



2025/179

3.2.2025

PROVÁDĚCÍ NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) 2025/179

ze dne 31. ledna 2025

o shromažďování a předávání molekulárních analytických údajů v rámci epidemiologických šetření
ohnisek choroby vyvolané původcem v potravinách v souladu se směrnicí Evropského parlamentu
a Rady 2003/99/ES

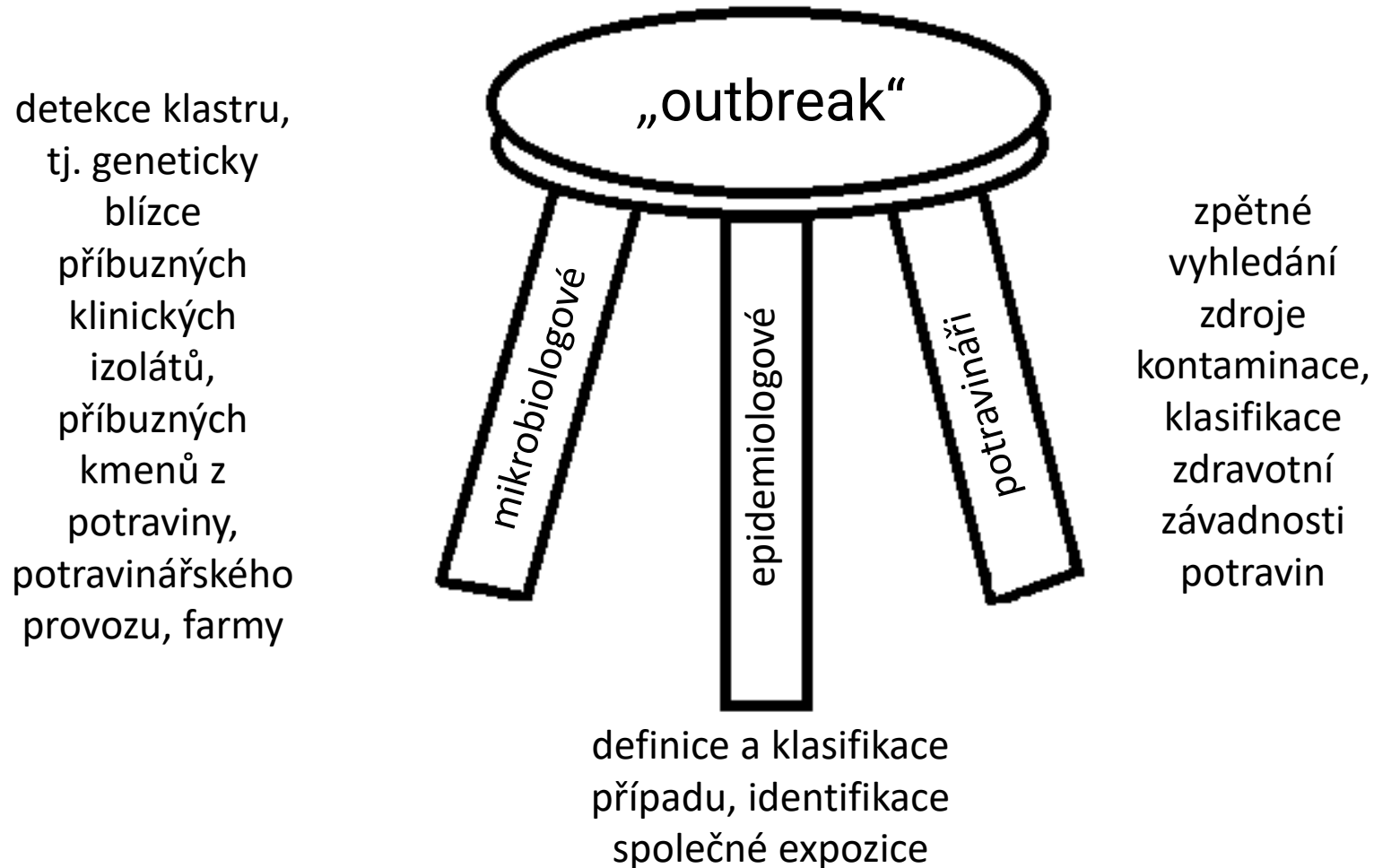
- Toto nařízení se týká **shromažďování a předávání molekulárních analytických údajů** v rámci epidemiologických šetření v případě vybraných alimentárních onemocnění v souladu se směrnicí 2003/99/ES.
- Musí být provedeno **celogenomového sekvenování** izolátů *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni* a *C. coli* z potravin, zvířat, krmiv a souvisejícího prostředí, **jsou-li tyto izoláty spojeny**, nebo **existuje podezření, že jsou spojeny s ohniskem vybraných alimentárních chorob**.
- Použitelnost od 23. srpna 2026



Význam celogenomového sekvenování pro charakterizaci salmonel a Shiga toxin-produkujících *E. coli* (STEC)

Ondřej Daniel, Tereza Stárková, Monika Havlíčková, Martina Bielaszewska
Oddělení stafylokokových a alimentárních bakteriálních infekcí, Státní zdravotní ústav, Praha

Jedná se o multidisciplinární práci

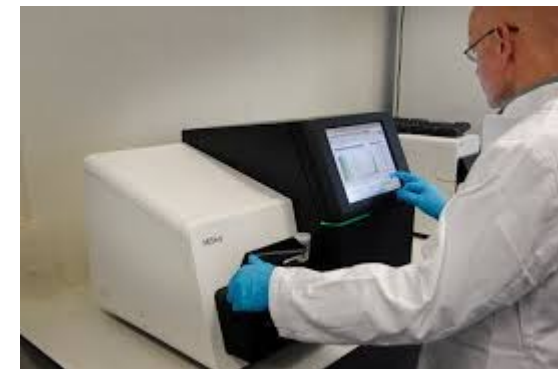




Aplikace na oddělení SABÍ

- Sekvenování celého genomu (**W**hole **G**enome **S**equencing; WGS) je považováno za „zlatý standard“ v rámci molekulární surveillance a pro detekci a šetření suspektních epidemických klastrů.
- WGS (dnes primární nástroj pro detekci a šetření ohnisek)
 - zachycuje změny sekvence DNA v celém genomu jednotlivých kmenů
 - umožňuje přesný popis genetické příbuznosti izolátů

(+)	(-)
vyšší rozlišení a přesnost	vyšší nároky na analýzu dat
stabilita vybraných genů v čase	větší množství dat



- Sérotypizace (Salmo, STEC) -> fagotypizace (Salmo) -> PFGE (Salmo, STEC) -> MLVA (Salmo) -> WGS (Salmo, STEC)
- Výsledky získané WGS byly následně komunikovány v rámci online portálu **EpiPulse** za účelem monitorování, odhalování vnitrostátních a přeshraničních hrozeb, hodnocení rizik a reagování na probíhající epidemie.

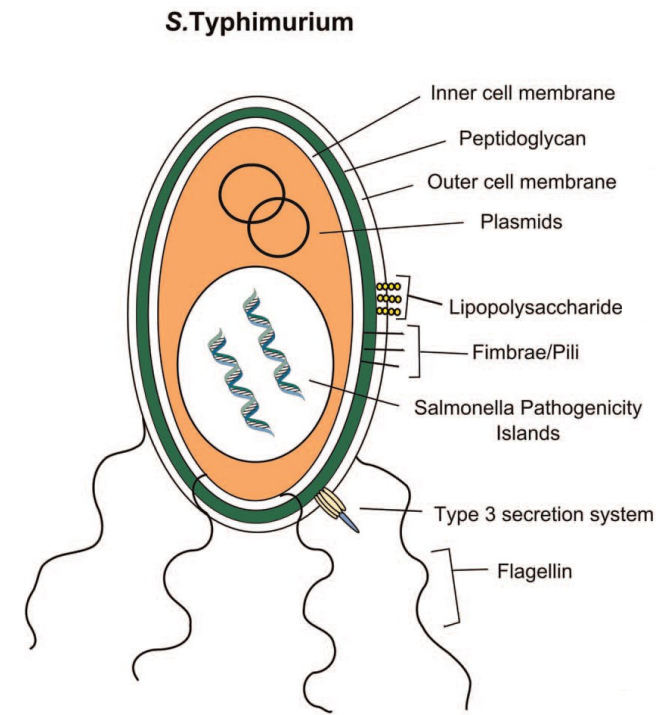
Vyhodnocovací schémata pro WGS

Core genome MLST - <i>Salmonella</i>	Core genome MLST- STEC
databáze EnteroBase	databáze Ridom SeqSphere
identifikace 3002 alelických lokusů pro <i>Salmonella</i>	identifikace 2529 alelických lokusů pro STEC
konzervované sekvence	konzervované sekvence
variabilní, vysoká rozlišovací schopnost	variabilní, vysoká rozlišovací schopnost
specifické schéma pro různé druhy	specifické schéma pro patotyp

- Výsledky celogenomové analýzy jsou nejčastěji následující:
 - identifikace blízce příbuzných kmenů -> klastry (většinou ≤ 5 alelických rozdílů; **AD**)
 - *in-silico* predikce markerů antimikrobiální rezistence -> fenotypové ověření,
 - *in-silico* predikce faktorů virulence a dalších markerů (např. odolnost vůči stresu, teple, biocidům).

Salmonella Typhimurium

- Patří mezi tři nejčastější sérotypy v rámci EU/EEA.
- Podílí se (se svojí monofázickou variantou) zhruba na 1/4 všech lidských netyfoidních salmonelových infekcí.
- Má mnoho zvířecích rezervoárů.
- Epidemiologické záznamy o lidských multirezistentních (MDR) infekcích *S. Typhimurium* (STM) v Evropě jsou charakterizovány postupnými vlnami dominantních MDR variant které přetrvávají obvykle 10-15 let.
 - *S. Typhimurium* DT104, kolem 1990, celosvětově se stala pandemickým klonem.
 - Monofázická varianta *S. Typhimurium* (*S.* 1,4,[5],12:i:-) sekvenčního typu 34 (ST34), objevena 2007, původně u prasat, celosvětově se stala pandemickým klonem.



MDR monofázická *S. Typhimurium* ST34

- **Identifikace klastru**

- 8 případů monofázické *S. Typhimurium* (mSTM) ST34 – UK, 2/2022
- hlášené případy mladší 10 let
- genotypové markery neobvyklé antimikrobiální rezistence
- zástupci klastru nebyly příbuzní s jiným kmenem mSTM v UK



- **Upozornění v rámci systému EpiPulse**

- na zprávu reagovalo několik členských států
- informace o případech potenciálně souvisejících s hlášeným klastrem

- **Epidemiologické šetření**

- „Exploratory case interviews“ naznačily souvislost se spotřebou specifických čokoládových výrobků

Šetření

- Svolán mezinárodní tým pro reakci na epidemii (UK, AT, BE, CZ, DK, FR, GE, IR, IT, LU, NL, NO, SL, ES, SE).
- Potvrzené případy** přiřazeny na základě WGS a cgMLST analýzy.
- Pravděpodobné případy** byly definovány na základě sérotypu v kombinaci s MLVA profilem a/nebo výsledky antimikrobiální rezistence (AMR).
- Pravděpodobné a potvrzené případy byly následně kontaktovány za účelem zdokumentování expozice potravinám včetně čokolády a výrobků z ní.

Dohodnuty definice případů

	Cluster 1	Cluster 2
Probable case	A laboratory-confirmed monophasic <i>S. Typhimurium</i> case with symptom onset on or after 1 October 2021 (date of sampling or date of receipt by the laboratory if date of symptom onset is not available)	
	AND	
	By phenotypical testing expressing resistance to ampicillin/amoxicillin, kanamycin/gentamicin, trimethoprim/co-trimoxazole (trimethoprim-sulfamethoxazole) and chloramphenicol	By phenotypical testing expressing resistance to ampicillin/amoxicillin, kanamycin and tetracyclines
	OR	
	MLVA profile 3-11-14-NA-0211	MLVA profile 3-8-10-NA-0211
Confirmed case	A laboratory-confirmed monophasic <i>S. Typhimurium</i> case after 1 October 2021 (date of sampling or date of receipt by the laboratory if date of symptom onset is not available)	
	AND	
	One of the following laboratory criteria: • clustering with any of the representative outbreak isolates by the national cgMLST pipeline within five AD; • clustering in a centralised WGS analysis within five ADs in a single linkage analysis; • belonging to the cgMLST HC5_296366 according to the Enterobase scheme;	One of the following laboratory criteria: • clustering with any of the representative outbreak isolates by the national cgMLST pipeline within five AD; • clustering in a centralised WGS analysis within five ADs in a single linkage analysis; • belonging to the cgMLST HC5_298160 according to the Enterobase scheme;
	1.1.1.124.6096.7575.% (t5:7575) (eburst group 1), according to the UKHSA pipeline; • clustering according to a national SNP pipeline within five SNPs.	1.1.1.2765.6144.7643.% (t5:7643) (eburst group 1), according to the UKHSA pipeline; • clustering according to a national SNP pipeline within five SNPs.

MLVA multilocus variable number tandem repeat analysis, cgMLST core genome multilocus sequence typing, AD allelic differences, WGS whole genome sequencing, SNP single nucleotide polymorphism, UKHSA UK Health Security Agency

cgMLST analýza mSTM

Zástupci **klastru 2** byly rezistentní pouze ke 4 skupinám antibiotik:

- penicilinům/beta-laktamům,
- tetracyklinům,
- sulfonamidům,
- aminoglykosidům.

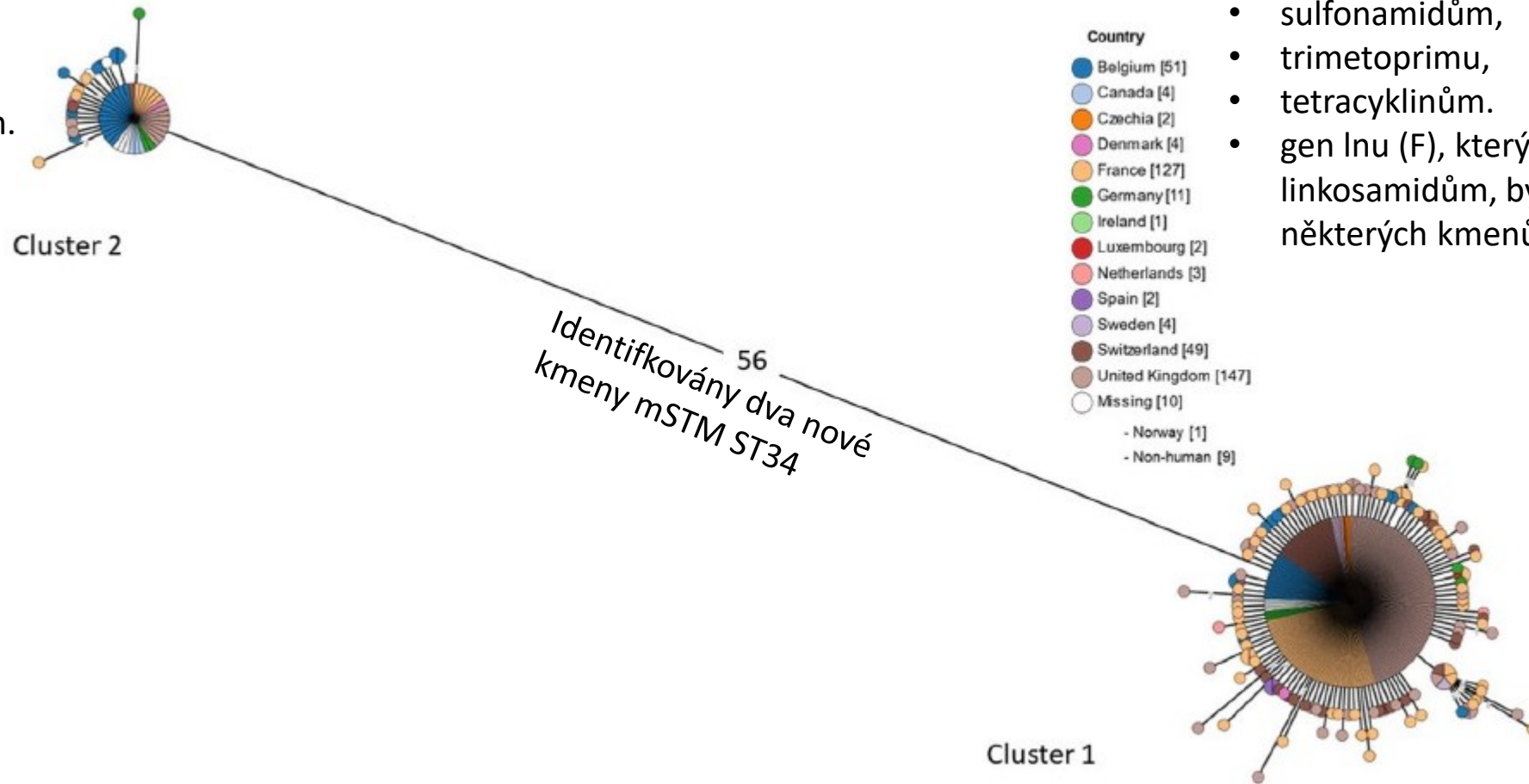


Fig. 2 cgMLST based minimum spanning tree for the monophasic *S. Typhimurium* isolates available on EnteroBase ($n=415$) as of 10 April 2024

Zástupci **klastru 1** byly rezistentní přibližně k šesti třídám antimikrobiálních látek:

- penicilinům/beta-laktamům
- aminoglykosidům
- fenikolům,
- sulfonamidům,
- trimetoprimu,
- tetracyklinům.
- gen *lnu* (F), který kóduje rezistenci k linkosamidům, byl rovněž přítomen u některých kmenů.

Následné akce

- Další vyšetřování belgického úřadu pro bezpečnost potravin potvrdilo přítomnost mSTM ST34, která odpovídá epidemickému kmeni v závodě Ferrero Corporate v Arlonu.
- Kmeny mSTM ST34 zjištěny na povrchu a ve vzorcích zbytkových surovin odebraných z “buttermilk tanks”.
- Následně byla v návaznosti na inspekci (Úřad pro bezpečnost potravin, BE) pozastavena činnost závodu a všechny jeho výrobky byly staženy, čímž se snížilo riziko expozice.
- Společnost Ferrero začala stahovat více než 180 výrobků distribuovaných ve více než 110 zemích (cca 7 % své světové produkce).

➤ **ZÁVĚR: K identifikaci případů a vehikula přenosu během této epidemie byla použita WGS.**

Salmonella Umbilo

- Sérovar s nízkou incidencí v ČR (v letech 2005-2023 zhruba 0,0084 případu onemocnění na 100 000 obyvatel)
- Obvykle 20 až 32 případů ročně v rámci EU/EEA v letech 2014-2023.
- Rezervoáry neznámé
 - zmínka o ještěrkách v polních oblastech
- v případě vehikul doposud asociace kořením (kari listy, UK, 2017)



Salmonella Umbilo

- **Identifikace klastru**

- 9 případů *S. Umbilo* v Německu (v období 07-08/2024 vs. medián 3 případy/5let)
- Celogenomová sekvenace kmenů a cgMLST analýza odhalila, že tyto izoláty jsou geneticky příbuzné (0-3 AD) k referenční sekvenci.

- **Upozornění v rámci systému EpiPulse**

- Srpen 2024 -Německo upozornilo ostatní země na neobvyklý nárůst případů *S. Umbilo*.
- Na zprávu reagovalo několik členských států EU (primárně Dánsko, Rakousko), informovalo o souvisejících případech.
- V rámci ČR se identifikovalo a do laboratoře dorazilo celkem 9 kmenů *S. Umbilo*.

- **Epidemiologické šetření**

- Výsledky šetření naznačili souvislost infekce *S. Umbilo* s konzumací rukolového salátu a/nebo jiných zelených listových salátů.

Šetření

- **Potvrzené případy** jedinci s počátkem onemocnění nebo datem oznámení nebo laboratorním datem (testování nebo registrace) dne 1. července 2024 nebo později a jejichž odpovídající kmen S. Umbilo vykazuje ≤ 5 alelickou vzdálenost k referenční sekvenci.
- **Pravděpodobné případy** jedinec s datem začátku onemocnění (nebo datem oznámení či laboratorním datem) 1. července 2024 nebo později, který byl oznámen jako případ S. Umbilo bez odpovídajícího izolátu nebo s odpovídajícím izolátem, který **nebyl** sekvenován.

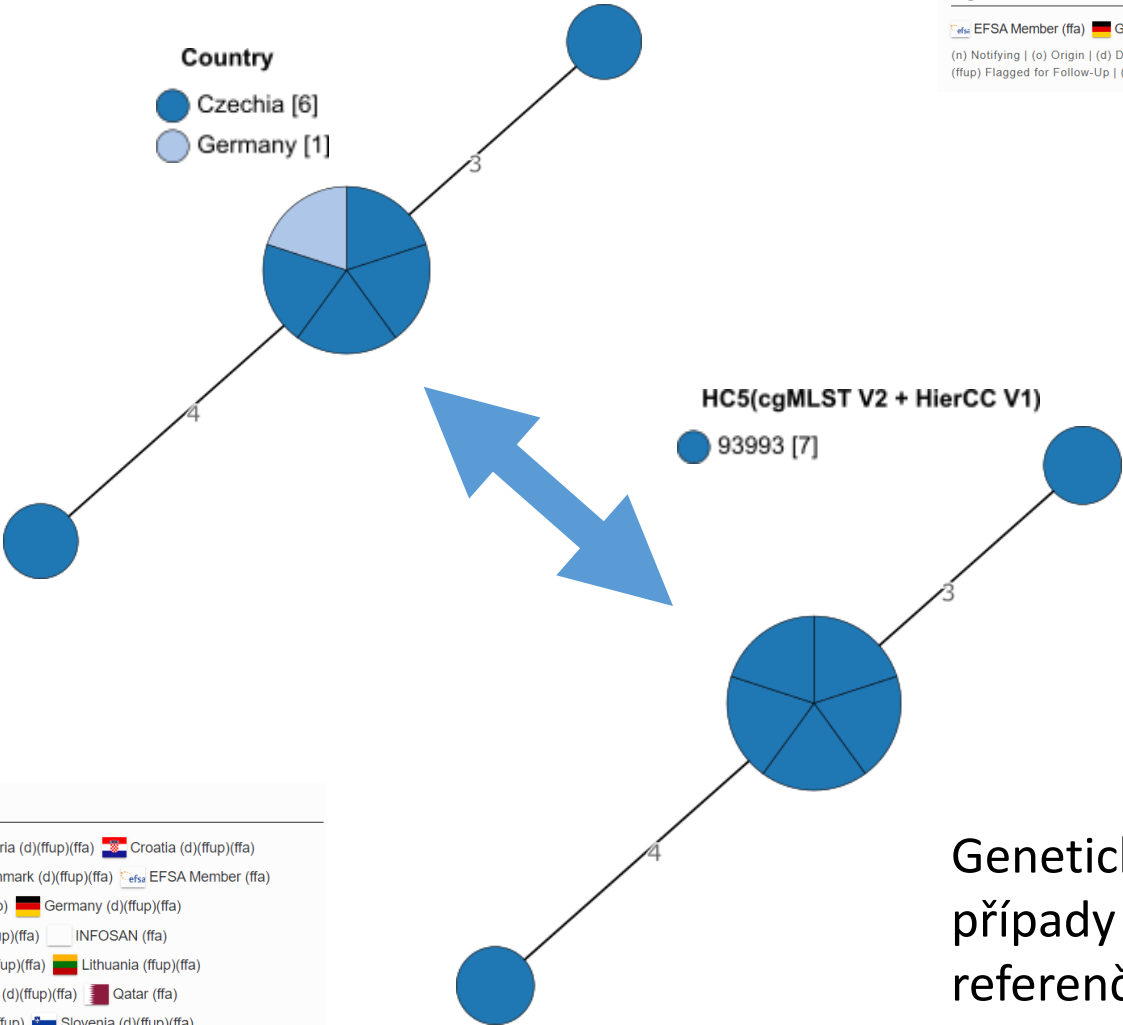
Organisations

EFSA Member (ffa) Germany (n)(d)(op)(ffa) Italy (o)(op)(ffa)

(n) Notifying | (o) Origin | (d) Distribution | (op) Operator
(ffup) Flagged for Follow-Up | (ffa) Flagged For Attention

V Evropě se objevila nebezpečná salmonela. Za jejím rozšířením má stát salát z Itálie

Téma: Nemoci • Václav Černý • 1. října 2024 18:49



Geneticky podobné případy s německým referenčním kmenem

RASFF Window

SEARCH

CONSUMERS

NOTIFICATION 2024.7033

Salmonella umbilo in rocket from Italy

notified 20 SEP 2024 by Austria | last update 14 OCT 2024 EC validated

Organisations

Austria (n)(d)(op)(ffup)(ffa)	Bulgaria (d)(ffup)(ffa)	Croatia (d)(ffup)(ffa)
Czech Republic (d)(ffup)(ffa)	Denmark (d)(ffup)(ffa)	EFSA Member (ffa)
Estonia (ffup)(ffa)	Finland (d)(ffup)	Germany (d)(ffup)(ffa)
Greece (d)(ffup)(ffa)	Hungary (ffup)(ffa)	INFOSAN (ffa)
Italy (o)(d)(op)(ffup)(ffa)	Latvia (ffup)(ffa)	Lithuania (ffup)(ffa)
Netherlands (d)(ffup)(ffa)	Poland (d)(ffup)(ffa)	Qatar (ffa)
Romania (ffup)(ffa)	Slovakia (d)(ffup)	Slovenia (d)(ffup)(ffa)
Sweden (d)(ffup)	Switzerland (d)(ffup)(ffa)	United Arab Emirates (d)(ffup)(ffa)
United Kingdom (d)(ffa)		

(n) Notifying | (o) Origin | (d) Distribution | (op) Operator
(ffup) Flagged for Follow-Up | (ffa) Flagged For Attention

Následné akce

- Po upozornění Rakouska prostřednictvím systému RASFF přijaly italské orgány pro bezpečnost potravin opatření k zastavení distribuce rukolového salátu a všech výrobků jej obsahujících a nařídily stažení rukolového salátu z trhu (RASFF 2024.7033).
 - Rakouská reakce na výskyt nákazy: zastavení veškeré distribuce rukolového salátu z Itálie
 - *Salmonella* Umbilo byla zjištěna nejprve v rukolovém salátu a později také v baby špenátu. Obě potraviny pocházely od stejné společnosti v Itálii.
- **ZÁVĚR: K identifikaci případů a vehikula přenosu během epidemie byla použita WGS.**

Salmonella Strathcona

- Tento sérotyp byl poprvé izolován v roce 1988 u pacienta žijícího ve čtvrti ve Vancouveru (Strathcona).
- V letech 1988 – 2010 celosvětově hlášen pouze jednou (2006), kdy byl izolován z rány u francouzského pacienta.
- V letech 2007-2010 nebyl do evropského systému sledování (TESSy) nahlášen žádný případ.
- Nárůst hlášení od 2019 (až 201 případů v 2023)
- Rezervoáry nejsou známe.
- V případě epidemií byl tento sérovar identifikován v Dánsku - 2011, vehikulum datlová rajčata.



Rajče Datterino F1 - 10 semen

Salmonella Strathcona

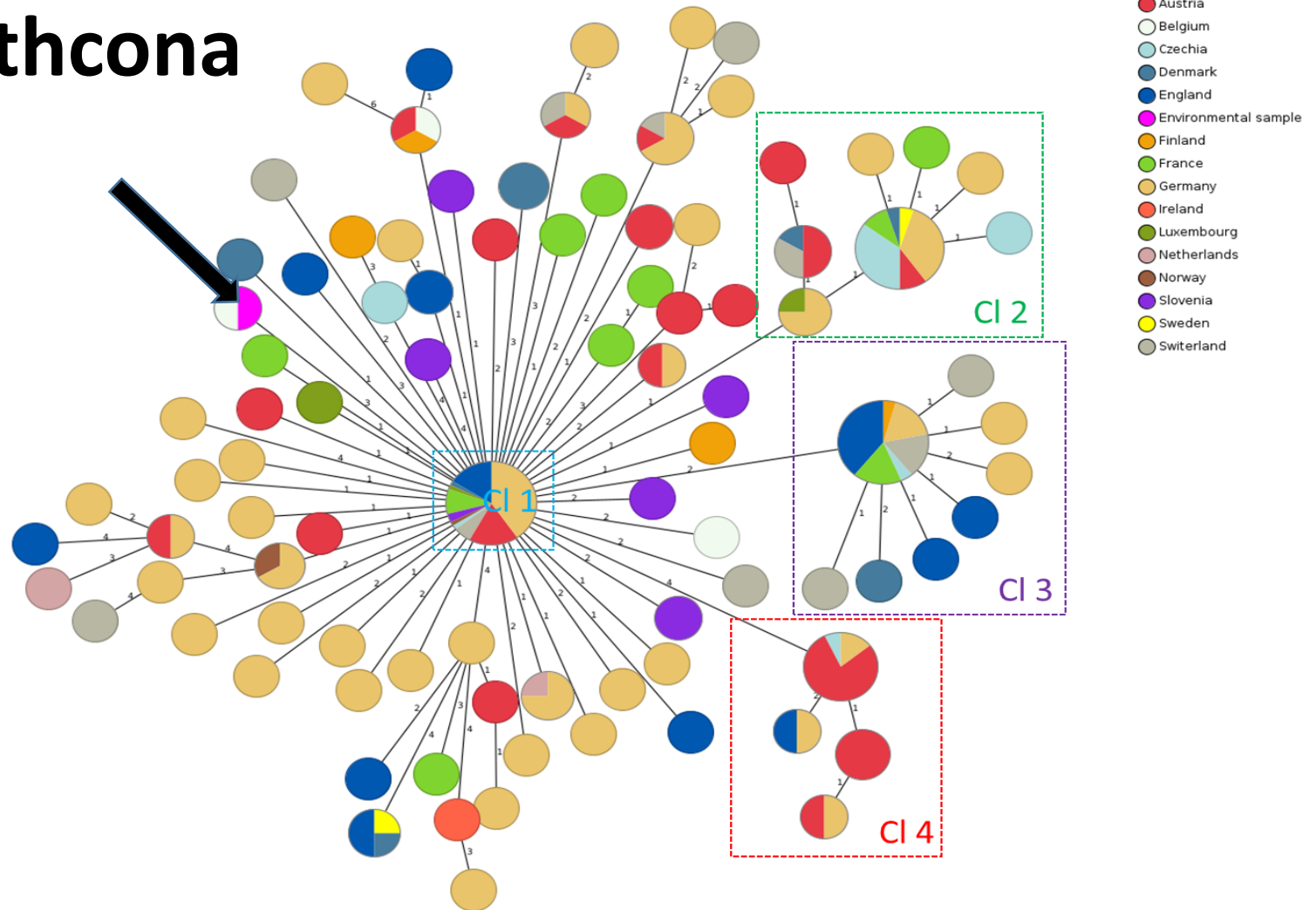
- **Upozornění v rámci systému EpiPulse**
- Říjen 2023 Německo informovalo o 46 případech *S. Strathcona*, které se vyskytly od srpna 2023.
- Několik dalších členských států EU/EHP rovněž nahlásilo případy infekce *S. Strathcona* ve stejném období a následně bylo zahájení šetření epidemie *S. Strathcona*.
- **Epidemiologické šetření**
- Z rutinních surveillance systémů (např. ISIN v CZ) či na základě aktivního vyhledávání případů a sběru epidemiologických dat formou pohovorů (např. DE, AT) bylo provedeno epidemiologické šetření.

Šetření

- **Potvrzený případ** osoba s laboratorně potvrzenou infekcí S. Strathcona v zemi EU/EHP, Švýcarsku, Anglii a Skotsku, oznámená od 1. července 2023 do 31. prosince 2024, jejichž odpovídající kmen S. Strathcona vykazuje **≤ 7 alelickou vzdálenost** k referenční sekvenci (SA23-05042; multilokusový sekvenční typ (ST) 2559 a klastrový typ (CT) 3910) pomocí cgMLST analýzy.
- **Pravděpodobný případ** osoba, která onemocněla nebo která byla oznámeným případem S. Strathcona nebo u které bylo v letech 2011 až 2024 hlášeno jakékoli laboratorní potvrzení salmonely bez odpovídajícího izolátu, ale s epidemiologickou vazbou na potvrzený případ, jak je definován výše.
- **Historický případ** S. Strathcona byl definován jako laboratorně potvrzený případ S. Strathcona v zemi EU/EHP, Švýcarsku, Anglii a Skotsku potvrzený podle stejných mikrobiologických kritérií jako výše, ale s hlášením mezi 1. lednem 2011 a 30. červnem 2023.

cgMLST analýza S. Strathcona

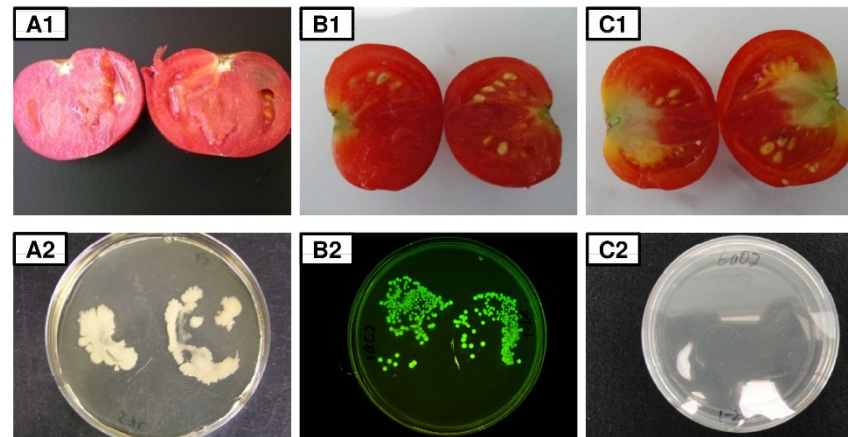
- Podle definice případu se 246 lidských izolátů z různých evropských zemí shlukovalo do klastru. 11 případů z ČR
- Environmentální izolát z kalů z čistíren odpadních vod (označen černou šipkou).
- Lze rozlišit čtyři sub-klastry :
 - Cl 1 - klast 1 (62 izolátů),
 - Cl 2 - klast 2 (35 izolátů),
 - Cl 3 - klast 3 (30 izolátů),
 - Cl 4 - klast 4 (23 izolátů).



„Minimal spanning tree“ vizualizace cgMLST analýzy případů S. Strathcona 2023-2024, barevně rozlišené podle země izolace.

Následné akce

- Epidemiologická šetření a šetření zpětné sledovatelnosti v roce 2023 naznačila, že pravděpodobným původcem jsou malá rajčata ze Sicílie.
- Vzhledem k tomu, že rajčata jsou považována za výrobek určený k přímé spotřebě a existuje riziko, že se salmonela nachází uvnitř rajčat, nemohou se kontrolní opatření zaměřit pouze na chování spotřebitele, např. oplachování rajčat, ale musí se zaměřit také na řízení výroby a kontroly možné kontaminace, než se dostanou ke spotřebiteli.



Shiga toxin-produkující *E. coli* (STEC)

➤ Nejzávažnější skupina střevně patogenních *E. coli* – průjem i celkové onemocnění!

- Průjem
- Krvavý průjem (hemoragická kolitida)
- **Hemolyticko-uremický syndrom**
Systémová komplikace infekce STEC u 10 % pacientů s průjmem (děti < 5 let)
- Vyvolán **Shiga toxiny (Stx)** produkovanými STEC kolonizujícími colon => absorpce Stx do oběhu
=> poškození endotelu glomerulárních kapilár

➤ HUS je nejčastější příčinou akutního selhaní ledvin u dětí!

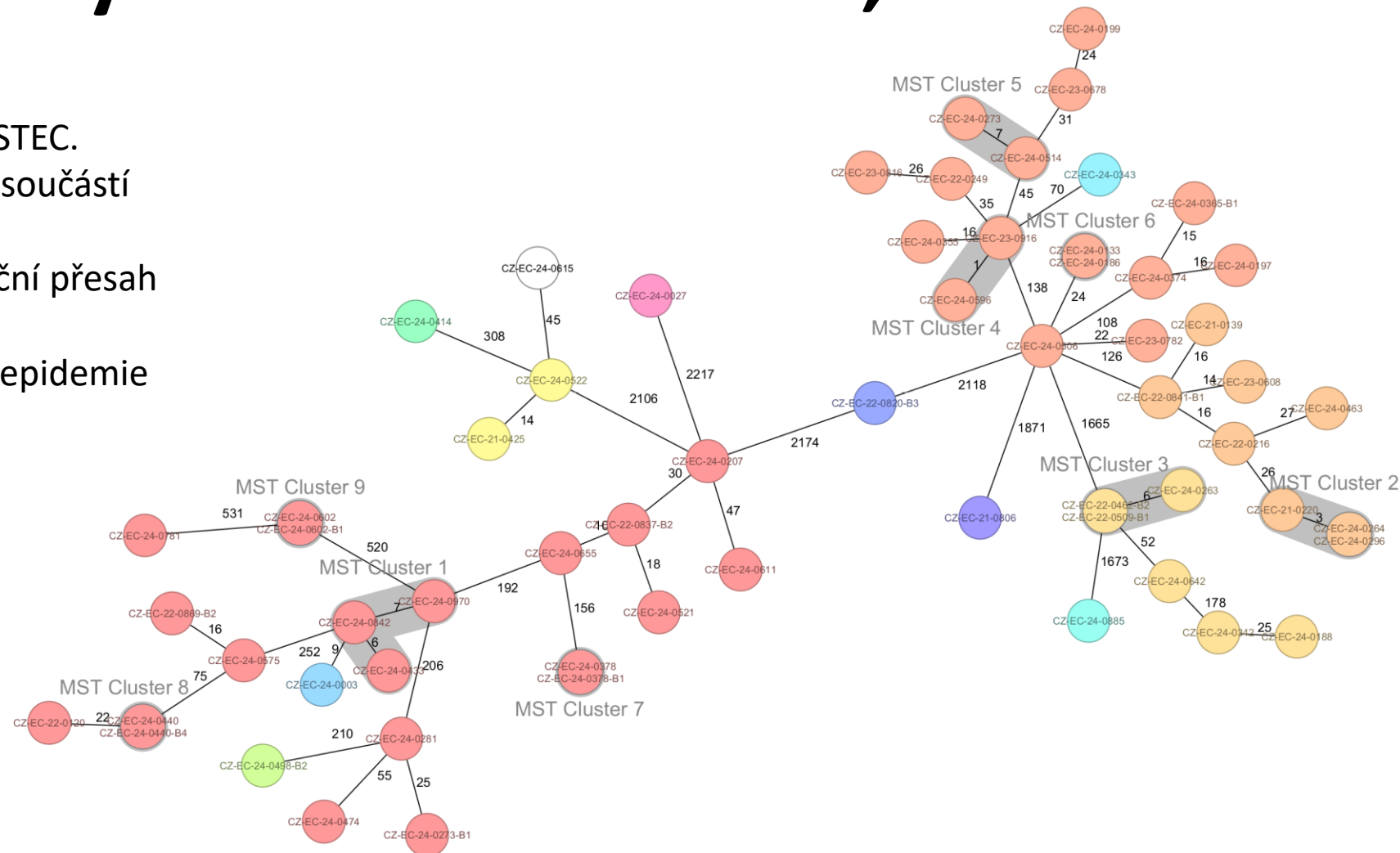
➤ Pozdní následky – až u 30% pacientů za 5 i více let po akutním onemocnění:

Proteinurie, hypertenze, chron. renální selhaní => **celoživotní dialýza, transplantace ledvin**

cgMLST analýza STEC 2021-2024, ČR

- Identifikováno celkem 9 klastrů STEC.
- 17,7 % analyzovaných kmenů je součástí některého z klastrů.
- Žádný z klastrů neměl přeshraniční přesah => geografická specifita STEC.
- Zatím nebyla detekována žádná epidemie STEC.

STEC	06/2022 - 12/2024
Počet epidemických klastrů v systému EpiPulse	36
Počet epidemických klastrů v systému EpiPulse vykazujících geneticky podobné kmeny z ČR	0
Počet epidemických klastrů v systému EpiPulse vykazujících geneticky podobné kmeny z ČR s prokázaným vehikulem/zdrojem	0



Minimální kostra grafu (MST) zobrazující výsledky cgMLST analýzy sekvenovaných kmenů (1 kmen = 1 kruh) STEC v letech 2021-2024 (n=62). Alelické rozdíly mezi jednotlivými kmeny jsou indikovány čísly na spojnicích mezi kmeny. Barevné označení jednotlivých kmenů odpovídá sekvenčním typům na základě 7 genového MLST schématu dle Achtmana. Geneticky podobné kmeny tvořící klastry jsou vyznačeny šedým podbarvením.

Prezentovaný výzkum byl realizován týmem pracovníků Státního Zdravotního Ústavu díky projektu:

Genomická surveillance vybraných infekčních nemocí v České republice



Co-funded by the
European Union

Projekt „Genomická surveillance vybraných infekčních nemocí v České republice“ (HERA2CZ) je spolufinancován Evropskou unií. Prezentované názory a postoje však představují pouze názory autorů a nemusí nutně odrážet názory a postoje Evropské unie nebo Evropské výkonné agentury pro zdraví a digitální oblast (HaDEA). Ani Evropská unie, ani Evropská výkonná agentura pro zdraví a digitální oblast (HaDEA) za ně nemohou nést odpovědnost.

Děkuji za pozornost!