

## Afrikkalaisen sikaruttoviruksen kestävyys eri käsittelyissä - kirjallisuuskatsaus

Tavoitteena on määrittää soveltuvin osin afrikkalaisen sikaruttoviruksen infektiivisyyden tuhoutumista

a) yleisimmissä kuumennuskäsittelyissä ja

b) ei-kuumennuskäsittelyissä (savustus) sellaisenaan syötävissä elintarvikkeissa, erityisesti sianlihatuotteissa.

Afrikkalainen sikarutto (ASF) on erittäin helposti leviävä sikojen virustauti, joka aiheuttaa korkeaa kuolleisuutta. Afrikkalainen sikaruttovirus (ASFV) on suurikokoinen DNA-virus, joka lisääntyy enimmäkseen makrofagien sytoplasmassa. Viruksen luonnolliset isännät ovat villit sikarodut ja *Ornithodoros*-suvun puutiaiset. Kotisioissa virus aiheuttaa tappavan verenvuotokuumeen, johon ei ole saatu kehitettyä toimivaa rokotetta. (Galindo & Alonso 2017).

Afrikkalaisen sikaruttoviruksen kestävyttä kuvataan klassisen sikaruton, suu- ja sorkkataudin, sian vesikulaaritaudin, porcine reproductive and respiratory disease eli PRRS:n ja transmissible gastroenteritisin eli TGE:n lisäksi julkaisussa Farez & Morley (1997). Viruksen säilyminen riippuu viruksen ominaisuuksista kuten stabiilius/labiilius ajan, lämpötilan ja pH:n suhteen sekä lihatuotteen ominaisuuksista kuten pH, vesipitoisuus, prosessointilämpötila ja säilytys sekä suolapitoisuus (Farez & Morley 1997).

ASF-infektoitunut veri menettää infektiivisyytensä, kun sitä kuumennetaan 30 minuuttia 60°C:ssa, jotkut viruskannat kestävät kuitenkin 56°C:n kuumuutta jopa 3,5 tuntia. Lihatuotteen sisälämpötilan noustessa 69°C asteeseen virus inaktivoituu. Kylmässä sen sijaan virus voi elää pitkään, kuusi vuotta 5°C:ssa ja pimeässä. ASF-virus kestää myös hyvin hapanta pH:ta, paremmin kuin klassinen sikaruttovirus, säilyen jopa 22 tuntia pH 3,1:ssä. Sen sijaan emäksisessä ympäristössä pH 11,5:ssä virus inaktivoituu pian. (Farez & Morley 1997).

ASF-viruksen elinkykyä eri lihatuotteissa on tutkittu ja on havaittu, että se elää 104 vrk pakastetussa tai kylmennetyssä lihassa, 140 vrk Iberian kinkussa, 140 vrk Serranon kinkussa, 399 vrk Parman kinkussa ja 30 päivää pepperoni- ja salamimakkaroissa (Farez & Morley 1997).

Neljä sikaa infektoitiin ASF-viruksella ja sen jälkeen tutkittiin virustiitereitä eri lihatuotteissa. Sekä kokolihasa että jauhelihasa titterit olivat välillä  $10^{3,25} - 10^{3,75}$  HAd<sub>50</sub> kaksi päivää teurastuksen jälkeen,  $10^{2,0} - 10^{2,5}$  salamissa kolme päivää teurastuksesta,  $10^{3,0} - 10^{3,25}$  pepperonissa kolme päivää teurastuksesta ja  $1^{-10}$  salamimakkarassa yhdeksän päivää teurastuksesta. Suun kautta infektiivinen annos (PID<sub>50</sub>) vaihteli välillä  $10^{4,3} - 10^{5,4}$  HAd<sub>50</sub>. (Farez & Morley 1997). Niederwerder ym. (2019) tutkivat infektiivistä annosta nesteessä ja rehussa. Pienin infektiivinen annos nesteessä oli  $10^0$  TCID<sub>50</sub>, kun taas  $10^4$  TCID<sub>50</sub> rehussa. Mediaaniannos oli  $10^{1,0}$  TCID<sub>50</sub> nesteelle ja  $10^{6,8}$  TCID<sub>50</sub> rehulle.

Hiljattain italialaisten julkaisemassa artikkelissa (Petrini ym. 2019) tutkittiin, kuinka ASF-virus säilyy kolmessa tyyppillisessä italialaisessa sianlihatuotteessa, jotka valmistetaan kuivaamalla ja suolaamalla eli salamissa, kylkipalassa ja fileeselässä. Siat infektoitiin ja teurastettiin, kun kuume oli korkeimmillaan. ASF-virusta löytyi verestä, pernasta, munuaisista ja imusolmukkeista teurastuksen yhteydessä. Viruksen säilyminen sianlihatuotteissa osoitettiin viruseristyksellä salamista 18 vrk, kyljistä 60 vrk ja fileeselästä 83 vrk valmistuksen alkamisesta. Varmistus siitä, että virus oli inaktivoitunut, saatiin syöttämällä terveille sioille näitä tuotteita, eivätkä siat sairastuneet ja pysyivät negatiivisina PCR- ja ELISA-tutkimuksissa salamin kohdalla 26 vrk ja kyljen ja fileeselän kohdalla 137 vrk valmistuksen alkamisesta. (Petrini ym. 2019).

Salamin etuna on se, että se jauhetaan ja siihen lisätään sokeria ja siinä on rikas ja monipuolinen bakteerifloora, jotka indusoivat happamoitumisen ja proteolyyysin, joka vaikuttaa viruksiin. Salamista ei siis löydetty virusta enää valmistusprosessin jälkeen. Sen sijaan kyljistä ja fileeselästä löytyi virusta prosessin jälkeen ja lihatuotteen myyntiaikana, mikä aiheuttaa riskin taudin tarttumiselle sikaan näiden tuotteiden

välityksellä. Kirjoittajat ehdottavat, että nämä tulokset voisi huomioida EU -lainsäädännössä (direktiivi 2002/99/EC) ASF-kontaminoidun lihan aiheuttaman eläintautiriskin eliminoimiseksi, jonka mukaan kinkun tulisi kypsyä vähintään 190 vrk ja fileeselän (kupeen) vähintään 140 vrk (liite 1), koska tämän tutkimuksen mukaan viruksen säilymisäika on selvästi lyhyempi. (Petrini ym. 2019). Direktiivin 2002/99/EC liitteessä III (liite 1) mainitaan useita lämpö- ja kypsymiskäsittelyitä ja niiden sopivuutta ASF-viruksen aiheuttaman terveysriskin poistamiseksi lihasta.

Sian verta voidaan käyttää ihmisille suunnattujen sianlihatuotteiden valmistuksen lisäksi myös sikojen ja siipikarjan ruokkimiseen. Belgialaisessa tutkimuksessa käytiin läpi suihkukuivatun sian plasman (spray-dried porcine plasma, SDPP) aiheuttama mahdollinen ASF-viruksen leviämiskäsi. Virus voidaan inaktivoida tällaisessa tuotteessa HAPT (heat, alkalinity, peroxide, time) -käsittelyllä. HAPT-käsittely, jossa H = 48 °C, A = pH 10.2 ja P = 20.6 tai 102.9 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 minuutin ajan (T) inaktivoi 4,17 log<sub>10</sub> TCID<sub>50</sub> ASFV/ml plasmaa. HAPT-käsittely ASFV-vapaille alueilla kerätyille plasmalle antaa lisävarmuuden sille, etteivät verituotteet levitä tautia (Kalmar ym. 2018).

Juskiewicz ym (2019) ja Krug ym. (2018) tutkivat ASF-viruksen pinnoilta desinfiointiin sopivia tuotteita. Juskiewicz ym (2019) totesivat, että tärkeintä desinfektiossa on, että pinnat ensin pestään pesuaineella puhtaiksi, käytetään testattua ja suositeltua desinfektioainetta, sekä käytetään oikeaa lämpötilaa ja vaikutusaikaa. Krug ym. (2018) tutkivat eri desinfektioaineiden vaikutusta teräs-, muovi- ja betonipinnoilla. Happo/kvaternääriseen ammoniakkiin perustuva aine oli erittäin tehokas 10 minuutin vaikutusajalla, kun virus oli kuivattu PBS:n kanssa. Hypokloriittipohjainen desinfektioaine osoittautui myös erittäin tehokkaaksi ASF-virusta vastaan kaikilla tutkituilla pinnoilla.

Kun virus oli kuivattu sikaperäisten tuotteiden kanssa (kuivattu veri, lihasneste), mikä vastaa paremmin lihapakkaamo-olosuhdetta, huononi desinfektiotulos huomattavasti. Kuiva veri esti kaikkien tutkittujen desinfektioaineiden tehon, joka ei sen sijaan hävinnyt nestemäisen veren yhteydessä. Happoon perustuvat desinfektioaineet inaktivoivat viruksen ulosteesta, kun taas uloste inhiboi natriumhypokloriittipohjaiset desinfektioaineet. Heidän tuloksensa korostavat esipuhdistuksen tärkeyttä, jossa lika fyysisesti poistetaan ennen desinfektioita. Johtopäätöksenä happo- ja surfaktanttipitoisten tuotteiden käyttö lihapakkaamossa ASF-taudinpurkauksessa on suositeltavaa. (Krug ym. 2018).

Farez S., Morley R.S. Potential animal health hazards of pork and pork products. Rev Sci Tech. 1997 Apr;16(1):65-78.

Galindo I & Alonso C. African Swine Fever Virus: A Review. Viruses. 2017 May 10;9(5).

Juszkiewicz M., Walczak M., Woźniakowski G. Characteristics of selected active substances used in disinfectants and their virucidal activity against ASFV. J Vet Res 63, 17-25, 2019. DOI:10.2478/jvetres-2019-0006.

Kalmar I.D., Cay A.B., Tignon M. Sensitivity of African swine fever virus (ASFV) to heat, alkalinity and peroxide treatment in presence or absence of porcine plasma. Veterinary Microbiology 219 (2018) 144–149.

Krug P.W., Davis T., O'Brien C., LaRocco M., Rodriguez L.L. Disinfection of transboundary animal disease viruses on surfaces used in pork packing plants. Veterinary Microbiology 219 (2018) 219–225.

Niederwerder M.C., Stoian A.M.M, Rowland R.R.R, Dritz S.S., Petrovan V., Constance L.A., Gebhardt J.T., Olcha M., Jones C.K., Woodworth J.C, Fang Y., Liang J., Hefley T.J. Infectious Dose of African Swine Fever Virus When Consumed Naturally in Liquid or Feed. Emerg Infect Dis. 2019 May;25(5):891-897. doi: 10.3201/eid2505.

Petrini S., Feliziani F., Casciari C., Giammarioli M., Torresi C., G.M. De Mia. Survival of African swine fever virus (ASFV) in various traditional Italian dry-cured meat products. Preventive Veterinary Medicine 162 (2019) 126–130.

Liite 1. direktiivi 2002/99/EC, liite III.

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FI/TXT/PDF/?uri=CELEX:32002L0099&from=EN>

1. Käsitellyt eläinten tiettyjen terveystarkkailu- ja poistamiseksi lihasta ja maidosta

LIHA Käsittely (*)	Tauti							
	Suu- ja sorkkatauti	Klassinen sikarutto	Sian vesikulaaritauti	Afrikkalainen sikarutto	Karjarutto	Newcastlen tauti	Lintuinfluenza	Pienten märehitjien rutto
a) Lämpökäsittely ilmatiiviisti suljetussa säiliössä, F <sub>0</sub> -arvolla 3,00 tai enemmän (**)	+	+	+	+	+	+	+	+
b) Lämpökäsittely 70 °C:n vähimmäislämpötilassa, joka on saavutettava kauttaaltaan koko lihassa	+	+	+	0	+	+	+	+
c) Lämpökäsittely 80 °C:n vähimmäislämpötilassa, joka on saavutettava kauttaaltaan koko lihassa	+	+	+	+	+	+	+	+
d) Lämpökäsittely ilmatiiviissä säiliössä vähintään 60 °C:seen vähintään 4 tunnin ajan, jona aikana sisälämpötilan on oltava vähintään 70 °C 30 minuutin ajan	+	+	+	+	+	-	-	+
e) Luuttomalle lihalle vähintään yhdeksän kuukauden ajan kestävä luonnollinen käymis- ja kypsytyskäsittely, seuraavin ominaisuuksin: aW-arvo enintään 0,93 tai pH-arvo enintään 6,0	+	+	+	+	+	0	0	0
f) Kuten edellä oleva e kohta, mutta saa olla luullista (*)	+	+	+	0	0	0	0	0
g) Salami käsiteltävä 12 artiklan 2 kohdan menettelyä noudattaen vahvistettavien vaatimusten mukaisesti, asiaa käsittelevän tiedekomitean kuulemisen jälkeen	+	+	+	0	+	0	0	0
h) Kinkku ja kupeet, joille on tehty vähintään 190 päivää (kinkut) tai 140 päivää (kupeet) kestävä luonnollinen käymis- ja kypsytyskäsittely	0	0	0	+	0	0	0	0
i) Lämpökäsittely, joka takaa vähintään 65 °C:n sisälämpötilan, saavutetaan niin pitkäksi aikaa kuin on välttämätöntä vähintään pastörointiarvon (pv) 40 saavuttamiseksi	+	0	0	0	0	0	0	+