

Kartlegging av *E. coli* hos sau — sluttrapport

Anne Margrete Urdahl

Torkjel Bruheim

Kofitsyo Cudjoe

Merete Hofshagen

Petter Hopp

Gro Johannessen

Marianne Sunde





Veterinærinstituttets rapportserie · 5 - 2009

Tittel

Kartlegging av *E. coli* hos sau — sluttrapport

Publisert av

Veterinærinstituttet · Pb. 750 Sentrum · 0106 Oslo

Form: Graf AS

Hanne Mari Jordsmyr, Veterinærinstituttet

Forsidefoto: Anne-Mette Kirkemo, Veterinærinstituttet

Øvrige foto: Anne-Mette Kirkemo s 9, Hanne Mari Jordsmyr s 11

Bestilling

kommunikasjon@vetinst.no

Faks: 23 21 60 01

Tel: 23 21 63 66

ISSN 1890-3290 elektronisk utgave

Forslag til sitering:

Urdahl AM, Bruheim T, Cudjoe K, Hofshagen M, Hopp P, Johannessen G, Sunde M. Kartlegging av *E. coli* hos sau — sluttrapport. Veterinærinstituttets rapportserie 05-2009. Oslo: Veterinærinstituttet; 2009.

© Veterinærinstituttet

Kopiering tillatt når kilde gjengis

Kartlegging av *E. coli* hos sau — sluttrapport

Forfattere

Anne Margrete Urdahl

Torkjel Bruheim

Kofitsyo Cudjoe

Merete Hofshagen

Petter Hopp

Gro Johannessen

Marianne Sunde

Oppdragsgiver

Mattilsynet

17. april 2009

ISSN 1890-3290 elektronisk utgave



Innhold

1. Introduksjon	6
Hovedresultater	6
Definisjoner og forkortelser	6
2. Materiale og metoder	7
2.1. Utvalg av besetninger	7
2.2. Prøvetaking	7
2.3. Analysemetoder	7
Oppformering	7
Isolering	8
<i>E. coli</i> O157	8
<i>E. coli</i> O26 og O103	8
Serotyping og karakterisering av virulensfaktorer	8
Statistisk analyse	8
3. Resultater og vurderinger	9
3.1. Oversikt over innsamlede prøver og kartleggingens representativitet	9
3.2. Forekomst av <i>E. coli</i> O26, O103 og O157	9
3.2.1. <i>E. coli</i> O26	11
3.2.2. <i>E. coli</i> O103	12
3.2.3. <i>E. coli</i> O157	14
4. Referanser	15
Om Veterinærinstituttet	20

Hovedresultater

- Påvist lav forekomst av *stx*-positive og *eae*-positive *E. coli* O26, O103:H2 og O157:H7
- Ikke påvist noen *stx*-positive og *eae*-positive *E. coli* O103:H25
- Påvist en noe høyere forekomst av *stx*-negative og *eae*-positive *E. coli* O26, O103:H2 og O103:H25
- Ved den univariat analysen, var det ingen av faktorene som gikk igjen som risikofaktor for alle serotypene

1. Introduksjon

Med bakgrunn i utbruddet forårsaket av *E. coli* O103:H25 våren 2006, besluttet Mattilsynet å kartlegge forekomsten av enkelte O-grupper av *E. coli* i norske sauebesetninger.

Kartleggingen er, etter anmodning fra Mattilsynet, ikke-identifiserbar. Det vil si at ingen enkeltpersoner, verken ved Veterinærinstituttet eller ved Mattilsynet, kan koble resultater opp mot enkeltbesetninger.

I bestillingen fra Mattilsynet (Deres ref 2007/15487) spesifiseres at kartleggingen i første omgang skal fremskaffe kunnskap om forekomst og eventuelle geografiske forskjeller i forekomsten av *E. coli* O103 og O157 hos sau.

Videre står det i bestillingen at

"Veterinærinstituttet skal utarbeide en rapport etter at prøvene fra høsten 2006 er ferdig analysert for E. coli O103 og O157 iht. metodikk som omtalt i denne bestillingen. Denne skal inneholde prøve-resultater for hvert fylke. Rapporten skal oversendes Mattilsynet innen 15. september 2007.

Videre skal det utarbeides en rapport etter at prøvene som samles inn i 2007 er ferdig analysert for E. coli O103 og O157 iht. metodikk som omtalt i denne bestillingen. Rapporten skal inneholde prøve-resultater for hvert fylke og frist for oversendelse Mattilsynet er 15. september 2008.

I tillegg skal det utarbeides en mer omfattende sluttrapport som omfatter resultatene fra både 2006 og 2007, og som også omfatter faglige vurderinger og epidemiologiske resultater basert på data fra innsendelsesskjemaet. Frist for oversendelse til Mattilsynet er 15. desember 2008."

Resultatrapporten for 2006-prøvene (Veterinærinstituttets rapportserie 11-2007) ble oversendt Mattilsynet 14.09.2007. Etter avtale med Mattilsynet høsten 2008, ble fristen for levering av resultatrapporten for 2007-prøvene utsatt til 20. februar 2009. Dette fordi en del av prøvene måtte analyseres på nytt, og det ble da også avtalt å inkludere analyser for *E. coli* O26. Fristen for sluttrapporten ble tilsvarende utsatt til etter påske 2009.

Definisjoner og forkortelser

<i>eae</i>	gen som koder for tilheftningsegenskap
<i>stx</i>	gen som koder for Shigatoksin. Har tilsvarende undergrupper som toksinet det koder for – <i>stx</i> ₁ og <i>stx</i> ₂ (og undergrupper av disse)
STEC	shigatoksinproduserende <i>E. coli</i> (kalles også Verocytotoksisk eller verocytotoksinproduserende <i>E. coli</i> (VTEC)). Dette er <i>E. coli</i> med <i>stx</i> . De kan også ha <i>eae</i>
EPEC	enteropatogene <i>E. coli</i> . Dette er <i>E. coli</i> uten <i>stx</i> , men med <i>eae</i>
SF <i>E. coli</i> O157 bakteriofag	sorbitolfermenterende <i>E. coli</i> O157:H-virus som smitter bakterier
<i>stx</i> -bakteriofag	bakteriofag som bærer med seg genet <i>stx</i> og slik kan overføre dette til bakterier

Denne rapporten omfatter resultater for forekomsten av *E. coli* O103 og *E. coli* O157 i prøver samlet inn i 2006 og 2007, samt forekomsten av *E. coli* O26 i prøver samlet inn i 2007. I tillegg omfatter rapporten analyse av potensielle risikofaktorer, samt faglig vurdering av resultatene.

I tillegg til forfatterne har Yngvild Wasteson, Norges veterinærhøgskole, bidratt med innspill til diskusjonen.

2. Materiale og metoder

2.1. Utvalg av besetninger

Innsamling av prøvemateriale foregikk i to omganger, november 2006 (100 besetninger) og høsten 2007 (520 besetninger), og var basert på tilfeldig utvalg (randomisering). I 2006 ble utvalget tatt fra besetninger som per 31.07.2006 hadde minst 50 sauer ≥ 1 år, og i 2007 ble utvalget tatt fra besetninger som per 01.01.2007 hadde minst 30 sauer ≥ 1 år. Data om besetningsstørrelse ble hentet fra registeret for produksjonstilskudd. Høsten ble valgt for å få et representativt bilde av situasjonen i den tidsperioden sau slaktes for å gi et mest mulig reelt bilde i forhold til produkter fra sau.

2.2. Prøvetaking

Det ble tatt enkeltprøver av avføring fra 50 dyr i hver besetning. Unge dyr skiller ut mer av de aktuelle bakteriene enn eldre dyr og utgjør også en større andel av slaktemengden. Prøvetakingsinstruksen sa derfor at prøvene skulle tas fra de yngste dyrene, dvs. lammene. Dersom det var færre enn 50 lam skulle eldre dyr prøvetas (først 1-åringer, så 2-åringer osv.). Samtidig ble det fylt ut et skjema for en rekke besetningsfaktorer.

2.3. Analysemetoder

Prøvene ble analysert ved Veterinærinstituttet Trondheim og ved to seksjoner ved Veterinærinstituttet Oslo i henhold til Veterinærinstituttets kvalitetssikrede metoder. Analysene inkluderte oppformering med påfølgende påvisning og isolering av bakterien fra avføring ved bruk av automatisk immunomagnetisk separasjon og ELISA (AIMS-ELISA) (metode ME02_115), serotyping (ME02_027 og ME07_088) og karakterisering for virulensfaktorer (*stx* og *eae*) (ME07_079).

Prøvene fra hver besetning ble analysert som samleprøver med inntil 10 enkeltprøver i hver. Dersom prøveantallet ikke var delelig med 10, besto den "siste" samleprøven av færre enn 10 enkeltprøver og antall samleprøver fra én besetning varierte derfor fra en til fem avhengig av antall innsendte enkeltprøver.

Oppformering

Prøvene fra 2006 ble oppformert i et oppformeringsmedium tilsatt antibiotika. Dessverre viste det seg at bakteriene ikke overlevde lengre tids frysing i dette mediet, og da man måtte ha mulighet til å benytte denne oppformeringen senere for å analysere for andre serogrupper, måtte oppformeringsmedium endres før analysene for 2007-prøvene startet. Begge de to oppformeringsmediene er internasjonalt mye benyttet til analyser av *E. coli*.

Et oppformeringsmedium uten antibiotika vil på den ene siden kunne redusere metodens sensitivitet, for eksempel fordi konkurrerende flora hemmes i mindre grad. På den andre siden er det en mulighet for at skadede og stressede bakterier kan klare seg bedre i et oppformeringsmedium uten antibiotika. Det er derfor vanskelig å kvantifisere eventuell endring i sensitivitet ved dette byttet av oppformeringsbuljong.

Isolering

Prøver som ga tydelig positivt resultat på AIMS-ELISA ble sådd direkte ut på skåler; Chromagar O157 og Sorbitol-MacConkey agar tilsatt cefixime og telluritt (CT-SMAC) dersom ELISA-resultatet var positivt for serogruppe O157, og MacConkey-agar med 4 % CT-supplement og blodagar med vasket saueblod og CaCl₂ dersom ELISA-resultatet var positivt for serogruppene O26 eller O103. Prøver som ga et svakt ELISA-positivt resultat gjennomgikk nok en oppkonsentrering med immunomagnetisk separasjon før prøvene ble sådd ut på de aktuelle skålene.

E. coli O157

Typiske *E. coli* O157 fermenterer ikke sorbitol og har ikke enzymet β -glucuronidase. Slike bakterier vokser med rosa til gammelrosa kolonier på Chromagar O157 og med kolonier som er gråhvite med brunt sentrum på CT-SMAC som inneholder sorbitol og en fargeindikator. Typiske kolonier fra disse to skålene ble deretter rendyrket på blodagar før de ble verifisert som *E. coli* og en foreløpig serotyping ble foretatt (presumptive *E. coli* O157).

Det finnes også atypiske *E. coli* O157 som er sorbitolfermenterende og β -glucuronidase positive (SF *E. coli* O157). Disse bakteriene er ikke resistente mot telluritt og vokser derfor ikke på CT-SMAC. På Chromagar O157 vil de ikke skille seg fra "vanlige" *E. coli* og er dermed vanskeligere å isolere. Med en forutgående positiv reaksjon for O157 på ELISA uten vekst av typiske *E. coli* O157 på noen av skålene øker imidlertid sannsynligheten betraktelig for å finne den aktuelle bakterien. I slike tilfeller vil det gås videre med flere av de "vanlige" koloniene for å undersøke om de er *E. coli* O157.

E. coli O26 og O103

E. coli O26 og O103 vokser, som veldig mange andre *E. coli*, med røde kolonier på 4 % CT-MacConkey og med store, grå kolonier, mulig med hemolyse på blodagar med vasket saueblod og CaCl₂. Derfor ble først en agglutinasjonstest med O26- eller O103-antisera utført (inntil 10 kolonier testet per prøve) og positive kolonier rendyrket på blodagar før de ble verifisert som *E. coli* og en foreløpig serotyping ble foretatt (presumptive *E. coli* O26 eller O103).

Serotyping og karakterisering av virulensfaktorer

Fra hver besetning ble opptil fem presumptive *E. coli* O26, O103 og O157 oversendt til referanselaboratoriet (seksjon for bakteriologi, Veterinærinstituttet) for endelig bestemmelse av serogruppe/serotype (O26, O103:H2, O103:H25, O157:H7) og karakterisering av sykdomsfremkallende egenskaper (*stx*₁, *stx*₂, *eae*).

Statistisk analyse

Potensielle risikofaktorer ble generert fra skjemaet utfyllt ved prøvetaking. Univariat analyse ble benyttet for å se på assosiasjon mellom potensielle risikofaktorer og forekomst av henholdsvis *E. coli* O26, *E. coli* O103 og *E. coli* O157 med tilhørende sykdomsfremkallende egenskaper (*stx* og/eller *eae*). Den statistiske analysen ble utført i STATA versjon 9.2 ved å benytte Fisher's exact test og/eller kji-kvadrattest. Faktorer angående føring (kraftfôr, høy, silo, beite), oppstalling siste to uker (ute, spalte, talle, heldekkende gulv), andre dyr på gården (storfe, geit, gris, hest), deling av beite med andre dyr (storfe, geit, sau, hest), innkjøp av dyr, medlem av værring, sykdomsproblemer, besetningsstørrelse og geografi ble vurdert.

I rapporten er antall positive besetninger også angitt i prosent med tilhørende 95 % konfidensintervall basert på binomial fordeling.

3. Resultater og vurderinger

3.1. Oversikt over innsamlede prøver og kartleggingens representativitet

Det ble sendt inn prøver fra totalt 592 besetninger; fra 94 besetninger i 2006 og fra 498 besetninger i 2007. Besetningene var tilfeldig utvalgt og fordelte seg på de ulike fylker som vist i tabell 2.

Fra disse 592 besetningene manglet det informasjon om opprinnelse fra én besetning (fylke merket som ukjent). Fra syv andre besetninger (alle fra Telemark) ble det registrert muggvekst på prøvene ved ankomst og de var derfor uegnet for analyser. Det vil si at prøver fra totalt 585 besetninger ble analysert.

Fra de fleste besetningene (449) ble det sendt inn 50 enkeltprøver, men prøveantallet varierte fra 9 til 51 prøver med et middel på 48 (tabell 1).

Som vist i tabell 2 er antall besetninger undersøkt per fylke stort sett i samsvar med det som var planlagt da antallet besetninger undersøkt per fylke kun avviker med 0-7 i forhold til planen. Det største avviket var i Telemark der en forsendelse med prøver fra hele syv besetninger ikke ble analysert på grunn av muggvekst. Det kan ikke utelukkes at dette avviket for Telemark kan ha gitt en liten skjevhet i utvalget, men det er ikke mulig

å si hvordan denne eventuelt kan ha slått ut. Det anses derimot for lite sannsynlig at det har hatt stor betydning for konklusjonene.

3.2. Forekomst av *E. coli* O26, O103 og O157

Kartleggingen dokumenterte en svært lav forekomst av *stx*- og *eae*-positive stammer av *E. coli* tilhørende serogruppene/typene O26, O103:H2 og O157:H7 hos sau i Norge, da < 1 % av besetningene var positive for hver enkelt av disse. Sett under ett var 10 av besetningene fra 2007 positive for minst en av de tre serogruppene/typene. Dette tilsvarer 2,0 % av besetningene (1,0 – 3,7 %). 2006-prøvene er ikke inkludert i denne beregningen da de ikke ble analysert for *E. coli* O26. Det ble i kartleggingen ikke påvist noen *E. coli* O103:H25 som var *stx*-positive.

Tabell 1. Antall innsendte enkeltprøver fra besetningene.

Antall innsendte enkeltprøver	Antall besetninger
<10	1
11-20	12
21-30	14
31-40	28
41-50*	537
Totalt	585

* En besetning hadde 51 innsendte enkeltprøver.



Tabell 2. Antall besetninger per fylke med påvist *E. coli* O26, *E. coli* O103:H2, *E. coli* O103:H25 og *E. coli* O157:H7, og deres virulensegenskaper (*stx* og *eae*).

Fylke	Antall besetninger planlagt undersøkt		Antall besetninger undersøkt		Antall positive besetninger						
					E. coli O26			E. coli O103:H2	E. coli O103:H25	E. coli O157:H7	
					stx ₁ - og eae-positive	stx ₂ - og eae-positive	stx-negative og eae-positive	stx ₁ - og eae-positive	stx-negative og eae-positive	stx-negative og eae-positive	stx ₂ - og eae-positive
	2006	2007	2006	2007							
Østfold	0	3	0	2	-	-	-	-	-	-	-
Akershus	1	10	1	11	-	-	4	-	1	-	-
Hedmark	4	22	3	17	-	-	4	-	2	-	-
Oppland	10	51	10	50	-	-	6	-	1	4	2 [#]
Buskerud	5	27	5	25	-	-	2	-	1	4	-
Vestfold	1	3	1	3	-	-	-	-	-	-	-
Telemark	5	13	5	7	-	-	1	1	-	-	-
Aust-Agder	3	5	3	0	-	-	-	-	-	-	-
Vest-Agder	2	13	2	12	-	-	1	-	1	-	-
Rogaland	17	95	17	97	-	-	11	-	1	5	1
Hordaland	9	66	9	62	-	-	11	1	2	4	-
Sogn og Fjordane	9	56	8	56	-	1	3	-	4	2	-
Møre og Romsdal	9	37	9	36	-	-	7	-	-	7	-
Sør-Trøndelag	7	28	5	27	-	2	8	-	1	3	1
Nord-Trøndelag	5	27	5	28	-	-	8	-	1	2	1
Nordland	5	40	5	36	-	-	6	2	3	1	-
Troms	7	18	5	16	-	-	4	-	-	2	-
Finnmark	1	6	1	5	1	-	2	-	-	-	-
Ukjent	-	-	0	1	-	-	1	-	-	-	-
Totalt	100	520	94	491	1	3	79	4	18	34	5
Prevalens (%)					0,8		16,1	0,7	3,1	5,8	0,9
95 % konfidensintervall					0,2-2,1		13-19,6	0,2-1,7	1,8-4,8	4,1-8,0	0,3-2,0

* kun prøvene fra 2007 ble analysert for *E. coli* O26

en av disse var både *stx*₁- og *stx*₂-positiv, de fire andre var kun *stx*₂-positive

Resultatene korresponderer med den lave forekomsten av rapporterte tilfeller hos mennesker i Norge.

Både for *E. coli* O26, O103:H2 og O103:H25 ble det påvist en større forekomst av *stx*-negative og *eae*-positive stammer enn av *stx*-positive og *eae*-positive stammer. Lite er kjent vedrørende slektskap og kvantitativt og kvalitativt forhold mellom *stx*-positive og *stx*-negative av en serotype hos dyr, selv om noen serotyper er mer undersøkt enn andre.

Detaljerte resultater fordelt på fylke er presentert i tabell 2. Resultater fra tidligere norske studier for forekomst av *stx*-positive *E. coli* hos dyr er oppsummert i tabell 3.

Det er kun utført univariat analyse av potensielle risikofaktorer for forekomst og resultatene må derfor ses som foreløpige inntil en multivariat analyse er utført. Dette fordi noen av faktorene kan påvirke hverandre og i en multivariat analyse vil de enkelte faktorene bli justert i forhold til hverandre. Dette vil bli utført i forbindelse med publisering i et vitenskapelig tidsskrift. Ved den univariat analysen, var det ingen av faktorene som gikk igjen som risikofaktor for alle serogruppene/typene.

3.2.1. *E. coli* O26

Kun prøvene fra 2007 (491 besetninger) ble analysert for *E. coli* O26. *E. coli* O26 ble ikke H-typet. I tillegg til resultatene presentert under ble det påvist *E. coli* O26 uten *stx* og *eae* fra 20 besetninger.

***stx*- og *eae*-positive *E. coli* O26 & *stx*-negative og *eae*-positive *E. coli* O26**

Det ble påvist *stx*- og *eae*-positive *E. coli* O26 fra fire besetninger (0,8 % (0,2 - 2,1 %)). Én av disse besetningene hadde *stx*₁-positive *E. coli* O26 og disse ble påvist fra fire av de fem samleprøvene. Fra de tre andre besetningene var det *stx*₂-positive *E. coli* O26 som ble påvist, og da fra én samleprøve i hver besetning.

Det ble påvist *stx*-negative og *eae*-positive *E. coli* O26 fra hele 79 besetninger (16,1 % (13,0 - 19,6 %)). Det vanligste var 1-2 positive samleprøver innad i en besetning, men tre og fire positive samleprøver ble også observert.

Det finnes ellers lite data om forekomsten av *stx*- og *eae*-positive *E. coli* O26 hos sau i Norge (tabell 3). To studier har undersøkt for alle mulige O-grupper av *stx* positive *E. coli* hos sau, men uten å påvise noen *stx*-positive *E. coli* O26 (24, 25). Når det gjelder storfe, har to studier undersøkt for *stx*- og *eae*-positive *E. coli* O26 (i tillegg til O103, O111 og O145). Det ble ikke påvist noen *stx*-positive *E. coli* O26, men de rapporterte funn av noen få *stx*-negative og *eae*-positive *E. coli* O26 (11).

Internasjonalt er *stx*- og *eae*-positive *E. coli* O26 og *stx*-negative og *eae*-positive *E. coli* O26 påvist fra en rekke dyrearter som sau, storfe, geit og gris (4-6, 8, 9, 13, 17, 19-22, 27, 30), men siden de fleste studier har fokusert på storfe og påvisning av *stx*-positive *E. coli* O26 er kunnskapen mindre om forekomsten (og betydningen) av *stx*-negative og *eae*-positive *E. coli* O26 hos sau. De fleste *E. coli* O26, både fra dyr og mennesker, ser ut til hovedsakelig å tilhøre serotypen O26:H11 eller O26:H-.

Undersøkelser som har sammenliknet *E. coli* O26 fra dyr og mennesker har vist at det finnes to grupper av *stx*-negative og *eae*-positive *E. coli* O26 hos dyr, en gruppe som er genetisk svært lik *stx*- og *eae*-positive *E. coli* O26 der forskjellen ligger i nærvær av *stx* og en gruppe som er genetisk mer ulik *stx*- og *eae*-positive *E. coli* O26 (16). Andre har ikke funnet en slik oppdeling av *stx*-negative og *eae*-positive *E. coli* O26 i to grupper (2), men dette kan muligens forklares med geografiske forskjeller.

stx-negative og *eae*-positive *E. coli* O26 er kjent som en av de enteropatoogene *E. coli* (EPEC) som kan gi diaré hos små barn, men det er usikkert hvilken betydning EPEC fra dyr har med tanke på sykdom hos mennesker (18). En studie fra Sør-Trøndelag der prøver fra barn under 5 år (med og uten diaré) ble undersøkt for EPEC, påviste ingen EPEC O26 (1). Uansett, dersom *stx*-negative og *eae*-positive *E. coli* O26 (fra den ene eller begge gruppene som omtalt i forrige avsnitt) har potensiale til å plukke opp *stx* - på veien fra jord til bord - fra og med sauetarm til og med mennesketarm - kan dette relativt store reservoaret hos sau være bekymringsfullt



da *stx*- og *eae*-positive *E. coli* O26 kan forårsake mer alvorlig sykdom hos mennesker (blodig diaré og HUS). Dette forutsetter imidlertid en samtidig påtreffning/tilstedeværelse av bakterien og *stx*-bakteriofager som er infektive for akkurat denne bakterien. Disse *stx*-bakteriofagene trenger ikke å komme fra samme kilde/reservoar som bakterien. I så tilfelle vil det si at bakterien dersom forholdene ligger til rette for det muligens kan bli infisert av bakteriofag og slik plukke opp *stx* for eksempel i en matvare eller i mennesketarmen. Avhengig av hvor i kjeden dette eventuelt skulle oppstå vil det således kunne forårsake alt fra enkelttilfeller til litt større utbrudd.

Det var for få positive besetninger til å kunne gjennomføre analyse for risikofaktorer for forekomsten av *stx*- og *eae*-positive *E. coli* O26.

Ved univariat analyse ble det funnet assosiasjon mellom forekomst av *stx*-negative og *eae*-positive *E. coli* O26 og faktorer som representerte føring og geografisk område (p -verdi $< 0,1$). Det må utføres multivariat analyse for å se om noen av disse faktorene kan være reelle årsaksfaktorer for forekomsten.

Det var flere besetninger med *stx*-negative og *eae*-positive *E. coli* O26 som opplyste at de hadde hatt problemer med diaré på lammene på våren (p -verdi $< 0,1$). *eae*-positive *E. coli* O26 har internasjonalt vært assosiert med diaré hos lam og kalv (3, 7, 14), men har fortsatt en uklar betydning som diaréårsak hos lam både internasjonalt og i Norge.

3.2.2. *E. coli* O103

Prøver fra 585 besetninger ble analysert for *E. coli* O103. I tillegg til resultatene presentert under ble det påvist *E. coli* O103 uten *stx* og *eae* fra hele 147 besetninger. Disse ble ikke H-typet.

***stx*- og *eae*-positive *E. coli* O103:H2 & *stx*-negative og *eae*-positive *E. coli* O103:H2**

Det ble påvist *stx*₁- og *eae*-positive *E. coli* O103:H2 i 1-2 samleprøver fra fire besetninger (0,7 % (0,2 - 1,7 %)).

Det ble påvist *stx*-negative og *eae*-positive *E. coli* O103:H2 i 1-4 samleprøver fra 18 besetninger (3,1 % (1,8 - 4,8 %)).

Det finnes lite data om forekomsten av *E. coli* O103:H2 hos sau i Norge. I en liten studie utført i 2000, var 1,6 % av dyrene i en sauebesetning positive for *E. coli* O103 (24). Isolatene ble ikke H-typet, men var positive for *stx*₁ og *eae*. To andre studier har undersøkt for alle mulige O-grupper av *stx*-positive *E. coli* hos sau, men uten å påvise noen *stx*- og *eae*-positive O103:H2 (24, 25). To studier på storfe har fokusert på *E. coli* O103 (i tillegg til O26, O111 og O145). En av disse rapporterte funn av *stx*-positive og *eae*-negative *E. coli* O103 i 3,2 % av besetningene (11). De rapporterte også funn av noen få *stx*-negative og *eae*-positive *E. coli* O103. Internasjonale studier har også rapportert funn av *stx*-negative og *eae*-positive *E. coli* O103 (4, 6, 19, 21, 30), men siden de fleste studier, både nasjonalt og internasjonalt har fokusert på å påvise *stx*-positive *E. coli* O103 er kunnskapen liten om forekomsten av *stx*-negative og *eae*-positive *E. coli* O103:H2 hos dyr. Både *stx*-negative og *stx*-positive *E. coli* O103:H2 har drøvtyggere som reservoar, men slektskapet og det kvantitative forholdet mellom dem er ukjent.

Det var for få positive besetninger til å kunne gjennomføre analyse for risikofaktorer for forekomsten av *stx*- og *eae*-positive *E. coli* O103:H2.

Ved univariat analyse ble det funnet assosiasjon mellom forekomst av *stx*-negative og *eae*-positive *E. coli* O103:H2 og faktorer som representerte oppstalling siste to uker (p -verdi $< 0,1$). Det må utføres multivariat analyse for å se om noen av disse faktorene kan være reelle årsaksfaktorer for forekomsten.

Tabell 3. Oversikt over studier som har undersøkt for *stx*-positive *E. coli* hos norske husdyr.

Dyreart	<i>E. coli</i> serotyper	<i>stx</i> variant	<i>eae</i>	Antall positive/antall testet (%)	Metode benyttet	Kommentar	Referanse
sau	O157:H7			2/5864 saueslakt (0,03)	IMS	nasjonalt OK-program 1998-2004	(10)
sau	O157:H7			0/605 besetninger 0/665 dyr	IMS	Sørvestlandet	(12)
sau	O157:H7	<i>stx</i> ₂	<i>eae</i>		AIMS	en besetning fulgt over tid	(31)
sau	O103:H?	<i>stx</i> ₁	<i>eae</i>	2/124 dyr (1,6)	AIMS-ELISA	en besetning undersøkt	(26)
sau		<i>stx</i>		61/124 besetninger (49)	PCR på avføring, <i>stx</i> -primere	prøver fra hele landet	(23)
sau	O5:H- O6:H10 O91:[H14] O128:[H2]	<i>stx</i> _{1c} <i>stx</i> _{2d}	negativ		hybridisering med <i>stx</i> -prober	fra 18 besetninger fra (23)	(24)
sau		<i>stx</i>		7/7 besetninger (100) 113/129 dyr (87,6)	PCR på avføring, <i>stx</i> -primere	besetninger i Gausdal	(25)
sau	O5:H- O6:H10 O91:[H14] O128:[H2] O174:[H8]	<i>stx</i> _{1c} <i>stx</i> _{2d}	negativ		hybridisering med <i>stx</i> -prober	fra 7 besetninger i Gausdal	(25)
storfe	O157:H7	<i>stx</i> ₁ <i>stx</i> ₂	<i>eae</i>	2/197 besetninger (1) 6/1970 dyr (0,3)	IMS	melkekubesetninger i 3 regioner i sør	(28)
storfe (import)	O157:H7	<i>stx</i> ₂	<i>eae</i>	23/504 dyr fra 99 besetninger (4,6)	IMS	importert kjøttfe, 1991-1995	(29)
storfe	O157:H7	<i>stx</i> ₂	<i>eae</i>	3/848 besetninger (0,4) 3/1541 dyr (0,2)	IMS	Sørvestlandet	(12)
storfe	O157:H7			9/15280 storfeslakt (0,06)	IMS	nasjonalt OK-program 1998-2004	(10)
storfe	O157:H7	<i>stx</i> ₂	<i>eae</i>		AIMS	en besetning fulgt over tid	(31)
storfe	O157:H7			0/50 besetninger	AIMS	melkekubesetninger rundt Oslo	(15)
storfe		<i>stx</i>		50/50 besetninger (100) 415/680 dyr (61)	PCR på avføring, <i>stx</i> -primere	melkekubesetninger rundt Oslo	(15)
storfe		<i>stx</i> ₁ <i>stx</i> ₂		57/197 besetninger (29) 137/1970 dyr (7)	PCR på IMS materiale	melkekubesetninger i 3 regioner i sør	(28)
storfe		<i>stx</i>		4/4 besetninger (100) 51/79 dyr (64,6)	PCR på avføring, <i>stx</i> -primere	besetninger i Gausdal	(25)
storfe	O113:H4/H21 O91:H21 O22:H8	<i>stx</i> ₂ <i>stx</i> ₁ <i>stx</i> _{2d}	negativ		hybridisering med <i>stx</i> -prober	fra 4 besetninger i Gausdal, hovedsaklig <i>stx</i> ₂	(25)
storfe	O103:H?	<i>stx</i>	negativ	5/155 besetninger (3,2) (STEC O26, O111, O145 ikke påvist)	IMS	samleprøver fra kjøttfe	(11)
geit	O157:H7			0/510 geiteslakt	IMS	nasjonalt OK-program 1998-2004	(10)
gris	O157:H7	<i>stx</i> ₂	<i>eae</i>	2/832 besetninger (0,2) 2/1976 dyr (0,1)	IMS	Sørvestlandet	(12)

stx-negative og eae-positive *E. coli* O103:H25

Det ble ikke påvist noen *E. coli* O103:H25 som var stx-positive (0 % (0-0,6 %)).

Det ble påvist stx-negative og eae-positive *E. coli* O103:H25 fra 34 besetninger (5,8 % (4,1 – 8,0 %)). Det vanligste var 1-2 positive samleprøver innad i en besetning, men opp til fem positive samleprøver forekom.

Opptil fem samleprøver fra hver besetning og flere isolater fra hver positiv samleprøve ble altså undersøkt uten å påvise en eneste stx-positiv av denne serotypen. Det anses som usannsynlig at alle disse stx-negative og eae-positive *E. coli* O103:H25 skulle ha mistet stx under oppformering. Det vurderes derfor at det er et reservoar av stx-negative og eae-positive *E. coli* O103:H25 hos sau. Det kan likevel ikke utelukkes at det finnes et lite reservoar også av stx-positive og eae-positive *E. coli* O103:H25 (0 % (0-0,6 %)) hos sau, selv om disse ikke ble påvist i kartleggingen. Det er også mulig at de stx-negative og eae-positive *E. coli* O103:H25 kan ha potensiale til å plukke opp stx et sted i kjeden fra og med sauetarm til og med mennesketarm, og avhengig av hvor i kjeden dette skulle oppstå kunne forårsake alt fra enkelttilfeller til litt større utbrudd. Dette forutsetter i så fall en samtidig påtreffning/ tilstedeværelse av bakterien og stx-bakteriofager som er infektive for akkurat denne bakterien, og som for *E. coli* O26 trenger ikke disse stx-bakteriofagene å komme fra samme kilde/reservoar som bakterien. Det er uvisst om de stx-negative og eae-positive *E. coli* O103:H25 har potensiale som EPEC hos mennesker. En studie fra Sør-Trøndelag der prøver fra barn under 5 år (med og uten diaré) ble undersøkt for EPEC, påviste ingen EPEC O103:H25 (1).

Ved univariat analyse ble det funnet assosiasjon mellom forekomst av stx-negative og eae-positive *E. coli* O103:H25 og faktorer som representerte oppstalling siste to uker, og deling av beite med andre dyr (p-verdi < 0,1). Det må utføres multivariat analyse for å se om noen av disse faktorene kan være reelle årsaksfaktorer for forekomsten.

Det var flere besetninger med stx-negative og eae-positive *E. coli* O103:H25 som opplyste at de hadde hatt problemer med diaré på lammene på våren (p-verdi < 0,1). *E. coli* O103:H25 er tidligere ikke blitt assosiert med diaré hos dyr.

3.2.3. *E. coli* O157

Prøver fra 585 besetninger ble analysert for *E. coli* O157. I tillegg til resultatene presentert under ble det påvist *E. coli* O157 uten stx og eae fra én besetning. Denne stammen var H7-negativ.

Det ble påvist *E. coli* O157:H7 fra fem besetninger (0,9 % (0,3 – 2,0 %)). En av disse stammene var både stx₁- og stx₂-positiv i tillegg til eae-positiv, de fire andre var stx₂- og eae-positive (tabell 2).

2007-resultatene for stx- og eae-positive *E. coli* O157:H7 (0,4 % (0,05 – 1,5 %)) viste en noe lavere forekomst sammenliknet med resultatene fra 2006 der 3,2 % (0,7 – 9,0 %) av besetningene var positive. Dette skyldes antakeligvis den omtalte endringen i oppformeringsmedium, og er trolig ikke tegn på en reell nedgang i forekomsten.

Kun én tidligere studie i Norge har fokusert på *E. coli* O157 hos sau, og da uten positive funn (0 % (0-0,6 %)) (12). I det nasjonale overvåkningsprogrammet for *E. coli* O157 som foregikk i perioden 1998 – 2004, hvor hvert 1000 saueslakt ble undersøkt, ble kun 0,03 % av slaktene funnet positive (10). Tidligere norske studier på storfe har også funnet lav forekomst (< 1 %) av STEC O157 (12, 28). Det omtalte nasjonale overvåkningsprogrammet i 1998 – 2004 fant STEC O157 hos kun 0,06 % av de undersøkte storfeslaktene (10).

Det ble ikke påvist SF *E. coli* O157 (0 % (0-0,6 %)) i denne kartleggingen. Det er vanskelig å detektere SF *E. coli* O157, men dersom disse hadde vært tilstede i en prøve ville det ha gitt en positiv ELISA-reaksjon for O157 og således gitt en indikasjon til å lete etter SF *E. coli* O157 i de tilfellene hvor det på skålene ikke fantes typiske *E. coli* O157 kolonier. Tidligere norske studier har heller ikke rapportert funn av SF *E. coli* O157, men det har da heller ikke vært fokusert på å detektere slike atypiske *E. coli* O157. To studier som undersøkte generelt for *stx*-positive *E. coli*, påviste ikke SF *E. coli* O157 i noen av de totalt 131 undersøkte sauebesetningene (24, 25). Det er generelt lite kunnskap om forekomsten av SF *E. coli* O157 hos drøvtyggere, og de er internasjonalt foreløpig bare isolert i noen få enkelttilfeller fra storfe. Dette, i likhet med funnene i denne kartleggingen, kan indikere at drøvtyggere ikke er hovedreservoar for SF *E. coli* O157. Kunnskap om SF *E. coli* O157 er oppsummert i: <http://www.vetinst.no/nor/Nyheter/Hva-vet-vi-om-E.-coli-O157-H/Kunnskapsoppsummering-E.-coli-O157>.

Det var for få positive besetninger til å kunne gjennomføre analyse for risikofaktorer for forekomsten av *stx*- og *eae*-positive *E. coli* O157.

4. Referanser

1. Afset, JE, Anderssen, E, Bruant, G, Harel, J, Wieler, L, Bergh, K. Phylogenetic backgrounds and virulence profiles of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* strains from a case-control study using multilocus sequence typing and DNA microarray analysis. J Clin Microbiol. 2008; 46: 2280-90.
2. Aktan, I, Carter, B, Wilking, H, La Ragione, RM, Wieler, L, Woodward, MJ, Anjum, MF. Influence of geographical origin, host animal and *Stx* gene on the virulence characteristics of *Escherichia coli* O26 strains. J Med Microbiol. 2007; 56: 1431-9.
3. Aktan, I, La Ragione, RM, Woodward, MJ. Colonization, persistence, and tissue tropism of *Escherichia coli* O26 in conventionally reared weaned lambs. Appl Environ Microbiol. 2007; 73: 691-8.
4. Aktan, I, Sprigings, KA, La Ragione, RM, Faulkner, LM, Paiba, GA, Woodward, MJ. Characterisation of attaching-effacing *Escherichia coli* isolated from animals at slaughter in England and Wales. Vet Microbiol. 2004; 102: 43-53.
5. Blanco, J, Blanco, M, Blanco, JE, Mora, A, Alonso, MP, Gonzalez, EA, Bernárdez, MI. Epidemiology of Verocytotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) in ruminants. I: Duffy, G, Garvey, P, McDowell, DA (redaktører). Verocytotoxigenic *E. coli*. 1 ed. Trumbull, Connecticut, USA: Food & Nutrition Press, Inc.; 2001. s. 113-48.
6. Blanco, M, Schumacher, S, Tasara, T, Zweifel, C, Blanco, JE, Dahbi, G, Blanco, J, Stephan, R. Serotypes, intimin variants and other virulence factors of *eae* positive *Escherichia coli* strains isolated from healthy cattle in Switzerland. Identification of a new intimin variant gene (*eae-eta2*). BMC Microbiol. 2005; 5: 23.
7. Cid, D, Ruiz-Santa-quiteria, JA, Marin, I, Sanz, R, Orden, JA, Amils, R, de la, FR. Association between intimin (*eae*) and EspB gene subtypes in attaching and effacing *Escherichia coli* strains isolated from diarrhoeic lambs and goat kids. Microbiology. 2001; 147: 2341-53.

8. Cookson, AL, Taylor, SC, Bennett, J, Thomson-Carter, F, Attwood, GT. Serotypes and analysis of distribution of Shiga toxin producing *Escherichia coli* from cattle and sheep in the lower North Island, New Zealand. N Z Vet J. 2006; 54: 78-84.
9. Frohlicher, E, Krause, G, Zweifel, C, Beutin, L, Stephan, R. Characterization of attaching and effacing *Escherichia coli* (AEEC) isolated from pigs and sheep. BMC Microbiol. 2008; 8: 144.
10. Hofshagen, M. Overvåking av enterohemmohagisk *E. coli* (EHEC) i ferskt storfe- og småfekjøtt. Oslo, Norway: Norsk Zoonosesenter; 2004.
11. Hofshagen, M, Nygård, K, Hauge, K. Zoonoserapporten 2005. ISSN 1502-5713. Oslo, Norway: Veterinærinstituttet; 2006.
12. Johnsen, G, Wasteson, Y, Heir, E, Berget, OI, Herikstad, H. *Escherichia coli* O157:H7 in faeces from cattle, sheep and pigs in the southwest part of Norway during 1998 and 1999. Int J Food Microbiol. 2001; 65: 193-200.
13. Krause, G, Zimmermann, S, Beutin, L. Investigation of domestic animals and pets as a reservoir for intimin-*(eae)* gene positive *Escherichia coli* types. Vet Microbiol. 2005; 106: 87-95.
14. Lee, JH, Hur, J, Stein, BD. Occurrence and characteristics of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26 and O111 in calves associated with diarrhoea. Vet J. 2008; 176: 205-9.
15. LeJeune, JT, Hancock, D, Wasteson, Y, Skjerve, E, Urdahl, AM. Comparison of *E. coli* O157 and Shiga toxin-encoding genes (*stx*) prevalence between Ohio, USA and Norwegian dairy cattle. Int J Food Microbiol. 2006; 109: 19-24.
16. Leomil, L, Pestana de Castro, AF, Krause, G, Schmidt, H, Beutin, L. Characterization of two major groups of diarrheagenic *Escherichia coli* O26 strains which are globally spread in human patients and domestic animals of different species. FEMS Microbiol Lett. 2005; 249: 335-42.
17. Mora, A, Blanco, JE, Blanco, M, Alonso, MP, Dhahi, G, Echeita, A, Gonzalez, EA, Bernardez, MI, Blanco, J. 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. 2005; 156: 793-806.
18. Nataro, JP, Kaper, JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev. 1998; 11: 142-201.
19. Pearce, MC, Evans, J, McKendrick, IJ, Smith, AW, Knight, HI, Mellor, DJ, Woolhouse, ME, Gunn, GJ, Low, JC. Prevalence and virulence factors of *Escherichia coli* serogroups O26, O103, O111, and O145 shed by cattle in Scotland. Appl Environ Microbiol. 2006; 72: 653-9.
20. Pearce, MC, Jenkins, C, Vali, L, Smith, AW, Knight, HI, Cheasty, T, Smith, HR, Gunn, GJ, Woolhouse, ME, Amyes, SG, Frankel, G. Temporal Shedding Patterns and Virulence Factors of *Escherichia coli* Serogroups O26, O103, O111, O145, and O157 in a Cohort of Beef Calves and Their Dams. Appl Environ Microbiol. 2004; 70: 1708-16.
21. Ramachandran, V, Brett, K, Hornitzky, MA, Dowton, M, Bettelheim, KA, Walker, MJ, Djordjevic, SP. Distribution of intimin subtypes among *Escherichia coli* isolates from ruminant and human sources. J Clin Microbiol. 2003; 41: 5022-32.

22. Tarawneh, KA, Al-Tawarah, NM, bdel-Ghani, AH, Al-Majali, AM, Khleifat, KM. Characterization of verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) isolates from faeces of small ruminants and environmental samples in southern Jordan. J Basic Microbiol. 2008;
23. Urdahl, AM, Alvseike, O, Skjerve, E, Wasteson, Y. Shiga toxin genes (*stx*) in Norwegian sheep herds. Epidemiol Infect. 2001; 127: 129-34.
24. Urdahl, AM, Beutin, L, Skjerve, E, Wasteson, Y. Serotypes and virulence factors of shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from healthy Norwegian sheep. J Appl Microbiol. 2002; 93: 1026-33.
25. Urdahl, AM, Beutin, L, Skjerve, E, Zimmermann, S, Wasteson, Y. Animal-host associated differences in shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from sheep and cattle on the same farm. J Appl Microbiol. 2003; 95: 92-101.
26. Urdahl, AM, Cudjoe, K, Wahl, E, Heir, E, Wasteson, Y. Isolation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O103 from sheep using automated immunomagnetic separation (AIMS) and AIMS-ELISA: sheep as the source of a clinical *E. coli* O103 case? Lett Appl Microbiol. 2002; 35: 218-22.
27. Vali, L, Hamouda, A, Hoyle, DV, Pearce, MC, Whitaker, LH, Jenkins, C, Knight, HI, Smith, AW, Amyes, SG. Antibiotic resistance and molecular epidemiology of *Escherichia coli* O26, O103 and O145 shed by two cohorts of Scottish beef cattle. J Antimicrob Chemother. 2007; 59: 403-10.
28. Vold, L, Klungseth Johansen, B, Kruse, H, Skjerve, E, Wasteson, Y. Occurrence of shigatoxinogenic *Escherichia coli* O157 in Norwegian cattle herds. Epidemiol Infect. 1998; 120: 21-8.
29. Vold, L, Sandberg, M, Jarp, J, Wasteson, Y. Occurrence and characterisation of *Escherichia coli* O157 isolated from cattle in Norway. Vet Res Commun. 2001; 25: 13-26.
30. Wani, SA, Samanta, I, Munshi, ZH, Bhat, MA, Nishikawa, Y. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and enteropathogenic *Escherichia coli* in healthy goats in India: occurrence and virulence properties. J Appl Microbiol. 2006; 100: 108-13.
31. Wasteson, Y, Johannessen, GS, Bruheim, T, Urdahl, AM, O'Sullivan, K, Rørvik, LM. Fluctuations in the occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 on a Norwegian farm. Lett Appl Microbiol. 2005; 40: 373-7.



Veterinærinstituttet er et nasjonalt forskningsinstitutt innen dyrehelse, fiskehelse, mattrygghet og dyrevelferd med uavhengig forvaltningsstøtte til departementer og myndigheter som primæroppgave. Beredskap, diagnostikk, overvåking, referansefunksjoner, rådgivning og risikovurderinger er de viktigste virksomhetsområdene.

Veterinærinstituttet har hovedlaboratorium i Oslo og regionale laboratorier i Sandnes, Bergen, Trondheim, Harstad og Tromsø, med til sammen ca. 360 ansatte.

www.vetinst.no

Tromsø

Stakkevollvn. 23 b · 9010 Tromsø
9010 Tromsø
t 77 61 92 30 · f 77 69 49 11
vitr@vetinst.no

Harstad

Havnegata 4 · 9404 Harstad
9480 Harstad
t 77 04 15 50 · f 77 04 15 51
vih@vetinst.no

Bergen

Bontelabo 8 b · 5003 Bergen
Pb 1263 Sentrum · 5811 Bergen
t 55 36 38 38 · f 55 32 18 80
post.vib@vetinst.no

Sandnes

Kyrkjev. 334 · 4325 Sandnes
Pb 295 · 4303 Sandnes
t 51 60 35 40 · f 51 60 35 41
vis@vetinst.no

Trondheim

Tungasletta 2 · 7047 Trondheim
7485 Trondheim
t 73 58 07 27 · f 73 58 07 88
[vit@vetinst.no](mailto:vitr@vetinst.no)

Oslo

Ullevålsveien 68 · 0454 Oslo
Pb 750 Semtrum · 0106 Oslo
t 23 21 60 00 · f 23 21 60 01
post@vetinst.no

