myyntiaikana. Ainoa keino tuotantolaitokselle vapautua vaatimuksesta olisi osoittaa, että LM määrä ei nouse yli 100 pesäkkeen grammaa kohden tuotteessa myyntiaikana. Tämä selkiyttäisi lainsäädännön tulkintaa, mutta aiheuttaisi huomattavia kustannuksia elintarviketoimijoille. Tämä toisi todennäköisesti myös laboratorioille paljon lisää pyyntöjä selvittää listerian kasvua elintarvikkeissa.

Kutsuttu asiantuntija **Pascal Piveteau** INRAE – tutkimuslaitoksesta (French National Research Institute for Agriculture, Food and Environment) piti esityksen liittyen käynnissä olevaan Listadapt -projektiin (Adaptive traits of *Listeria monocytogenes* to its diverse ecological niches), jossa tutkittiin LM bakteerikantojen näkyviä ominaisuuksia ja verrattiin niitä kantojen fylogeneettiseen perimään. Tutkimuksella haluttiin selvittää mm. sitä, ovatko maaperässä ja elintarviketeollisuuden ympäristöissä hyvin selviytyvät LM bakteerikannat geneettisesti läheistä sukua toisilleen. Toistaiseksi näyttäisi, että näin ei ole, vaan hyviä selviytyjiä on useissa geneettisissä linjoissa. Samoin bakteerin kyky muodostaa biofilmiä ja sen kyky tarttua ihmiseen ja aiheuttaa ihmiselle oireita eivät olleet riippuvaisia bakteerin geneettisestä perimästä. Projekti on vielä käynnissä ja seuraavan vuoden kokouksessa on luvassa tuloksia mm. LM kantojen antibioottiresistenssistä.

Pascalin esityksen jälkeen **Johanna Takkinen** ECDC:stä päivitti tietomme LM infektioiden esiintyvyydestä ihmisissä. Kuten edellisinä vuosina, listerioosiin sairastuneiden määrät olivat jälleen hieman kasvaneet (0.48/100 000 henkilöä), mutta kuolemantapaukset sairauteen liittyen pienentyneet. Neljännes sairastuneista on yli 85 -vuotiaita, mutta ikävuosiltaan 45-84 vuotiaita oli myös sairastunut melko paljon. Suurin osa sairastumisista tapahtuu kotona. LM bakteerikannoista, jotka geneettisen profiilinsa perusteella jaetaan useisiin eri klonaaliseksi komplekseiksi (CC) kutsuttuihin ryhmiin, yleisimmin raportoitu on ollut CC1. **Mirko Rossi** EFSA:sta esitteli potilasdatan vastinparin, LM esiintyvyyden eläimissä ja elintarvikkeissa. Kuluneena vuonna Euroopassa havaittiin seitsemän listeriaepidemiaa, joissa saatiin vahva näyttö epidemian aiheuttajasta. Epidemioista kolme koski myös Suomea, vaikkakin yhdessä epidemiassa sairastuneet henkilöt olivat todennäköisesti saaneet tartunnan ulkomailla. Kaksi muuta olivat vuodelle 2018 venynyt pakastemaissin välityksellä levinnyt epidemia ja savukalan välityksellä leviämistä jatkanut pitkäaikainen epidemia, johon Suomesta löytyi geneettiseltä profiililtaan identtisiä, kalasta eristettyjä kantoja vuodelta 2010. Epidemiologia -kokonaisuudessa oli myös **Benjamin Felixin** ja **Maroua Sayebin** esitys EURL osallisuudesta Mirkon esittelemien eurooppalaisten epidemioiden selvityksiin.

Jäsenmaiden kahdesta esityksestä ensimmäisen piti **Toomas Kramarenko** Virosta kertomalla paikalliseen kalalaitokseen yhdistyneestä listeriaepidemiasta. Epidemia havaittiin, kun listerioositapaukset lisääntyivät tavanomaisesta alle kymmenestä tapauksesta vuodessa 20-30 tapaukseen vuosina 2018 ja 2019. Haastattelujen perusteella osattiin epäillä kala-alan laitosta, jossa osoitettiin näytteenotolla kahden tuotantoyksikön kontaminoituneeksi. Sairastumisten taustalla on ollut mm. jopa 30 vuorokauden myyntiaika kalatuotteissa. Laitos pakotettiin keskeyttämään toimintansa kahdeksi kuukaudeksi vuodenvaihteessa. Ikäväästä tapauksesta seurasi, että Toomaksen laboratorio sai luvan hankkia oman kokogenomisekvensointilaitteen ja siten paremman valmiuden tutkia epidemioita tulevaisuudessa.

Toisen epidemiaesityksen piti **Bart Wullings** Wageningenin yliopistosta Hollannista. Yliopistossa tyypitetään kaikki elintarvikkeista eristetyt LM bakteerikannat WGS:llä, noin 200 vuodessa. Tuloksia on kertynyt nyt jo neljältä vuodelta, ja niiden perusteella Hollannissa yleisimmät listerian lähteet ovat broilerista ja nautakarjasta peräisin olevat tuotteet. Vuosina 2017-2019 on havaittu yhteensä 47 listeriaklusteria, joista 16 on koostunut sekä potilas- että elintarvikkeikannoista. Epidemioista 36 on havaittu kestäneen pidempään kuin yhden vuoden. Yhdessä CC 6 LM kannan aiheuttamassa epidemiassa, joka yhdistettiin lihatuotteisiin vuosilta 2017 ja 2019, laitospotiin sulkemaan ja takaisin veto tekemään 307 tuotteelle.

Torstaina käsiteltiin LM tyyppitysasioita ja bakteerin tutkimista elintarvike- ja ympäristönäytteistä. **Benjamin Felix** kuvasi lyhyesti EURL:n toiminnan, mm. tuen epidemioiden selvityksessä, tällä alueella. EURL on erityisesti panostanut WGS koulutuksiin ja niitä tullaan tarjoamaan myös jatkossa. **Ludivine Bonanno** esitteli v. 2019 toteutetun LM tyyppityskierroksen. Ruokavirasto osallistui kierrokseen WGS menetelmällä hyväksytyin tuloksin. Kierroksella hyödynnettiin EURL ylläpitämää genomien referenssipaneelia, jonka **Maroua Sayeb** esitteli. Paneeli koostuu 30 referenssistä, joiden avulla analysoidavien LM kantojen

kuuluminen tiettyyn CC -ryhmään voidaan todeta. Referenssit on koottu 521 genomista, joita edustavat bakteerit on eristetty erilaisista elintarvikkeista, eläimistä ja ympäristönäytteistä.

Tauon jälkeen **Benjamin Felix** Ansesista esitteli lyhyesti vuoden 2019 vertailunäyte (PT) kierroksen, joka oli kvantitatiivista analytiikkaa prosessiympäristön pintanäytteistä. Ruokavirasto osallistui kierrokseen hyväksyttävien tuloksin. Kvantitatiiviseen listeria-analytiikkaan liittyen **Bertrand Lombard** piti esityksen uudesta mittausepävarmuusstandardin (ISO 19036) versiosta ja toi esiin toiveen, että EU jäsenmaiden referenssilaboratoriot yhdistäisivät voimansa elintarvikematriisiin liittyvän mittausepävarmuuden määrittämiseksi. Jos kukin laboratorio tekee mittausepävarmuusanalyysin vaikka vain yhdestäkin matriisista, saataisiin kasaan paikallisille laboratorioille hyvä ”datapankki”, josta matriisiin liittyvän epävarmuuden voisi ottaa suoraan käyttöön mittausepävarmuuslaskelmissa. Aiheesta kuullaan varmaan lisää tulevaisuudessa.

Torstain viimeisenä aiheena oli ryhmäkeskustelu, jossa kokouksen osallistujat jaettiin kahteen ryhmään keskustelemaan toiveista EURL kohtaan. Toiveiden pohjalta EURL suunnittelee vuosien 2020-2022 toimintaansa. Ryhmätyö toteutettiin jakamalla kaksi ryhmää edelleen viiteen pienryhmään. Jokainen pienryhmäläinen ideoi ensin itse mihin haluaisi EURL keskittyvän tulevina vuosina. Tämän jälkeen yksittäisistä toiveista muodostettiin lista, joka esitettiin muille pienryhmille ja Ansesin edustajalle. Ryhmässämme oli erityisesti toiveita LM tyyppityksen suhteen, mistä syystä ehkä päädyin esittelemään toiveet ryhmämme puolesta. Pienryhmien toiveet kerättiin lopuksi yhteen ja Ansesin edustaja esitteli ne perjantaina kaikille läsnäoleville. Toiveiden joukossa oli mm. ohjeistusta ja tukea uuden valvonta-asetuksen tulkitsemiseen, sekvensointidatan käsittelyyn ja analysointiin, matriisista johtuvan mittausepävarmuuden määrittämiseen ja sekvensointimenetelmien akkreditoimiseen. Suunnitelma EURL-Listeria laboratorion aktiviteeteista vuosille 2020-2022 jaetaan kokouksen osallistujille sitten, kun se on valmistunut ja hyväksytty komissiossa.

Perjantaina ohjelmassa oli LM säilyvyyskokeet. **Helene Bergis** Ansesista esitteli työpaketin, jonka tavoitteena on tuottaa päivitys referenssilaboratorioille tarkoitettuun EURL ohjeistukseen säilyvyyskokeiden tekemiselle. Päivitystarve liittyi vuonna 2019 julkaisuun päivitykseen EN ISO 20976-1 standardista. EURL päivitystä tiivistetään siten, että se tarkoittaa ISO -standardin ohjeistusta mutta ei kopioi standardin tekstiä. Päivitys keskittyy siihen, miten ohjeistusta sovelletaan nimenomaan listerialle.

EURL ohjeistuksen päivittämiseksi Helene on kerännyt yhdessä työryhmänsä kanssa tietoa siitä, minkälaisissa lämpötiloissa kuluttajat elintarvikkeita säilyttävät. Tietoa on kertynyt kattavasti Länsi-Euroopasta, mutta Itä-Euroopasta ei tutkimuksia, ainakaan julkaistuja, ole asiasta tehty. Länsi-Euroopan tietojen mukaan kuluttajat säilyttävät elintarvikkeita keskimäärin 5,5-7,5°C lämpötilassa, mutta lämpimimmillään jopa 15°C lämpötilassa. Siten nykyinen EURL ohjeistus, jossa kuluttajan tuotteiden säilytyslämpötilaksi on ohjeistettu 12°C, ei ainakaan liioittele lämpötilaa.

Perjantain lopuksi **Taran Skjerdal** Norjasta esitteli LM kasvukokeisiin liittyen mobiilisovelluksen, jolla pystyy arvioimaan LM kasvua sushissa, <http://apps.vetinst.no/listeriakalkulator/>. Sovellus on tarpeen, sillä sushi on ruokana helposti pilaantuva, sillä on lyhyt myyntiaika ja sen syömiseen liittyy tiettyjä tapoja, kuten maun esiin tuominen pitämällä sushit huoneenlämmössä joitain tunteja ennen niiden syömistä. Sovelluksen taustalla on matemaattinen malli, joka perustuu LM kasvukokeisiin erilaisissa lämpötiloissa.



Kuva. Kokoukseen osallistujat.



Kuva. Ryhmätönn tunnelmia. EURL seuraavien vuosien toimintaan tuli paljon ehdotuksia.