

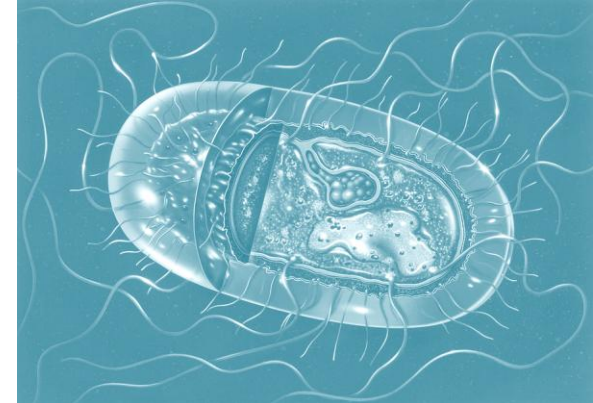


**ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΚΑΙ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΟΥ ΚΕΝΤΡΟΥ ΑΘΗΝΩΝ
ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΑΛΚΙΔΑΣ**

**Μονοφασική *S. Typhimurium* –
Δεδομένα Κτηνιατρικού Εργαστηρίου**

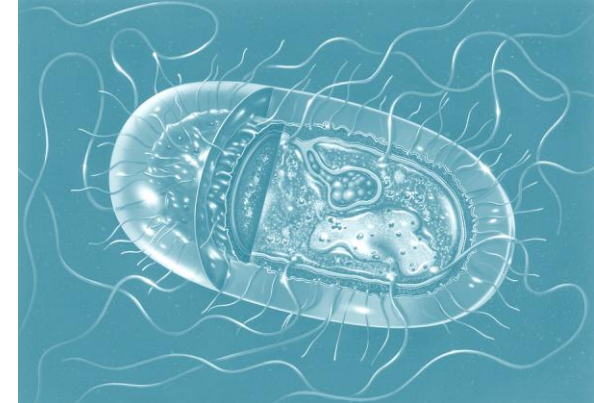
Δ. Κατσαρός

Salmonella spp.



- ❑ Βασική ταυτοποίηση με βιοχημικές δοκιμές
- ❑ Ταυτοποίηση οροτύπων με βάση αντιγονικά χαρακτηριστικά σωματικών (O) & βλεφαριδικών (H) αντιγόνων, σπάνια τα αντιγόνα (Vi) κάψας
- ❑ ISO/TR 6579-3: 2014. Οροτυποποίηση Σαλμονελλών
- ✓ Η πιο πρόσφατη (9^η) έκδοση του σχήματος “*White-Kauffmann-Le Minor*” : 2007 (Grimont and Weill, 2007) - *WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella (i.e. Institut Pasteur, Paris, France)*
- ✓ Συμπληρωματικά έντυπα του Institut Pasteur με τυχόν νέους οροτύπους δημοσιεύονται στο περιοδικό «*Research in Microbiology*».
- ✓ \approx **2600 ορότυποι Σαλμονελλών**

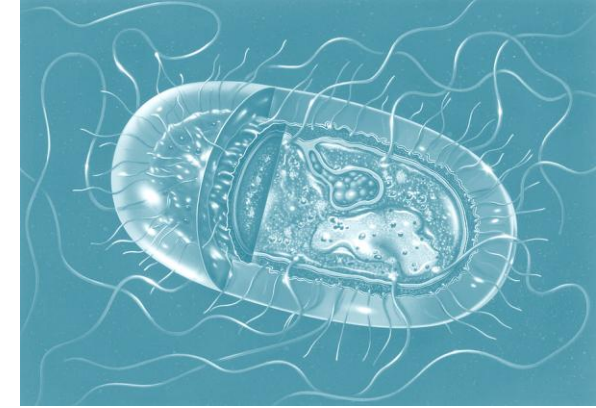
Salmonella spp.



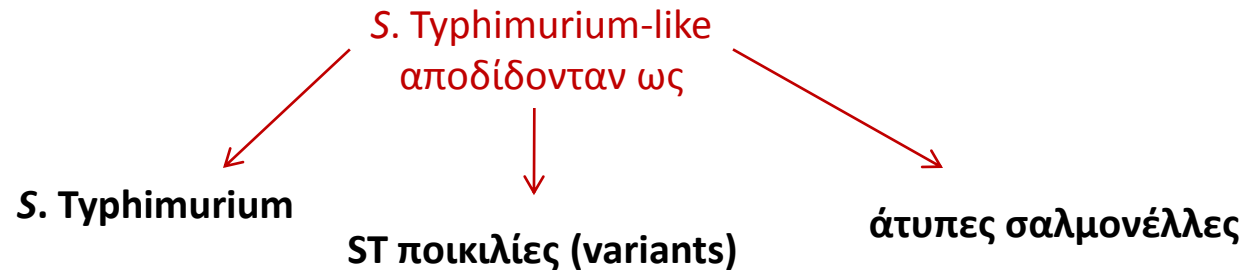
- ❑ Ο **διφασικός** χαρακτήρας των H αντιγόνων έχει να κάνει με την ικανότητά τους να τροποποιούν τη σύσταση της μείζονος βλεφαριδικής πρωτεΐνης τους. Το φαινόμενο έγινε αντιληπτό πριν να αναγνωρισθεί η φύση των βλεφαρίδων και περιγράφηκε ως «**φάση**»
- ❑ Έτσι, τα στελέχη σαλμονέλλας που εμφανίζουν δύο διαφορετικά βλεφαριδικά αντιγόνα ονομάζονται διφασικά και εκδηλώνουν κάθε φορά τη μία από τις δύο φάσεις τους. Για να δοθεί η δυνατότητα να εκδηλωθεί η **ΔΕΥΤΕΡΗ** φάση, πρέπει να δεσμευτεί η πρώτη εφαρμόζοντας στην καλλιέργεια του στελέχους ειδικά αντιδραστήρια
- ❑ Τα στελέχη σαλμονελλών που έχουν απολέσει κάποια από τις δύο φάσεις βλεφαριδικών αντιγόνων ονομάζονται **μονοφασικά**

Salmonella Typhimurium - like

ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ



- **Μέσα δεκαετίας '90:** οι πρώτες αναφορές σε τρόφιμα και σε ζώα



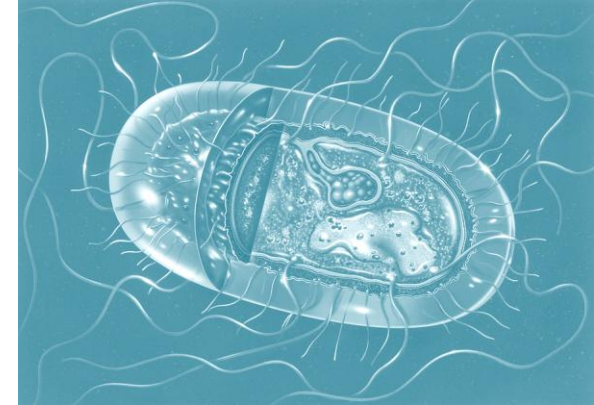
- **2005 και πέρα:** αύξηση αναφορών (π.χ. Γαλλία/2008/3^{ος} πιο συχνά απομονωμένος ορότυπος σε ανθρώπινα κλινικά περιστατικά)

- **2010:** έκδοση scientific opinion EFSA για την παρακολούθηση και την εκτίμηση των κινδύνων για τη δημόσια υγεία από τα στελέχη S. Typhimurium-like

Απαιτήσεις διαχείρισης

- Εκτίμηση των αναλυτικών μεθόδων που εφαρμόζονται σήμερα για την ταυτοποίησή τους και γνωμοδότηση για την καταλληλότητά τους
- Εναρμόνιση της ορολογίας για την αναφορά των στελεχών
- Εκτίμηση του κινδύνου για τη δημόσια υγεία

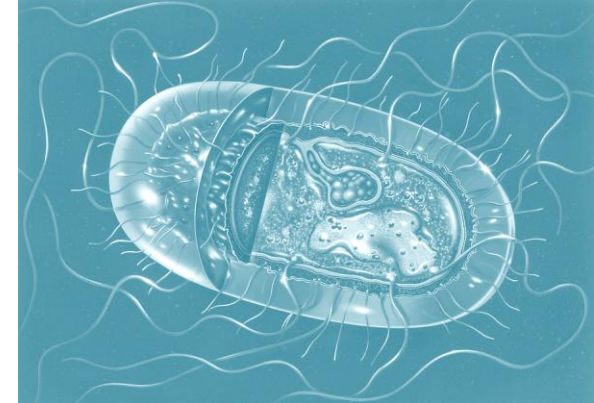
Μονοφασική S. Typhimurium



to the point (1)

- *Salmonella* Typhimurim-like: στελέχη S.T. που στερούνται βλεφαριδικών αντιγόνων, 1^{ης}, 2^{ης} ή και των δύο φάσεων.
- Τα μονοφασικά στελέχη χωρίς 2^η φάση (1,4,[5],12:i: -) : διεθνώς, **Μονοφασική S. Typhimurium**»
- Τα στελέχη Μονοφασικής S. Typhimurium είναι διαφορετικά μεταξύ τους σε ό,τι αφορά τη **φαγοτυπία**, τη **γενοτυπία** και τη **μικροβιακή αντοχή**. Ανήκουν σε κλώνους ή κλωνικές γραμμές και μπορούν να διαφοροποιηθούν περαιτέρω μόνο με υψηλής ευαισθησίας μοριακές μεθόδους (έρευνα)
- Αυξημένο ενδιαφέρον στην ΕΕ: αίτιο τροφιμογενών λοιμώξεων στον άνθρωπο, απομόνωση στα παραγωγικά ζώα και στα ζώα συντροφιάς

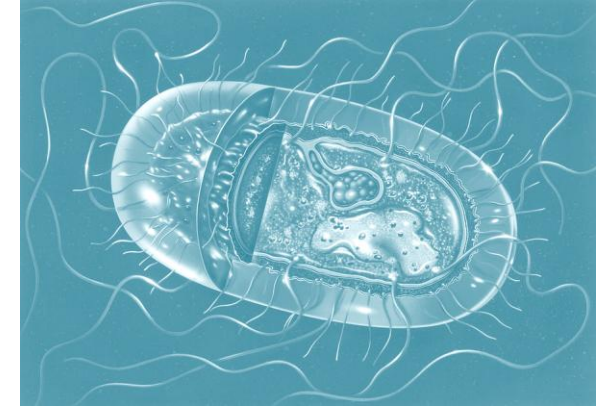
Μονοφασική *S. Typhimurium*



to the point (2)

- Η μονοφασική *S. Typhimurium* παρουσιάζει ομοιότητες με την *S. Typhimurium* σε i) γενετικό επίπεδο, ii) ενδεδειγμένη μέθοδο ανίχνευσης & τυποποίησης (μερικώς), iii) λοιμογόνο ικανότητα, iv) παθογένεια και v) μικροβιακή αντοχή, **επομένως** ενέχει συγκρίσιμο κίνδυνο με τη *S.T.* για τη δημόσια υγεία
- Αποτελούν στελέχη-στόχους στην Κοινοτική και Εθνική Νομοθεσία για τα Προγράμματα Ελέγχου Σαλμονελλώσεων και στη Νομοθεσία σχετικά με τα Μικροβιολογικά κριτήρια στα τρόφιμα {βλ. (ΕΚ) αριθ. 1086/2011}
- Μεγάλη ποικιλία στην αντιγονική σύνθεση των μονοφασικών *S. Typhimurium* και στην ορολογία αναφοράς (EURL-Sal, EFSA, ECDC, MSs), **επομένως** υπάρχει δυσκολία παρακολούθησης των τάσεων αύξησης της συχνότητας εμφάνισης των μονοφασικών στελεχών διεθνώς

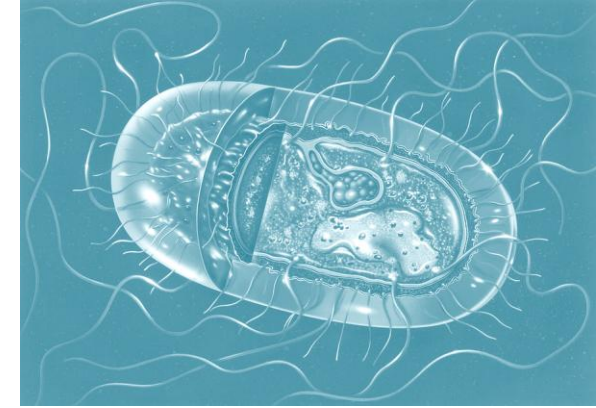
Μονοφασική *S. Typhimurium*



ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΑΝΤΟΧΗ

- Όποτε απομονώνεται μονοφασικό στέλεχος *S. Typhimurium* επιβάλλεται για επιδημιολογικούς λόγους η εκτέλεση δοκιμής προσδιορισμού μικροβιακής αντοχής. Ο τύπος της αντοχής θα πρέπει να δηλώνεται με εναρμονισμένο τρόπο για τα στελέχη που απομονώνονται από τον άνθρωπο, τα ζώα, τα τρόφιμα.
- EU/MSs: 2 κλωνικές γραμμές Μονοφασικής *S. Typhimurium*
 - Ισπανία 1990 → κλωνική γραμμή όπου η μικροβιακή αντοχή εκδηλώνεται μέσω πλασμιδίων
 - MSs από το 2000 → κλωνική γραμμή με χρωμοσωματικά κωδικοποιημένη αντοχή στην ampicillin (A), streptomycin (S), sulphonamides (Su), tetracyclines (T).
R-type ASSuT

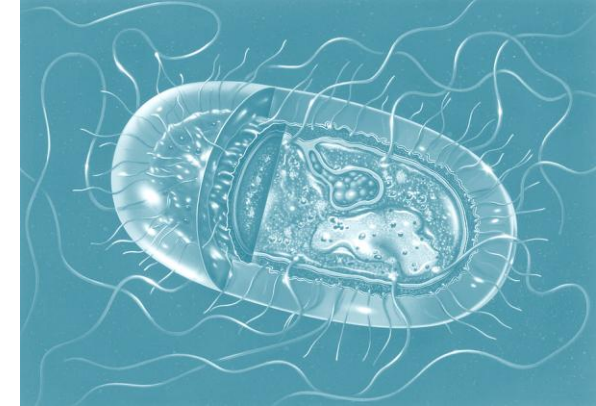
Μονοφασική *S. Typhimurium*



ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

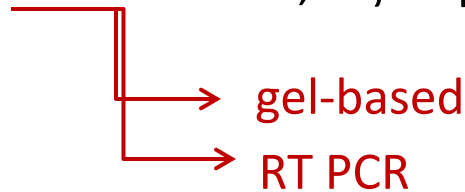
- Κατάλληλη αναλυτική μέθοδος ανίχνευσης : ISO 6579 –1 (MSRV, RVS, MKTTn)
- Μέθοδος ταυτοποίησης: οροτυποποίηση, ISO 6579-3:2014, σε συνδυασμό με εφαρμογή πρωτοκόλλου PCR (υπό έρευνα)
- Πρωτόκολλο Multiplex PCR: Προσδιορισμός του ειδικού για τις *S. Typhimurium* και Μονοφασική *S. Typhimurium* θραύσματος DNA (IS200) που εντοπίζεται στην ενδογονιδιακή περιοχή *fliB-fliA* του γονιδίου βλεφαρίδων, καθώς και της παρουσίας ή απουσίας του αλλ.γονιδίου *fliB* βλεφαριδικών αντιγόνων 2^{ης} φάσης, γεγονός που αντιστοιχεί σε συγκεκριμένο ηλεκτροφορητικό πρότυπο {EFSA Journal 2010; 8(10)Q 1826, Tennant et al. 2010}

Μονοφασική *S. Typhimurium*



ΜΟΡΙΑΚΗ ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ (1)

- **2015-2016:** CEN-TAG3, CEN-TAG8, ISO-WG10 / στάθμιση τουλάχιστον 2 πρωτοκόλλων PCR, ως Παράρτημα ISO 6579-3:2014 (guidance protocol)



1,4,[5],12:i:-

EURL-Sal workshop 2015

Τυπική μορφή (90%)

Άτυπη μορφή (10%)

fljB-

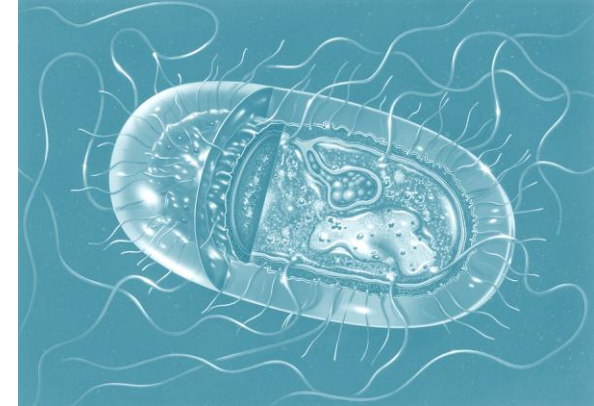
fljB+

Τυποποίηση με βάση πρόταση EFSA (Tennnant et al. 2010)

Ύπαρξη γονιδίου {fljAB+ hin-} (παρεμποδίζει την έκφραση του αλληλόμορφου fljB)

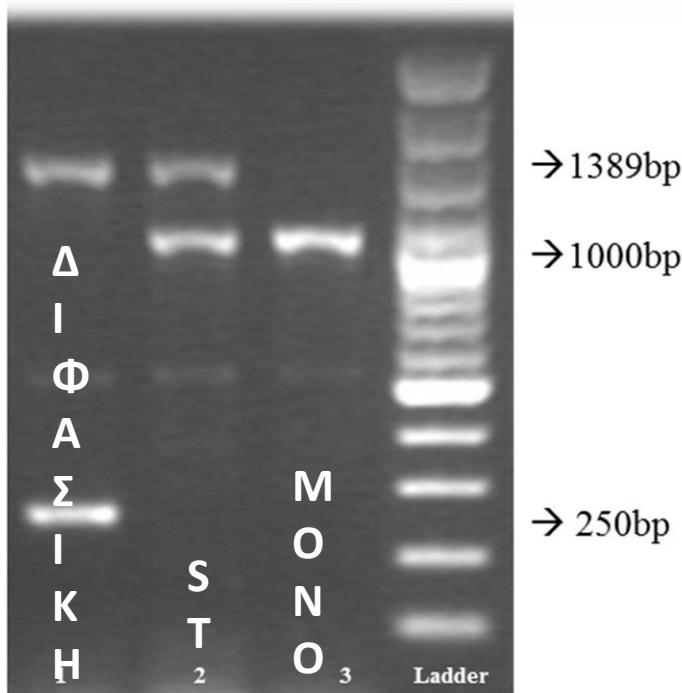
* *fljB*: αλληλόμορφο γονίδιο βλεφαριδικών αντιγόνων 2^{ης} φάσης

Μονοφασική *S. Typhimurium*



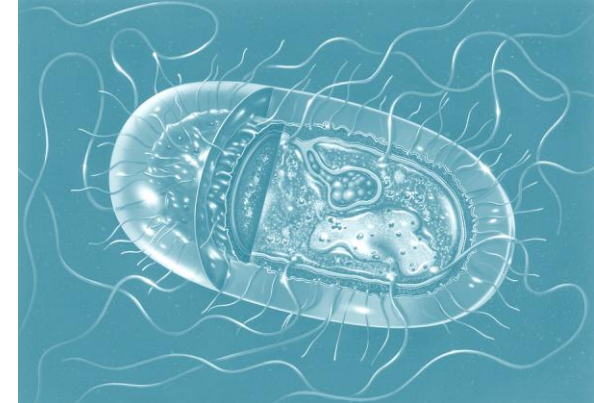
ΜΟΡΙΑΚΗ ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ (2)

Ηλεκτροφορητικό πρότυπο τυπικής μορφής
(Tennant et al. 2010)

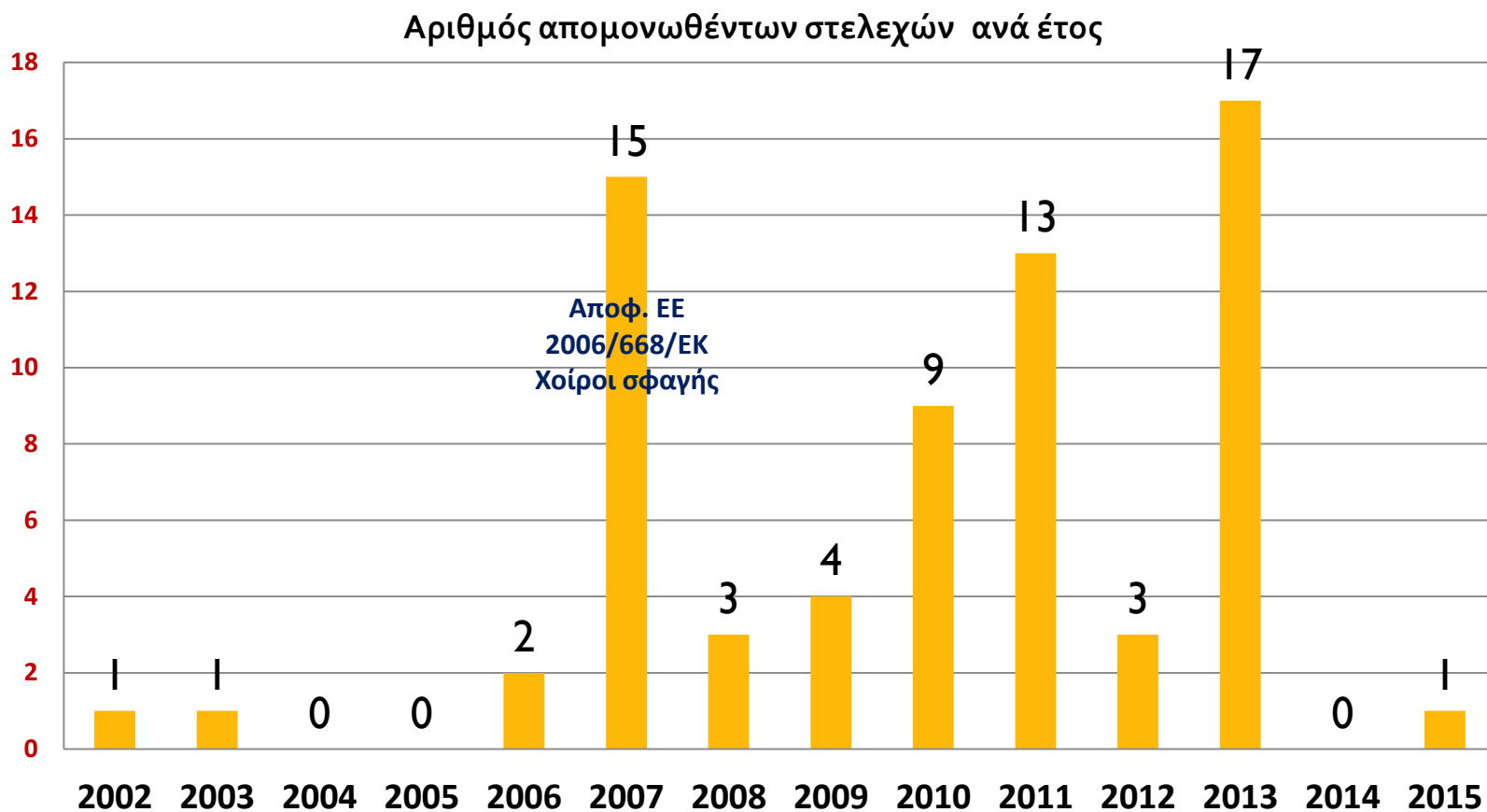


	Αμπλικόνια (ζεύγη βάσεων – bp) που ενισχύονται από επιλεγμένους εκκινητές		
S.T.		1000	1389
Μono S.T.		1000	
Non-S.T. Διφασικές	250		1389

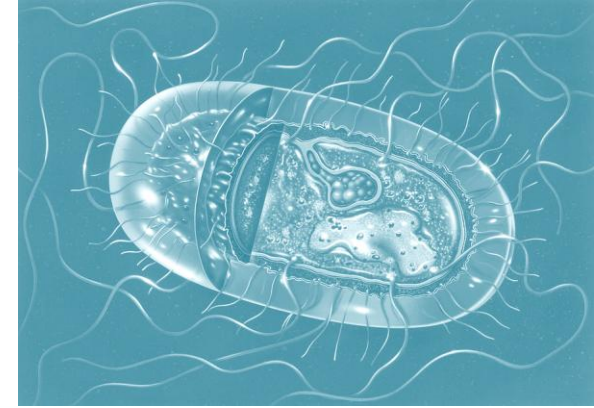
Μονοφασική *S. Typhimurium*



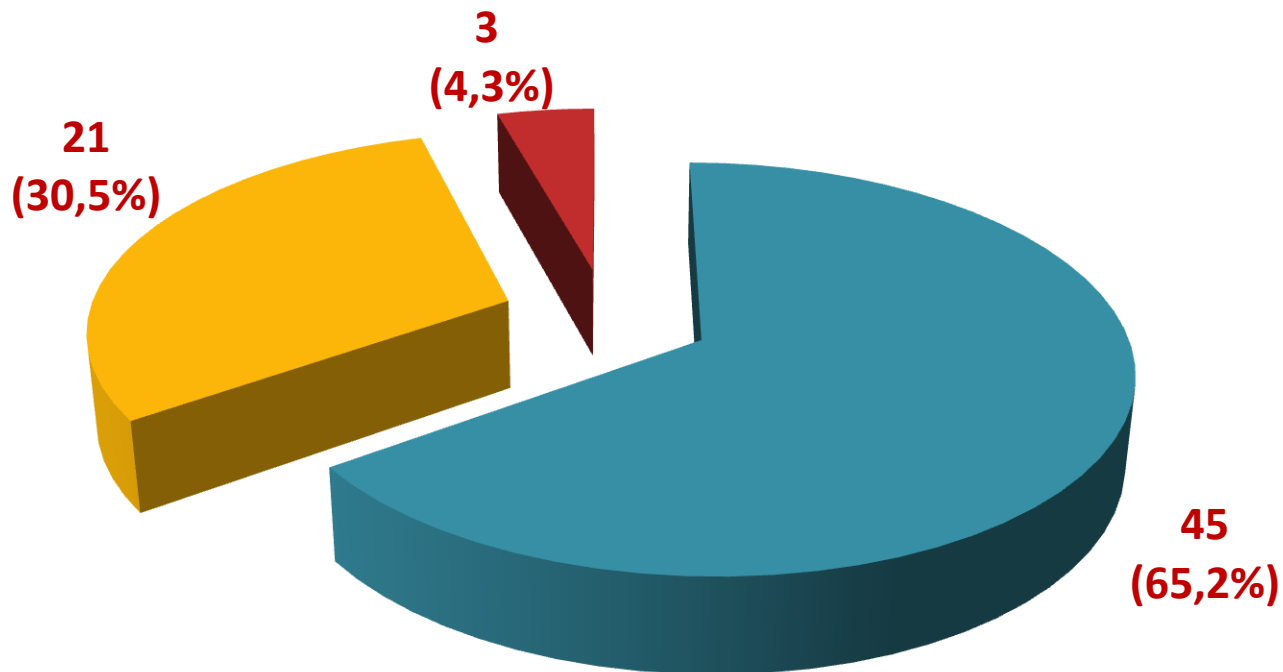
❖ Αριθμός απομονωθέντων στελεχών 2002-2015: **69**



Μονοφασική *S. Typhimurium*



Κατανομή ανά κατηγορία εξετασθέντων δειγμάτων
(σύνολο 69, 2002-2015)

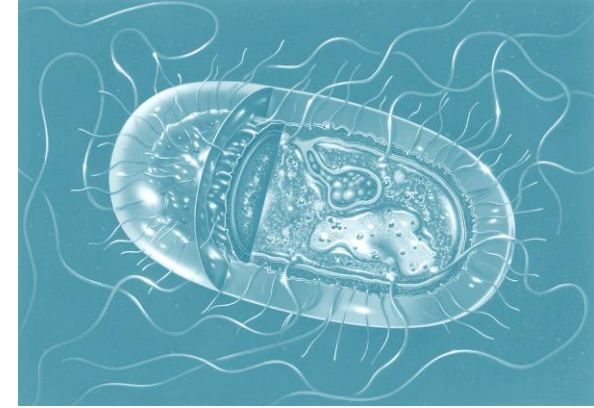


■ Zώα

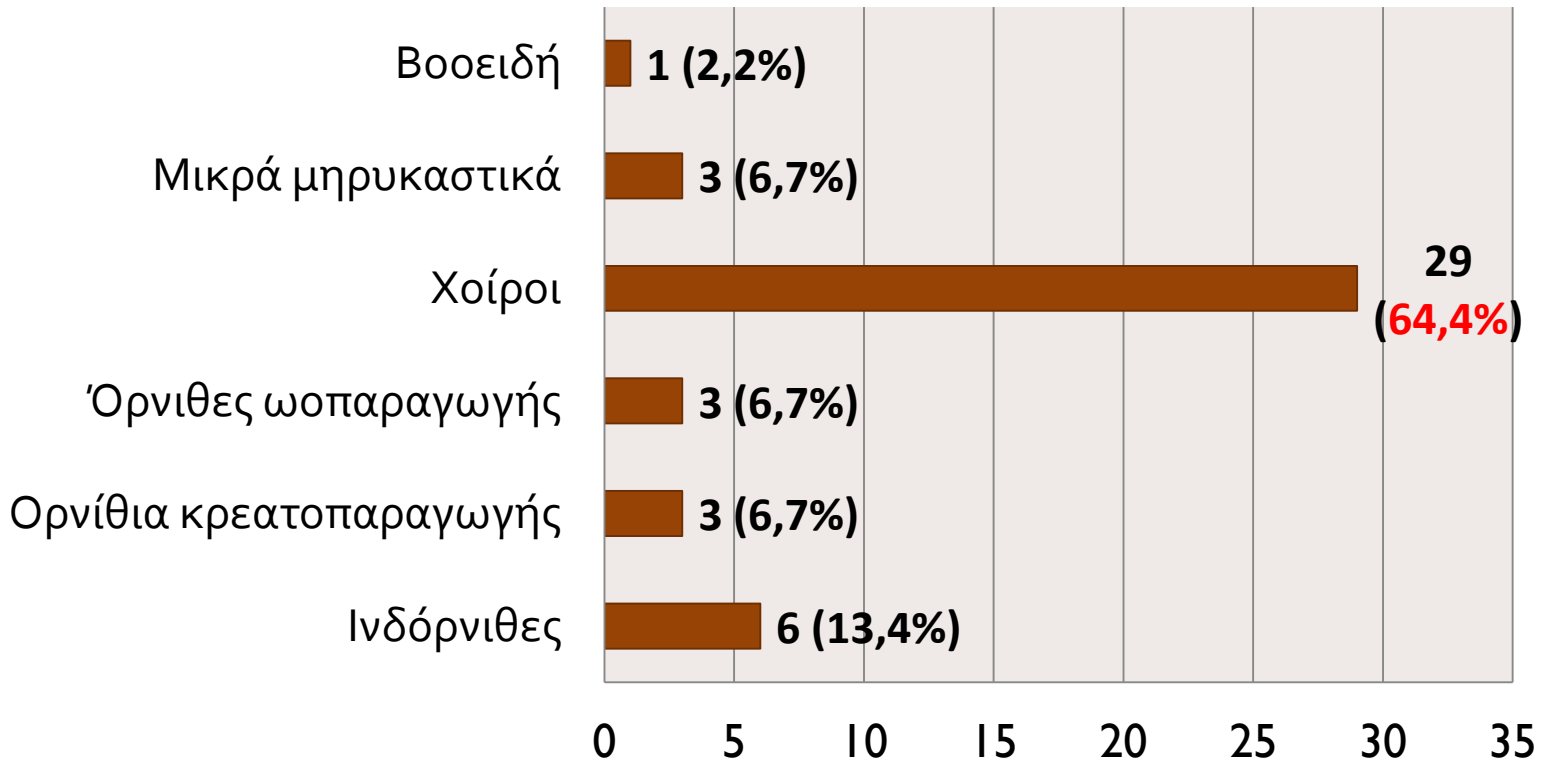
■ Τρόφιμα

■ Ζωοτροφές

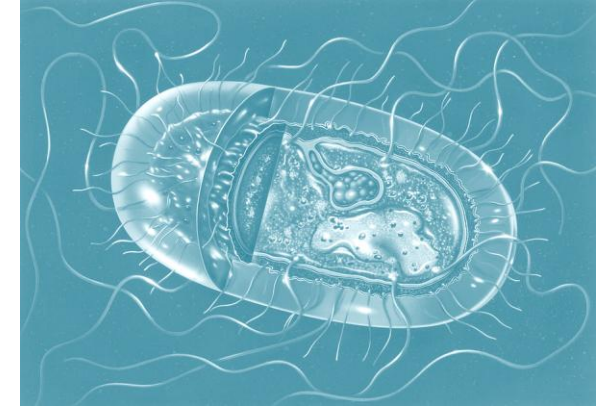
Μονοφασική *S. Typhimurium*



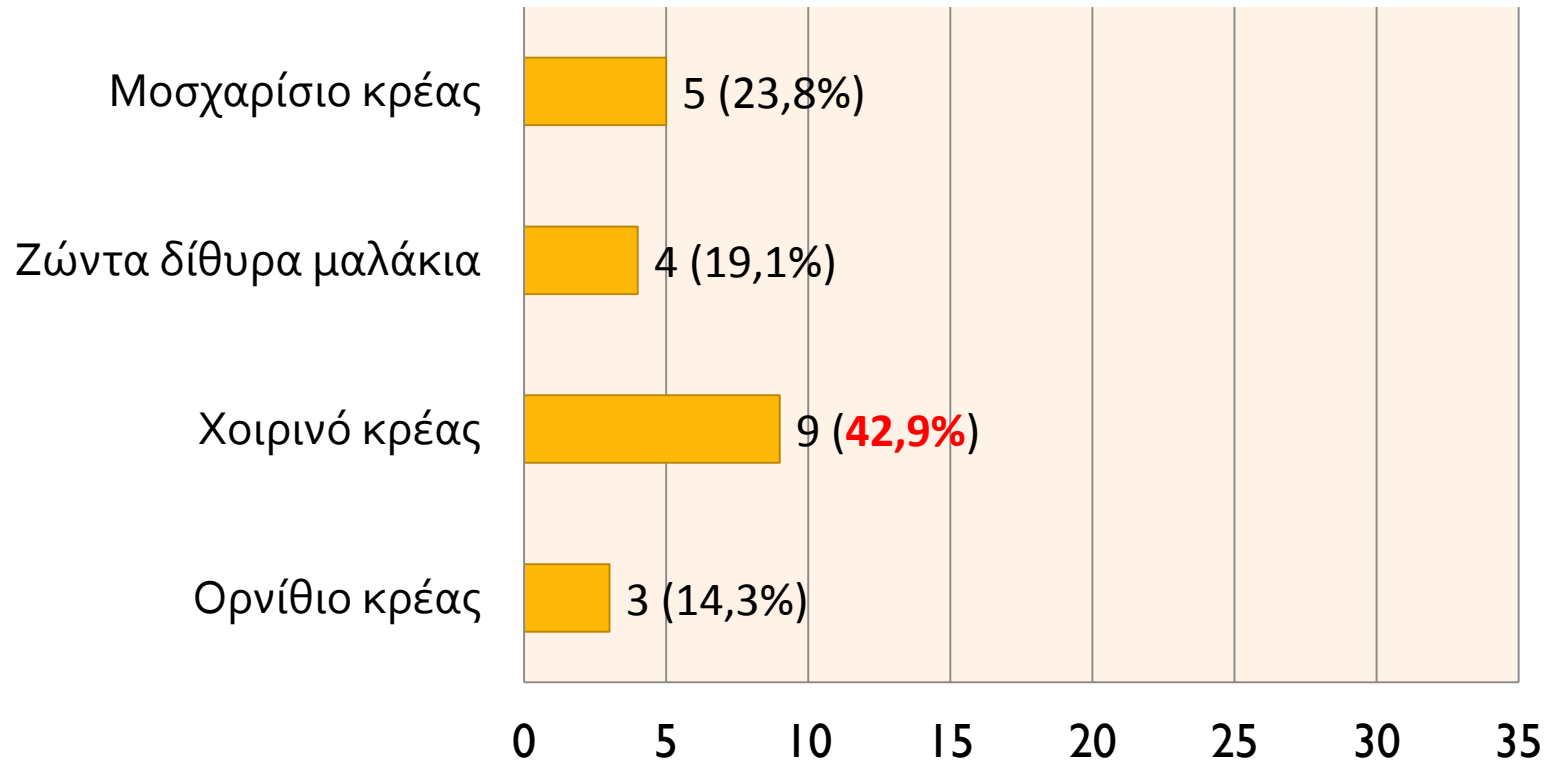
Κατανομή ανά είδος ζώου
(σύνολο 45, 2002-2015)



Μονοφασική *S. Typhimurium*



Κατανομή στα τρόφιμα
(σύνολο 21, 2002-2015)



Ευχαριστώ για την προσοχή σας

