



ESCHERICHIA COLI O157:H7 ESINEMINE EESTI PIIMAFARMIDES JA VEISELIHA TOOTMISE AHELAS AASTATEL 2005–2014

OCCURENCE OF *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 IN ESTONIAN DAIRY FARMS AND BEEF PRODUCTION CHAIN IN 2005–2014

Toomas Kramarenko^{1,2}, Kadrin Meremäe¹, Jelena Sögel³, Maiu Kuningas², Annika Vilem²,
Liidia Häkkinen², Mihkel Mäesaar², Terje Elias¹, Mati Roasto¹

¹Eesti Maaülikool, Veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, Toiduhügieeni ja rahvatervise õppetool,
Fr. R. Kreutzwaldi 56/3, 51006 Tartu

²Veterinaar- ja toidulaboratoorium, Fr. R. Kreutzwaldi 30, 51006 Tartu

³Veterinaar- ja Toiduamet, Väike-Paala 3, 11415 Tallinn

Saabunud: 11.06.2018
Received:
Aktsepteeritud: 15.10.2018
Accepted:
Avaldatud veebis: 15.10.2018
Published online:
Vastutav autor: Toomas
Corresponding author: Kramarenko
E-mail: toomas.kramarenko@vetlab.ee

Keywords: *Escherichia coli* O157:
H7, cattle, STEC serogroups,
virulence markers, drug resistance.

doi: 10.15159/jas.18.09

ABSTRACT. *Escherichia coli* O157:H7 human infections are mostly associated with consumption of raw or undercooked beef and raw milk. Ruminants, especially cattle are the main reservoir of the pathogen. The main aim of the present study was to evaluate the occurrence of *E. coli* O157:H7 in cattle dairy farm and beef production level in Estonia. It was found that *E. coli* O157:H7 is present at both the dairy farm and slaughterhouse level. The occurrence of the pathogen at Estonian dairy farm level was 1.2% from 1312 cattle's sampled. At slaughterhouse level 744 hide swabs were taken from which 30 (4.0%) were positive to *E. coli* O157:H7. Both *stx1* and *stx2* genes were determined from isolates and often the combination of both genes was found to be present. Minimal inhibitory concentration was determined for 30 *E. coli* O157:H7 isolates which revealed 26.7% of multiresistant isolates. In 2009–2010 in a total of 188 beef samples were analysed, which all were negative for O157:H7.

© 2018 Akadeemiline Põllumajanduse Selts. Kõik õigused kaitstud. 2018 Estonian Academic Agricultural Society. All rights reserved.

Sissejuhatus

Escherichia coli (*E. coli*) kuulub *Enterobacteriaceae* sugukonda ja on Gram-negatiivne fakultatiivselt aerobne bakter. Üldjuhul kuulub *E. coli* loomade ja inimeste sooletrakti normaalsesse mikrobiotasse, kuid *E. coli* bakterite hulgas esineb ka toksiline tootvaid patogeenseid tüvesid, mis võivad esile kutsuda seedetrakti infektsioone (Kaper jt, 2004; Songer, Post, 2005). Seedeelundkonna haigusi põhjustavateks *E. coli* patotüüpideks on enteropatogeenne *E. coli* (EPEC), enterotoksigeenne *E. coli* (ETEC), enteroinvasiivne *E. coli* (EIEC), enteroagregatiivne *E. coli* (EAaggEC), difuuselt adherentne *E. coli* (DAEC) ja Shiga-toksiini tootev *E. coli* (STEC). STEC on üks kõige olulisemaid patotüüpe, mille alatüübiks on enterohemorraagiline *E. coli* (EHEC), mis põhjustab enterohemorraagiaid ja hemolüütilis-ureemilist sündroomi (HUS). Shiga-toksiini tootvat *E. coli*-t määratakse ühe või enama Shiga-toksiini kodeeriva geeni (*stx*) tuvastamisega. Kuna toksiini mõju avaldub eelkõige Vero-rakkudele, siis STEC'i

tüvesid nimetatakse ka verotoksiliseks *E. coli*-ks. Enterohemorraagiaid tekitavate omadustega on õnneks siiski vaid väike osa *E. coli* tüvesid, peamiselt *E. coli* O157:H7, mida seostatakse väga tõsiste infektsioonide ja haiguspuhangute põhjustajana (Scallan jt, 2011; EFSA Panel on Biological Hazards, 2013). Kuigi Terviseameti (2017) andmetel on aastatel 2011–2017 *E. coli* nakkusesse haigestunute osakaal kõikunud vahemikus 0,6 kuni 3,4 haiget 100 000 elaniku kohta, siis puuduvad andmed inimeste haigestumist põhjustanud patotüüpide (va EHEC) esinemuse kohta Eestis. Haigestumine STEC-nakkusesse toimub enamasti saastunud toidu, näiteks alaküpsetatud veiseliha, eba- piisavalt kuumtöödeldud või toorete piimatoodete, aga ka saastunud juurviljade ja puuviljade söömise kaudu (Allelberger jt, 2003; Caprioli jt, 2005; Söderström jt, 2008). STEC põhireservuaariks on veised (Beutin jt, 1993), kes ise reeglina ei haigestu, kuid on haigustekitaja kandjaks. Seega, haigustekitajad võivad inimeseni jõuda ka vahetu kontakti kaudu veistega. Tapamajades

toimub veise rümpade saastumine peamiselt nahatustamisel ja seedekulgla eemaldamisel (Martin, Beutin, 2011). Farrock jt (2013) leidsid, et saastunud veiseliha on üks peamisi STEC k.a *E. coli* O157:H7 poolt põhjustatud infektsioonide allikaid inimestel. Varasemates uuringutes on leitud, et põllumajandusloomadelt sh veistelt isoleeritud STEC tüved on osutunud resistentseteks ampitsilliini, streptomütsiini, sulfametoksasooli, tetratsükliinide ja teiste antibiootikumide suhtes, mida konkreetsetes geograafilises piirkonnas põllumajandusloomade raviks kasutatakse (Ziebell jt, 2011; Sasaki jt, 2012; Amézquita-López jt, 2016). Veistelt isoleeritud multiresistentsete tüvede seas on olnud STEC O157 isolaate, mis on osutunud üheaegselt resistentseks streptomütsiinile, sulfametoksasoolile ja ampitsilliinile (Mora jt, 2005; Scott jt, 2009). On leitud, et mõned STEC serogrupid võivad omandada resistentsust kergemini, kui teised nt Jaapani uuringus leiti, et lihaveistelt isoleeritud STEC O26 tüvede resistentsusmäär oli oluliselt kõrgem kui samadest veisekarjadest isoleeritud STEC O157 tüvedel (Sasaki jt, 2012).

Käesoleva artikli eesmärk on anda ülevaade aastatel 2005–2014 Eestis teostatud verotoksilise *E. coli* uuringutest, et hinnata *E. coli* O157:H7 esinemist piimafarmides ja veiseliha tootmise ahelas.

Materjal ja meetodika

Proovide kogumine

Aastatel 2005–2014 uuriti piimafarmi tasandil ühtekokku 1312 veist. Aastatel 2005–2010 valiti uuringusse farmid, kus peeti rohkem kui 100 looma. Igast uuritud farmist võeti roojaproovid neljalt loomalt. Laboris moodustati neist üks liitproov. Positiivse tulemuse puhul uuriti osaproove eraldi. Aastal 2014 läbi viidud uuring keskendus aga toorpiima otseturustusega tegeleval piimafarmidele. Proove koguti 21-st karjast, igas karjas võeti proovid viielt loomalt, millest moodustati liitproov.

Tapamaja tasandil teostati uuringud aastatel 2011–2013, kui uuriti ühtekokku 744 nahapinnaproovi.

Uuringusse valiti veised vanuses 4–24 kuud. Proovi võtt oli jaotatud sõltuvalt ettevõtete toodangumahtudest ühtlaselt aasta lõikes. Proovid võeti abrasiivse käsnaga veise rinnakupiirkonna 400 cm² suuruselt nahapinnalt.

Lihalõikusettevõtetest (n = 24) koguti aastatel 2009–2010 ühtekokku 188 veiselihaproovi. Uuringusse kaasati riikliku zoonoosete haigustekitajate seire raames lihalõikusettevõtete võetavad veiste lihaproovid. Proovid võeti riiklike veterinaarinspektorite poolt lihalõikuse ajal otse konveierilt või lihalõikuse töökohas.

Escherichia coli O157:H7 isoleerimine

E. coli O157 tuvastamine proovidest toimus vastavalt EVS EN ISO 16654 meetodikale. Käsnaproov asetati eelsoojendatud modifitseeritud trüpton-soja puljongisse, mida oli rikastatud 20 mg L⁻¹ novobiotsiiniga (Oxoid), seejärel proovi homogeniseeriti Stomacher-loksutis 60 sekundi jooksul ning seejärel inkubeeriti 6 ± 0,5 tundi ja 21 ± 3 tundi temperatuuril 41,5 °C ± 0,5°C. Seejärel teostati immunomagneetiline separeerimine (IMS) kasutades Captivate™ anti-O157

kuulikesi. 50 µl IMS suspensiooni kanti sorbitool MacConkey agarile, mis sisaldas tsefiksiim-telluriit lisandit (Oxoid). Samuti kanti 50 µl IMS suspensiooni CHROMagar™ STEC agarplaatidele (CHROMagar). Inokuleeritud söötmeid inkubeeriti temperatuuril 37 ± 1°C 21 ± 3 tundi. Iseloomulikud kolooniad subkultiveeriti ning analüüsiti konventsionaalsete biokeemiliste testidega β-glükuronidaasi ja indooli produtseerimise suhtes.

Virulentsusmarkerite määramine

Stx1, *stx2* ja *eae* geenide määramine viidi läbi reaalaaja polümeraasi ahelreaktsiooni meetodil. DNA ekstraheerimiseks kasutati RTP® Bacteria DNA Mini Kit-i (Strattec Molecular GmbH). Geenide tuvastamise meetodika täpsem kirjeldus on esitatud tehnilises spetsifikatsioonis CEN ISO/TS 13136. Enterohemolüsiini kindlakstegemiseks isolaatidel kasutati Beutin jt (1989) poolt kirjeldatud protokollid.

Seroloogiline kinnitus

Serotüübi O157:H7 määramine teostati konventsionaalsel aglutinatsiooni meetodil (Statens Serum Institut) võttes aluseks tootjapoosed juhised.

Escherichia coli O157:H7 ravim tundlikkuse uuringud

Tundlikkus erinevate antimikroobsete ainete suhtes määrati kindlaks minimaalse inhibeeriva kontsentratsiooni mikrolahjenduse meetodit kasutades selleks VetMIC GN paneele (SVA). Tulemuste tõlgendamisel lähtuti Euroopa Komisjoni ravim tundlikkuse testimise juhendist ning Euroopa Liidu antimikroobse resistentsuse referentlaboratooriumi juhistest (EURL-AR 2013) ja kehtestatud epidemioloogilistest piirväärtustest.

Statistiline analüüs

Levimusnäitajate ning nende usaldusintervallide arvutamisel kasutati *online*-kalkulaatorit VassarStats (Lowry, 2015). Erinevate gruppide levimuse statistiliseks võrdlemiseks kasutati Fisher'i täpset testi (Lowry, 2015). Tulemus loeti statistiliselt oluliseks kui *p*-väärtus oli < 0,05.

Tulemused ja arutelud

Escherichia coli O157:H7 uuringud piimafarmi tasandil aastatel 2005–2014

Riikliku loomatauditõrjepro grammi raames viidi uuringud läbi perioodil 2005–2010, kus uuringusse kaasati enam kui saja loomaga farmid. 2014. aasta uuringud keskendusid farmidele, mis tegelesid toorpiima otse turustamisega. Aastatel 2005–2014 uuriti ühtekokku 1312 veist, kellest *E. coli* O157:H7 osas osutus positiivseks 16 (1,2%) ning positiivseid piimakarjasiid oli kokku neli (tabel 1).

Euroopa Toiduohutusameti ja Euroopa Nakkushaiguste Ennetamise ja Tõrje Keskuse raporti andmeil varieerus STEC-i levimus Euroopa Liidus veistel 2,2–6,9% ning O157 serogrupi puhul 0,5–2,9% (EFSA/ECDC, 2011). Tavapärane STEC kontsentratsioon nakatunud veise roojaproovis on suurusjärgus 10²–10⁵ cfu g⁻¹, kuid võib teatud loomade (nn *super-shedders*) puhul ulatuda ka 10⁸ cfu g⁻¹ (Besser jt, 2001; Menrath jt, 2010).

Tabel 1. *Escherichia coli* O157:H7 roojaproovide uuringud Eesti piimakarjades aastatel 2005–2014**Table 1.** The prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 from faecal samples at dairy farm level in 2005–2014

Aasta Year	Uuritud loomade arv Total No. of animals	Positiivsete loomade arv (%) No. of positive animals (%)	Positiivsete karjade arv No. of positive herds
2005	200	0 (0)	0
2006	190	13 (6.8)	1
2007	162	0 (0)	0
2008	209	1 (0.5)	1
2009	253	1 (0.4)	1
2010	192	0 (0)	0
2014	106	1 (0.9)	1
Kokku / Total	1312	16 (1.2)	4

Escherichia coli O157:H7 uuringud veiste tapamaja tasandil aastatel 2011–2013

Aastatel 2011–2013 uuriti tapamaja tasandil ühtekokku 744 veise rinnakupiirkonna nahapinnaproovi, millest 30 proovi (4%; CI₉₅ 2,8-5,7%) osutusid positiivseks. *E. coli* O157:H7 levimus varieerus nahapinnaproovides vahemikus 3,3% kuni 5,3% olles kõrgeim 2012. aastal ning madalaim 2011. aastal. Aastate lõikes *E. coli* O157:H7 levimus statistiliselt oluliselt ei erinevad ning ei täheldatud ka statistiliselt olulisi seoseid veiste soo, aastaegade ja serovari levimusnäitajate vahel. Suhteliselt sarnased tulemused saadi Itaalia uuringus (Bonardi jt, 2015), kus leiti, et *E. coli* O157:H7 levimusnäitaja veiste nahapinnaproovides oli 2,5%. Kõrgemaid *E. coli* O157:H7 levimusnäitajaid, 7,3% ja 13,4%, leiti vastavalt O'Brien jt (2005) ja Thomas jt (2012) poolt läbi viidud uuringutes.

Tabelis 2 on näidatud aastatel 2011–2013 tapamaja tasandil läbi viidud *E. coli* O157:H7 levimusuuringute tulemused. Kõige enam proove (n = 156) koguti Lääne-Virumaal, kus 13 proovi (8,3%) osutusid positiivseks

Tabel 2. *Escherichia coli* O157:H7 virulentsusmarkerite esinemine positiivsetes proovides aastatel 2011–2013**Table 2.** The prevalence of the virulence factors of *Escherichia coli* O157:H7 in positive samples in 2011–2013

Maakond County	Uuritud proovide arv / positiivseid (%) No. of samples / positive samples (%)	Virulentsusmarkerid / Virulence factors		
		Enterohemolüsiin Enterohemolysin	<i>eae</i> geen <i>eae</i> gene	<i>stx1</i> ja <i>stx2</i> geenide alatüübid ja nende kombinatsioonid <i>stx1</i> and <i>stx2</i> subtypes and their combinations
Harjumaa	2 / 0 (0)	–	–	–
Ida-Virumaa	31 / 0 (0)	–	–	–
Jõgevamaa	57 / 1 (1.8)	+	+	<i>stx2c</i>
Järvamaa	56 / 2 (3.6)	+	+	<i>stx1a stx2c</i>
Lääne-Virumaa	156 / 13 (8.3)	+	+	<i>stx1a stx2c; stx2c</i>
Põlvamaa	30 / 1 (3.3)	+	+	<i>stx2a</i>
Pärnumaa	38 / 1 (2.6)	+	+	<i>stx2c</i>
Raplamaa	84 / 1 (1.2)	+	+	<i>stx2c</i>
Saaremaa	96 / 4 (4.2)	+	+	<i>stx2c; stx1a stx2c</i>
Tartumaa	30 / 0 (0)	–	–	–
Valgamaa	109 / 7 (6.4)	+	+	<i>stx2c; stx1a stx2a; stx1a stx2c</i>
Viljandimaa	54 / 0 (0)	–	–	–

Escherichia coli O157:H7 antibiootikumtundlikkus

Antibiootikumtundlikkus määrati veiste tapamaja tasandil pärit isolaatidel (n = 30), mis osutusid tundlikuks nalidiksiinhappe, tsiprofloksatsiini, florfenikooli, kolistini, klooramfenikooli, tseftaksiimi ja tseftasidiimi suhtes. Kokku 18 isolaati (60%) olid tundlikud kõigi 14 testitud antibiootikumi suhtes, kuid 12 isolaati (40%) osutusid resistentsseks ühe või enama antibiootikumi suhtes. Resistentsust ühe antibiootikumi (kas

E. coli O157:H7 suhtes. Sellele järgneb Valgamaa ja Saaremaa, kus vastavalt 4,2% ja 6,4% proovidest olid positiivsed. Kokku 30-st positiivsest proovist tuvastati 13 proovil (43%) *stx2* geeni esinemine ning 17 proovil (57%) nii *stx1* kui ka *stx2* geenide esinemine. Toksiinide produtseerimist võimaldavate geenide *stx1* ja *stx2* esinemissageduses täheldati statistiliselt olulist erinevust (p < 0,05). Toksiinide produtseerimisele osutavate geenide alatüüpide määramisel jagati isolaadid tinglikult 4 klastrisse: *stx2a* (n = 1), *stx2c* (n = 12), *stx1a stx2a* (n = 4), *stx1a stx2c* (n = 13) (tabel 2). Kõige sagedamini esinenud geeni alatüübiks oli *stx2c*, mis üksinda esines 40% juhtudest ning kombinatsioonis alatüübiga *stx1a* 43,3% juhtudest. Sarnaselt Eesti antud uuringutulemustele täheldas ka Bonardi jt (2015), et toksiin *stx2c* üksi või kombinatsioonis *stx1a*-ga oli kõige sagedamini tuvastatud alatüüp. Aspan ja Erikssoni (2010) uuringus leiti seos Rootsi veistel tuvastatud *E. coli* O157:H7 alatüüpide (*stx1a*, *stx2a*, *stx2c* ja *stx2d*) esinemise ja inimestel esinenud *E. coli* O157:H7 infektsioonide vahel. Eestis tuvastati alatüüp *stx2a* vaid ühes proovis ning kombinatsioonis alatüübiga *stx1a* neljas proovis. Ükski Eestis isoleeritud *E. coli* O157:H7 isolaatidest ei evinud *stx1c*, *stx1d*, *stx2b*, *stx2d*, *stx2e*, *stx2f* ja *stx2g* alatüüpe. Kõik *E. coli* O157:H7 isolaadid evisid intimiini kodeerivat *eae* geeni ning produtseerisid enterohemolüsiini. Tapamaja tasandi uuringuga on võimalik täpsemalt tutvuda Kramarenko jt (2016) artikli kaudu.

Escherichia coli O157:H7 uuringud lihalõikuse tasandil aastatel 2009–2010

Aastatel 2009–2010 uuriti ühtekokku 188 veiselihaproovi, mis kõik osutusid *E. coli* O157:H7 suhtes negatiivseteks.

streptomütsiini või sulfametoksasooli) suhtes tuvastati 4 isolaadi (13%) puhul. Kõige enam isolaate olid resistentsed streptomütsiinile (33,3% isolaatidest) ja sulfametoksasoolile (33,3% isolaatidest). Sarnaselt Eesti uuringule leidsid ka Ziebell jt (2011) oma uuringus, et erinevad STEC tüved on enam resistentsed streptomütsiinile ja sulfametoksasoolile, aga ka tetratsükliinile. Eesti uuringus resistentsust ampitsilliinile esines viiel (16,7%), trimetoprimile neljal (13,3%),

kanamütsiinile kahel (6,7%), tetratsükliinile ühel (3,3%) ja gentamütsiinile ühel (3,3%) STEC isolaadil. Multiresistentsus ehk resistentsus kolme või enama ravimigrupi suhtes tuvastati kaheksal (26,7%) isolaadil, kusjuures üks isolaat nendest oli resistentne nii ampitsilliinile, streptomütsiinile, tetratsükliinile, sulfametoksasoolile kui ka kanamütsiinile. Multiresistentsel tüvedel esines kõige sagedamini resistentsus streptomütsiini, sulfametoksasooli ja ampitsilliini suhtes. Ka kõrgeimad MIC-väärtusi tehti kindlaks eelkõige sulfametoksasooli, streptomütsiini ja ampitsilliini puhul. Smith jt (2007) on avaldanud, et multiresistentsete tüvede esinemine viitab antibiootikumide sagedasele kasutamisele farmi tasandil pikema perioodi vältel. Tõenäoliselt on ka Eesti STEC uuringu multiresistentsete tüvede tekke põhjuseks antibiootikumide kasutamine loomade ravimise eesmärgil farmides, kusjuures konkreetse antibiootikumi suhtes resistentsus viitab selle raviks kasutamisele.

Kokkuvõte ja järeldused

Käesolev uuring näitas, et Eesti veiseliha tootmise ahelas esineb *E. coli* O157:H7. Kuigi üldiselt on patogeeni levimuse näitajad madalad, esineb siiski oht haigustekitajate potentsiaalseks ülekandeks veiseliha või toorpiima kaudu inimesteni, mis arvestades haigustekitaja poolt põhjustava haiguse tõsidust on arvestatav oht rahvatervisele. Uuring kinnitas isolaatidel oluliste virulentsusmarkerite, *stx2c* üksinda ja kombinatsioonis alatuubiga *stx1a*, esinemist. Eelmainitud geene kandvate haigustekitajate esinemine toidus võib kujutada tõsist riski tarbijate tervisele. Uuritud veiselihaproovide negatiivsed tulemused *E. coli* O157:H7 suhtes viitavad samas tapa- ja tootmishügieeni osas patogeenide ohje meetmete heale tasemele.

Kasutades veiseliha tootmise ahelas kõrgekvaliteetset toorainet, järgides eeltingimusprogramme, rakendades toiduohutuse tagamise süsteeme ning vältides parimal võimalikul viisil toidu ristsaastumist toidu tootmise, töötlemise ja tarbimise tasandil saame oluliselt toiduohutuse riske maandada. Oluline on liha säilitamine madalatel külmkapi temperatuuridel (maksimaalselt 6 °C) ning tarbimiseelne korralik kuumtöötlemine (liha sisetemperatuur peab saavutama vähemalt 72 °C), sest vegetatiivsed STEC rakud hävivad kõrgetel temperatuuridel kergesti. Tapamaja tasandil tuleb vältida maksimaalsel võimalikul viisil soolesisaldise sattumist rümbe pindadele. Eeskujulik tapa- ja tootmishügieen on oluliseks ohjemeetmeks mitte ainult patogeense *E. coli* vaid ka teiste enteraalsete patogeenide leviku takistamiseks. Resistentsuse, eriti multiresistentsete haigustekitajate tüvede tekke vältimiseks peab ravimite kasutamine farmi tasandil lähtuma ratsionaalsest ravivajadusest ning põhinema headel veterinaaria tavadel.

Tänuavaldus

Täname Veterinaar- ja Toiduametit riiklike zoonoosete haigustekitajate seireandmete ning loomatauditõrje programmi andmete edastamise eest. Laboratoorsete analüüside ning seonduvate andmete eest täname

Veterinaar- ja Toidulabori kolleege. Uurimustööd finantseeriti ka Maaeluministeeriumi rakendusuuringute projektist "*Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes* ja verotoksilise *Escherichia coli*-ga seonduvate toiduohutuse riskide hindamine Eestis" (leping nr T13057VLTH) ning Eesti Maaülikooli arengufondi projektist 8M160198VLTH Toidupatogeenide molekulaarepidemioloogia alase teadus- ja arendustöö edendamine Eesti Maaülikoolis.

Huvide konflikt / Conflict of interest

Autor kinnitab artikliga seotud huvide konflikti puudumist. *The authors declares that there is no conflict of interest regarding the publication of this paper.*

Autorite panus / Author contributions

TK, MR, JS, MK – uuringu kava ja planeerimine;
TK, JS, MK, AV, LH – andmete kogumine;
TK, MR, KM – andmete analüüs ja interpretatsioon;
TK, MR, KM – käsikirja koostamine;
TK, MR, KM, JS, MK, AV, LH – käsikirja ülevaatamine ja heaks kiitmine.
TK, MR, JS, MK – study conception and design;
TK, JS, MK, AV, LH – acquisition of data;
TK, MR, KM – Analysis and interpretation of data;
TK, MR, KM – Drafting of manuscript;
TK, MR, KM, JS, MK, AV, LH – Critical revision and approve the final manuscript.

Kasutatud kirjandus

- Allerberger, F., Friedrich, A.W., Grif, K., Dierich, M.P., Dornbusch, H-R., Mache, C.J., Nachbaur, E., Freilinger, M., Rieck, P., Wagner, M., Caprioli, A., Karch, H., Zimmerhackl, L.B. 2003. Hemolytic-uremic syndrome associated with enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26:H infection and consumption of unpasteurized cow's milk. – *Int. J. Infect. Dis.*, 7:42–45, doi: 10.1016/S1201-9712(03)90041-5.
- Amézquita-López, B.A., Quiñones, B., Soto-Beltrán, M., Lee, B.G., Yambao, J.C., Lugo-Melchor, O.Y., Chaidez, C. 2016. Antimicrobial resistance profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 and non-O157 recovered from domestic farm animals in rural communities in Northwestern Mexico. – *Antimicrob. Resist. In.*, 5:1, doi: 10.1186/s13756-015-0100-5.
- Aspan, A., Eriksson, E. 2010. Verotoxigenic *Escherichia coli* O157:H7 from Swedish cattle; isolates from prevalence studies versus strains linked to human infections – a retrospective study. – *BMC Vet. Res.*, 6(7):1–10, doi: 10.1186/1746-6148-6-7.
- Besser, T.E., Richards, B.L., Rice, D.H., Hancock, D.D. 2001. *Escherichia coli* O157:H7 infection of calves: infectious dose and direct contact transmission. – *Epidemiol. Infect.*, 127:555–560, doi: 10.1017/S095026880100615X.
- Beutin, L., Montenegro, M.A., Ørskov I, Ørskov, F., Prada, J., Zimmermann, S., Stephan, R. 1989. Close association of verotoxin (shiga-like toxin) production with enterohaemolysin production in strains of *Escherichia coli*. – *J. Clin. Microbiol.*, 2:2559–2564.

- Beutin, L., Geier, D., Steinruck, H., Zimmermann, S., Scheutz, F. 1993. Prevalence and some properties of verotoxin (Shiga-like toxin)-producing *Escherichia coli* in seven different species of healthy domestic animals. – *J. Clin. Microbiol.*, 31:2483–2488.
- Bonardi, S., Alpigiani, I., Tozzoli, R., Vismarra, A., Zecca, V., Greppi, C., Bacci, C., Bruini, I., Brindani, F. 2015. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157, O26 and O111 in cattle faeces and hides in Italy. – *Vet. Rec. Open*, 2:1–9, doi: 10.1136/vetreco-2014-000061.
- Caprioli, A., Morabito, S., Brugere, H., Oswald, E. 2005. Enterohemorrhagic *Escherichia coli*: Emerging issues on virulence and modes of transmission. – *Vet. Res.*, 36:289–311, doi: 10.1051/vetres:2005002.
- EFSA/ECDC. 2011. Shiga toxin/verotoxin-producing *Escherichia coli* in humans, food and animals in the EU/EEA, with special reference to the German outbreak strain STEC O104. – Technical report by the European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control, Stockholm, Sweden, 18 pp, doi:10.2900/55055.
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). 2013. Scientific Opinion on VTEC-seropathotype and scientific criteria regarding pathogenicity assessment. – *EFSA Journal*, 11(4):1–106, doi: 10.2903/j.efsa.2013.3138.
- Farrock, C., Jordan, K., Auvray, F., Glass, K., Oppgaard, H., Raynaud, S., Thevenot, D., Condron, R., De Reu, K., Govaris, A., Heggum, K., Heyndrickx, M., Hummerjohann, J., Lindsay, D., Miszczycha, S., Moussiég, S., Verstraete, K., Cerf, O. 2013. Review of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and their significance in dairy production. – *Int. J. Food Microbiol.*, 162:190–212, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.08.008.
- Kaper, J.B., Nataro, J.P., Mobley, H.L.T. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. – *Nat. Rev. Microbiol.*, 2:123–140, doi: 10.1016/j.ijmm.2005.06.008.
- Kramarenko, T., Roasto, M., Mäesaar, M., Maugliani, A., Tozzoli, R., Meremäe, K., Elias, T., Kuningas, M. 2016. Pheno-genotypic characterization of *Escherichia coli* O157:H7 strains isolated from cattle at slaughter. – *Vector-Borne Zoonot.*, 16(11):703–708, doi: 10.1089/vbz.2016.1961.
- Lowry, R. 2015. Vassarstats: website for statistical computation. Available at www.vassarstats.net (Accessed on 01.06.2018).
- Martin, A., Beutin, L. 2011. Characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from meat and milk products of different origins and association with producing animals as main contamination sources. – *Int. J. Food Microbiol.*, 146:99–104, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.041.
- Menrath, A., Wieler, L.H., Heidemanns, S., Semmler, T., Fruth, A., Kemper, A. 2010. Shiga toxin producing *Escherichia coli*: identification of non-O157:H7 super-shedding cows and related risk factors. – *Gut Pathog.*, 2:7, doi: 10.1186/1757-4749-2-7.
- Mora, A., Blanco, J.E., Blanco, M., Alonso, M.P., Dhahi, G., Echeita, A., González, E.A., Bernárdez, M.I., Blanco, J. 2005. Antimicrobial resistance of Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* O157:H7 and non-O157 strains isolated from humans, cattle sheep and food in Spain. – *Res. Microbiol.*, 156:793–806, doi: 10.1016/j.resmic.2005.03.006.
- O'Brien, S., Duffy, G., Carney, E., Sheridan, J.J., McDowell, D.A., Blair, I.S. 2005. Prevalence and numbers of *Escherichia coli* O157 on bovine hides at a slaughter plant. – *J. Food Protect.*, 68:660–665, doi: 10.4315/0362-028X-68.4.660.
- Sasaki, Y., Usui, M., Murakami, M., Haruna, M., Kojima, A., Asai, T., Yamada, Y. 2012. Antimicrobial resistance in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 and O26 isolates from beef cattle. – *Jpn. J. Infect. Dis.*, 65:117–121.
- Scallan, E., Hoekstra, R.M., Angulo, F.J., Tauxe, R.V., Widdowson, M.A., Roy, S.L., Jones, J.L., Griffin, P.M. 2011. Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. – *Emerg. Infect. Dis.*, 17:7–15, doi: 10.3201/eid1701.P11101.
- Scott, L., McGee, P., Walsh, C., Fanning, S., Sweeney, T., Blanco, J., Karczmarczyk, M., Earley, B., Leonard, N., Sheridan, J.J. 2009. Detection of numerous verotoxigenic *E. coli* serotypes, with multiple antibiotic resistance from cattle faeces and soil. – *Vet. Microbiol.*, 134:288–293, doi: 10.1016/j.vetmic.2008.08.008.
- Smith, J.L., Drum, D.J.V., Dai, U., Kim, J.M. 2007. Impact of antimicrobial usage on antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* strains colonizing broiler chickens. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73:1403–1414, doi: 10.1128/AEM.01193-06.
- Songer, J.G., Post, K.W. 2005. *Veterinary Microbiology: Bacterial and Fungal Agents of Animal Disease*. – Missouri: Elsevier Saunders. 434 pp.
- Söderström, A., Österberg, P., Lindqvist, A., Jönsson, B., Lindberg, A., Blide Ulander, S., Welinder-Olsson, C., Löfdahl, S., Kaijser, B., De Jong, B., Kühlmann-Berenzon, S., Boqvist, S., Eriksson, E., Szanto, E., Andersson, S., Allestam, G., Hedenström, I., Ledet Muller, L., Andersson, Y. 2008. A large *Escherichia coli* O157 outbreak in Sweden associated with locally produced lettuce. – *Foodborne Pathog. Dis.*, 5:339–349, doi: 10.1089/fpd.2007.0065.
- Ziebell, K., Johnson, R.P., Kropinski, A.M., Reid-Smith, R., Ahmed, R., Gannon, V.P., Gilmour, M., Boerlin, P. 2011. Gene cluster conferring streptomycin, sulphonamide and tetracycline resistance in *Escherichia coli* O157:H7 phage types 23, 45 and 67. – *Appl. Environ. Microb.*, 77:1900–1903, doi: 10.1128/AEM.01934-10.
- Terviseamet. 2017. Nakkushaiguste registreerimine Eestis 2011. – 2017. aastal. – <http://terviseamet.ee/nakkushaigused/nakkushaigustesse-haigestumine.html> (Viimati külastatud 26.04.2018).

Thomas, S., McCann, M.S., Collery, M.M., Logan, A., Whyte, P., McDowell, D.A., Duffy, G. 2012. Tracking verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157, O26, O111, O103, and O145 in Irish cattle. – Int. J. Food Microbiol., 153:288–296, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.11.012.

Occurrence of *E. coli* O157:H7 in Estonian dairy farms and beef production chain in 2005–2014

Toomas Kramarenko^{1,2}, Kadrin Meremäe¹, Jelena Sögel³, Maiu Kuningas², Annika Vilem², Liidia Häkkinen², Mihkel Mäesaar², Terje Elias¹, Mati Roasto¹

¹Estonian University of Life Sciences, Institute of Veterinary Medicine and Animal Sciences, Fr. R. Kreutzwaldi 56/3, 51014 Tartu, Estonia

²Estonian Veterinary and Food Laboratory, Fr. R. Kreutzwaldi 30, 51006 Tartu, Estonia

³The Veterinary and Food Board, Väike-Paala 3, 11415 Tallinn, Estonia

Summary

Present study aimed to evaluate the occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle dairy farms and at beef production level. Additionally isolates obtained at slaughterhouse level were characterized by determination of virulence factors and minimal inhibitory concentrations against tested antimicrobials. It was found that pathogen is present at both dairy farm and

slaughterhouse level. The occurrence of *E. coli* O157:H7 at Estonian dairy farm level was 1.2% from 1312 cattle's sampled in present study. Altogether four positive dairy cattle farms were determined in period 2005–2014. At slaughterhouse level 4% of the hide samples taken from the brisket area were found to be positive for *E. coli* O157:H7. Altogether 744 hide swabs were taken and analysed in Veterinary and Food Laboratory of Estonia. From 30 positive hide samples *stx2* gene alone was determined for 13 samples and *stx1* together with *stx2* gene was determined for 17 samples (56.7%). From detected *stx* subtypes the most prevalent was found to be *stx2c* occurring alone in 12 isolates and together with *stx1a* in 13 isolated strains. In 2009–2010 in total of 188 beef samples were analysed which all were negative for O157:H7. Minimal inhibitory concentration was determined for 30 *E. coli* O157:H7 isolates which revealed with 26.7% of multiresistance isolates. It was found that 33.3% and 33.3% were resistant against streptomycin and sulfamethoxazole, followed by resistance against ampicillin (16.7%), trimethoprim (13.3%), kanamycin (6.7%) and tetracycline (3.3%). There is need to apply control measures at slaughterhouse and meat industry level. Most important is to avoid faecal contamination of carcasses and to ensure good production hygiene level at all stages of meat production.