



Rannsóknastofnun
fiskiðnaðarins

20. RIT

ATHUGUN Á TÍÐNI CAMPYLOBACTER OG SALMONELLA SÝKLA Í SJÁVARAFURÐUM

JÚNÍ 1989

PÁLL STEINÞÓRSSON

TITILL:	ATHUGUN Á TÍÐNI <u>CAMPYLOBACTER</u> OG <u>SALMONELLA</u> SÝKLA Í SJÁVARAFURÐUM	RIT NR:	20
		BLS.FJÖLDI:	9
HÖFUNDUR(AR):	Páll Steinþórsson.	DAGS:	júní 1989
		VERKNÓMER:	88.501
VERKKAUPI/SAMSTARFSADILI:		<input checked="" type="checkbox"/> OPIÐ <input type="checkbox"/> LOKAÐ	
		LOKAÐ Í:	

AGRIP:

Campylobacter og Salmonella gerlar eru sýklar sem geta sýkt bæði dýr og menn. Salmonella hefur lengi verið þekktur sýkingarvaldur hjá fólki en u.þ.b. 30 ár eru síðan menn fór að gruna að Campylobacter væri það líka. Var það m.a. vegna þess að ekki voru til nógu góðar aðferðir til að einangra þessa sýkla. En núna þegar tekist hefur að þróa góðar aðferðir hefur komið í ljós að Campylobacter sýkingar eru jafn algengar og Salmonella sýkingar hjá mönnum. Tilgangur þeirrar tilraunar sem hér er lýst var að kanna tíðni Campylobacter og Salmonella sýkla í frystum sjávarafurðum og kynnst um leið þeirri aðferðafræði sem beitt er við einangrun og greiningu á Campylobacter. Var könnunin gerð með því að hafa afnot af þeim þjónustusýnum sem bárust til örverudeildarinnar. Einnig var farið í frystihús og tekin sýni í móttöku og einnig af fiskikössum sem geymdir voru utandyra. Sýnataka hófst í ársbyrjun 1988 og stóð í u.þ.b. ár. Rannsókuð voru alls 50 sýni þar af 6 rækjusýni og 31 fiskisýni. Niðurstaðan var sú að Campylobacter og Salmonella sýklar fundust ekki í neinu sýnanna.

EÐLI RITSMÍÐAR:	___: YFIRLITSGREIN
<input checked="" type="checkbox"/> : EIGIN RANNSÓKN RF	___: FRÆDSLUGREIN/KENNSLUEFNI
___: UMBEÐIN RANNSÓKN	___: ANNAÐ
STIKKORÐ (3-5 ORÐ)	
Smitleiðir	Campylobacter
Tíðni	Salmonella
Sjávarafurðir	

EFNISYFIRLIT

bls.

1. Yfirlit yfir <u>Campylobacter</u> sýkla.	2
1.1. Einkenni.	2
1.2. Smitleiðir.	2
1.3. Einkenni sýkinga.	2
1.4. <u>Campylobacter</u> á Íslandi.	3
1.5. Varúðarráðstafanir við matreiðslu.	3
2. Yfirlit yfir <u>Salmonella</u> sýkla.	3
2.1. Einkenni.	3
2.2. Útbreiðsla og smiteinkenni.	3
2.3. Fyrri athuganir.	3
3. Framkvæmd.	3
3.1. Sýnataka.	3
3.2. Aðferðir við einangrun og greiningu.	4
3.2.1. <u>Campylobacter</u>	4
3.2.2. <u>Salmonella</u>	5
4. Niðurstöður.	6
5. Umræður.	6
6. Heimildaskrá.	7

1. YFIRLIT YFIR CAMPYLOBACTER SÝKLA

1.1. Einkenni

Campylobacter jejuni og Campylobacter coli eru bakteríur sem núorðið eru þekktar sem algengir þarmasýkingarvaldar hjá mönnum. Þetta eru litlar Gram neikvæðar, kvikar bakteríur, s-laga, spirallaga eða bognir stafir. Þær vaxa einungis við aðstæður þar sem mjög lítið súrefni er að finna.

Þessar bakteríur höfðu verið þekktar sem sjúkdómsvaldar í dýrum, s.s. nautgripum og sauðfé, frá aldamótum.

Það var ekki fyrr en fyrir u.þ.b. 30 árum að menn fóru að gruna að þessar bakteríur gætu valdið þarmasýkingum hjá mönnum (1,7).

Ein af ástæðunum fyrir því að horft var framhá þeim möguleika að Campylobacter gætu valdið sýkingum hjá mönnum var sá eiginleiki þeirra að þær vaxa best við örlofháðar aðstæður, þ.e. sé súrefnishlutfallið á bilinu 5 - 10%(2,7). Því þurfti að þróa nýjar aðferðir sem dygðu til að einangra þær.

Það var ekki fyrr en uppúr 1970 að fyrst var farið að lýsa aðferðum til að einangra Campylobacter úr mönnum. Þær aðferðir voru tímafrekar og ónákvæmar og það var ekki fyrr en 1977 að betri aðferðir komu fram. Núna eru rannsóknastofur víða um heim farnar að stunda reglubundnar ræktanir úr mönnum m.t.t. sýkjandi Campylobacter tegunda og til þess má m.a. rekja það að Campylobacter þarmasýkingar eru nú taldar ein af algengustu ástæðum þarmasýkinga víða um heim (1,7).

1.2. Smitleiðir

Eftir að menn fóru að gera sér ljóst hve Campylobacter þarmasýkingar voru algengar fór athyglin að beinast að því að finna og hafa stjórn á þeim smitleiðum sem eru algengastar. Menn geta smitast með því að umgangast sýkt dýr og vegna neyslu mengaðra matvæla og mengaðs vatns.

Campylobacter finnst í fjölda dýrategunda með heitt blóð bæði fuglum og spendýrum og geta þau bæði verið sjúk og einnig af því er virðist heilbrigð. Menn hafa ætlað að tíðni Campylobacter sé meiri hjá alidýrum en villtum dýrum. Er það vegna þess að alidýr lifa við aðrar umhverfisaðstæður og meiri snertingu við saur. Af alidýrum virðist tíðni Campylobacter vera mest hjá svínunum (7).

1.3. Einkenni sýkinga

Einkenni sýkinga af völdum Campylobacter koma fram 2 - 5 dögum eftir smitun. Þau eru niðurgangur, hiti og kviðverkir. Ekki er algengt að uppköst fylgi. Blóð getur greinst í saur tveim til fjórum dögum eftir að sjúkdómseinkennum koma fram. Yfirleitt gengur sýkingin yfir af sjálfu sér á innan við viku. Hægt er að greina C. jejuni í saur í nokkrar vikur eftir að sjúklingurinn er laus við önnur einkenni ef fúkalýf hafa ekki verið tekin (2,7).

1.4. Campylobacter á Íslandi

Hér á landi kom upp Campylobacter faraldur árið 1984. Var það á Stöðvarfirði og sýktust a.m.k. 37 manns af völdum C. jejuni. Á sýkingartímabilinu var yfirborðsvatn tekið inn á dreifikerfið og auk þess áttu gæsir greiðan aðgang að svæði í nágrenni vatnsbólsins (7).

Í apríl 1986 - febrúar 1987 var gerð könnun á tíðni C. jejuni/coli í kjúklingum hér á landi. Voru tekin sýni í sláturhúsum rétt fyrir pökkun kjúklinganna. Í fyrsta hluta sýnatökunnar þar sem tekin voru sýni frá 4 búum sem slátruðu í sama sláturhúsi reyndust 59% sýnanna jákvæð m.t.t. C. jejuni/coli. Í öðrum hluta voru tekin sýni frá 4 mismunandi sláturhúsum og reyndust 87% sýnanna jákvæð. Einnig voru tekin sýni úr frystiborðum verslana í Reykjavík og einangruðust sýklarnir úr 60% sýnanna(7).

1.5. Varúðarráðstafanir við matreiðslu

Þar sem hinn almenni neytandi veit ekki fyrirfram hvort matvæli þau sem hann kaupir eru menguð af Campylobacter sýklum er um að gera að viðhafa vissar varúðarráðstafanir við matreiðsluna.

Sýkillinn á að drepast við 57-60°C (7) og því er nauðsynlegt að gegnhita þau matvæli sem verið er að sjóða eða steikja. Eins ber að varast að nota sömu áhöld óþvegin í soðin matvæli og notuð voru í matvælin meðan þau voru hrá til að koma í veg fyrir að menga þau aftur. Eins að nota ekki sama bretti til að skera á t.d. hrásalat og notað var til að skera t.d. hráan kjúkling nema þvo brettið vel úr sjóðandi vatni.

2. YFIRLIT YFIR SALMONELLA SÝKLA

2.1. Einkenni

Salmonella gerlar eru gram neikvæðir, kvikir, staflaga gerlar sem geta bæði sýkt menn og dýr.

2.2. Útbreiðsla og smiteinkenni

Um útbreiðslu og smiteinkenni verður ekki talað hér heldur vitnað í Tækni tíðindi 106, Salmonella í fiskimjöli eftir Grím Valdimarsson(4).

2.3. Fyrri athuganir

Árið 1982 var gerð gerlafræðileg úttekt á 160 rækjusýnum frá Vestfjörðum hjá stofnuninni. Var þá m.a. athuguð tíðni Salmonella sýkla í sýnunum og fannst sýkillinn ekki í neinu sýnanna (3).

3. FRAMKVÆMD

3.1. Sýnataka

Fengið var leyfi hjá Sjávarafurðadeild SÍS og Eftirlitsdeild Sölumiðstöðvar hraðfrystihúsanna til afnota af þeim þjónustusýnum

sem þessir aðilar sendu til Örverudeildar R.f. Þau sýni sem sýndu jákvæða kóligerlasvörun voru síðan til rannsóknar á Campylobacter og Salmonella.

Einnig var farið í tvö fiskvinnslufyrirtæki og tekin þar sýni. Í móttöku voru bæði gerðar penslanir á ýmsum óhreinum flötum og tekin sýni af fiskleifum á gólfi. Einnig voru gerðar penslanir af fiskikössum sem geymdir voru utandyra.

3.2. Aðferðir við einangrun og greiningu

3.2.1. Campylobacter

Preston forræktunaræti

Lab-lemco powder 10g (Oxoid, L29), Bacto peptone 10g (Difco, 0118-01-8), NaCl 5g, Eimað vatn 1 liter.

Efnin eru leyst upp og dauðhreinsuð við 121°C í 15 mín.

Þá er lausnin kæld í vatnsbaði niður í 45°C og bætt út í

50 ml af hestablóði og

4ml af Preston campylobacter selective supplement (samanstendur af fúkalyfjum og kemur í glösum. Innihald glasanna er leyst upp í 2ml af 1/1 blöndu af acetone/dauðhreinsað eimað vatn. Það þarf því 2 glös í 1 liter af æti.)

Að lokum er ætinu hellt á sívalar dauðhreinsaðar 30x200mm skruftappaflöskur og þær fylltar að 3/4 hlutum (upb. 125ml).

Ætið geymist allt að viku við 4°C.

Preston agaræti

Lab-lemco powder 10g (Oxoid, L29), Bacto-peptone 10g (Difco, 0118-01-8), NaCl 5g, Bacto agar 12g (Difco agar 0140-1), eimað vatn 1l.

Ætið leyst upp með suðu og dauðhreinsað við 121°C í 15 mín. Kælt í vatnsbaði niður í 45°C og bætt út í 50 ml af hestablóði og 4 ml af fúkalyfjum.

Að lokum er ætinu hellt á Petriskálar og þær þurrkaðar í myrkri yfir nótt við stofuhita. Geyma má skálarnar í allt að viku við 4°C.

Ræktun

10 g af sýni eru sett út í Preston forræktunarætið og flöskunni lokað vel. Þá eiga að skapast örloftháðar aðstæður. Ræktun er síðan gerð við 42°C. Eftir eins sólarhrings forræktun er fyrri strikun gerð á Preston agaræti. Seinni strikun er gerð eftir tveggja sólarhringa forræktun ef enginn líklegur vöxtur er sjáanlegur á skálum fyrri strikunar. Annars er seinni strikun sleppt og reynt að einangra hreinrækt.

Ræktun á Preston agaræti

Úr forræktunarætinu er sáð 0.1ml á eina Preston agar skál og lykkjufylli strikað á aðra. Ræktun er gerð við 42°C. Ræktun fer fram í loftþéttri krukku (anaerobic jar frá BBL).

Notað er umslag frá BBL (Cat no. 70304 Anaerobic system). Hvati er ekki notaður og þá næst rétt hlutfall O_2 og CO_2 fyrir Campylobacter. Ef enginn líklegur vöxtur sést á skálum fyrri strikunar eftir þriggja sólarhringa ræktun og skálum seinni strikunar eftir tveggja sólarhringa ræktun er sýni talið neikvætt m.t.t. C. jejuni/coli. Einkennandi vöxtur er glærar til mjólkurlitaðar kólóníur sem dreifast einkennandi og renna saman því agarinnihald er fremur lágt (1.2%). Kólóníurnar hafa oftast bláleitt yfirborð í byrjun og C.jejuni kólóníur hafa oft málmgljáa. Til að fá stakar kólóníur er líklegum kólóníum strikað á Preston agaræti án fúkalyfja og með hærri agarinnihaldi (2%). Ræktað er við 42°C í loftþéttri krukku í 1 - 2 sólarhringa. Síðan er kólóníum af þessu æti strikað á Preston agaræti án fúkalyfja og ræktað við 42°C í loftþéttri krukku í 1 sólarhring. Sólarhringsgömul rækt er síðan notuð í staðfestingarpróf.

Staðfestingarpróf

Eftirfarandi staðfestingarpróf eru gerð: Gram litun, kvikleikapróf, vaxtarpróf, oxidaspróf, catalaspróf, næmnispróf fyrir nalidixic sýru og hippurat próf. Nánari lýsingu á þeim er hægt að fá í heimildum nr. 5 og 7.

3.2.2. Salmonella

Allar ræktunaraðferðir sem notaðar eru við einangrun og greiningu á Salmonellu er að finna í Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods(6).

4. NIÐURSTÖÐUR

TAFLA I. Tíðni Campylobacter og Salmonella sýkla eftir tegundum sýna.

TEGUND SÝNIS	FJÖLDI SÝNA	TÍÐNI
		% <u>Campylobacter</u> / <u>Salmonella</u>
Þorskur	12	0/0
Karfi	8	0/0
Ýsa	1	0/0
Rækja	6	0/0
Ufsi	2	0/0
Fiskur: tegund ekki tilgreind	8	0/0
Penslun fiskikassar úti	2	0/0
Penslun bretti undir fiskikassa	1	0/0
Penslun kassar inni ópvegnir	2	0/0
Penslun gólf móttöku	2	0/0
Penslun við niðurfall utandyra móttöku	1	0/0
Penslun gólf vinnslusal	1	0/0
Uppsóp af gólfi	1	0/0
Fiskúrgangur undir þvottakari móttöku	1	0/0
Fiskúrgangur í kassa undir færiband í móttöku	1	0/0
Penslun færiband með afskurði frá vinnslu	1	0/0
Samtals	50	0/0

5. UMRÆÐUR

Campylobacter jejuni vex ekki undir 30°C og hefur kjörhitastig við 42°C (5,7). Eins hafa Salmonella sýklar kjörhitastig við u.þ.b. 37°C. Því er mjög sjaldgæft að finna þessa sýkla í dýrategundum með kalt blóð og þ.a.l. ekki miklar lýkur á að þeir finnist í fiski.

Þó geta sýklarnir borist í fiskvinnslustöðvar með ýmsu móti og er þá líklegasta leiðin með mávadriti sem getur borist inn í móttöku með skóm eða á hjólbörðum flutningatækja. Eins geta fiskikassar mengast ef þeir eru geymdir utandyra.

Ef sýklarnir komast inn í fiskvinnsluhúsið geta þeir borist inn í framleiðslulínuna og þannig mengað afurðir.

Niðurstöður athugunarinnar og eins það að engar heimildir virðast vera um það að Campylobacter sýklar hafi fundist í fiski virðast benda til að ekki þurfi mjög að óttast að Campylobacter sýklar finnist í þessum afurðum hér á landi. Einnig virðast þær fáu athuganir sem gerðar hafa verið á tíðni Salmonella í frystum fiski og skelfiski benda til þess að hún sé mjög lítil þar. Þó verður alltaf að hafa í huga að þessir sýklar geta borist í fiskvinnslustöðvar, því þeir geta fundist víða í umhverfi, og því verður ávallt að viðhafa hreinlæti og vera vakandi fyrir mögulegum smitleiðum.

HEIMILDASKRÁ

1. Blankenship L.C., Hoffman P.S. 1986. SIGNIFICANCE OF CAMPYLOBACTER IN FOODS. Bls. 91 - 122 í Developements in Food Microbiology - 2. Edited by R.K. Robinson. Elsevier Applied Science Publishers London and New York.
2. Franco, D.A. 1988. CAMPYLOBACTER SPECIES: CONSIDERATIONS FOR CONTROLLING A FOODBORNE PATHOGEN. Journal of Food Protection, Vol. 51, No. 2, bls. 145 - 153.
3. Grímur Valdimarsson, Kristín Traustadóttir, Jón Jóhannesson 1982. GERLARANNSÓKNIR Á ÍSLENSKRI RÆKJU. Tæknitiðindi nr. 131. Rannsóknastofnun fiskiðnaðarins.
4. Grímur Valdimarsson 1978. SALMONELLA Í FISKIMJÖLI. Tæknitiðindi nr. 106. Rannsóknastofnun fiskiðnaðarins.
5. Nordisk Metodikkommitte för Livsmedel 1986. CAMPYLOBACTER JEJUNI/COLI. DETECTION IN FOODS. Nr. 119. Adress: c/o Statens tekniska Forskningscentral Livsmedelslaboratoriet, SF-02150 ESBO, FINLAND.
6. Speck, M.L. ed. 1976. COMPENDIUM OF METHODS FOR THE MICROBIOLOGICAL EXAMINATION OF FOODS. Washington D.C.: American Public Health Association.
7. Þuríður Gísladóttir, 1987. EINANGRUN OG GREINING Á CAMPYLOBACTER JEJUNI OG CAMPYLOBACTER COLI SÝKLUM ÚR MATVÆLUM. 30 eininga prófritgerð framhaldsnáms. Háskóli Íslands, líffræðiskor.

Fjölritunarstofa
Daniels Halldórssonar



Rannsóknastofnun
fiskiðnaðarins

Rannsóknastofnun
fiskiðnaðarins
Pósthólf 1390
Skúlagötu 4
121 Reykjavík
s. 91-20240
Telex: Símtex ís 3000
Telefax: 91-623790
Nnr. 7264-8242

Rannsóknastofnun
fiskiðnaðarins
Pósthólf 814
602 Akureyri
s. 96-25725

Rannsóknastofnun
fiskiðnaðarins
Pósthólf 64
Suðurgötu 2
400 Ísafjörður
s. 94-3768

Rannsóknastofnun
fiskiðnaðarins
Pósthólf 151
740 Neskaupstaður
s. 97-7250

Rannsóknastofnun
fiskiðnaðarins
Pósthólf 130
902 Vestmannaeyjar
s. 98-11471