



Salmonellavalvontaohjelmaan kuuluvien näytteiden käsittely ja koostaminen

1 Soveltuvuus

Tämä työohje soveltuu eläinten elin- ja ulostenäytteiden, ruhojen pintasively- ja niskanahkanäytteiden, liha, lihamurska- ja raakalihavalmistenäytteiden sekä ympäristönäytteiden käsittelyyn ja koostamiseen. Salmonellavalvontaohjelmaan kuuluvat näytteet tulee käsitellä tämän ohjeen mukaisesti.

Ruokavirasto vastaa tämän työohjeen päivityksestä, päivitetty versio julkaistaan ruokavirasto.fi -sivuilla. Laboratorioiden vastuulla on voimassa olevan työohjeen noudattaminen.

2 Näytteenotto

Näytteenotossa noudatetaan salmonellavalvontaohjelmasta annettuja Maa- ja metsätalousministeriön ruokaosaston asetuksia.

Tuotantoeläintiloilta otettavien näytteiden tutkiminen aloitetaan viimeistään 48 tunnin kuluessa niiden saapumisesta. Jos tutkimusta ei pystytä aloittamaan heti, näytteet säilytetään jääkaappilämpötilassa tutkimushetkeen asti, näytteitä voidaan säilyttää enintään 96 tuntia näytteenotosta.

Teurastamoissa ja teurastuspaikoissa otetaan ruhoista pintasivelynäytteitä näytteenottosienillä tai steriileillä sidetaitoksilla. Steriilejä sidetaitoksia sisältävät näytteenottopussit voidaan valmistaa näytteet tutkimassa laboratoriossa. Kaksi steriiliä muovipussia (esim. Stomacher-pussi) pujotetaan aseptisesti päällekkäin. Sisempään pussiin siirretään aseptisesti nautojen ruhojen pintasivelynäytteitä varten kaksi ja sikojen ruhojen pintasivelynäytteitä varten kolme steriiliä taitosta (10 x 10 cm). Taitosten päälle pipetoidaan 10 ml steriiliä, puskuroitua peptonivettä. Pussi suljetaan huolellisesti (esim. taittamalla suuosa ja teippaamalla pussi tiiviisti kiinni) ja säilytetään jääkaappilämpötilassa ennen näytteen ottoa. Mikäli vastaavanlaisia taitoksia on kaupallisesti saatavana, niitä voidaan käyttää. Pintasivelynäytteiden sekä muiden teurastamoissa ja liha-alan laitoksissa otettujen näytteiden näytteenottoajan ja tutkimuksen aloittamisen välisen ajan tulee olla enintään 96 tuntia.

3 Näytteiden koostaminen esirikastusta varten

Tutkittava näytemäärä on yleensä 25 g ja esirikastusliemen (puskuroitu peptonivesi) tilavuus 225 ml. Mikäli näytemäärä on jokin muu kuin edellä mainittu, on esirikastusliemen tilavuus valittava siten, että näytemäärän suhde esirikastusliemen tilavuuteen on noin 1:9 (eli näyte laimenee suhteessa 1:10 = yksi osa näytettä + yhdeksän osaa esirikastuslientä).



Salmonellavalvontaohjelmaan kuuluvien näytteiden käsittely ja koostaminen

Näyte sekoitetaan esirikastusliemeen ravistelemalla näyteastiaa kevyesti. Esirikastusliettä inkuboidaan 37 + 1 °C/16 - 20 h. Esirikaste voidaan siirtää inkuboinnin jälkeen jääkaappiin enintään kolmeksi vuorokaudeksi, mikäli rikastusta ei voida välittömästi jatkaa esimerkiksi viikonloppuna.

3.1 Liha, lihamurska, jauheliha ja raakalihavalmisteet

Punnitse 25 g näytettä 225 ml:aan puskuroitua peptonivettä.

- Liha: Koosta näyte lihapaloista. Mikäli palat ovat isoja, koosta usean palan pintaosasta.
- Lihamurska: Sekoita lihamurska huolellisesti ennen punnitsemista.
- Broilerin, kalkkunan ja kanan liha: Erästä otetut viisi näytettä tutkitaan jokainen erikseen. Tutkittavaan näytteeseen, 25 g, leikataan ensisijaisesti nahkaa. Jos nahkaa yksistään ei ole riittävästi, otetaan mukaan lisäksi myös lihan pintaa. Mikäli nahkaa ei ole lainkaan, otetaan näytteeksi pelkästään lihan pintaa.
- Jauheliha- ja raakalihavalmisteista otetut viisi näytettä/erä tutkitaan kukin erikseen.
 - Jauhelihavalmisteet: Sekoita huolellisesti ennen punnitsemista.
 - Raakalihavalmisteet: Mikäli palat pieniä, sekoita, mikäli isoja, leikkaa lihan pintaa useasta palasta näytteen koostamiseksi.

3.2 Broilerin, kalkkunan ja kanan niskanahkanäytteet

Siipikarjan ruhojen niskanahkanäytteet tutkitaan kolmen näytteen yhteisnäytteenä. Yhdistettävien näytteiden on oltava samasta parvesta peräisin olevista ruhoista. Koosta yhteisnäyte ottamalla kustakin yhdistettävästä niskanahkanäytteestä painoltaan noin 8 g:n osanäyte siten, että yhdistenäytteen paino on 25 g. Lisää 225 ml puskuroitua peptonivettä.

3.3 Imusolmukkeet

Imusolmukenäytteet voidaan tutkia joko yksittäin tai enintään viiden näytteen yhteisnäytteenä. Yksittäin tutkittaessa tulee tutkittavan näytemäärän olla vähintään 10 g, jolloin esirikastusliemen tilavuus on 90 ml. Yhteisnäytteenä tutkittaessa näytemäärä on 25 g ja esirikastusliemen tilavuus 225 ml.

Jos tutkit näytteet yhteisnäytteenä, puolita kunkin näytteen muodostavat imusolmukkeet (5 kpl) omalla steriilillä veitsellä. Säilytä näytteiden puolikkaat jääkaappilämpötilassa omissa pusseissaan, kunnes salmonellatutkimus yhteisnäytteestä on valmistunut. Yhdistä enintään viidestä, samaa lajia olevasta eläimestä otetut imusolmukkeiden puolikkaat ja hienonna ne esimerkiksi pilkkomalla steriileillä saksilla. Sekoita hienonnettu näyte ennen kuin punnitset sitä esirikastusliemeen. Jos toteat salmonellaa yhteisnäytteessä, tutki salmonella erikseen jokaisesta osanäytteestä.

3.4 Pintasivelynäytteet ruhoista

Lisää sivelynäytepussiin 225 ml puskuroitua peptonivettä.



Salmonellavalvontaohjelmaan kuuluvien näytteiden käsittely ja koostaminen

Esirikastuksen jälkeen voidaan yhdistää enintään viiden samaa lajia olevan eläimen näytteet.

RVS-rikastuksella yhdistäminen tapahtuu ottamalla kustakin viidestä esirikasteesta 0,1 ml esirikastetta (yhteensä 0,5 ml) 50 ml:aan RVS-lientä.

MSRV-rikastuksella yhdistäminen tapahtuu ottamalla kustakin viidestä esirikasteesta 0,1 ml esirikastetta (yhteensä 0,5 ml) steriiliin putkeen. Yhteisnäyte sekoitetaan ja MSRV-maljalle otetaan 0,1 ml sekoitusta.

Jos yhteisnäytteessä todetaan salmonellaa, kunkin eläimen jääkaapissa säilytetty esirikastenäyte tutkitaan erikseen.

3.5 Ulostenäytteet (nauta ja sika)

Salmonellavalvontaohjelman mukaiset ulostenäytteet sioista ja nautoista saapuvat laboratorioon pääsääntöisesti enintään 20 ulostenäytteen yhteisnäytteinä.

Yhdistäminen ja sekoittaminen on tehty tilalla, joten laboratorioon tulevasta yhteisnäytteestä otetaan esirikastukseen noin 25 g ulostetta 225 ml:aan puskuroitua peptonivettä. Nuorten eläinten näytemäärä voi olla pienempi, jos ulostetta ei ole riittävästi.

Nautojen keinosiemennystarkoitukseen lähtevän naudan ulostenäyte tutkitaan erikseen, n 25 g ulostetta 225 ml:aan puskuroitua peptonivettä. Kliinisten oireiden perusteella tutkittavien sikojen ja nautojen ulostenäytteistä voidaan yhdistää korkeintaan viiden eläimen näytteet. Myös salmonellapositiivisen tilan saneerausvaiheessa voi tulla yksittäisten eläinten näytteitä, joita pyydetään tutkimaan erikseen.

3.6 Tuotantoympäristönäytteet nautojen tai sikojen pitopaikoista

Tuotantoympäristönäytteet (kostutetut sienet, vaahtomuovikuutiot, kankaat) tulevat enintään viiden näytteen yhteisnäytteinä ja ne tutkitaan siten, että lisätään 80 ml puskuroitua peptonivettä sientä, kangasta, vaahtomuovikuutiota tai sideharsotaitosta kohti. Jos kankaat, sienet tai vaahtomuovikuutiot eivät peity yllä kuvatulla määrällä, lisätään puskuroitua peptonivettä sen verran, että ne peittyvät, mutta ei enempää.

3.7 Aluspaperit, alusmateriaalit ja sivelynäytteet kana-, broileri- ja kalkkunaemokasvattamojen sekä kanojen kasvattamojen untuvikkoparvien kuljetuslaatikoista

Aluspaperit tutkitaan viiden paperin yhteisnäytteenä. Viiden paperin esirikastamiseen tarvitaan 1 litra puskuroitua peptonivettä. Aluspaperit saapuvat laboratorioon pakattuna muovipussiin, viisi aluspaperia/pussi. Leikkaa pussi auki siten, että paperit jäävät muovin päälle. Kostuta paperit pipetoimalla niille osa esirikastukseen tarvittavasta puskuroidusta peptonivedestä. Leikkaa kostutetut paperit aseptisesti paloiksi ja siirrä ne steriiliin Stomacher-pussiin. Lisää joukkoon loppuosa puskuroitua peptonivettä.

Alusmateriaalit (muu kuin paperi) tutkitaan viiden kuljetuslaatikon yhteisnäytteenä. Yhteisnäytteen paino punnitaan ja materiaali siirretään steriiliin Stomacher-pussiin,



Salmonellavalvontaohjelmaan kuuluvien näytteiden käsittely ja koostaminen

johon lisätään puskuroitua peptonivettä siten, että näytettä on pussissa yksi osa ja puskuroitua peptonivettä yhdeksän osaa.

Jos emokasvattamojen kuljetuslaatikoissa ei käytetä alusmateriaalia, laatikoiden pohjista otetaan yhteensä kymmenen sivelynäytettä, jotka yhdistetään kahdeksi yhteisnäytteeksi. Kanojen kasvattamojen kuljetuslaatikoista otetaan tässä tapauksessa viisi sivelynäytettä, jotka tutkitaan yhtenä yhteisnäytteenä. Näytteenottosienillä, kankailla, vaahtomuovikuutioilla tai harsotaitoksilla otetuista sivelynäytteistä siis viisi yhdistetään ja siirretään 400 millilitraan puskuroitua peptonivettä ja sekoitetaan hyvin. Jos kankaat, sienet, vaahtomuovikuutiot tai harsotaitokset eivät peity yllä kuvatulla määrällä, lisätään puskuroitua peptonivettä sen verran, että ne peittyvät, mutta ei enempää.

3.8 Siipikarjan tossu- ja sivelyulostenäytteiden tutkiminen parvista, kun eläimiä ei pidetä häkissä

Tossut ovat imukykyisiä tossuja, putkilosukkia tai putkiloharsoja. Sivelyulostenäyte otetaan kostutetulla kankaalla, jonka yhteispinta-ala on vähintään 900 cm².

Munintakanaparvesta otetut kaksi tossunäyteparia tai yksi tossupari ja sivelyulostenäytteet voidaan yhdistää yhdeksi yhteisnäytteeksi.

Kahden tossuparin (4 tossua) yhteisnäyte tai yhden tossuparin ja sivelyulostenäytteiden yhteisnäyte avataan varovasti ja siirretään 225 millilitraan puskuroitua peptonivettä siten, ettei tossuihin ja sivelyulostenäytteisiin takertunut ulostemateriaali irtoa siirrettäessä. Jos näytteet eivät peity 225 ml:lla, lisätään puskuroitua peptonivettä sen verran, että ne peittyvät, mutta ei yhtään enempää. Puskuroidussa peptonivedessä olevia näytteitä sekoitetaan niin, että uloste irtoaa.

Emokasvatusparvesta, broileri- tai kalkkunaparvesta otetut tossunäyteparit on tutkittava erikseen. Jos emoparvesta tulee tossu- ja sivelyulostenäytteet, tossupari on tutkittava erikseen ja sivelyulostenäytteet voidaan yhdistää yhdeksi yhteisnäytteeksi. Näytteiden siirto peptoniveteen ja käsittely siinä tapahtuu yllä kuvatulla tavalla.

Jos uusintänäytteenoton syynä on epäily virheellisestä tutkimustuloksesta, näytteiksi otetaan viisi tossuparia, jotka kukin pannaan erillisiin muovipusseihin ja tutkitaan laboratoriossa erikseen. Kukin tossupari laitetaan 225 ml puskuroitua peptonivettä.

Seitsemän erikseen tutkittavaa näytettä (5 ulostenäytettä, 2 pöly- tai sivelypölynäytettä) voi tulla myös esim. ruokamyrkytys-epidemiaepäilyssä. Parven suuren koon tms. seikan vuoksi voi myös tulla tavanomaista enemmän näytteitä. Näitä lisänäytteitä voidaan yhdistää, jos lähetteessä on tästä maininta.

3.9 Siipikarjan uloste- ja sivelyulostenäytteiden tutkiminen häkeissä pidettävistä parvista

Häkeissä pidettävistä emoparvista ja munintakanaparvista otetut näytteet tulevat laboratorioon kahtena vähintään 150 gramman yhteisulosteulostenäytteenä.

Emoparvien yhteisnäytteet tutkitaan kumpikin erikseen. Yhteisnäytteet punnitaan ja kumpikin laitetaan erikseen näytteen painoa vastaavaan tilavuuteen puskuroitua peptonivettä sekä sekoitetaan kevyesti. Näytteen annetaan pehmetä 10-15 minuutin



Salmonellavalvontaohjelmaan kuuluvien näytteiden käsittely ja koostaminen

ajan ja sekoitetaan uudelleen kevyesti. Sekoittamisen jälkeen punnitaan 50 g seosta 200 millilitraan puskuroitua peptonivettä.

Kanaparvien näytteet yhdistetään laboratoriossa huolellisesti sekoittamalla, minkä jälkeen seoksesta otetaan 25 gramman osanäyte 225 millilitraan puskuroitua peptonivettä.

Jos ulostenäytteiden sijaan tutkitaan sivelyulostenäytteitä, emoparvista otetut sivelyulostenäytteet voidaan tutkia kahtena yhteisnäytteenä ja munintakanaparvesta otetut sivelyulostenäytteet voidaan tutkia yhtenä yhteisnäytteenä.

Sivelyulostenäytteet avataan varovasti ja siirretään 225 millilitraan puskuroitua peptonivettä siten, ettei sivelyulostenäytteisiin takertunut ulostemateriaali irtoa siirrettäessä. Jos näytteet eivät peity 225 ml:lla, lisätään puskuroitua peptonivettä sen verran, että ne peittyvät, mutta ei yhtään enempää. Puskuroidussa peptonivedessä olevia näytteitä sekoitetaan niin, että uloste irtoaa.

Jos uusintänäytteenoton syynä on epäily virheellisestä tutkimustuloksesta, näytteiksi otetaan viisi 150 gramman painoista ulostenäytettä, jotka kukin pannaan erillisiin muovipusseihin ja tutkitaan laboratoriossa erikseen. Kukin 150 gramman näyte sekoitetaan huolellisesti, minkä jälkeen seoksesta otetaan 25 gramman osanäyte 225 millilitraan puskuroitua peptonivettä.

Seitsemän erikseen tutkittavaa näytettä (5 ulostenäytettä, 2 pöly- tai sivelypölynäytettä) voi tulla myös esim. ruokamyrkytys-epidemiaepäilyssä. Parven suuren koon tms. seikan vuoksi voi myös tulla tavanomaista enemmän näytteitä. Näitä lisänäytteitä voidaan yhdistää, jos lähetteessä on tästä maininta.

3.10 Pienimuotoista toimintaa harjoittavien pitopaikkojen näytteiden tutkiminen

Häikeissä pidettävistä linnuista parvesta otetaan noin 150 gramman painoinen yhteisulostenäyte. Jokaisen parven näyte tutkitaan erikseen. Näyte sekoitetaan huolellisesti, minkä jälkeen seoksesta otetaan 25 gramman osanäyte 225 millilitraan puskuroitua peptonivettä.

Jos häikeistä tai kerroslattia-kanaloista tai -kasvattamoista on otettu sivelyulostenäytteitä, saman parven näytteet voidaan tutkia yhteisnäytteenä.

Sivelyulostenäytteet avataan varovasti ja siirretään 225 millilitraan puskuroitua peptonivettä siten, ettei sivelyulostenäytteisiin takertunut ulostemateriaali irtoa siirrettäessä. Jos näytteet eivät peity 225 ml:lla, lisätään puskuroitua peptonivettä sen verran, että ne peittyvät, mutta ei yhtään enempää. Puskuroidussa peptonivedessä olevia näytteitä sekoitetaan niin, että uloste irtoaa.

Lattialta tai tarhasta otetut saman parven tossunäytteet voidaan tutkia yhteisnäytteenä.

Tossunäytteet avataan varovasti ja siirretään 225 millilitraan puskuroitua peptonivettä siten, ettei tossunäytteisiin takertunut ulostemateriaali irtoa siirrettäessä. Jos näytteet eivät peity 225 ml:lla, lisätään puskuroitua peptonivettä sen verran, että ne peittyvät, mutta ei yhtään enempää. Puskuroidussa peptonivedessä olevia näytteitä sekoitetaan niin, että uloste irtoaa.



Salmonellavalvontaohjelmaan kuuluvien näytteiden käsittely ja koostaminen

3.11 Sivelypölynäytteet kanojen, broilereiden ja kalkkunoiden emokanaloista, munivista kanaparvista sekä broilereiden ja kalkkunoiden kasvattamoista

Sivelypölynäytteet otetaan yhdellä tai useammalla kostutetulla kankaalla tai sienellä (yhteispinta-ala vähintään 900 cm²) ja pakataan samaan pussiin. Yhteisnäyte avataan varovasti ja siirretään 225 millilitraan puskuroitua peptonivettä siten, ettei kankaisiin / sieniin tarttunut materiaali irtoa siirrettäessä. Jos kankaat / sienet eivät peity 225 ml:lla, lisätään puskuroitua peptonivettä sen verran, että ne peittyvät, mutta ei enempää. Puskuroidussa peptonivedessä olevia näytteitä sekoitetaan.

Jos uusintänäytteenoton syynä on epäily virheellisestä tutkimustuloksesta, näytteiksi otetaan pitopaikasta edellä kuvattujen tossu- tai ulostenäytteiden lisäksi kaksi sivelypölynäytettä. Sivelypölynäytteet tutkitaan kumpikin erikseen yllä kuvatulla tavalla.

3.12 Pölynäytteet kanalasta

Kanalan pölynäytteeseen kerätään pölyä eri puolilta kanalaa vähintään 250 ml ja 100 grammaa. Pöly punnitaan ja sekoitetaan sen painoa vastaavaan tilavuuteen puskuroitua peptonivettä. Pölyn annetaan liueta 10-15 minuuttia. Pölyn liuettua näytettä sekoitetaan kevyesti ja 50 grammaa seosta siirretään 200 millilitraan puskuroitua peptonivettä. Pölynäytteiden käsittelyssä on oltava erityisen huolellinen ristikontaminaatioiden välttämiseksi.

Jos uusintänäytteenoton syynä on epäily virheellisestä tutkimustuloksesta, näytteiksi otetaan pitopaikasta edellä kuvattujen tossu- tai ulostenäytteiden lisäksi kaksi pölynäytettä. Pölynäytteet tutkitaan kumpikin erikseen yllä kuvatulla tavalla.

3.13 Hautomon tuotantoympäristö- ja pitopaikan pintapuhtausnäytteet

Näytteenottosieniä, kankaita, vaahtomuovikuutioita tai sideharsotaitoksia esirikastetaan 1-5 kpl siten, että puskuroitua peptonivettä lisätään 80 ml sientä, kangasta, vaahtomuovikuutiota tai sideharsotaitosta kohti. Jos kankaat, sienet, vaahtomuovikuutiot tai harsotaitokset eivät peity yllä kuvatulla määrällä, lisätään puskuroitua peptonivettä sen verran, että ne peittyvät, mutta ei enempää.

Yhdistettäessä on otettava huomioon se, että mahdolliset salmonellapositiiviset löydökset täytyy pystyä kohdistamaan lähetteen mukaiseen näytteenottokohtaan (esimerkiksi hautomon eri osien näytteitä ei yhdistetä).

3.14 Rehuympäristönäytteet

Rehuympäristönäytteet (kostutetut sienet, vaahtomuovikuutiot, kankaat) tulevat yksittäin pakattuina ja ne tutkitaan erikseen edellä kuvatuilla tavoilla.

4 Näytteiden tutkiminen

Salmonellojen osoittamisen vertailumenetelmä on EN ISO 6579-1 -menetelmän viimeisin versio. Näytteet tutkitaan joko vertailumenetelmällä tai vaihtoehtoisella menetelmällä, joka on validoitu EN ISO 16140-2 -standardin viimeisimmän version mukaisesti menetelmää EN ISO 6579-1 vasten ja johon sisältyy salmonellakannan eristäminen positiiviseksi todetusta näytteestä.



Eläintautibakteriologia ja -patologia, Mikrobiologia

Salmonellavalvontaohjelmaan kuuluvien näytteiden käsittely ja koostaminen

5 Muutokset edelliseen versioon

Tämän ohjeen laadinta: Tuula Johansson ja Henry Kuronen

Työohje 6002/liite1 muutettiin menetelmäohjeen liitteeksi.

9.3.2018: Siirryttäessä IMS toimintajärjestelmään, versiointi aloitettu alusta (v1).
Tekninen päivitys.

27.8.2018: Tuula Johanssonin tilalle vaihdettu vastuuhenkilöksi Satu Hakola.
Täsmennetty tekstiä kappaleessa 2.

14.1.2019: Vaihdettu standardiversio, täsmennetty sienien, kankaiden, vaahtomuovikuutioiden ja harsotaitosten käsittelyä sekä vaihdettu hyväksyjän ja viraston nimi.

19.8.2019: Tehty MMM:n asetuksen 803/2019 mukaiset muutokset ohjeeseen.

9.11.2021 Tehty zoonosiasetuksen 316/2021 mukaiset muutokset kohtaan 4.