



Rannsóknaniðurstöður

# Stofnagreiningar á 25 *Salmonella* stofnum

*Pulse-Field-Gel-Electrophoresis (PFGE) greiningar á 25 salmonellu stofnum í febrúar 2010 og samanburður á þeim við PFGE greiningar á nokkrum salmonellu stofnum sem voru rannsakaðir 2003 og 2008.*

31. maí 2010

## Efnisyfirlit

|  |    |
|--|----|
| Samantekt .....  | 2  |
| Inngangur .....  | 3  |
| Niðurstöður <i>Salmonella</i> Typhimurium.....                             | 4  |
| <i>Salmonella</i> Typhimurium – 9 stofnar .....                            | 4  |
| Niðurstöður <i>Salmonella</i> Worthington .....                            | 6  |
| <i>Salmonella</i> Worthington – 43 stofnar, rannsókn frá árinu 2003.....   | 6  |
| <i>Salmonella</i> Worthington – 10 stofnar, rannsókn frá febrúar 2010..... | 7  |
| Niðurstöður <i>Salmonella</i> Agona.....                                   | 12 |
| <i>Salmonella</i> Agona – 4 stofnar .....                                  | 12 |
| Niðurstöður <i>Salmonella</i> Kentucky .....                               | 16 |
| <i>Salmonella</i> Kentucky – tveir stofnar .....                           | 16 |
| Lokaorð .....  | 17 |
| Viðauki .....  | 18 |
| Almennt um PFGE stofngreiningar.....                                       | 18 |
| Hvað er PFGE stofnagreining ? .....  | 18 |
| Samantekt úr og tilvitnun í grein.....                                     | 20 |

## Samantekt

Rannsakaðir voru 25 salmonellu stofnar í febrúar 2010 með pulse-field-gel-electrophoresis (PFGE) greiningu á Sýklafræðideild Landspítala í þeim tilgangi að greina og bera saman erfðafræðilegt mynstur þeirra, skoða faraldsfræðileg tengsl sermisgerðanna og meta hvort uppruni þeirra gæti verið sá sami. Níu *Salmonella* Typhimurium stofnar, tíu *Salmonella* Worthington stofnar, tveir *Salmonella* Kentucky stofnar og fjórir *Salmonella* Agona stofnar voru rannsakaðir.

Sjö *Salmonella* Typhimurium stofnar voru af svínaskrokkum og tveir úr fersku svínakjöti í neytendumbúðum. Allir stofnarnir reyndust óaðgreinanlegir og höfðu faraldsfræðileg tengsl sín á milli. Það er metið líklegt að *Salmonella* Typhimurium stofninn í svínakrokkunum sé forveri stofnanna í svínakjöti á markaði.

*Salmonella* Worthington stofnarnir skiptust í tvo óskylda hópa, A og B. Sex stofnar eru í hópi A, einn af kjúklingabúi, einn af kalkúnabúi og fjórir af þremur svínabúum. Fimm stofnanna reyndust óaðgreinanlegir og einn náskyldur þeim. Stofnar í hópi A eru óaðgreinanlegir frá átta D 1 stofnum í rannsókn frá árinu 2003. Það er metið líklegt að forveri þessara stofna sé úr sýni merktu fóðurverksmiðju. Fjórir stofnar eru í hópi B frá þremur svínabúum. Þeir eru óaðgreinanlegir og augljós faraldsfræðileg tengsl á milli þeirra. Upplýsingar skortir til þess að leggja mat á uppruna þeirra.

Fjórir *Salmonella* Agona stofnar voru af þremur kjúklingabúum í eigu sama fyrirtækis. Stofnarnir voru allir óaðgreinanlegir. Það er metið líklegt að stofnarnir hafi smitast innan búanna. Stofnarnir fjórir voru einnig óaðgreinanlegir frá tveimur stofnum sem voru rannsakaðir árið 2008 frá einu af ofangreindum kjúklingabúum og náskyldir tveimur stofnum frá öðru aðskildu kjúklingabúi úr 2008 rannsókninni. Þar sem að forveri *S. Agona* stofnanna fannst ekki er ekki hægt út frá 2008 eða 2010 rannsókninni að meta það líklegt að þeir hafi borist með fóðri inn á tvö aðskilin bú árið 2008 og eitt bú árið 2009 en það er metið hugsanlegt.

Tveir *Salmonella* Kentucky stofnar, annar sem greindist við löndun á fóðri og hinn sem greindist í alifuglaeldi, voru náskyldir. Faraldsfræðileg tengsl eru á milli stofnanna. Það er metið líklegt að um sama stofn sé að ræða. Það er sömuleiðis metið líklegt að fóðurstofninn sé forveri stofnsins í alifuglaeldinu, en ályktunina verður að skoða í ljósi þess hversu lítill efniviðurinn er.

## Inngangur

Þegar *Salmonella* Typhimurium greindist í svínagúllasi sumarið 2009 í tilbúnum neytendapakningum var ákveðið að bera saman stofnana úr svínakjötinu við *Salmonella* Typhimurium stofna úr stroksýnum sem greinst höfðu við hefðbundið eftirlit með salmonellu við slátrun grísa á sama tímabili. Það dróst hins vegar að hefja rannsóknina en hún vatt upp á sig. Þar sem hægt var að rannsaka allt að 25 stofna á sömu plötu var ákveðið að velja fleiri stofna til rannsókna.

*Salmonella* Worthington greindist í kalkúnum í desember 2009. Hún fannst í fyrsta sinn í svínum árið 2005 og í nokkur skipti eftir það ásamt því að hafa greinst árið 2004 við slátrun kjúklinga. *Salmonella* Worthington greindist einnig í sýnum árið 2003 en ekki var vitað hvaðan þau voru. Það þótti því áhugavert að bera þessa stofna saman.

Þegar rannsóknin spurðist út barst ósk frá einum af kjúklingaframleiðendum landsins um að bera saman *Salmonella* Agona stofna sem smitað höfðu tvö aðskilin hús í eigu fyrirtækisins sem ekki höfðu verið jákvæð áður. Að mati framleiðslustjóra fyrirtækisins var engin augljós skýring á því hvernig smit hefði borist í húsin og var óskað eftir rannsókninni til þess að kanna hvort um sama stofn væri að ræða í þessum tveimur nýsmituðu húsum og í öðrum húsum fyrirtækisins sem smituð voru áður af *Salmonella* Agona. Matvælastofnun varð við þessari ósk.

Þegar *Salmonella* Kentucky greindist á kjúklingabúi í lok desember 2009 eftir að sama sermisgerð bakteríunnar hafði greinst í ryksýni við löndun á fóðurefni um miðjan október 2009 óskaði dýralæknir alifuglasjúkdóma eftir því að þessir tveir stofnar yrðu bornir saman í sömu rannsókn.

Haft var samband við Sýklafræðideild Landspítala varðandi stofnagreiningar og varð niðurstaðan sú, að allir stofnarnir voru greindir með PFGE í sömu rannsókninni. Samtals voru greindir 25 stofnar: 9 *Salmonella* Typhimurium stofnar, 10 *Salmonella* Worthington stofnar, 4 *Salmonella* Agona stofnar og 2 *Salmonella* Kentucky stofnar.

Hafa ber í huga við lestur skýrslunnar að gerður er greinarmunur á hugsanlegu og líklegu smiti eða að smit hafi líklega eða hugsanlega borist með tilteknum hætti. Þegar smit er einkennt sem **líklegt smit** (hafi líklega borist) er átt við að meiri líkur séu taldar á að það berist með tilteknum hætti samanborið við það sem einkennt er sem **hugsanlegt smit** (hafi hugsanlega borist). Meiri líkur eru því taldar á þegar smit er t.d. einkennt sem líklegt vektorborið smit frá A til B, að smit hafi átt sér stað með þeim hætti, samanborið við hugsanlegt vektorborið smit frá A til B.

Sömuleiðis er mikilvægt að hafa í huga við lestur skýrslunnar að forsenda þess að smit sé einkennt sem líklegt frá A til B er að sama sermisgerðin hafi fundist á A og B og að stofnarnir séu óaðgreinanlegir eða náskyldir erfðarfræðilega séð og að faraldsfræðileg tengsl séu á milli sermisgerðanna.

Þó svo að í sumum tilvikum megi færa rök fyrir því í skýrslunni að hugsanlegt smit megi einkenna sem líklegt smit er það ekki gert. Ástæða þess er fyrst og fremst sú að vísindaleg gögn (greiningar salmonellu og niðurstöður úr PFGE rannsóknum) skortir til þess að styrkja aðrar ályktanir en þær sem fram koma í skýrslunni.

## Niðurstöður *Salmonella* Typhimurium

### *Salmonella* Typhimurium – 9 stofnar.

Sumarið 2009 fóru Matvælastofnun og heilbrigðiseftirlit sveitarfélaganna í sérstakt eftirlitsverkefni með svínakjöti á markaði. Tilefni verkefnisins var aukin tíðni salmonellu í svínarækt og við slátrun svína. Tekin voru 91 sýni af svínakjöti víðsvegar um landið. *Salmonella* greindist í þremur sýnum og var *Salmonella* Typhimurium staðfest í tveimur þeirra. Þriðja sýnið var ekki staðfest né sermisgreint. Sýnin sem *S. Typhimurium* var staðfest í voru tekin 8. og 9. júní 2009. Skömmu fyrr greindist *Salmonella* Typhimurium í stroksýnum af svínaskrokkum m.a. þann 5., 13., 19. og 29. maí og sömuleiðis þann 2., 4. og 5. júní. Yfirlit sýna kemur fram í 1. töflu.

1. tafla. PFGE rannsókn á 9 *S. Typhimurium* stofnum – yfirlit yfir uppruna sýna.

| Dags. sýnatöku | Sýni af/frá/úr                                  | <i>Salmonella</i> | Kjötvinnsla        |
|----------------|---|-------------------|--------------------|
| 5. maí 2009    | Svínaskrokkum frá Melum                         | Typhimurium       |                    |
| 13. maí 2009   | Svínaskrokkum frá Brautarholti                  | Typhimurium       |                    |
| 19. maí 2009   | Svínaskrokkum frá Melum                         | Typhimurium       |                    |
| 29. maí 2009   | Saltvík, sláturhúsrétt, m.a. stök úr vatnstrogi | Typhimurium       |                    |
| 2. júní 2009   | Svínaskrokkum frá Minni – Vatnsleysu            | Typhimurium       |                    |
| 4. júní 2009   | Svínaskrokkum frá Brautarholti                  | Typhimurium       |                    |
| 5. júní 2009   | Svínaskrokkum frá Melum                         | Typhimurium       |                    |
| 8. júní 2009   | Svínagúllasi í Bónus Mosfellsbæ                 | Typhimurium       | Ferskar Kjöttvörur |
| 9. júní 2009   | Svínagúllasi í Bónus Fiskislóð, Reykjavík       | Typhimurium       | Ferskar Kjöttvörur |

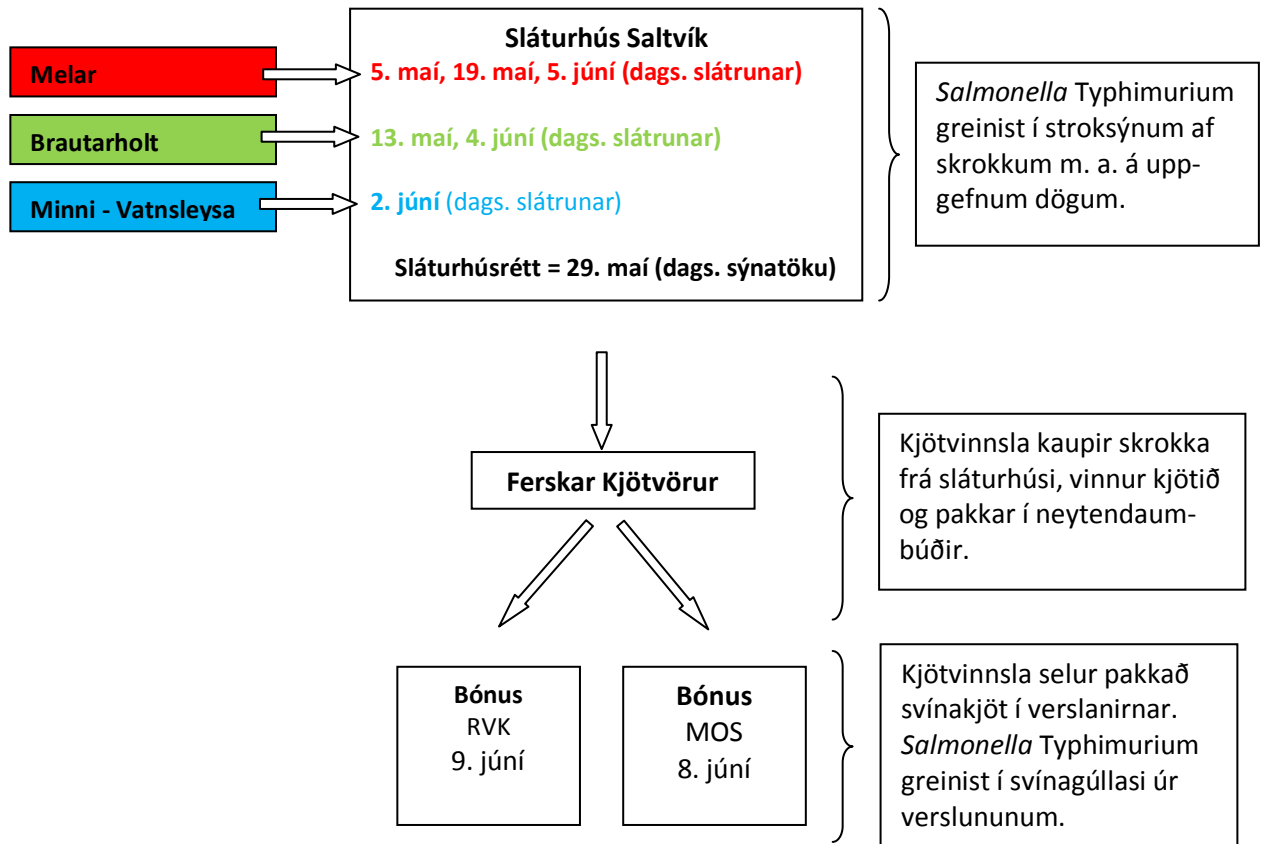
Allir *Salmonella* Typhimurium stofnarnir sýndu sama mynstur á gelplötunni og voru því óaðgreinanlegir. Líklegt er að uppruna salmonellu stofnanna sem greindust í svínagúllasinu megi rekja til svínaskrokkanna enda um:

- Sama mynstur að ræða í PFGE greiningunni
- Sama sláturhús (sami staður)
- Sama tíma ( 5. maí 2009 – 9. júní 2009)

Í ofangreindum tilfellum er um erfðafræðileg og faraldsfræðileg tengsl að ræða á milli stofnanna.

Uppruni *Salmonella* Typhimurium stofnanna í svínaskrokkunum er óljós. Athyglisvert er hins vegar að *Salmonella* Typhimurium hefur ekki greinst í saursýnum af svínabúunum frá árinu 2005. Þann hugsanlega möguleika þarf að hafa í huga að stofninn sé staðbundinn í sláturhúsinu og smiti svínin fyrir slátrun. Stofninn getur þó verið á einhverju svínabúanna og borist með grísunum í sláturhúsið við flutning þeirra þangað en frekari rannsókna er þörf svo finna megi uppruna stofnsins.

Kanna þarf hvort *Salmonella* Typhimurium stofnar sem áður hafa verið stofnagreindir (m.a. þeir sem fjallað er um í doktorsvörn Þórunnar Rafnar Þorsteinsdóttur í október 2009) séu skyldir þeim stofnum sem rannsakaðir voru nú. Hugsanlega má finna forvera 2010 stofnanna þar. Komi upplýsingar um slíkt í ljós mun það birt síðar.

1. mynd. Yfirlit yfir *Salmonella* Typhimurium stofnana og hvar þeir greindust.

## Niðurstöður *Salmonella* Worthington

### *Salmonella* Worthington – 43 stofnar, rannsókn frá árinu 2003

Árið 2003 var gerð PFGE rannsókn (við Sýklafræðideild Landspítala) á 43 *Salmonella* Worthington stofnum sem voru m.a. úr fóðri frá Noregi (15 stofnar) og úr sjúklingum, kjúklingum og umhverfi fóðurverksmiðju á Íslandi (28 stofnar). Að rannsókn lokinni komu í ljós 12 mismunandi hópar *Salmonella* Worthington. Einn hópurinn frá Íslandi var auðkenndur sem *Salmonella* Worthington D 1 og voru í honum 8 óaðgreinanlegir stofnar með sama mynstur. Hópurinn var ekki skyldur öðrum hópum í rannsókninni. Eftirfarandi stofnar í 2. töflu voru í D 1 hópnum:

2. tafla. – PFGE rannsókn frá 2003 á m.a. 8 *Salmonella* Worthington stofnum, yfirlit.

| <i>Salmonella</i> | PFGE auðkenni | Merking sýna                                | Dags. sýnatöku |
|-------------------|---------------|---|----------------|
| Worthington       | D 1           | Fóðurfyrirtæki, ryksugusýni <sup>1</sup>    | 28/3 2003      |
| Worthington       | D 1           | Fóðurfyrirtæki, ryksugusýni <sup>1</sup>    | 28/3 2003      |
| Worthington       | D 1           | Fóðurfyrirtæki, hreinlætissýni <sup>2</sup> | 2/5 2003       |
| Worthington       | D 1           | Móar – hús 5, saursýni kjúklingar           | 10/6 2003      |
| Worthington       | D 1           | Móar – hús 5, saursýni kjúklingar           | 5/8 2003       |
| Worthington       | D 1           | Fóðurfyrirtæki, ryksugusýni <sup>1</sup>    | 8/8 2003       |
| Worthington       | D 1           | Hurðarbak – hús 31, saursýni kjúklingar     | 14/8 2003      |
| Worthington       | D 1           | Hurðarbak – hús 31, stroksýni eftir þrif    | 2/10 2003      |

1 = 200 – 300 g af ryki tekin með einnota skeið úr kari þar sem óhreinindum/ryki er safnað saman úr ryksugukerfinu eftir ryksugun gólfa þar sem sérstakur barki og stútur er á hverri hæð. Jarðhæð hafði tengsl við ytra umhverfi fóðurfyrirtækisins á þessum tíma.

2 = 200 – 300 g af óhreinindum/ryki tekið með einnota skeið af gólfi á jarðhæð.

Niðurstöður 2003 rannsóknarinnar eru athyglisverðar séðar í ljósi 2010 rannsóknarinnar því allir 8 stofnarnir í 2. töflu eru óaðgreinanlegir frá sumum *Salmonella* Worthington stofnunum sem rannsakaðir voru árið 2010. Nánar verður komið inn á þetta í þessari greinargerð þar sem færð verða rök fyrir fraldsfræðilegum tengslum á milli stofnanna úr þessum rannsóknum.

Matvælastofnun fékk ekki vitneskju um hvaðan stofnarnir fjórir voru, sem eru auðkenndir í 2. töflu sem stofnar í sýnum merktir fóðurfyrirtæki, fyrr en 7 árum eftir sýnatökurnar. Ákvæði um upplýsingaskyldu á greiningu salmonellu í fóðri voru ekki í lögum eða reglugerðum fyrr en matvælalöggjöfin tók gildi hér á landi 1. mars 2010. Matvælalöggjöfin er ekki afturvirk en Fóðurblandan ehf, sem eigandi þessara sýna, ákvað engu að síður að upplýsa um hvaðan sýnin væru þegar Matvælastofnun spurðist fyrir um uppruna þeirra hjá rannsóknastofunni sem rannsakaði sýnin á þessum tíma. Upplýsingar nú um uppruna þeirra geta varpað nýju ljósi á smitdreifingu *Salmonella* Worthington í svína- og kjúklingældi hér á landi.

Í þessu samhengi er rétt að benda á að *Salmonella* Worthington greindist fyrst í ryksugusýni merkt fóðurfyrirtæki 28. mars 2003, en þessi fyrsta greining hefur mikla þýðingu í faraldsfræðilegu samhengi. Einnig ber að hafa í huga að á þessum tíma og fram til dagsins í dag hafa fóðurfyrirtæki hér á landi notað sama birgi og því má ætla að ef salmonellumengað fóður berst til landsins þá geti slík mengun borist áfram með vörum frá fleiri en einu fyrirtæki. Bent er á að *Salmonella* Worthington greindist í umhverfissýnum (úr vatnspólli á plani og af dekkjum útilyftara) árið 2008 við innra eftirlit í öðru

fóðurfyrirtæki en þeir stofnar eru ekki með í þessari rannsókn. Af þeim sökum er ekki hægt að meta skyldleika þeirra við aðra *S. Worthington* stofna.

### ***Salmonella* Worthington – 10 stofnar, rannsókn frá febrúar 2010**

Eins og fram kemur í 2. töflu greindist *Salmonella* Worthington í júní og ágúst 2003 í 2 sýnum úr kjúklingarækt frá Móum (hús 5) og í tveimur sýnum í október frá Hurðarbaki (hús 31), þ.e. einu saursýni og í einu stroksýni eftir þrif (hús 31), en bakterían hefur greinst víðar síðan þá. Árið eftir eða 2004 greindist *Salmonella* Worthington í hálsaskinnssýni frá Móum, nú úr fuglum í húsi 3. Snemma árs 2005 greindist bakterían í fyrsta sinn í svínarækt hér á landi í saursýni frá Minni – Vatnsleysu. Sama sermisgerð bakteríunnar greindist í stroksýni af skrokkum frá svínabúinu við slátrun um mitt ár 2009. Við saursýnatökur á svínabúinu á Bjarnastaðum árið 2008 er *Salmonella* Worthington staðfest í tveimur saursýnum en samtals reyndust fjögur sýni jákvæð m.t.t. salmonellu í þessari sýnatöku. Seinna á árinu 2008 greinist *Salmonella* Worthington á þriðja svínabúinu eða á Skriðulandi. Á árinu 2009 greinist bakterían á þremur svínabúum til viðbótar, á Melum, Sléttabóli og Þórustaðum en í desember sama ár greinist *Salmonella* Worthington á kalkúnabúinu Helludal en þar hafa áður verið svín eða um níu mánaða skeið á árinu 1997 eða 1998. Það þótti áhugavert að bera saman þessa stofna þó svo þeir hefðu greinst á löngu tímabili eða á 7 árum. Á fyrsta ársfjórðungi 2010 greinist *Salmonella* Worthington í kjúklingaeldi á Móum húsi 5, í ryksýni úr fóðursíloi á Móum (fyrir hús 6 og 7) og í eldi kalkúna á Bakka en þessir þrjú síðastnefndu stofnar eru ekki með í þessari rannsókn.

**3. tafla. Yfirlit yfir 10 *Salmonella* Worthington stofna sem rannsakaðir voru í PFGE feb. 2010 og hvar þeir hafa greinst.**

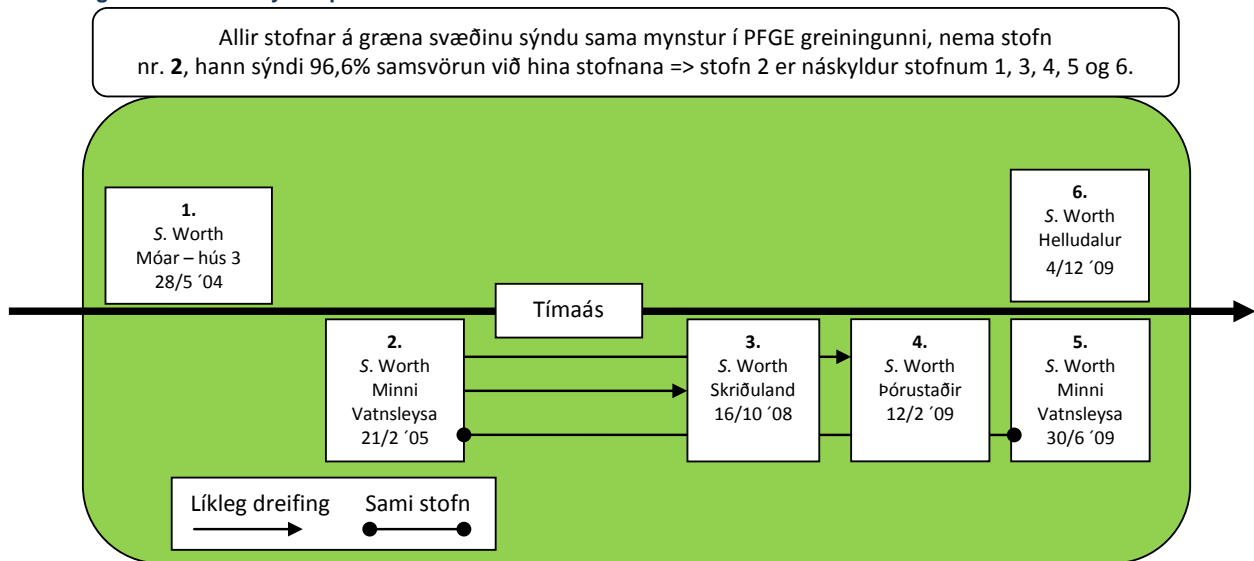
| <i>Salmonella</i>  | Hópar í PFGE | Hvaðan ?                  | Sýni                     | Dags. Sýnatöku |
|--------------------|--------------|---------------------------|--------------------------|----------------|
| <b>Worthington</b> | A            | Móar – hús 3, kjúklingar  | Hálsaskinn               | 28/5 '04       |
| <b>Worthington</b> | A            | Minni – Vatnsleysa – svín | Saursýni                 | 21/2 '05       |
| <b>Worthington</b> | B            | Bjarnastaðir – svín       | Saursýni                 | 8/8 '08        |
| <b>Worthington</b> | B            | Bjarnastaðir – svín       | Saursýni                 | 8/8 '08        |
| <b>Worthington</b> | A            | Skriðuland – svín         | Saursýn                  | 16/10 '08      |
| <b>Worthington</b> | B            | Melar – svín              | Stroksýni, svínaskrokkar | 12/1 '09       |
| <b>Worthington</b> | B            | Sléttaból – svín          | Saursýni                 | 26/1 '09       |
| <b>Worthington</b> | A            | Þórustaðir – svín         | Saursýni                 | 12/2 '09       |
| <b>Worthington</b> | A            | Minni – Vatnsleysa – svín | Stroksýni, svínaskrokkar | 30/6 '09       |
| <b>Worthington</b> | A            | Helludalur – kalkúnar     | Saursýni                 | 4/12 '09       |



## Hópur A (6 stofnar) – Fimm *Salmonella* Worthington óaðgreinanlegir stofnar og einn náskyldur stofn.

Sex *Salmonella* Worthington stofnar skildu sig að frá hinum fjórum *Salmonella* Worthington stofnunum sem voru rannsakaðir í þessari rannsókn og eru auðkenndir hér sem hópur A. Fimm af sex stofnum í hópi A voru óaðgreinanlegir og með sama mynstur en einn þeirra var náskyldur hinum fimm. Sjá 2. mynd.

### 2. mynd – Hópur A = 6 stofnar rannsakaðir í PFGE febrúar 2010 - Fimm *Salmonella* Worthington óaðgreinanlegir stofnar og einn stofn náskyldur þeim.



**Sami stofn:** Hér er átt við að um sama klón sé að ræða enda greinist hann á sama svínabúinu.

Ef horft er framhjá 2003 PFGE rannsókninni að sinni og ályktanir eingöngu dregnar af 2010 rannsókninni, eru engin augljós faraldsfræðileg tengsl á milli stofna nr. 1 og 6. Uppi var getgáta um að stofn úr svínum hefði borist í Helludal með svínum frá Minni – Vatnsleysu, hefði varðveist í húsunum og borist í kalkúnana með þeim hætti. Nú hefur hins vegar komið í ljós að svín frá Minni – Vatnsleysu voru aldrei í Helludal, en þangað fóru svín frá Brautarholti á árunum 1997 eða 1998. Svínin voru á staðnum í um 9 mánuða skeið. Þrátt fyrir að stofnar nr. 1 og 6 séu óaðgreinanlegir erfðafræðilega séð vantar, ef horft er framhjá 2003 rannsókninni, öll faraldsfræðileg tengsl á milli þeirra auk þess sem stofn nr. 1 er frá árinu 2004 og stofn nr. 6 er frá árinu 2009.

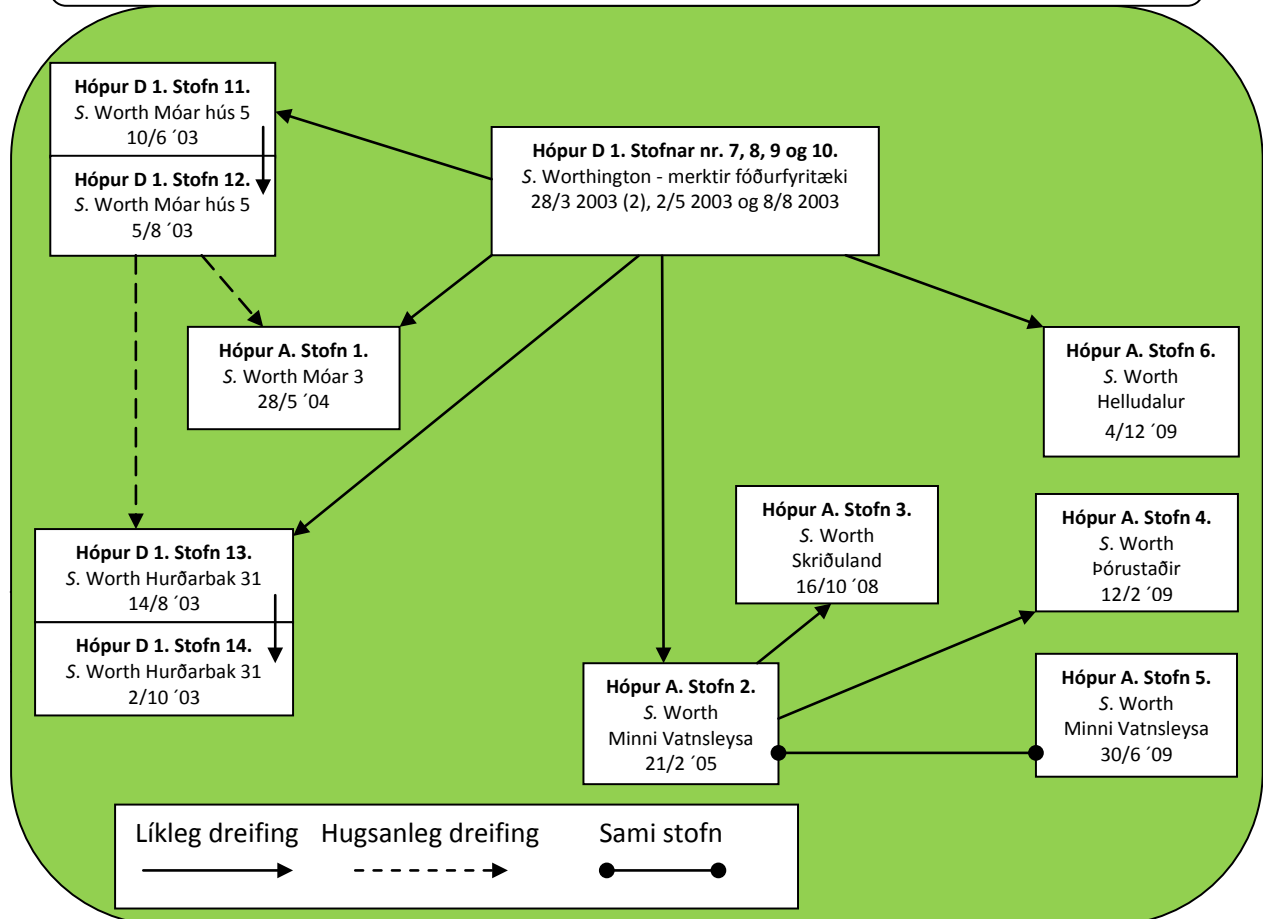
Auðvelt er hins vegar að tengja faraldsfræðilega saman stofna 2, 3, 4 og 5. Þó svo stofn nr. 2 frá Minni – Vatnsleysu sé aðgreinanlegur frá stofnum 3, 4 og 5 er hann náskyldur þeim og því líklega um sama stofn að ræða. *Salmonella* Worthington greinist fyrst í svínum á Minni – Vatnsleysu árið 2005. Grísir frá Minni – Vatnsleysu hafa verið fluttir í eldi til annarra svínabúa á landinu, en þau eru Skriðuland í Langadal og Pórustaðir í Ölfusi. Líklegt er að stofnar sem greinast á Skriðulandi og Pórustöðum hafi borist þangað með grísunum frá Minni – Vatnsleysu. Stofn nr. 5 greinist í stroksýni af skrokkum frá Minni – Vatnsleysu og er líklegt að hann hafi borist í sláturhúsið með sláturgrísunum þaðan. Þó svo hér sé um 5 ára tímabil að ræða er líklegt að *Salmonella* Worthington stofninn varðveitist í umhverfi svínabúsins á Minni – Vatnsleysu og geti borist með grísunum á önnur bú eða í sláturhús við flutning grísa þaðan. Stofnar 2, 3, 4 og 5 eru óaðgreinanlegir eða náskyldir, faraldsfræðileg tengsl eru á milli þeirra og þrátt fyrir langt tímabil er líklegt að uppruni þeirra sé á Minni – Vatnsleysu.

Ef eingöngu er gengið úr frá 2010 rannsókninni er ekki hægt að skýra út hvernig stofninn, forverinn, barst inn á Móa, Minni – Vatnsleysu og Helludal á þessu langa tímabili. Engin augljós tengsl eru á milli

Þessara þriggja bóa ef ekki er tekið tillit til 2003 rannsóknarinnar. Áður en lengra er haldið er rétt að skoða hvernig talsvert breytt 2. mynd lítur út, og nú sem 3. mynd, þegar inn á hana hefur verið bætt stofnum frá 2003. *Salmonella* Worthington D 1 stofnarnir úr þeirri rannsókn reyndust óaðgreinanlegir, með samanburði á gelplötum, frá stofnunum í 2010 rannsókninni og með sama PFGE mynstur (tölvu-póstur frá Sýklafræðideild Landspítala, dagsettur 17. mars 2010).

### 3. mynd – Hópur A (2010) og D 1 (2003) og tengsl þeirra á milli.

**Allir** stofnar á græna svæðinu sýndu sama mynstur í PFGE greiningum frá 2003 og 2010, nema stofn 2, hann sýndi 96,6% samsvörun við hina stofnana => stofn 2 er náskyldur stofnum 1 og 3 – 14.



**Sami stofn:** Hér er átt við að um sama klón sé að ræða enda greinist hann á sama svínabúinu.

Smit hefur hugsanlega borist á milli húsa 5 og 3 á Móum og hugsanlega á milli Móa og Hurðarbaks þar sem sumt er sameiginlegt með þessum búum svo sem ungar, flutningabíll unga, verktaki þrifa og verktaki viðgerða og viðhalds. Líklegt er þó að nýsmit hafi tvisvar átt sér stað á Móa, þ.e. í hús 5 og 3. Í þessu samhengi ber að hafa í huga að nokkrir fuglahópar höfðu verið aldir upp í húsi 5 á Móum þegar smit greindist í húsi 3. Ef smit hefði borist frá húsi 5 í hús 3 er líklegt að smit hefði komið fram í fuglahópum í húsi 5 á tímabilinu (5/8 2003 til 28/5 2004) en sú varð ekki raunin. Af þessum sökum er líklegt að smit hafi borist í hús 3 með fóðri.

Um tveir mánuðir líða á milli tilfellinganna í húsi 5 á Móum og húsi 31 að Hurðarbak. Samkvæmt gögnum frá Matfugli ehf. þá keyptu Móar fóður frá Mjólkurfélagi Reykjavíkur (MR) þegar hús 5 smitaðist en Hurðarbak keypti fóður frá Fóðurblöndunni þegar hús 31 smitaðist. Gögn frá Fóðurblöndunni segja hins vegar að Hurðarbak hafi ekki fengið fóður frá fyrirtækinu fyrr en í nóvember 2003, eða um þremur

mánuðum eftir fyrstu sýnatöku sem staðfesti sýkingu í húsi 31. Í þessu samhengi er það ekki megin atriðið frá hverjum mengunin berst, heldur hitt að niðurstöðurnar benda til líklegrar mengunar með fóðri.

Sem kunnugt er fóðra alifuglabændur fugla sína með tilbúnu hitameðhöndluðu köggluðu fóðri. Samkvæmt ofangreindu er líklegt að tilbúið hitameðhöndlað kögglað fóður hafi borið *Salmonella* Worthington stofninn a.m.k. inn á Móa, Minni – Vatnsleysu og Helludal og annaðhvort líklega eða hugsanlega á Hurðarbak. Minni – Vatnsleysa tók upp heimablöndun fóðurs frekar seint samanborið við önnur svínabú eða árið 2007 og keypti tilbúið hitameðhöndlað kögglað fóður fram að því og gerir reyndar enn fyrir spena- og fráfarugrísí (persónulegar uppl. Ib Göttler, Ísmörk). Mengun í tilbúnu hitameðhöndluðu köggluðu fóðri hefur því líklega borist á Minni – Vatnsleysu með þessum hætti.

Ólíklegt verður að teljast að stofn með erfðafræðilega sama mynstrið sé fyrir tilviljun inn á þremur eða fjórum aðskildum búum, þ.e. einu eða tveimur kjúklingabúum, einu svínbúi og einu kalkúnabúi. Það sem mælir gegn þessari kenningu er langt tímabil á milli greininga á Móum og Helludal eða 7 ár. Það sem getur skýrt út langan tíma á milli greininganna er að stofninn, forverinn, sé staðbundinn í fóðurverksmiðjunum og mengi hugsanlega tilbúið hitameðhöndlað fóður þegar óheppilegar aðstæður koma upp í þeim eða að hann sé staðbundinn í húsnæði birgja eða í tækjabúnaði hans og berist hugsanlega stopult með krossmenguðu hráefni eða ryki inn í fóðurverksmiðjurnar frá honum. Nýleg doktors vörn í Noregi (Biofilm forming abilities of *Salmonella* are correlated with persistence in fish meal- and feed factories. Vestby, L.K., Møretrø, T., Langsrud, S., Heir, E., Nesse, L.L. 2009. BMC Veterinary Research, Vol 5:20), leiddi í ljós líkur á því að *Salmonella* geti varðveist í mörg ár í fóðurverksmiðjum í skjóli „lífhimnu“ (biofilm) sem bakteríurnar mynda og gera þær þolnar gegn hefðbundnum þrifum og sótthreinsunum (sjá samantekt úr grein í viðauka á bls. 20). Hafa verður einnig í huga að *Salmonella* getur hugsanlega varðveist með sama hætti í fóðurkerfum svínabúanna og verið uppspretta stopulla sýkinga í svínaeldi.

Af ofangreindu má því álykta að líklegt sé að:

- forveri *S. Worthington* stofnanna á búunum sem smitast hafa sé stofninn í sýnum merktum fóðurfyrirtæki og
- að hann hafi borist inn á a.m.k. þrjú bú eða fjögur bú með tilbúnu hitameðhöndluðu köggluðu fóðri enda
- hafa allir stofnarnir að einum undanskildum sama PFGE mynstur og
- ekki er um önnur augljós faraldsfræðileg tengsl að ræða á milli a.m.k. þriggja búa (Móar, Minni – Vatnsleysa, Helludalur).

## Hópur B – Fjórir óaðgreinanlegir *Salmonella* Worthington stofnar

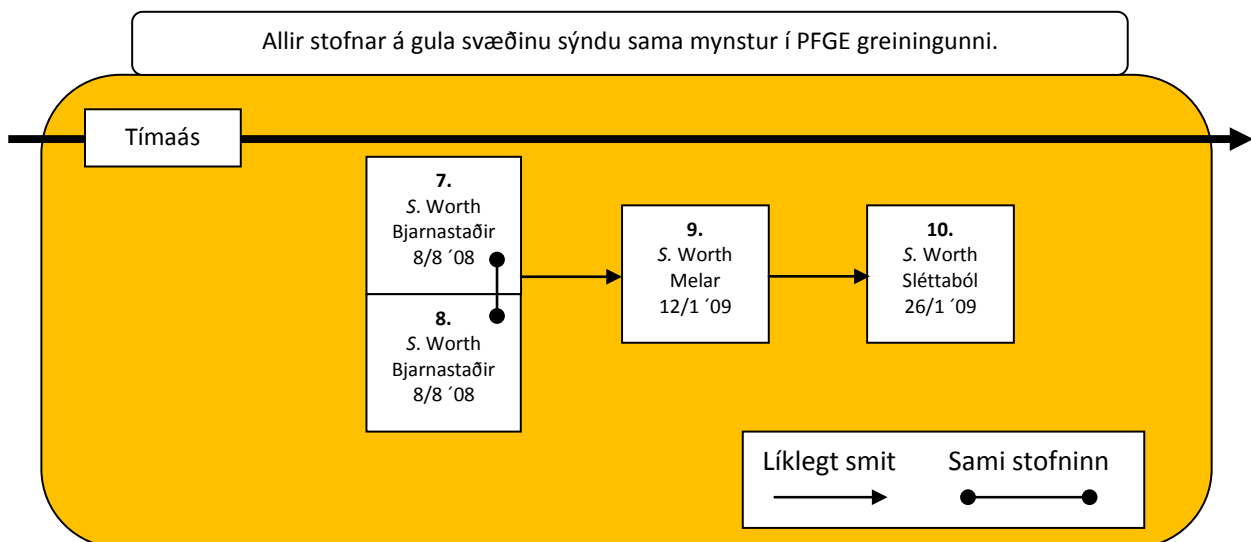
Fjórir *Salmonella* Worthington stofnar skildu sig að frá hinum 6 stofnunum sem fjallað er um hér fram- ar. Þessir fjórir stofnar reyndust allir vera óaðgreinanlegir með sama PFGE mynstur. Hópar A og B eru ekki skyldir.

Augljós faraldsfræðileg tengsl eru á milli stofnanna fjögurra. Sami eigandi er að Bjarnastöðum, Melum og Sléttabóli og eru búin rekin í tengslum við hvert annað. Hafi stofninn borist fyrst inn á Bjarnastaði eins og sýnataka gefur til kynna var það væntanlega eingöngu spurning um tíma hvenær hann bærist inn á Sléttaból og Mela því flæði dýra er frá Bjarnastöðum yfir á hin búin en ekki öfugt. Líklegt er því að uppruna þessara stofna megi rekja til Bjarnastaða enda um:

- sama mynstur að ræða í PFGE greiningunni
- sameiginlegan rekstur svínabúanna að ræða (sami staður)
- svipaðan tíma (8. ágúst 2008 – 26. janúar 2009).

Erfðafræðileg og faraldsfræðileg tengsl eru því á milli stofnanna.

### 4. mynd – Hópur B - Fjórir óaðgreinanlegir *Salmonella* Worthington stofnar rannsakaðir í PFGE febrúar 2010.



Sami stofn: Hér er átt við að um sama klón sé að ræða frá sama búinu enda sýnin tekin á sama tíma.

Hvernig stofninn hefur borist inn á Bjarnastaði er lítið hægt að fullyrða um út frá þessari rannsókn enda ekki um samanburð að ræða við annan *Salmonella* Worthington stofn annarsstaðar frá. Forverinn er því óþekktur.

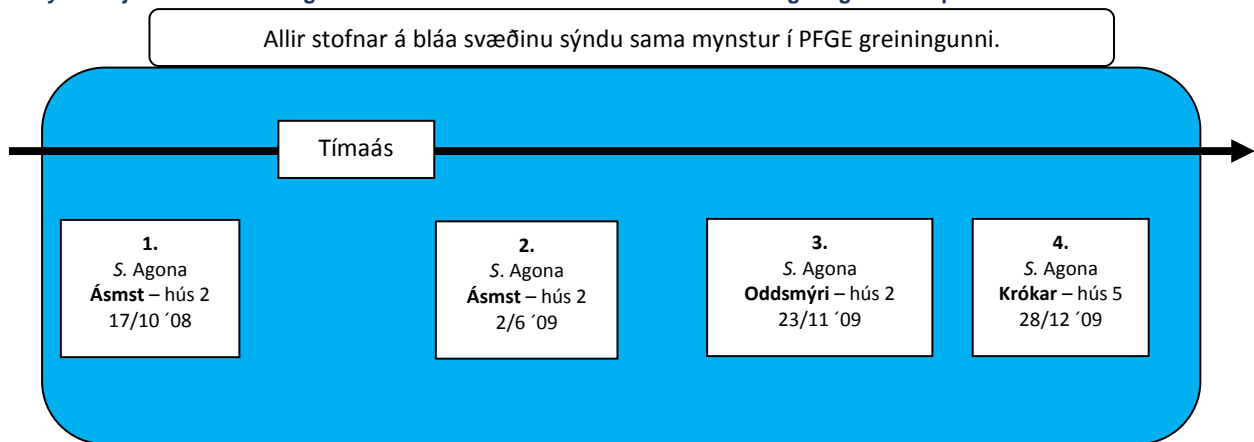
## Niðurstöður *Salmonella* Agona

### *Salmonella* Agona – 4 stofnar

*Salmonella* Agona greindist fjórum sinnum á árinu 2009 á þremur kjúklingabúum þ.e. Ásmundarstöðum, Oddsmýri og Krókum. Óskað var eftir því að hálfu framleiðslustjóra Reykjagarðs að *Salmonella* Agona stofnar frá Oddsmýri og Krókum yrðu bornir saman við stofn frá Ásmundarstöðum í þeim tilgangi að kanna skyldleika þeirra. Matvælastofnun varð við þessari ósk og lét rannsaka fjóra *Salmonella* Agona stofna, tvo frá Ásmundarstöðum úr húsi 2, einn frá Oddsmýri úr húsi 2 og einn frá Krókum úr húsi 5.

Niðurstaða rannsóknarinnar var sú að stofnarnir eru óaðgreinalegir með sama erfðafræðilega mynstrið.

#### 5. mynd – Fjórir *Salmonella* Agona stofnar rannsakaðir í PFGE febrúar 2010 og tengsl á milli þeirra.

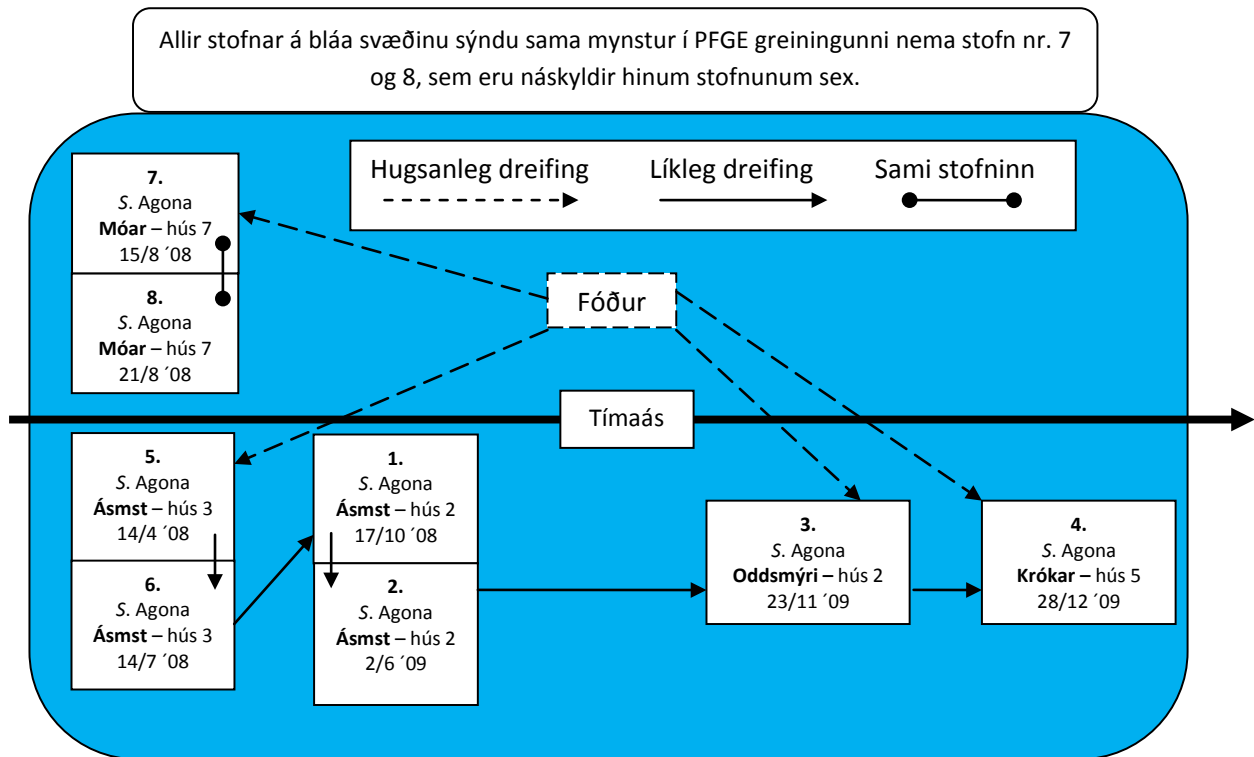


Árið 2008 höfðu tveir *Salmonella* Agona stofnar úr húsi 3 á Ásmundarstöðum og tveir stofnar frá Móm úr húsi 7 verið bornir saman í PFGE rannsókn. Þessir fjórir stofnar greindust allir á árinu 2008. Niðurstaða rannsóknarinnar var sú að stofnarnir á Ásmundarstöðum voru óaðgreinanlegir, stofnarnir á Móm sömuleiðis og reyndust þeir náskyldir stofnunum frá Ásmundarstöðum.

Með því að bera saman myndir af gelplötum frá 2008 rannsókninni og myndir af gelplötum frá 2010 rannsókninni kom í ljós (tölvupóstur Sýklafræðideild Landspítala, 17. mars 2010) að S. Agona stofnarnir tveir frá Ásmundarstöðum (2008) eru með sama mynstur og S. Agona stofnarnir í 2010 rannsókninni frá sama búi. Stofnarnir úr húsum 2 og 3 eru því samkvæmt þessu óaðgreinanlegir. Af þessu leiðir að S. Agona stofnarnir frá Móm í 2008 rannsókninni eru sömuleiðis náskyldur stofnunum úr húsum 2 og 3 á Ásmundarstöðum.

Áður en lengra er haldið er rétt að skoða hvernig 5. mynd lítur út þegar inn á hana hefur verið bætt stofnunum úr 2008 rannsókninni og nú sem 6. mynd.

6. mynd – Átta *Salmonella* Agona stofnar rannsaðir í PFGE 2010 (stofnar nr. 1, 2, 3 og 4 á mynd) og 2008 (stofnar 5, 6, 7 og 8 á mynd) og tengsl á milli þeirra.



**Sami stofn:** Hér er átt við að um sama klón sé að ræða enda úr sama fuglahópnum.

4. tafla. – Yfirlit yfir *Salmonella* Agona stofna og hvar þeir hafa greinst.

| Staður                 | Dags. sýnatöku á búi | Tegund sýnis | <i>Salmonella</i> | PFGE rannsókn  |
|------------------------|----------------------|--------------|-------------------|----------------|
| Ásmundarstaðir – hús 3 | 14.4.2008            | saur-sýni    | Agona             | 2008           |
| Ásmundarstaðir – hús 3 | 14.7.2008            | saur-sýni    | Agona             | 2008           |
| Móar – hús 7           | 15.8.2008            | saur-sýni    | Agona             | 2008           |
| Ásmundarstaðir – hús 2 | 17.10.2008           | saur-sýni    | Agona             | 2010           |
| Ásmundarstaðir – hús 3 | 29.12.2008           | saur-sýni    | Agona             | Ekki framkvæmd |
| Ásmundarstaðir – hús 2 | 2.2.2009             | saur-sýni    | Agona             | Ekki framkvæmd |
| Ásmundarstaðir – hús 2 | 2.6.2009             | sokkasýni    | Agona             | 2010           |
| Oddsmyri – hús 2       | 23.11.2009           | sokkasýni    | Agona             | 2010           |
| Krókar – hús 5         | 28.12.2009           | sokkasýni    | Agona             | 2010           |

Í ljósi þess að *Salmonella* Agona stofnar á Ásmundarstöðum

- hafa greinst þrisvar sinnum í húsi 3 (14/4 '08, 14/7 '08 og 29/12 '08)
- hafa greinst þrisvar sinnum í húsi 2 (17/10 '08, 2/2 '09 og 2/6 '09)
- voru óaðgreinanlegir í húsi 3 í PFGE rannsókn árið 2008
- voru óaðgreinanlegir í húsi 2 í PFGE rannsókn árið 2010
- voru óaðgreinanlegir í húsi 2 og 3 við samanburð á gelplötum úr PFGE rannsóknunum árið 2008 og 2010

er líklegt að ekki hafi tekist að fjarlægja stofnana úr húsunum með þrifum og sóttþreinsun. Þeir hafi viðhaldist í viðkomandi húsum og borist með þeim hætti í fuglahópana.

Samkvæmt upplýsingum frá framleiðslustjóra Reykjagarðs eru að hans mati engin augljós tengsl á milli Ásmundarstaða annarsvegar og Oddsmýri og Króka hinsvegar. Tengsl eru engu að síður fræðilega séð á milli búanna þar sem þau eru öll í eigu sama eiganda og finna má sameiginlega þætti sem geta skýrt út smit og smitleiðir. Hafa þeir einnig í huga að aðrir *S. Agona* stofnar hafa ekki greinst sem sýna fram á aðrar líklegar smitleiðir. (Rétt er þó að taka fram í þessu samhengi að óvissa ríkir um hvaða salmonellu stofnar voru á ferðinni í 7 hreinlætissýnum sem greindust jákvæð í einni af fóðurverksmiðjunum fyrri hluta ársins 2007 þar sem þeir voru hvorki staðfestir né sermisgerðagreindir. Nánari þekking um sermisgerðir þessara stofna og erfðaskyldleika þeirra gæti leitt til annarra ályktana en þeirra sem fram koma um faraldsfræðileg tengsl salmonellu stofnanna).

Faraldsfræðileg tengsl (staður, tími) eru á milli stofna frá Krókum og Oddsmýri. Þeir greinast nálægt í tíma, fyrst í Oddsmýri 23. nóvember og síðan á Krókum 28. desember. Fjarlægð á milli Oddsmýrar og Króka er lítil. Sama starfsfólk sinnir gegningum á báðum stöðum og sami verktaki sér um þrif á báðum stöðum sem og verktaki sem sér um viðhald og viðgerðir. Sökum þessara tengsla er líklegt að smit hafi borist í Króka með smiti frá Oddsmýri (vektorborið smit/fomite smit).

Sameiginlegt með Ásmundarstöðum og Krókum/Oddsmýri er fóður, ungar, flutningabíll unga, verktaki þrifa og verktaki viðgerða og viðhalds. Hér er sömuleiðis líklegt að smit hafi borist frá Ásmundarstöðum í Oddsmýri með sama hætti og lýst er í ofangreindri málsgrein þ.e. sem vektorborið smit vegna sömu tengsla.

Eftir stendur að skýra út hvernig smit barst á Móa og Ásmundarstaði.

Hugsanlegt er að smit hafi borist inn á búin með fóðri en fram að þessu hefur engin *Salmonella* Agona stofn fundist í sýni úr fóðri eða umhverfi fóðurverksmiðjanna svo vitað sé. Hafi smit borist með fóðri er forverinn ekki fundinn. Út frá 2008 og 2010 rannsóknunum er því ekki hægt að meta smit með fóðri sem líklegt.

Það sem styður kenninguna um að smit hafi hugsanlega borist með fóðri er að hér er um tvö aðskilin bú að ræða (þ.e. Móar og Ásmundarstaðir) með engin augljós tengsl sín á milli önnur en fóður. Möguleiki er á að hitameðhöndlað kögglað fóður geti krossmengast í fóðurverksmiðjunum þar sem aðskilnaður á milli hreinna og óhreinna svæða er ekki fullnægjandi (sbr. kafla um *S. Worthington*, hóp A). Ef *Salmonella* er til staðar í hitameðhöndluðu köggluðu fóðri og hitameðhöndlunin er fullnægjandi er líklegt að fóðrið hafi krossmengast eftir hana. Með aukningu á notkun sojamjols í kjúklingafóður í stað fiskimjols hafa líkur á krossmengun ekki minkað þar sem hætta er á að sojamjöl geti verið mengað af salmonellu eins og prótín af dýrauppruna. Þess vegna má álykta sem svo að smit með fóðri sé hugsanlegt.

Það sem mælir gegn því að smit hafi hugsanlega borist inn á búin tvö með fóðri er að smit hefur ekki greinst í eldi eða við slátrun svína þrátt fyrir sölu óhitameðhöndlaðra fóðurefna til svínabænda.

Það sem gerir fóðurborið smit inn á Ásmundarstaði og Móa hugsanlegt er:

- að stofninn á Móum er náskyldur stofninum á Ásmundarstöðum og
- að engin önnur þekkt faraldsfræðileg tengsl eru á milli búanna nema fóður og
- að smit greinist á tveimur búum án annarra augljósra tengsla þeirra á milli.

Það sem mælir gegn því að smit hafi hugsanlega borist inn á búin tvö með fóðri er:

- að forverinn hefur ekki fundist í fóðri eða í umhverfi fóðurverksmiðjanna
- að stofninn hefur ekki greinst í svínaeldi eða við slátrun svína þrátt fyrir sölu Líflands og Fóðurlöndunnar á fóðurefnum til svínabúanna.

Miðað við þá *Salmonella* Agona stofna sem eru til vegna eflirlits með samonellu í alifuglarækt og að forveri stofnanna er ekki fundinn, er ekki hægt að meta smit með fóðri sem líklegt í þessu tilfalli. Það er hins vegar hugsanlegt að í upphafi hafi tilbúið hitameðhöndlað kögglað fóður borið smit inn á Móa í hús 7 og Ásmundarstaði í hús 3. Miðað við sömu stofna og engan forvera má einnig færa rök fyrir því að vektorborið smit sé líklegt frá Ásmundarstöðum á Oddsmýri og frá Oddsmýri á Króka.



## Niðurstöður *Salmonella* Kentucky

### *Salmonella* Kentucky – tveir stofnar

Að ósk dýralæknis alifuglasjúkdóma var *Salmonella* Kentucky stofn sem greindist við löndun á fóðri 13. október 2009 borinn saman við *Salmonella* Kentucky stofn sem greindist í alifuglaeldi á Hurðarbaki 28. desember 2009.

Faraldsfræðileg tengsl eru á milli stofnanna tveggja. Þeir greinast nálægt í tíma og Hurðarbak kaupir fóður frá Fóðurlöndunni. Fóðurblandan kaupir fóðurefni frá Kornhlöðinni, en það var við löndun Kornhlöðunnar á fóðurefni sem stofninn greindist, nánar tiltekið í ryksíu. Það er ekki oft sem sama sermisgerð salmonellu greinist í eldi dýra og í fóðri hér á landi. Þetta er þó eitt af nokkrum dæmum um slíkt. *Salmonella* Kentucky hefur hingað til ekki greinst í öðrum tilvikum nema þessum.

Við stofnagreiningarnar koma í ljós að þeir eru náskyldir. Þeir sýndu 92,3% samsvörun og munurinn var 2 bönd sem getur stafað af einum erfðafræðilegum viðburði. Má því telja líklegt að um sama stofn sé að ræða, þ.e að stofninn sem greindist við löndun sé líklega forveri stofnsins á Hurðarbaki. Efni-  
viðurinn er lítill, ekki nema tveir stofnar, og verður málið að skoðast í því ljósi.

## Lokaorð

Þessi PFGE rannsókn hefur leitt í ljós að líklega eru salmonellustofnar í fóðri forverar salmonellustofna í a.m.k. tveimur tilvikum þ.e.a.s. þegar *S. Worthington* dreifðist á svína- og alifuglabú og þegar *S. Kentucky* smitaði alifuglabú.

Vísbendingar eru einnig um að tilfelli séu fleiri, sé tekið mið af þeim sermisgerðum salmonellu sem hafa greinst áður og undanfarið í fóðurverksmiðjunum og í eldi svína (t.d. *Salmonella* Duisburg eða *Salinatis* og *Salmonella* Brandenburg). Oftast er erfitt að finna salmonellu í fóðri með sýnatökum. Það er auðveldara að greina bakteríuna í dýrum eða úr umhverfi þeirra. Margar sermisgerðir salmonellu hafa greinst í eldi og við slátrun svína og alifugla undanfarið en þessi fjölbreytileiki getur gefið til kynna dreifingu með fóðri.

Fóðurverksmiðjurnar verða að aðgreina svo fullnægjandi sé svæði með hitameðhöndluðu fóðri og svæði með óhitameðhöndluðum fóðurefnum. Fóðurverksmiðjurnar skipta við Kornhlöðuna og fá öll sín fóðurefni þaðan og því hætta á að báðar verksmiðjurnar geti smitast ef skipsfarmur er á annað borð smitaður með salmonellu. Sömuleiðis eru Lífland, Kornhlaðan og Fóðurblandan á sama þrönga afhafnasvæðinu þar sem krossmengun getur átt sér stað, t.d. með ryki á milli verksmiðja eða innan þeirra.

Mikilvægur hlekkur í aðgerðum gegn salmonellu í svína- og alifuglaeldi eru fyrirbyggjandi aðgerðir við framleiðslu og dreifingu fóðurs. Miðað við íslenskar aðstæður og hvernig svína- og alifuglarækt er stunduð hér á landi má segja að salmonellulaust fóður sé forsenda árangurs. Að þessu sögðu er á engan hátt dregið úr mikilvægi þess að ástunda góðar smitvarnir og fyrirbyggjandi aðgerðir á öllum stigum framleiðslunnar þ.e. frá haga til maga. Hér bera svína- og alifuglabændur mikla ábyrgð á að stunda búskap sinn með þeim hætti að öllum ráðum sé beitt til þess að koma í veg fyrir mengaðar afurðir. Stöðugt betri árangur alifuglabænda og annarra sem að baráttunni koma gegn *Campylobacter* er gott dæmi um samstillt átak sem horfa má til í þessu samhengi.

Þessi rannsókn gefur tilefni til að rannsaka fleiri salmonellustofna. Þekking á uppruna, dreifingu þeirra og útbreiðslu er forsenda fyrirbyggjandi aðgerða. Hér hefur Matvælastofnun mikilvægu hlutverki að gegna í samvinnu við hagsmunaaðila.

## Viðauki

### Almennt um PFGE stofngreiningar

Tilgangur stofnagreiningarannsóknna er að útvega rannsóknfræðileg sönnunargögn (provide laboratory evidence) um að faraldsfræðilega skyldir stofnar úr tilteknum faraldri séu sömuleiðis erfðafræðilega skyldir og þar af leiðandi komnir af sama forvera. Þegar niðurstöður úr stofnagreiningum eru nýttar í viðbrögðum við faröldrum, er gert ráð fyrir:

- (i) að stofnar sem valda faraldrinum séu nýlegir afkomendur (klónar) eins eða algengs forvera eða fyrirrennara
- (ii) að slíkir stofnar hafi sömu genótýpu og
- (iii) að faraldsfræðilega óskyldir stofnar muni hafa aðra genótýpu. Þó eru undantekningar á þessu þar sem faraldsfræðilega óskyldir stofnar geta haft sömu genótýpu og stofnar í faraldri.

Sem verkfæri og liður í rannsókn faraldurs kemur PFGE greiningin að mestum notum þegar hún er notuð á lítið safn stofna sem eru faraldsfræðilega skyldir. Stofnar sem rannsakaðir eru í PFGE ættu að vera með uppruna í sjúklingum, smitberum (vektorum = fomites = því sem borið getur smit) og umhverfi sem tengja má

- (i) svæðinu þar sem sýking á sér stað
- (ii) tímanum þegar sýking á sér stað og
- (iii) sameiginlegri uppsprettu sýkingarinnar.

Hér eru orðin svæði og tími mikilvæg í faraldsfræðilegum skilningi. Svæðið þarf að vera skilgreint og tíminn afmarkaður þegar orðin eru notuð í þessu samhengi. En faraldsfræðilega skyldir stofnar eru stofnar sem ræktaðir eru úr sýnum úr sjúklingum, smitberum og umhverfi frá skilgreindu svæði eða tímabili. Svæðið og tímabilið, sem hluti af rannsókninni, geta gefið mikilvægar vísbendingar um að stofnarnir hafi sama uppruna.

Mikilvægt er að hafa í huga að rannsóknir sem eru framkvæmdar á stofnum sem ekkert er vitað um faraldsfræðilega séð geta leitt af sér rangar eða villandi ályktanir. Stofnagreiningar koma heldur ekki í stað faraldsfræðilegra upplýsinga. Almennt er ráðlagt að rannsóknir á stofnum annars vegar og faraldsfræði hins vegar séu óháðar hvorri annari en niðurstöður metnar og greindar saman í þeim tilgangi að ákveða hvort um faraldur sé að ræða eða ekki.

### Hvað er PFGE stofnagreining ?

Viðkomandi bakteríustofn er fyrst leystur upp til þess að ná í erfðaefnið, sem síðan er klofið niður í búta með skerðisými. Erfðaefnisbútunum er því næst komið fyrir efst á agarósa gelplötu. Þegar rafstraumi er hleypt á, eftir fyrirfram ákveðinni aðferð, dragast búturnir niður plötuna, mislangt eftir stærð. Þá situr eftir mynstur banda á plötunni sem er einkennandi fyrir viðkomandi stofn. Þetta bandamynstur er borið saman við aðra stofna af sömu sermisgerð til þess að meta skyldleika þeirra.

Stofnar eru metnir með fernum hætti, þ.e. þeir eru:

- (i) **Óaðgreinanlegir** (indistinguishable) með eins mynstur.
- (ii) **Náskyldir** (closely related).
- (iii) **Mögulega skyldir** (possibly related).
- (iv) **Óskyldir** (different).

Haft er í huga við þessa röðun að breytileiki í bandamunstri getur komið fram í stofnum innan sama faraldurs, því „random genetic events“ geta breytt mynstrinu. Algengt er að punktbreytingar („point mutations, insertions and deletions of DNA“) breyti PFGE mynstinu á meðan á faraldrinum stendur.

Ofangreind röðun stofna eftir skyldleika er lögð til á grundvelli a.m.k. 10 mynsturbanda sem koma fram við rafgreininguna. Ef böndin eru færri er áreiðanleiki rannsóknarinnar ekki talin nægilega góður.

#### 5. tafla. Forsendur röðunar stofna eftir skyldleika þeirra

| Skyldleiki              | Fjöldi erfðaðfræðilegra frávíka samanborið við stofn í faraldri eða „outbreak strain“ | Dæmigerður fjöldi bandafrávika (fragment differences) samanborið við „outbreak strain“ | Faraldsfræðileg túlkun                         |
|-------------------------|---|--|--|
| <b>Óaðgreinanlegir</b>  | 0   | 0  | Stofn er hluti af faraldri                     |
| <b>Náskyldir</b>        | 1   | 2 – 3  | Stofn er líklega (probably) hluti af faraldri  |
| <b>Mögulega skyldir</b> | 2   | 4 – 6  | Stofn er mögulega (possibly) hluti af faraldri |
| <b>Óskyldir</b>         | ≥ 3   | ≥ 7  | Stofn er ekki hluti af faraldri                |

Ofangreindur texti er tekinn úr grein sem birtist í Journal of Clinical Microbiology í september árið 1995. Forsendurnar eru vel þekktar og ganga undir nafninu „Tenover criteria“ eftir aðalhöfundi greinarinnar. Nokkur ár eru liðin frá birtingu hennar. Nú má sjá að lögð er enn meiri áhersla á faraldsfræðina og sömuleiðis bent á að taka verði tillit til þeirra veikleika sem Tenover aðferðin geti haft í för með sér. Sem dæmi um þetta hefur verið birt m.a. eftirfarandi í „Foodborne Pathogenes and Disease, Volume: 3 Issue 1: April 7, 2006“:

„ Since the establishment of the well-known Tenover criteria in 1995 (Tenover et al., 1995), relatively few papers have been published about the interpretation of subtyping data generated by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). This paper describes the approach that has been used in the PulseNet network during the past 10 years. PFGE data must always be interpreted in the proper epidemiological context and PFGE data can not alone prove an epidemiological connection. The Tenover criteria are not generally applicable to the interpretation of PFGE subtyping data of foodborne pathogens. The reproducibility of the method with a particular organism, the quality of the PFGE gel, the variability of the organism being subtyped, and the prevalence of the pattern in question must always be considered. Only isolates displaying indistinguishable patterns should be included in the detection of clusters of infections or the initial case definition in a point-source outbreak. More variability (patterns differing from each other in two to three band positions) may be accepted if the outbreak has been going on for some time or if person-person spread is a prominent feature. If epidemiological information is sufficiently strong, isolates with markedly different PFGE patterns may be included in an outbreak. “

## Samantekt úr og tilvitnun í grein

### Biofilm forming abilities of *Salmonella* are correlated with persistence in fish meal- and feed factories

Lene K Vestby<sup>1</sup>, Trond Mørretrø<sup>2</sup>, Solveig Langsrud<sup>2</sup>, Even Heir<sup>2</sup> and Live L Nesse\*<sup>1</sup>

Address: <sup>1</sup>National Veterinary Institute, PO Box 750 Sentrum, N-0106, Oslo, Norway and <sup>2</sup>Nofima mat, Osloveien 1, N-1430, Aas, Norway. Email: Lene K Vestby - lene.vestby@vetinst.no; Trond Mørretrø - trond.moretro@nofima.no; Solveig Langsrud solveig.langsrud@nofima.no; Even Heir - even.heir@nofima.no; Live L Nesse\* - live.nesse@vetinst.no \* Corresponding author

#### Abstract

**Background:** Feed contaminated with *Salmonella* spp. constitutes a risk of *Salmonella* infections in animals, and subsequently in the consumers of animal products. *Salmonella* are occasionally isolated from the feed factory environment and some clones of *Salmonella* persist in the factory environment for several years. One hypothesis is that biofilm formation facilitates persistence by protecting bacteria against environmental stress, e.g. disinfection. The aim of this study was to investigate the biofilm forming potential of *Salmonella* strains from feed- and fishmeal factories. The study included 111 *Salmonella* strains isolated from Norwegian feed and fish meal factories in the period 1991–2006 of serovar Agona, serovar Montevideo, serovar Senftenberg and serovar Typhimurium.

**Results:** Significant differences were found between serovars regarding the abilities to form biofilm on polystyrene (microtiter plate assay) and in the air-liquid interface of nutrient broth (pellicle assay). Strains of serovar Agona and serovar Montevideo were good biofilm producers. In Norwegian factories, clones of these serovars have been observed to persist for several years. Most serovar Senftenberg clones appear to persist for a shorter period, and strains of this serovar were medium biofilm producers in our test systems. Strains of the serovar Typhimurium were relatively poor biofilm producers. *Salmonella* ser. Typhimurium clones have not been observed to persist even though this serovar is resident in Norwegian wild life. When classifying strains according to persistence or presumed non-persistence, persistent strains produced more biofilm than presumed non-persisting strains.

**Conclusion:** The results indicate a correlation between persistence and biofilm formation which suggests that biofilm forming ability may be an important factor for persistence of *Salmonella* in the factory environment.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2693496/pdf/1746-6148-5-20.pdf>