



www.emu.ee

Eesti Maaülikool

Estonian University of Life Sciences

Veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut

Institute of Veterinary Medicine and Animal Sciences

***Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*'e ja
Shiga-toksiine tootva *Escherichia coli*'ga
seonduvate toiduohutuse riskide hindamine Eestis**

ISBN: 978-9949-536-72-6

Eesti Maaülikool

Veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut

Toiduhügieeni osakond

***Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*'e
ja Shiga-toksiine tootva *Escherichia coli*'ga
seonduvate toiduohutuse riskide hindamine Eestis**

Riskiprofiilide koostamisel ning hinnangute andmisel osalesid interdistsiplinaarsete valdkondade spetsialistid ning teadlased:

Professor Mati Roasto, toiduhügieeni valdkond

Professor Ari Hörman, veterinaarse rahvatervishoiu valdkond

Dotsent Kadrin Meremäe, toiduainete tehnoloogia ning toiduhügieeni valdkond

Toomas Kramarenko, mikrobioloogia valdkond

Mihkel Mäesaar, molekulaarse mikrobioloogia valdkond

Tänuavaldused

Uurimistööd finantseeriti:

Põllumajandusministeeriumi rakendusuringute projektist "*Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes* ja verotoksilise *Escherichia coli*-ga seonduvate toiduohutuse riskide hindamine Eestis" (leping nr T13057VLTH).

Eesti Teadusagentuuri grandide projektidest nr. 4979 ja nr. 9315.

Eesti Maaülikooli baasfinantseerimise projektist nr. 8-2/T5081VLVL05.

Uurimistöö läbiviimist toetas Euroopa Liidu Euroopa Sotsiaalfond programmi DoRa raames, mida viib ellu Sihtasutus Archimedes.

Käesolev töö on valminud Eesti Maaülikooli veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituudi toiduhügieeni osakonna, Veterinaar- ja Toidulaboratooriumi, Veterinaar- ja Toiduameti, Terviseameti, Helsingi Ülikooli toiduhügieeni ja keskkonnatervise osakonna ning Läti Põllumajandusülikooli toidu- ja keskkonnahügieeni instituudi kolleegidega koostöös.

STEC uurimuses osales Eesti Maaülikooli toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia osakonna magistrant Kristiina Lindenberg.

Campylobacter inimtüvede uuringutes tehti koostööd dr. Marina Ivanova'ga.

OSA 1

TERMOFIILSED KAMPÜLOBAKTERID

RISKIPROFIIL

Sisukord

| | |
|--|----|
| Sissejuhatus | 6 |
| 1. Kampülobakterite üldiseloostus ning kampülobakterioos | 7 |
| 2. Kampülobakteritest tingitud haiguspuhangud..... | 8 |
| 3. Kampülobakterite levimus erinevate toiduainetega | 10 |
| 4. Olulised riskifaktorid..... | 12 |
| 4.1. Antibiootikumidele resistentsus riskifaktorina..... | 14 |
| 5. <i>Campylobacter</i> enteriidi juhtumid Eestis | 16 |
| 6. Lätis ja Leedus teostatud <i>Campylobacter</i> uuringud | 20 |
| 6.1. Lätis teostatud <i>Campylobacter</i> spp. uuringud | 21 |
| 6.2. Leedus teostatud <i>Campylobacter</i> spp. uuringud | 23 |
| 7. Eestis teostatud <i>Campylobacter</i> spp. uuringud | 23 |
| 7.1. Perioodil 2000-2010 Eestis teostatud uuringud | 23 |
| 7.2. Aastatel 2012-2014 teostatud <i>Campylobacter</i> uuringud Eestis | 32 |
| 7.2.1. <i>Campylobacter</i> levimuse uuring linnulihas | 32 |
| 7.2.2. <i>Campylobacter</i> isolaatide antibiootikumidele tundlikkus | 41 |
| 7.2.2.1. <i>Campylobacter</i> spp. liigilise kuuluvuse määramine..... | 41 |
| 7.2.2.2. <i>Campylobacter</i> tüvede antibiootikumidele tundlikkus..... | 42 |
| 8. <i>Campylobacter</i> spp. kontrollmeetmed | 46 |
| Ettepanekud..... | 51 |
| Lõpphinnanguga seonduvad küsimused ja vastused..... | 53 |
| Kasutatud kirjandus..... | 57 |

Sissejuhatus

Ameerika Ühendriikides antud hinnangute alusel põhjustavad 31 peamist toidupatogeeni igal aastal 9,4 miljonit haigusjuhtumit, 55,961 hospitaliseerimist ning 1351 surmajuhtumit (Scallan et al., 2011). Enamik neist haigusjuhtumitest põhjustatakse noroviiruste (58%), *Salmonella* spp. (11%), *Clostridium perfringens* (10%) ning *Campylobacter* spp. (9%) poolt. Võib väita, et *Campylobacter* spp. on paljudes riikides üheks põhiliseks inimeste bakteriaalsete enteraalsete haigestumiste põhjustajaks ning Euroopa Liidus (EL) on kampülobakterioos jätkuvalt kõige sagedamini esinev zoonoos (EFSA 2014; EFSA, 2010; Rosenquist et al., 2009; Bhaduri ja Cottrell, 2004; Hänninen et al., 2003.). Aastal 2012 registreeriti Euroopa Liidus ühtekokku 214,268 termofiilsetest kampülobakteritest põhjustatud haigusjuhtumit, mis teeb saja tuhande inimese kohta EL-is keskmiselt 55,5 ametlikult registreeritud haigusjuhtumit (EFSA, 2014). Võrdluseks aastal 2011 registreeriti EL-s 220,209 kampülobakterioosi haigusjuhtumit (EFSA, 2013). Kirjanduse põhjal võib järeldada, et maailma industriaalriikides on inimeste kampülobakteritest põhjustatud haigestumiste arv pidevalt suurenenud ning Euroopa Toiduohutusameti teadusliku arvamuse kohaselt on Euroopa Liidus hinnanguliselt 9 miljonit kampülobakterioosi juhtumit aastas ja haiguse poolt rahvatervisele tekitatud kahju ligikaudu 2,4 miljardit eurot (EFSA, 2011). Seega on ametlike ja hinnanguliste haigusjuhtumite arvude erinevused väga suured, mille ühe põhjusena võib esitada enamike *Campylobacter* enteriidijuhtumite kerget kulgu, mille tulemusena haigust ametlikult sageli ei registreerita. Ameerika Ühendriikides on hinnanguliselt 2,5 miljonit kampülobakterioosi juhtumit aastas (Friedman et al., 2000). Uuemad andmed, mis käsitlevad üksnes USA-põhiseid (konkreetselt riigist alguse saanud) haigestumisi, annavad teada, et hinnanguliselt on USA-s igal aastal 850,000 kampülobakterioosi toidupõhist haigusjuhtumit (Scallan et al., 2011).

1. Kampülobakterite üldiseloomustus ning kampülobakterioos

Perekond *Campylobacter* esindajad kuuluvad sugukonda *Campylobacteraceae* ja tänapäeval on teada 17 kampülobakterite liiki ning 6 alamliiki (Euzeby, 2006). Inimeste maosoletrakti infektsioonidega on kõige rohkem seotud *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis* ja *C. hyointestinalis* ning ühtekokku 12 kampülobakterite liiki on inimestele patogeensed (Abbott *et al.*, 2005; Gorkiewicz *et al.*, 2002; Hänninen *et al.*, 2000).

Enamik termofiilsete kampülobakteritega seonduvatest infektsioonidest on põhjustatud *C. jejuni* ja *C. coli* poolt ning kuigi enamasti on tegemist iseenesest mööduva kõhulahtisusega võivad nad inimesel esile kutsuda ka raske haigestumise, pikaajalise töövõimetuse ja mõnikord võib kampülobakterioos või sellest põhjustatud sekundaarne infektsioon lõppeda inimese surmaga. Inimesed, kes on nakatunud *Campylobacter* infektsioonist, võivad haigestuda sümptomaatiliselt (selgete kliiniliste tunnustega) või põdeda haigust asümptomaatiliselt ehk ilma kliiniliste nähtudeta. Haiguse peiteperiood on keskmiselt 2-5 päeva ning põhilisteks haiguse sümptomiteks on palavik, kõhuvalu ja kõhulahtisus. Haigusele iseloomulikke sümptomeid võib haiguse kulust sõltuvalt täheldada mitme päeva kuni mitme nädala jooksul. Sooletrakti välise infektsioonina või kroonilise järelhaigusena võivad tekkida bakterieemia, artriidid, bursiidid, meningiit, endokardiit, peritoniit, pankreatiit, kuseteede infektsioonid, abort, neonataalne sepsis. Tuhande intestinaalinfektsiooni kohta esineb bakterieemiat pooleteisel korral ja kõrgeim tõenäosus haigestuda on vanematel inimestel. Immuunpuudulikkusega patsientidel võivad esineda püsiv kõhulahtisus ja bakterieemia ning nende ravi võib osutuda väga raskeks.

C. jejuni on ka Guillain-Barre sündroomi (GBS) ja Miller-Fisher sündroomi põhjustajaks, mis iseloomustub perifeerse närvisüsteemi paralüütilise kahjustusega ehk inimese osalise halvatusena, ning raskematel juhtudel võib haigus lõppeda patsiendi surmaga (Fica *et al.*, 2011; Kuwabara, 2011; McGrogan *et al.*, 2009). Hinnanguliselt umbes ühel kolmandikul Guillain-Barre sündroomiga patsientidel tekivad vastavale haigusele omased sümptomid üks kuni kolm nädalat pärast *C. jejuni* põhjustatud enteriiti.

Kampülobakteritest tingitud haigused esinevad peamiselt sporaadiliste ehk üksikjuhtudena, enamasti suvel, ja on enamasti põhjustatud toiduainete ebapiisavast kuumtöötlemisest. Suuremad haiguspuhangud on alguse saanud haigustekitajatest saastunud joogivee, toorpiima ja linnuliha tarbimisest (Kuusi *et al.*, 2005; Hänninen ja Kärenlampi 2004; Frost *et al.*, 2002). Harvemini on kampülobaktereid tuvastatud teistest toitudest nagu kalast ning kalatoodetest, koorikloomadest ja värsketest köögiviljadest (EFSA, 2013; Schönberg-Norio *et al.*, 2004).

2. Kampülobakteritest tingitud haiguspuhangud

Tabelis 1 on esitatud näiteid termofiilsetest kampülobakteritest põhjustatud haiguspuhangutest, seonduvatest toitudest ning haigestunud inimeste arvust. Esitatud andmetest selgub, et termofiilsetest kampülobakteritest põhjustatud haiguspuhangud on enamasti olnud põhjustatud toorpiimast, joogiveest ning linnulihast. USA-s aastatel 1997-2008 registreeritud *Campylobacter* haiguspuhangutest (n=262) olid toidupõhised kampülobakterioosi haiguspuhangud 65 juhul tingitud piimatoodetest (29%), 25 juhul linnulihast (11%) ning 12 *Campylobacter* haiguspuhangut olid tingitud erinevatest toodetest (5%). Saastunud joogiveest tingitud kampülobakterioosi puhanguid esines nimetatud perioodil 24 (9%) ning loomadega otsesest kontaktist tingitud haiguspuhanguid 7 (3%). Ühtekokku registreeriti 9135 haigusjuhtumit, 159 hospitaliseerimist ja 3 surmajuhtumit. Ligi pooled kampülobakterioosi haiguspuhangutest leidsid aset soojadel suvekuudel. Tõdeti, et erinevalt sporaadilistest kampülobakterioosi haigusjuhtumitest, kus peamiseks haiguse põhjustajaks on linnuliha, on *Campylobacter* haiguspuhangute peamiseks põhjustajaks toorpiim ning sellest valmistatud tooted (Taylor *et al.*, 2013). Saksamaal registreeriti aastal 2011 ühtekokku 8 kampülobakteritest tingitud haiguspuhangut, millest 3 olid põhjustatud toorpiima tarbimisest (BfR, 2012).

Tabel 1. *Campylobacter* spp. poolt põhjustatud haiguspuhangute näiteid

| Riik | Põhjus | Tõestatud haigusjuhtumite arv | Viide |
|----------------|-----------------------------------|--|------------------------|
| Norra | joogivesi | >100 | Jacopanec et al., 2008 |
| Suurbritannia | kanamaksapasteet | 13 | Inns et al., 2010 |
| Taani | kanabroileri liha | 79 | Mazick et al., 2006 |
| Austraalia | kanabroileri liha | 11 | Black et al., 2006 |
| USA | toorpiim | 148 | Rowan, 2013 |
| USA | toorpiim | 18 | Waller, 2013 |
| Hispaania | kanabroileri liha | 75 | Calciati et al., 2012 |
| Suurbritannia | toorpiim | 72 | Morgan et al., 1994 |
| USA | toorhernes | 63 | Gardner et al., 2011 |
| USA | toorpiim | 75 | Teufel, 2003 |
| Holland* | toorpiim | 38 | Heuvelink et al., 2009 |
| Suurbritannia | toorpiim | 23 | Evans et al., 1996 |
| USA | joogivesi | 14 | Herrimann, 2010 |
| USA** | toorpiim | 458 | Wood et al., 1992 |
| Austraalia*** | põhiliselt linnuliha | 457 | Unicomb et al., 2009 |
| Austraalia**** | linnu maks | 137 | Merritt et al., 2011 |
| Austraalia | kanamaksapasteet | 15 | Parry et al., 2012 |
| USA | toorpiim | 5 | Carpenter, 2013 |
| Rootsi | joogivesi | 2000 | Mentzing, 1981 |
| USA | toorpiimast valmistatud juust | 30 | KDHE, 2007 |
| Inglismaa | kanamaksa parfait | 11 | Farmer et al., 2012 |
| Soome | joogivesi | 463 | Kuusi et al., 2004 |
| Lõuna-Korea | alaküpsetatud kanabroileriliha | 92 | Yu et al., 2010 |

*Aastal 2005 kaks toorpiimast tingitud haiguspuhangut koolilastega (farmide külastus) Hollandis

**1981-1990 ühtekokku 20 toorpiimast tingitud haiguspuhangut USA 11 osariigis

***2001-2006 linnulihast tingitud 11 haiguspuhangut, kuumtöötlemata piimast ja salatist 2 haiguspuhangut

****2001-2011 Austraalias kana või pardi maksast valmistatud toidud restoranides, 7 haiguspuhangut

3. Kampülobakterite levimus erinevate toiduainetega

Linnuliha omab kõige suuremat tähtsust toidupõhise kampülobakterioosi tekkes ja seda on tõestatud mitmete teadusuuringutega (Rosenquist *et al.*, 2009; EFSA 2009; Wingstrand *et al.*, 2006; Schönberg-Norio *et al.*, 2004; Domingues *et al.*, 2002). Eeltoodu on tingitud sellest, et termofiilsed kampülobakterid võivad koloniseeruda ning elutseda lindude soolestikus ilma infektsiooni põhjustamata. Rõhutatakse, et just kana broileriliha omab kõige suuremat rolli toidupõhise kampülobakterioosi tekkes, põhjustades ühtekokku 20-30% kampülobakterioosi enteraalsetest haigusjuhtumitest, ning nendest 50-80% on tingitud kana broilerite reservuaarist tervikuna. Seega on linnuliha adekvaatne kontroll inimeste kampülobakterioosi ennetamise kõige olulisemaks rahvatervishoiu strateegiaks (EFSA, 2013; EFSA, 2011; Friedman *et al.*, 2004; FAO/WHO, 2001). Tuginedes sellele on Suurbritannia valitsuse ja riigi linnulihatööstuse poolt püstitatud ühiseesmärgiks aastaks 2015 tapamajade tasandil oluliselt vähendada kõige arvukamalt kampülobakteritest saastunud (kampülobakterite arvukus >1000 pmü/g) lindude proportsiooni, mis näitab seda, et peetakse oluliseks nii *Campylobacter* levimuse kui kampülobakterite arvukuse langetamist ning seda nii eluslindudel kui värskes linnulihas. Lähtutud on faktist, et kampülobakterioosi risk inimesele on suurim juhtudel, kus toores linnuliha on arvukalt (>1000 pmü/g) termofiilsetest kampülobakteritest saastunud (EFSA, 2013 ja 2011).

Aastal 2011 varieerusid *Campylobacter*-positiivse broileriliha proportsioonid EL-maades suuresti alates 3,2% Austrias kuni 84,6% Luksemburgis. Broileri karjade saastumine oli alates 0% Eestis kuni 92% Sloveenias (EFSA, 2013). Aastal 2008 läbi viidud alusuuring näitas, et EL-i keskmine *Campylobacter* levimus kanabroilerite rümpadel oli 75,8% ning täiendav ülemaailmne teaduskirjanduse analüüs näitas, et maailmas tervikuna on 58% broileritest kampülobakteritest saastunud (EFSA, 2010; Suzuki ja Yamamoto, 2009).

Järgnev tabel annab ülevaate erinevates maades teostatud linnuliha *Campylobacter* levimuse uuringute tulemusi. Tabel 2 näitab selgelt, et maailmas tervikuna on *Campylobacter* levimus toores linnulihas enamasti kõrgem kui Eestis. Levimusest olulisemaks tuleb aga lugeda kõrgeid kampülobakterite arvukusi toiduainetes.

Tabel 2. *Campylobacter* levimus toores linnulihas erinevates riikides

| Riik või piirkond | Levimus % | Tasand | Viide |
|--------------------------|------------------|---------------------|---------------------------|
| Eesti | 11,2 | jaemüük ja tapamaja | Roasto et al., 2011 |
| Leedu | 46,5 | jaemüük | Bunevičienė, et al., 2010 |
| Läti | 56,3 | jaemüük | Kovalenko et al., 2013 |
| Vietnam | 15,3 | tapamaja | Garin et al., 2012 |
| Kamerun | 92,7 | tapamaja | Garin et al., 2012 |
| Uus-Kaledoonia | 96,7 | tapamaja | Garin et al., 2012 |
| Austria | 3,2 | tapamaja | EFSA, 2013 |
| Jaapan | 58,8 | jaemüük | Suzuki ja Yamamoto, 2009 |
| Bulgaaria | 76,3 | jaemüük | Stoyanchev et al., 2007 |
| Argentiina | 92,9 | jaemüük | López et al., 2003 |
| Rootsi | 42,2 | jaemüük | Rönner ja Lindmark, 2007 |
| Põhja-Ameerika | 63,8 | jaemüük | Suzuki ja Yamamoto, 2009 |
| Türgi | 83,5 | jaemüük | Savas,şçi et al., 2006 |
| Iraan | 62,8 | jaemüük | Taremi et al., 2006 |
| Korea | 66,6 | jaemüük | Suzuki ja Yamamoto, 2009 |
| Ameerika | 71,5 | jaemüük | Suzuki ja Yamamoto, 2009 |
| Ühendriigid | | | |
| Barbados | 58,4 | jaemüük | Workman et al., 2005 |
| Island | 62 | tapamaja | Stern et al., 2003 |
| Iirimaa | 49,9 | jaemüük | Whyte et al., 2004 |
| Island | 62 | tapamaja | Stern et al., 2003 |
| Hiiina | 2,28 | jaemüük ja tapamaja | Wang et al., 2013 |
| Lääne-Euroopa | 56 | jaemüük | Suzuki ja Yamamoto, 2009 |

Samas tuleb tõdeda, et kampülobakterite arvukuse määramist kaasavaid uuringuid on levimuse uuringutega võrreldes senini teostatud tunduvalt vähem. Antud rakendusuringute projektis on linnuliha uuringutes kasutatud ISO standarditel põhinevaid kampülobakterite tuvastamise ning loendamise meetodeid, mis sõltuvalt kontaminatsiooni proportsioonist ja haigustekitajate arvukusest võimaldavad anda lihtsustatud riskihinnanguid.

4. Olulised riskifaktorid

Kampülobakteritest põhjustatud haiguse esinemise tõenäosus sõltub kolmest tingimuslikust tõenäosusest: 1) kampülobakteritega saastunud toidu tarbimise tõenäosusest; 2) tõenäosusest, et patogeen säilitab seedekulgla eluvõime ja põhjustab peremeesorganismis patogeneesi protsessi, ning 3) nakatunud organismi haigestumise tõenäosusest. Seega on kampülobakterioosi haigestumise tõenäosuses olulist rolli omavateks muutujateks (teguriteks) keskkond, patogeen ja peremeesorganism (Djenane ja Roncales, 2011).

Keskkonna faktoritest tuleb nimetada saastunud toitu, kui haigustekitajate kandjat, ning inimese maosoletrakti ökosüsteemi stabiilsust. Haigustekitajaga seonduvatest faktoritest tuleb nimetada nakkusdoosi, haigustekitaja virulentsust ning sellega seonduvat maosoletrakti koloniseerimise potentsiaali. Peremeesorganismi faktoritest on olulisemad immuunsus, vanus ja maosisaldise mikrobioloogiline kooslus (Coleman ja Marks, 1998).

Arenenud riikides peetakse kõige olulisemaks just toiduga seonduvaid riskifaktoreid ning teadlased on veendumusel, et tänapäeval ei peaks enam keegi kahtlema selles, et termofiilsete kampülobakterite põhiallikaks on linnuliha ning sellest tingitud teiste toitade ristsaastumine juhtudel, kus köökides käideldakse kampülobakteritest saastunud linnuliha. Linnulihast lihavalmistised, mis sisaldavad nahka ning mida on rohkelt töödeldud, nt marineeritud linnulihatooted, hakitud lihast tooted jne., ei ole saastunud üksnes liha välispinna ulatuses, vaid ka liha süvamates kihtides. Üheks toiduga seonduvaks riskifaktoriks on liha töötlemise järgselt ebapiisavalt puhastatud inventar. Toiduga seonduvateks riskifaktoriteks võivad olla ka teised liha kategooriad, nt veise- ja sealiha; alaküpsetatud või grillitud liha, toored mereannid, mittetöödeldud pinnavesi ning pastöriseerimata joogipiim ja piimatooted.

Simulatsioonanalüüsid on näidanud, et toore broileriliha söömine tõstab haiguse eksponeeringut 10^{10} korda enam kui korralikult kuumtöödeldud broileriliha söömine. Linnuliha seost *Campylobacter* haigusjuhtumite tekkes on ilmekalt tõestatud nendes riikides, kus on rakendatud konkreetseid kampülobakterite levimuse ja arvukuse vähendamisele suunatud tegevusprogramme või on keelatud saastunud toore linnuliha jaemüük. Kõikidel neil juhtudel on täheldatud olulist inimeste kampülobakterioosi juhtumite arvukuse langust.

Üheks näiteks võib tuua Belgia, kus 1999. aastal dioksiini skandaalist tingituna keelustati toore linnuliha ja munade müük, mis omakorda põhjustas riigis kampülobakterioosi juhtumite neljakümne protsendise languse (Vellinga ja Van Lock, 2002).

Sporaadiliste haigusjuhtumite puhul on leitud seosed erinevate loomaliikide k.a. lemmikloomade *Campylobacter* kandvuse ja inimeste haigestumise vahel. Viimati mainitud haigestumisviis arvatakse keskkonnast tulenevate riskifaktorite kategooriasse. Mõnedes riikides, nt Soomes ja Šveitsis, on leitud, et oluliseks kampülobakterioosi haigestumise riskifaktoriks on välisriikidesse reisimine. Keskkonna faktoriks võib teatud riikides või piirkondades, eriti Põhja-Euroopas, lugeda ka soojasid aastaaegu nt suve perioodi, mil *Campylobacter* kontaminatsiooni tasemed on olnud teiste aastaaegadega võrreldes tunduvalt kõrgemad (Mäesaar et al., 2014; Hofshagen ja Kruse, 2003). Teaduslikult on tõestatud, et sageli leiab linnuliha kampülobakteritega ristsaastumine aset nii lindude tapamaja kui liha töötlemise tasandil. Kõige rohkem tapalindude rümpade kontaminatsiooni mõjutavatest algtöötlemisetappidest tuleb mainida kupatamist, sulgede eemaldamist, sisikonna eemaldamist ja rümpade veepõhist jahutamist, millest kolm esimest võivad kergesti suurendada *Campylobacter* saaste tasemeid. Rohke loputusvee kasutamine vähendab kordades kampülobakterite arvukust rümpadel, samuti korralik rümpade õhkjahutamine, mille tulemusena peab rümpade välispind jääma piisavalt kuivaks, sest kampülobakterid on tundlikud kuivamisele (Djenane ja Roncales, 2011; Keener et al., 2004). Ameerika Ühendriikides on ametlikult lubatud kasutada teatud kemikaalide lahuseid linnuliha rümpade piserdamiseks, et vähendada enteraalsete (seedetraktist pärinevate) patogeenide tasemeid. Väidetavalt on võimalik naatriumfosfaadi ning hapustatud naatriumkloriidi lahuste piserdamise või loputamisega oluliselt vähendada rümpade kampülobakteritega saastatust (Keener et al., 2004). *Campylobacter*-positiivsetest linnukarjadest pärinevate linnurümpade kupatamiseelne kampülobakteritega saastumise tase võib olla üle 6 log₁₀ ehk üle miljoni kampülobakteri ühe grammi kanabroileri naha kohta ning olenemata rakendatavatest algtöötlemise meetmetest (nt veega loputamine) jääb nahapinna kampülobakterite arvukuseks 2 kuni 4 log₁₀ organismi grammi liha kohta. Mida rohkem suudetakse rümpade algtöötlemise ning sellele järgnevate meetmetega kampülobakterite arvukusi langetada, seda parem, sest hinnanguliselt võib inimese haigestumist põhjustada ligikaudu 500 kampülobakterit (Keener et al., 2004).

4.1. Antibiootikumidele resistentsus riskifaktorina

Antibiootikumide roll toidutekkeliste infektsioonide leviku piiramisel ja ravis on olnud juba pikemat aega terava tähelepanu all. Viimasel ajal on järjest enam uuritud resistentsuse ülekandemehhanisme ning ravimresistentsuse kandumist inimeseni. Molekulaarsete analüüsidega, kus on uuritud ravimresistentsusega seonduvaid geene, plasmide ja transposoone on avastatud identseid elemente nii põllumajandusloomadel kui inimestel. Eeltoodu viitab sellele, et antibiootikumide kasutamine veterinaarmeditsiinis profülaktilistel või ravi eesmärkidel võib põhjustada ravimresistentsete oportunistlike, kkommensaalsete ning patogeensete mikroorganismide teket. Toidu, joogivee või otsese kokkupuute teel võivad need bakterid levida loomade/lindude mikrofloorast inimese mikrobiotani (Teuber, 2004).

Tuleb meeles pidada, et õige kemoterapeutikumi annustamine ning raviskeemist kinnipidamine on zoonootiliste haigustekitajate poolt põhjustatud infektsioonide ravi ning multiresistentsete mikroobitüvede tekke vältimise aluseks. Probleemiks on antibiootikumide mitte-raviotstarbeline ehk profülaktiline kasutamine. Profülaktilistel eesmärkidel antibiootikumide kasutamine lindude söödasegudes on paljudes maades keelatud, kuna on leitud, et nende sisaldumine nt söödasegudes on otseseks põhjuseks bakterite multiresistentsete tüvede tekkes. Seoses antibiootikumidele resistentsete patogeensete bakterite esinemisega toiduainetes on tänapäeval suureks probleemiks osutunud eelkõige fluorokinoloonidele resistentsed termofiilsed kampülobakterid (Roasto *et al.*, 2007).

C. jejuni resistentsust fluorokinoloonidele on avaldatud Euroopas ja Aasias alates 1980. aastast ning USA-s alates aastast 1995. Kampülobakterite sagedase resistentsuse on põhjustanud põllumajandusloomade ja lindude ravimine fluorokinoloonide rühma kuuluvate antibiootikumidega. Kahjuks on suurenenud ka termofiilsete kampülobakterite resistentsus makroliididele nt erütromütsiinile, mille põhjuseks peetakse samuti põllumajandusloomade ja lindude ravi antud rühma kuuluvate ravimitega. Humaanmeditsiinis on kampülobakterioosi ravis alternatiivseteks preparaatideks kinoloonidele erütromütsiin ja doksütsükliin, millest tingituna on resistentsuse tõus makroliidide suhtes tõsiseks ohumärgiks inimeste kampülobakterioosi haigusjuhtumite ravis.

Ravimresistentsuse probleemidest tingituna on Euroopa Liit rakendanud seadusandlike meetmeid. Euroopa Parlamendi ja Nõukogu söödalisandite määruse (EÜ nr) 1831/2003 kohaselt on antibiootikumide, välja arvatud koktsidiostaatikumide ja histomonostaatikumide, söödalisanditena turustamine ja kasutamine keelustatud alates 1. jaanuarist 2006 ehk alates 2006. aasta 1. jaanuarist on antibiootikumid söödalisanditena kustutatud lubatud söödalisandite registrist. Söödalisanditena kasutatavaid antibiootikume ja neid sisaldavaid söötasid ei ole lubatud turule viia ega kasutada. Ka Eesti kontekstis on EL-i poolt kehtestatud piirangud antibiootikumide kasutamisele profülaktilistel eesmärkidel vägagi õigustatud, kuna varasemates uuringutes (Roasto et al., 2007) määrati kindlaks Eesti päritolu *Campylobacter* tüvede väga kõrge multiresistentsus ehk 27,5% antibiootikumidele resistentsetest tüvedest osutusid resistentseteks kolme või enama erinevasse rühma kuuluva antibiootikumi suhtes. Termofiilsed kampülobakterid kanduvad inimeseni eelkõige loomsete toiduainete kaudu, millest tingituna on antibiootikumidele resistentsete *Campylobacter* spp. tüvede esinemine toidus oluline riskifaktor elanikkonna tervisele.

Tabelis 3 on näha, et inimestelt ja toidust (linnuliha) isoleeritud *Campylobacter* tüvede antibiootikumidele resistentsuse näitajad on positiivses korrelatsioonis ning ilmekalt tuleb esile Eestis isoleeritud *Campylobacter* tüvede kõrge resistentsus fluorokinolonidele (nalidiksiinhape ja tsiprofloksstasiin).

Tabel 3. *Campylobacter* tüvede antibiootikumidele resistentsus Eestis aastal 2012

| Antibiootikum | Resistentsete isolaatide protsent | |
|------------------------------|-----------------------------------|--------|
| | Inimene* | Toit** |
| Gentamütsiin | 1,0 | 2,5 |
| Ampitsilliin | 41,1 | - |
| Amoksitsilliin/Klavulaanhape | 6,4 | - |
| Erütromütsiin | 1,3 | 5 |
| Tetratsükliin | 19,2 | 27,5 |
| Nalidiksiinhape | 67,3 | 60 |
| Tsiprofloksatsiin | 65,3 | 60 |
| Streptomütsiin | - | 10 |

- Pole uuritud

* Terviseamet

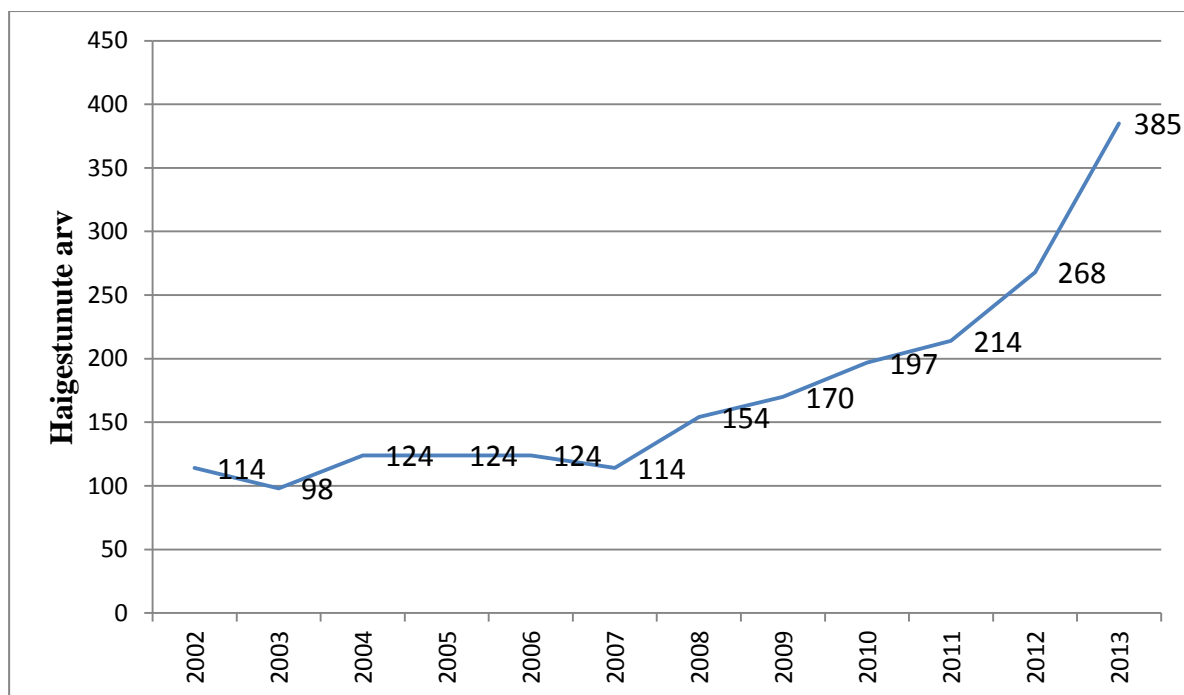
** Veterinaar- ja Toidulaboratoorium

Samas, võrreldes perioodil 2005-2006 Eesti linnulihaist isoleeritud *Campylobacter* tüvede ravimresistentsuse näitajatega, kus fluorokinoloonidele resistentseteks osutusid koguni 74,5% analüüsitud kampülobakterite tüvedest, võib järeldada, et olukord on veidi paranenud. Linnulihaist isoleeritud erütromütsiinile resistentsete *Campylobacter* tüvede protsent on võrreldes varasemate näitajatega oluliselt langenud, nimelt perioodil 2005-2006 oli resistentsus ligikaudu 20%, kuid 2012. aastal 5%.

Ohu esinemise tõenäosuse vähendamiseks tuleb iga-aastaselt ning süstemaatiliselt määrata toiduainetest eraldatud haigustekitajate tüvede antibiootikumidele tundlikkus, võimalusel välja selgitada resistentsuse tekkemehhanismid ja ravimresistentsuse tulemuste analüüsi põhjal rakendada konkreetseid riiklike kontrollmeetmeid.

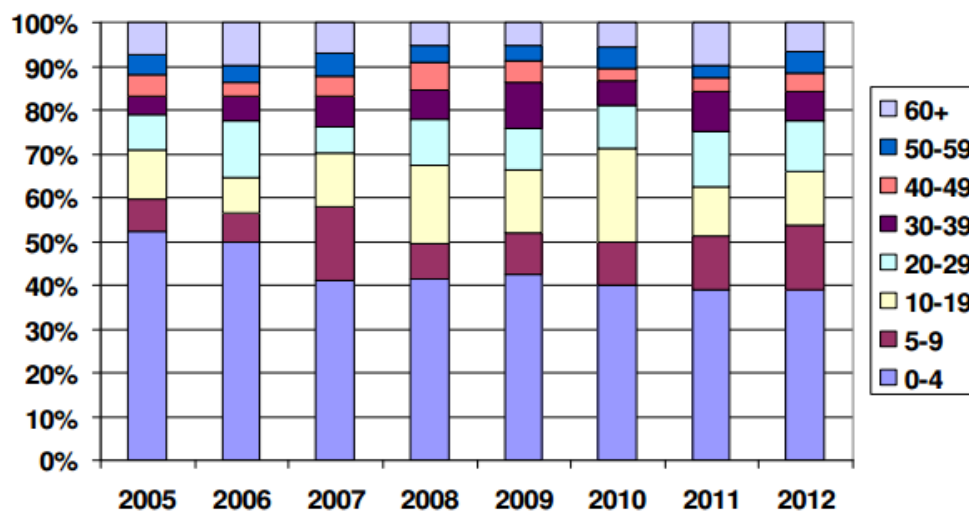
5. *Campylobacter* enteriidi juhtumid Eestis

Eestis on alates 2007. aastast kampülobakterenteriiti haigestumise arv aasta-aastalt suurenenud (joonis 1) ning see kattub EL-i üldise suundumusega, kuigi aastal 2012 oli EL-is keskmiselt kampülobakterioosi juhtumeid vähem kui aastal 2011.



Joonis 1. Kampülobakterenteriidi juhtumid Eestis 2002-2013 (Terviseamet, 2013)

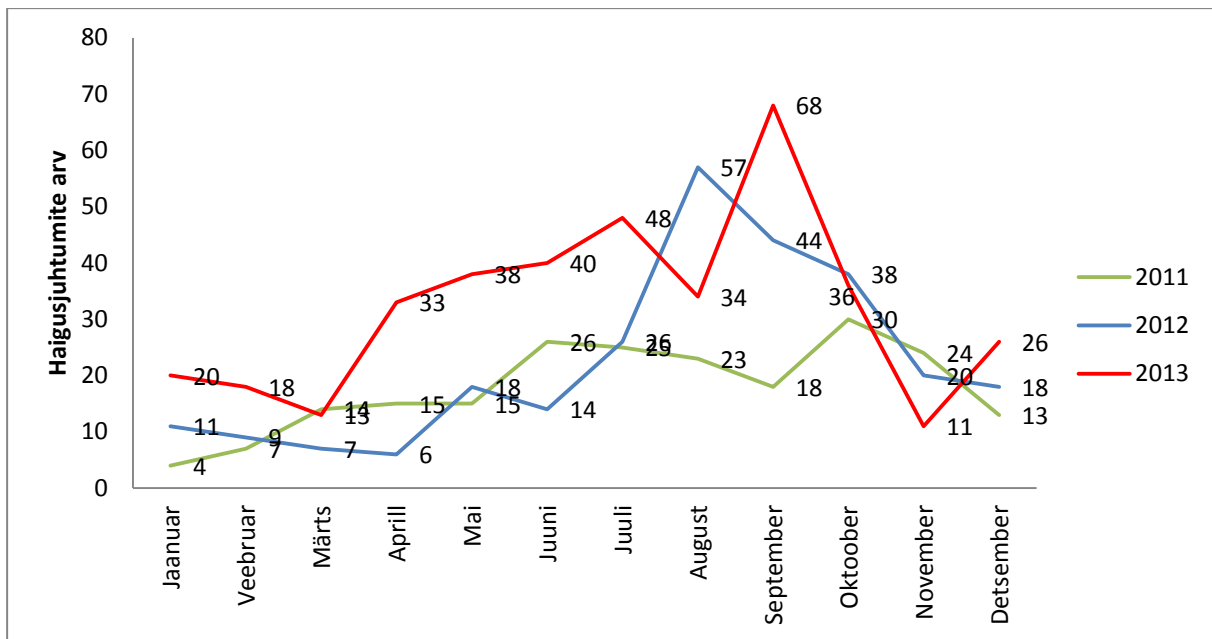
Aastal 2013 registreeriti Terviseameti andmetel Eestis 385 kampülobakterenteriidi juhtumit, haigestumus 100,000 elaniku kohta oli 28,7. Aastal 2012 oli vastav näitaja 20,0 ning nakkushaigust registreeriti kümnes maakonnas ning Tallinnas ja Narvas. Kõrgem haigestumus oli Ida-Virumaal (39,5 juhtu 100.000 elaniku kohta), Tallinnas (33,7) ja Harjumaal (30,3). Enamus ehk 53,7% haigetest olid lapsed vanuses 1–9 aastat (joonis 2). 47,8% haigestunutest olid koolieelikud, 16,8% – kooliõpilased ja 19,4% – töötavad inimesed. Meessoost haigestunuid oli 53,4%.



Joonis 2. Vanuserühmade järgi kampülobakterenteriidi haigete jaotus (Terviseamet, 2013)

87,3% juhtude puhul oli tegemist *C. jejuni* (234 juhtu) poolt põhjustatud kampülobakterenteriidiga. Ühel juhul tuvastati *C. lari*, ühel juhul *C. coli*, ühel juhul *C. fetus* ning 11,6% tekitajatest jäi liigiliselt määramata.

Haigestumise tõus oli suvel-sügisel, juulist oktoobrini haigestus 61,9% registreeritud haigetest. Oletatav nakatumine toimus 15 juhul väljaspool Eestit ehk Bulgaarias üks, Indias kolm, Indoneesias üks, Itaalias üks, Kreekas üks, Leedus üks, Prantsusmaal üks, Suurbritannias kolm, Tais üks, Türgis üks, Ukrainas üks. Esines seitse rühmaviisilist haigestumist kahe-kolme haigega. Hospitaliseeriti 53,7% haigetest (Terviseamet, 2013).



Joonis 3. Kampülobakterenteriidi juhtumid kuude lõikes Eestis 2011-2013 (Terviseamet, 2013)

Joonisel 3 on näha, et 2012. aasta augustikuust alates tõusis kampülobakterenteriiti haigestumine Eestis oluliselt. Võrreldes varasemate aastatega on 2012. aasta augustikuust alates püsima jäänud ka haigestumiste üldine kõrge tase, mis osutab senini selgitamata *Campylobacter* riskifaktori lisandumisele inimestele Eestis. Teada on asjaolu, et alates 2012. aasta augustikuust hakati Eestis kasutama toorpiimaautomaate. Toorpiima mõju kampülobakterioosi riskifaktorina Eestis on antud juhul ametlikult kinnitamata. Samas on teaduslike uuringutega leitud, et üleüldiselt keskmiselt 1-6% (Claeys et al., 2013; De Buyser et al., 2001) kogu maailmas esinenud bakteriaalsetest haiguspuhangutest on esile kutsunud kontamineerunud toorpiima või piimatoodete tarbimisest ning kampülobakterioosi haiguspuhangute peamiste nakkusallikatena on kindlaks tehtud toorpiim ning töötlemata joogivesi. Oluliseks tuleb pidada fakti, et kliiniliselt terved veised on sageli kampülobakterite kandjad ning lüpsihügieeniga seonduvalt satuvad haigustekitajad kergesti toorpiima juhtudel, kus konkreetse farmi veistel on kampülobakterite kandvus laboratoorselt tõestatud (Nachamkin ja Blaser, 2000). Schildt et al. (2006) on järeldanud, et kampülobakteritest tingitud ohtu tarbijate tervisele ei saa alahinnata, kuna termofiilsed kampülobakterid on tihti põhjustanud toorpiima tarbimisega seotud haiguspuhanguid ja gastroenteriite.

Näiteks Soomes registreeriti kampülobakterenteriidi haiguspuhang farmeri peres, kus pereliikmed olid tarbinud oma farmi toorpiima (Schildt et al., 2006) ning 2011. aastal registreeriti Rootsis toorpiima tarbimisega seotud haiguspuhang, kus ametlikel andmetel haigestus kampülobakterioosi 12 inimest (Hansson et al., 2011).

Enamikes riikides, kus farmi piimafiltreid on uuritud termofiilsete kampülobakterite esinemisele, on kampülobaktereid ka tuvastatud, kuigi suhteliselt madala esinemusega. Kampülobakterite uurijad teavad ka asjaolu, et erinevatest mõjuritest tingituna ei ole selektiivsõotmed, mida konventsionaalses mikrobioloogias kasutatakse, teatud juhtudel piisava selektiivsusega nt juhtudel, kus patogeeni arvukus uuritavas toidumaatriksis on väga madal ning muud kasvutingimustele sobivat ehk konkureerivat mikrofloora rohkest. Selle tõkke ületamiseks on soovitatud kasutada DNA uuringutel põhinevaid analüüsi meetodeid nt PCR-i meetodikat. Samuti on oluline, et piimafiltrid transporditakse laboratooriumisse nii kiiresti kui võimalik, sest termofiilsed kampülobakterid on tundlikud kuivamisele ja õhuhapnikule. Mõttekas oleks kasutada spetsiifilisi transportsõotmeid või lisada piimafiltrile piisav kogus sama farmi tankipiima, mis tagaks proovimaterjali piisava niiskuse kogu transpordi vältel (Serraino et al., 2013).

Kokkuvõtlikult võib inimeste kampülobakterioosi juhtumite kohta öelda seda, et Euroopa Liidus tervikuna on aastas kampülobakterioosi registreeritud juhtumite arv 100 000 inimese kohta riigiti väga erinev, alates 0,31 Lätis kuni 177,95 Tšehhis. Euroopa Liidu keskmine näitaja on 50,28 ning Eestis 15,97 (3,1 kordne erinevus). Seega on Eestis inimeste haigestumine kampülobakterioosi EL-i keskmisest tunduvalt madalam, kuid ka termofiilsete kampülobakterite levimus värskes broilerilihas on Eestis EL-i keskmisest märkimisväärselt madalam (EFSA, 2013), vastavalt 6,4 ja 31,3% (4,8 kordne erinevus). Tuleb aga toonitada, et eelnevad andmed kajastavad üksnes ametlikult registreeritud haigusjuhtumeid inimestel ning seetõttu võivad tegelikud numbrid olla kümnetes kui sadades kordades suuremad sõltudes inimeste suhtumisest oma tervise hädadesse, haiguse diagnoosimisest, arstiabi kättesaadavusest riigis ja selle kallidusest ning paljudest muudest teguritest, mis võivad tingida erinevate riikide nakkushaigustesse haigestumiste ametlikus statistikas väga suuri erinevusi ning seda ka EL-i piires.

6. Lätis ja Leedus teostatud *Campylobacter* uuringud

Eestis, Lätis ja Leedus on *Campylobacter* spp. tuvastamiseks analüüsitud enamasti linnuliha ning lindude umbsoolesisaldise proove. Aastal 2013 analüüsiti Eestis toorpiima ohutuse hindamise projekti raames 14 farmi piimafiltreid, mis kõik osutusid *Campylobacter* negatiivseteks, mis aga veel ei tähenda, et termofiilseid kampülobaktereid Eesti lüpsikarjades ei esine. Aasta 2013 *Campylobacter* negatiivsed piimafiltriproovid võisid oletuslikult olla tingitud ka sellest, et piimafiltrite transpordil ei kasutatud transportsöötmeid, mis kampülobakterite puhul oleks olnud vajalik, kuna nad on väga õrnad proovimaterjali liigse kuivamise suhtes. Samuti oleks konventsionaalse *Campylobacter* tuvastamise meetodika täiendamiseks situatsioonides, kus nt konkureerivast mikrofloorast tingituna on selektiivsetele agaritele tekkinud ülekasv, täiendavalt kasutada PCR-metoodikat, et tuvastada kampülobakterite olemasolu.

Balti riikide linnuliha termofiilsete kampülobakteritega saastumise hindamine ning omavaheline võrdlemine on oluline seetõttu, et Eestis müüakse lisaks Eesti päritolu värskete linnulihale ka Leedu ja Läti päritolu tooteid. *Campylobacter* riskide hindamisel on oluline teada nii kampülobakterite levimust linnulihas kui ka haigustekitajate arvukust, sest kõrge *Campylobacter* levimus ja kõrge arvukus toidus omavad suuremat riski inimeste kampülobakterioosi tekkes (EFSA, 2013 ja 2011).

Analüüsides Eestis, Lätis ja Leedus varasemalt teostatud *Campylobacter* uuringuid võime väita, et sarnasest geograafilisest asukohast vaatamata on *Campylobacter* levimuse näitajad olnud Balti riigiti, eriti Eestiga võrreldes, vägagi erinevad. Eestis on vastavaid teadusuuringuid teostatud enim ning võttes arvesse kõiki termofiilsete kampülobakterite alaseid teadusuuringuid, k.a. käesoleva rakendusuuringu tulemusi Eestis ajavahemikus 2000 kuni 2013, saame Eestis toore linnuliha keskmiseks saastumiseks 16,2% (Roasto et al., 2011; Meremäe et al., 2010; Roasto et al., 2005;). Leedus ja Lätis on värskete linnuliha saastumise protsendid olnud vastavalt üle 40% ja 50% (Kovalenko et al., 2013; Pieskus et al., 2008).

6.1. Lätis teostatud *Campylobacter* spp. uuringud

Lätis ei ole enne aastat 2008 *Campylobacter* alaseid teadusuuringuid teostatud, kuid hiljutised uuringud on olnud põhjalikud ning annavad korraliku ülevaate Läti broileriliha kampülobakteritega saastatusest nii tapamajade kui jaemüügi tasandil. Läti *Campylobacter* uuringud on otseselt seotud ka käesoleva rakendusuringute projektiga, sest projektijuht oli Läti Põllumajandusülikoolis 2013. aasta juunis kaitstud *Campylobacter* temaatilise doktoritöö juhendajaks ning Lätis teostatud *Campylobacter* uuringute läbi viimisel arvestati käesoleva projekti põhitähtjate praktiliste nõuannete ja soovitustega.

Hiljutine Kovalenko et al. (2013) poolt teostatud uuring näitas, et Lätis on linnuliha ning umbsoole proovide termofiilsete kampülobakteritega saastatus Eestist oluliselt kõrgem. Uuringutega tehti kindlaks, et Läti jaemüügi tasandil oli broileri rümpade saastatus 56,3%. Tulemused on kooskõlas sama uuringu raames Läti tapamajade tasandil tehtud uuringute andmetega, kus kampülobakteritest saastunud kaelanaha (joonis 4) ja umbsoole proovide proportsioon oli vastavalt 61% ja 69%. Lihaproovide saastumise mõnetised erinevused on tõenäoliselt tingitud erinevatest proovivõtu plaanidest, kuna jaemüügi tasandil olid proovimaterjaliks terved broileri rümpad ning tapamaja tasandil üksnes kanabroilerite kaelanahk. Lätis teostatud *Campylobacter* alased teadusuuringud andsid selge erinevuse võrreldes Läti riiklikul tasemel teostatud uuringutega. Nimelt oli Läti *Campylobacter* monitooringu andmetel jaemüügi broileriliha saastunud vaid 10% ulatuses, kuid teadusuuringute alusel oli vastavaks näitajaks 56% (Kovalenko et al., 2013).

Tuleb rõhutada, et teadusuuringute valimis olnud proovide kogused olid riiklike uuringutega võrreldes kordades suuremad, sest aastal 2010 analüüsiti riikliku monitooringu raames ainult 50 broileriliha proovi. Aastatel 2008 ja 2009 ei uuritud Lätis aga kampülobakterite tuvastamise suhtes ühtegi toiduproovi. Seega on Kovalenko et al. (2013) teostatud uuringud tänuväärne materjal hindamaks suundumusi ning tegelikke erinevusi Eesti ja Läti linnuliha toodete termofiilsete kampülobakteritega saastumises.



Joonis 4. Tapamajas *Campylobacter* tuvastamise uuringuteks kaelanaha proovi võtmine

Foto: Kaspars Kovalenko, 2013

Antibiootikumide osa toidutekkeliste infektsioonide leviku piiramisel ja ravis on olnud terava tähelepanu all juba palju aastaid. Profülaktilistel eesmärkidel antibiootikumide kasutamine lindude söödasegudes on paljudes maades, kaasa arvatud EL-i maades, keelatud, kuna nende sisaldumine söödasegudes on otseseks põhjuseks multiresistentsete bakteritüvede tekkes.

Kovalenko et al. (2013) poolt teostatud uuringud osutasid faktile, et 86,7% Läti päritolu *Campylobacter* spp. tüvedest olid resistentsed ühe või mitme antibiootikumi suhtes. Tsiprofloksatsiini ja nalidiksiinhappe suhtes oli resistentsus koguni 83,3% ja 78,3%. Resistentsus oli kõige madalam streptomütsiini ja gentamütsiini suhtes, vastavalt 20% ja 20%. Erütromütsiini ja tetratsükliini suhtes olid resistentsed 36,7% ja 41,6% *Campylobacter* tüvedest. Teostatud minimaalse inhibeeriva kontsentratsiooni (MIC) testid osutasid faktile, et 41,6% Läti päritolu *Campylobacter* tüvedest olid uuritavatele antibiootikumidele multiresistentsed, kusjuures kõik multiresistentsed tüved olid resistentsed tsiprofloksatsiini ja nalidiksiinhappe suhtes. Multiresistentseteks arvati *Campylobacter* tüved, mis olid resistentsed kahe või enama erinevasse antibiootikumide rühma kuuluva ravimi suhtes. Lätis teostatud uuringud viitasid probleemidele riiklikus *Campylobacter* monitooringus ning veelgi suurematele probleemidele broilerifarmide bioturvalisuses.

Läti uuringutes (Kovalenko et al., 2013, Kovalenko, 2013) leiti, et bioturvalisuse meetmeid (vaata peatükk 9) tuleb rakendada ja oluliselt parendada nii farmi kui tapamaja tasandil ning tapamaja ja lihatööstuse tasandil tuleb rakendada meetmeid, mis võimaldaks oluliselt vähendada kampülobakterite arvukust linnulihas (vaata peatükk 9).

6.2. Leedus teostatud *Campylobacter* spp. uuringud

Leedus teostatud uuringud on näidanud, et jaekaubanduse tasandilt kogutud kana broilerliha proovid olid saastunud 46,5% ja tapamajades kogutud broiler rümbad 45,8% (Bunevičienė et al., 2010). Baltimaades läbi viidud uuringud on esile toonud ka erinevused *Campylobacter* kontaminatsiooni hooajalises variatsioonis. Leedus on olnud kampülobakterite kõrgeim esinemissagedus talvel ja kevadel (Pieskus et al., 2008), kuid Eestis suvekuudel ning sõltuvalt välistemperatuurist mõnikord ka sügise alguses (Meremäe et al., 2010). Läti uuringud (Kovalenko et al., 2013) näitasid, et broilerliha *Campylobacter* kontaminatsiooni tasemed tõusid kevadel, olid kõrgeimad suvekuudel ning hakkasid langema sügise lõpus. Linnuliha *Campylobacter* kontaminatsiooni selgelt välja kujunenud hooajaline varieeruvus on Balti riikidest jälgitav üksnes Eestis, kuna Lätis ja Leedus on kõrged kontaminatsioonitasemed ilmnenud ka külmadel aastaagadel, mis viitab farmitaseme bioturvalisuse meetmete ja lihatööstuse enesekontrolli süsteemide vähesele efektiivsusele.

7. Eestis teostatud *Campylobacter* spp. uuringud

Eestis on termofiilsete kampülobakterite alast põhjalikumalt uurimustööd teostatud alates aastast 2000, mil esmakordselt uuriti värskes linnulihas kampülobakterite levimust ning uurimistöö teostati Eesti Põllumajandusülikooli teadlaste poolt Veterinaar- ja Toidulaboratooriumis Tartus.

7.1. Perioodil 2000-2010 Eestis teostatud uuringud

Uuritavaks materjaliks olid nii Eestis toodetud kui Eestisse imporditud toored linnulihatooted. Antibiootikumidele tundlikkuse määramiseks valitud tüved pärinesid linnuliha ja broilerite umbsoole proovidest. Uuringute teostamiseks koguti ja analüüsiti aastatel 2000-2010 ühtekokku 1965 broilerliha proovi ning 1302 umbsoolesisaldise/ fekaalproovi. Aastatel 2000 ja 2002 analüüsiti 279 värsket linnuliha proovi, millest 90 koguti Eesti väikese võimsusega lihakäitlemise ettevõttest ning 189 proovi koguti Eesti suure võimsusega lihakäitlemise ettevõtte toodangust. Eesti suure võimsusega lihakäitlemise ettevõtte toodangu proovid koguti Tartu linna turgudel. Kõikide antud perioodil kogutud proovide näol oli tegemist jahutatud toodetega, mida säilitati +4°C kuni +7°C juures.

Aastatel 2000 ja 2002 võrreldi suure võimsusega Eesti lihakäitlemisettevõtte ning väikese võimsusega Eesti lihakäitlemisettevõtte (tegevus lõpetatud) linnuliha toodete saastatust termofiilsete kampülobakteritega. Analüüsi tulemused näitasid, et saastumise protsendid olid vastavalt 6,3% ja 35,6% ning seega oli Eesti väikese võimsusega lihakäitlemisettevõtte toodang võrreldes Eesti suure võimsusega lihakäitlemisettevõtte linnuliha toodanguga oluliselt ($P < 0.001$) rohkem saastunud. Eeltoodut põhjendati sellega, et suure võimsusega käitlemisettevõttel olid heade tootmistavade rakendamiseks paremad tingimused ning rakendati efektiivseid kvaliteedi kontrolli programme. Kõrged kontaminatsiooni näitajad Eesti väikese võimsusega käitlemisettevõtte toodangus olid seotud toodete ristsaastumise võimalustega. Ristsaastumise näitena võiks esitada rümpade automaatsete jahutussüsteemide asemel ebahügieeniliste jahutusvee vannide kasutamise, mis võimaldasid saastunud jahutusvee kaudu mikroobse kontaminatsiooni levikut. Eelneva tõestamiseks võeti uurimise käigus väikese võimsusega käitlemisettevõttest rümpade loputusvee proovid ning laboratoorse analüüsi tulemusena selgus, et kõik proovid ($n = 10$) olid termofiilsete kampülobakteritega saastunud. Lisaks eeltoodule oli väikese võimsusega käitlemisettevõtetes hügieeni probleemiks ka manuaalsete protseduuride kasutamine automaatsete süsteemide asemel.

Eesti suure võimsusega linnuliha käitlemisettevõtte omanduses olid mitmed linnufarmid ning head hügieenitavad kasutusel nii farmi-, tapamaja- kui tootmise tasandil. Vesijahutuse asemel õhkjahutuse kasutamine tapamajades võimaldab oluliselt alandada jahutatud linnuliha toodete saastumise määra enterobakteritega (Sanches *et al.*, 2002; Rosenquist *et al.*, 2003). Efektiivsete kvaliteedi kontrolli programmide ning rümpade õhkjahutuse kasutamine võimaldab oluliselt vähendada kontaminatsiooni kampülobakteritega, mida ilmekalt tõestavad ka antud uurimuse tulemused. Antud perioodil teostatud uuringus leiti samuti, et broilerite rümbad ja tiivatükid osutusid oluliselt ($P < 0.001$) rohkem saastunuks (28% ja 31.3%), kui broilerite rinna- ja kintsutükid (0% ja 0%). Tiivatükkidel on nahapind kurrulisem ja sulefolliikulid suuremad, mis loob bakteritele loputamise järgselt nahapinnale püsima jäämise suuremad võimalused. Avatud sulefolliikulid, naha kurrud ja kriimustused võimaldavad kampülobakteritel nahapinnale kinnituda ning püsima jääda ka pärast intensiivset rümpade loputamist (Chantarapanont *et al.*, 2003). Folliikulite sulgumisel jahutamisprotseduuri jooksul on tõenäoline, et folliikulitesse jäävad püsima ka mõned sinna eelnevalt sattunud mikroorganismid.

Aastatel 2002 ja 2003 uuriti kokku 630 linnuliha proovi. Eesti päritoluga toodete proove oli 416 (66%) ning importtoodangu proove 214 (34%). Laboratoorseks uurimiseks võeti erinevaid jahutatud ja külmutatud linnuliha tooteid: kanarümbad, kanatiivad, kanahakkliha, rinna- ja kintsutükid ning kalkuni koivad. Eesti päritolu toodetest osutusid kampülobakterite suhtes positiivseteks 36 proovi (8,7%) ning importtoodetest 34 (15,9%). Eesti päritoluga tooted olid jahutatud ning välismaise päritoluga tooted külmutatud. Külmutamise protsessis kampülobakterid enamasti hukuvad, mõned saavad subletaalseid kahjustusi, kuid säilitavad eluvõime.

Kampülobakteritele subletaalseid kahjustusi põhjustavad tegurid on madal temperatuur, osmootne stress ning toitainete puudus (Humphrey, 1994). Külmutatud importtoodete kõrgemad saastumise näitajad, võrreldes Eesti päritolu jahutatud linnuliha toodetega, on tingitud tõenäoliselt kõrgest algkontaminatsioonist, ning mida kõrgem on linnuliha bakteritega algsaastatus, seda tõenäosem on, et külmtöötlemine ei hävita kõiki kampülobaktereid. Eesti jahutatud linnuliha toodete saastumise protsent (9,1%) on madalam kui enamikus arenenud riikides, kus kontaminatsiooni näitajad ulatuvad isegi üle viiekümne protsendi (Dominguez *et al.*, 2002). Vastavalt Kapperud *et al.* (1992) uuringutele on toore ja külmutatud linnuliha ostmine jaekaubandusest ning selle tarbimine pärast ebapiisavat kuumtöötlemist oluliseks riskifaktoriks sporaadilise *Campylobacter* infektsiooni tekkes.

Efektiiivsete kvaliteedi kontrolli programmide ning tapamajades rümpade õhkjahutuse rakendamine tingib madalama kampülobakteritega saastumise, mida tõestavad ka antud uurimistöö tulemused. Võrreldes Eesti toodetega olid importtooted rohkem saastunud ning tuginedes eeltoodud tulemuste analüüsile, võib kinnitada, et kodumaiste linnuliha toodete tarbimine on ohutum, kusjuures tõhustada tuleb importtoodete ja nende tootjate kontrolli.

Aastatel 2005 ja 2006 koguti ja analüüsiti kokku 716 Eesti päritolu jahutatud broileriliha proovi. Termofiilsete kampülobakterite suhtes osutus positiivseks 45 proovi (6,3%). Kõige rohkem saastunud proove esines juulist oktoobrini, mil uuriti 386 proovi ja kampülobakterite suhtes positiivseteks osutus 37 proovi (9,6%). Ülejäänutel kuudel kogutud proovide analüüsimisel selgus, et linnuliha proovide saastumine termofiilsete kampülobakteritega oli väga madal või ei esinenud kampülobaktereid uuritud proovides üldse.

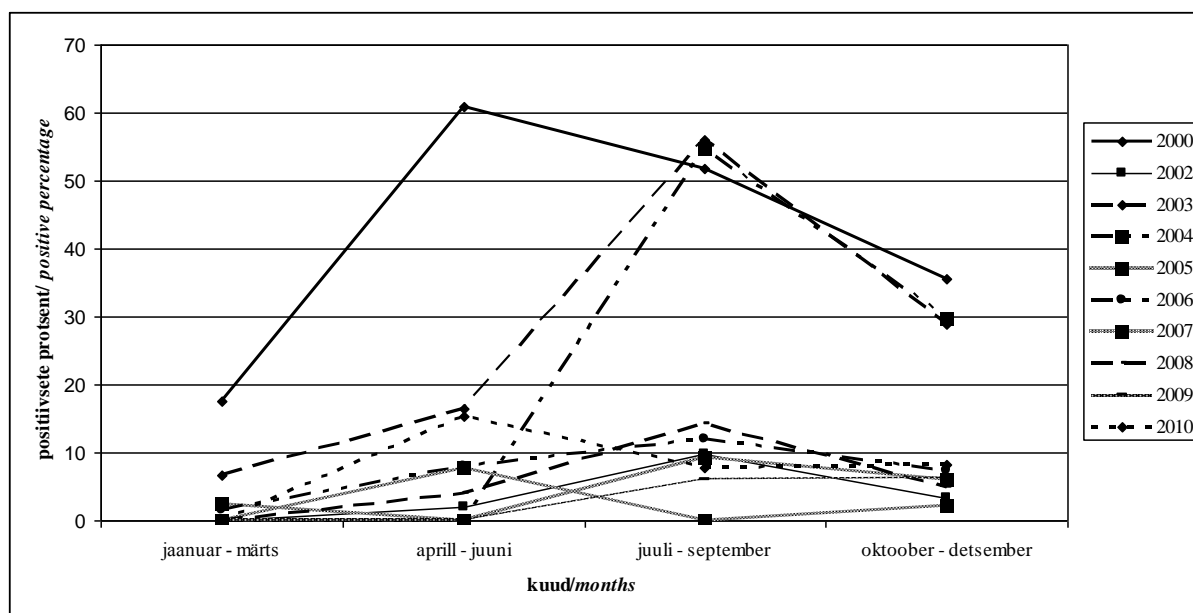
Campylobacter spp. esinemise tulemused Eesti broileriliha proovides aastatel 2000-2010 on esitatud tabelis 4. Selgub, et ühtekokku 11,2% broileriliha proovidest olid *Campylobacter* positiivsed. Uuringud aastate lõikes näitavad, et suurem linnuliha *Campylobacter* spp. saastumine esines aastatel 2000 (35,6%), 2003 (28,8%) ja 2004 (29,8%). Edasiselt toimus *Campylobacter* positiivsete proovide osakaalu vähenemine 5,9%-lt 2005. aastal kuni 2,2%-ni 2007. aastal ning mõningane suurenemine aastatel 2008 kuni 2010, kui 4,9-8,3% proovidest olid *Campylobacter* positiivsed. *Campylobacter* spp. kontaminatsiooni esines kõige rohkem juulist kuni septembrini (joonis 5), kui ühtekokku 24,2% proovidest olid kampülobakteritest saastunud. Perioodil aprill kuni juuni ning oktoober kuni detsember leiti kampülobaktereid vastavalt 2,9% ja 9,5% proovidest. Kõige vähem *Campylobacter* positiivsed proove esines ajavahemikus jaanuar kuni märts, kui 2,6% proovidest olid kontamineeritud. Aastatel 2000-2010 isoleeritud tüvedest 97,7% oli detekteeritud kui *C. jejuni* (n=216), 1,8% kui *C. coli* (n=4) ja 0,5% moodustas *C. lari* (n=1).

Tabel 4. *Campylobacter* spp. esinemine broileriliha proovides Eestis aastatel 2000-2010 (Roasto et al., 2011)

| Aasta | Positiivsete proovide arv/proovide arv kokku (positiivsete %) | | | | Kokku |
|--------------|---|---------------------|-----------------------|----------------------|-------------------------|
| | jaanuar – märts | aprill – juuni | juuli – september | oktoober – detsember | |
| 2000 | 3/17 (17,6) | 14/23 (60,9) | 15/29 (51,7) | 0/21 (0) | 32/90 (35,6) |
| 2002 | 0/87 (0) | 2/97 (2,1) | 12/124 (9,7) | 1/131 (0,8) | 15/439 (3,4) |
| 2003 | 2/30 (6,7) | 13/79 (16,5) | 19/34 (55,9) | 21/48 (43,8) | 55/191 (28,8) |
| 2004 | 0/2 (0) | 0/6 (0) | 71/130 (54,6) | 14/147 (9,5) | 85/285 (29,8) |
| 2005 | 2/85 (2,4) | 0/121 (0) | 13/140 (9,3) | 16/177 (9,0) | 31/523 (5,9) |
| 2006 | 1/62 (1,6) | 5/62 (8,1) | 8/66 (12,1) | 0/3 (0) | 14/193 (7,3) |
| 2007* | 0/8 (0) | 1/13 (7,7) | 0/13 (0) | 0/12 (0) | 1/46 (2,2) |
| 2008** | 0/26(0) | 1/26 (3,9) | 4/28 (14,3) | 0/22 (0) | 5/102 (4,9) |
| 2009* | 0/4 (0) | 0/13 (0) | 1/17 (5,9) | 2/14 (14,3) | 3/48 (6,3) |
| 2010* | 0/8 (0) | 2/13 (15,4) | 1/13 (7,7) | 1/14 (7,1) | 4/48 (8,3) |
| Kokku | 8/305 (2,6) | 13/453 (2,9) | 144/594 (24,2) | 56/589 (9,5) | 221/1,965 (11,2) |

*Veterinaar- ja Toidulaboratooriumi poolt zoonootiliste haigustekitajate seire raames uuritud värsked broileriliha proovid

**Euroopa Liidu võrdlusalusuuringu raames uuritud värsked broileriliha proovid



Joonis 5. Linnuliha *Campylobacter* kontaminatsiooni hooajaline varieeruvus aastatel 2000-2010 (Roasto et al., 2011)

Kampylobakterite sero- ja genotüüpiline jaotumus

Eestis jaekaubandusest kogutud toorest linnulihast isoleeritud *Campylobacter* spp. tüved osutusid sero- ja genotüüpselt jaotuselt mitmekesiseks (tabel 5). Viiekümne neljast *C. jejuni* tüvest identifitseeriti 11 erinevat serotüüpi, millest 9 seonduisid eelkõige Eesti toodetest isoleeritud ning 5 importtoodetest isoleeritud tüvedega. Serotüüpilise jaotumuse ja toodete päritolu (müügipunktide) vahel ei esinenud selget seost. Töös kasutatud serospetsiifilise seerumiga (Denka Seiken Co., LTD, Jaapan) osutusid 12 tüve mitte serotüpiseeritavateks ning kolm tüve kuulusid kompleks-serotüüpi. Kõige rohkem tüvesid (54%) kuulusid serotüüpidesse O:1,44; O:21 ja O:55, vastavalt 28%, 13% ja 13%. Eesti päritolu toodetest identifitseeriti kaheksa erinevat *C. jejuni* serotüüpi, üks kompleks serotüüp ning kolm tüve osutusid mitte serotüpiseeritavateks. Broileriliha identifitseeriti kõige rohkem *C. jejuni* tüvesid, mis kuulusid serotüüpidesse O:1,44 (32%) ning O:21 (19%). Tüved, mis kuulusid serotüüpi O:1,44 isoleeriti Eesti, Taani, Ameerika Ühendriikide, Ungari ja Soome päritoluga linnulihast ning seega omas antud serotüüp ulatuslikku geograafilist levikut. Erinevates riikides teostatud varasemad uuringud on samuti tõestanud isoleeritud kampylobakterite tüvede kuulumise serotüüpi O:1,44. Ungari päritolu kalkuniliha isoleeritud *C. jejuni* tüved (n = 17) jaotusid kolme erinevasse serotüüpi: O:55 (29%), O:1,44 (18%) ning O:18 (12%).

Serotüüpidesse O:2, O:4-kompleks ning O:12, mis eelnevate uuringute alusel on osutunud omasteks nii lindudele kui inimestele, kuulus meie uuringute alusel kokku 13% kampülobakterite isolaatidest.

Tabel 5. Eesti jaekaubandusest pärit toorest linnulihast isoleeritud *C. jejuni** ($n = 54$) serotüüpide ja *Campylobacter* spp.** PFGE genotüüpide jaotumus (Roasto et al., 2011)

| Riik | Serotüüp (konkreetses serotüüpi arvukus) | Pulsotüüp | |
|--------|--|---|---|
| | | <i>SmaI</i> | <i>KpnI</i> |
| Taani | O:1,44 (4); O:21 (3); O:41 (1) | 6, 7, 23 | 6, 7, 23, 31, 32 |
| Soome | O:1,44 (1) | 26 | 26 |
| USA | O:1,44 (1); MT ^b (2) | 4, 5, <u>10</u> | 4, 5, <u>22</u> |
| Ungari | O:1,44 (3); O:18 (2); O:55 (5); MT ^b (7) | <u>1</u> , 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 | 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 35 |
| Eesti | O:1,44 (6); O:2 (2); O:4-kompleks (2); O:11 (1); O:12 (3); O:21 (4); O:27 (1); O:38 (1); O:55 (2); MT ^b (3) | <u>1</u> , 2, 3, 8, 9, <u>10</u> , 11, 21, 22, 24, 25, 27, 28, 29 | 1, 2, 3, 8, 9, 10, 11, 21, <u>22</u> , 24, 25, 27, 29, 30, 33, 34, 36 |

* $n = 54$; ** $n = 70$

^aalla joonitud PFGE genotüüpi isoleeriti erinevatest riikidest pärit linnulihast

^bMT, mitte tüpiseeritav

Seitsmekümne *Campylobacter*'i isolaadi genotüpiseerimine andis 29 *SmaI* ning 34 *KpnI* PFGE tüüpi, mis osutas restriksiooniensüümi *KpnI* suuremale genotüpiseerimise võimele. Veelgi enam osutas *KpnI* kasuks fakt, et viie *Campylobacter*'i isolaadi DNA ei lõhustunud üldse *SmaI* ensüümi kasutades. Üldiselt võib järeldada, et erinevate riikide toodangust isoleeritud kampülobakterite tüved ei kattunud genotüüpiliselt koosluselt üksteisega, väljaarvatud *SmaI* PFGE-tüüp 1, millesse kuulusid nii Eesti kui Ungari tüved ning *KpnI* PFGE-tüüp 22, millesse kuulusid nii Eesti kui Ameerika Ühendriikide toodangust pärit kampülobakterite tüved. Enamik tüvedest, mis kuulusid samasse PFGE genotüüpi pärinesid konkreetse riigi toodetest. Makrorestriksiooni kombinatsioon andis 37 PFGE-tüüpi, millest 33 koosnesid *C. jejuni* (89%), kaks *C. coli* (5.5%) ning kaks *Campylobacter* spp. isolaatidest (5.5%). Uuringutega leiti, et ühte PFGE-tüüpi kuulunud kampülobakterite tüved kuulusid sageli erinevatesse serotüüpidesse ning vastupidi.

Kampülobakterite tüvede tundlikkus antibiootikumidele

Antud uurimistöös teostati kampülobakterite antibiootikumidele tundlikkuse määramine aastatel 2002 ja 2003 isoleeritud ning aastatel 2005 ja 2006 isoleeritud tüvedega. Mainitud varasemal perioodil (aastatel 2002 ja 2003) isoleeritud kampülobakterite tüvedega ($n = 70$) teostati antibiootikumide tundlikkuse määramine ampitsilliini, erütromütsiini, gentamütsiini, nalidiksiinhappe, tetratsükliini ning tsiprofloksatsiini suhtes. Resistentsete tüvede protsent ampitsilliinile, erütromütsiinile, nalidiksiinhappele, tetratsükliinile ja tsiprofloksatsiinile oli vastavalt 19,4%, 16,6%, 44,4%, 22,2% ja 44,4%. Linnulihast isoleeritud kampülobakterite tüved olid absoluutselt tundlikud vaid gentamütsiinile. Kahte erinevasse antibiootikumi rühma kuuluvate antibiootikumide suhtes esines tüvede üheaegne resistentsus põhiliselt kombinatsioonis nalidiksiinhape/tsiprofloksatsiin ja tetratsükliin (22,2%). Uurimisperioodil aastatel 2002 ja 2003 ei isoleeritud ühtegi multiresistentset tüve (resistentne vähemalt kolme erinevasse rühma kuuluva antibiootikumi suhtes). Disk-difusiooni ja E-testi tulemused kattusid niivõrd, et kõik tüved, mis osutusid tundlikuks disk-difusiooni testiga osutusid tundlikeks ka E-testi tulemuste alusel.

Aastatel 2005 ja 2006 isoleeritud *Campylobacter*'i tüvede antibiootikumi tundlikkuse määramisel olid tulemused märksa murettekitavamad, sest 36 isolaati (27,5%) osutusid multiresistentseteks ehk olid resistentsed kolme või enama erinevasse rühma kuuluva antibiootikumi suhtes. Ühe või rohkema antibiootikumi suhtes esines resistentsus 104 isolaadil (79,4%). Kaksikümmend isolaati (15,3%) osutusid resistentseteks kolme erinevasse rühma kuuluva antibiootikumi suhtes, 13 isolaati (10%) nelja erinevasse rühma kuuluva antibiootikumi suhtes ning kolm isolaati olid resistentsed kõigi testitud antibiootikumide suhtes. Resistentsust antibiootikumidele eraldi hinnates selgus, et kõige rohkem oli resistentseid tüvesid enrofloksatsiini ja nalidiksiinhappe suhtes, kus vastavalt 73,3% ja 75,6% kampülobakterite tüvedest osutusid resistentseteks (tabel 6). Järgnesid tetratsükliini (32,1%), erütromütsiini (19,8%), gentamütsiini (19,1%) ning ampitsilliini (7,6%) suhtes resistentseks osunud tüved. Võrreldes mitte multiresistentsete tüvedega oli multiresistentsete *C. jejuni* tüvede antibiootikumide suhtes resistentsuse tase nalidiksiinhappe ja enrofloksatsiini korral oluliselt kõrgem (Mann-Whitney test, $p=0.026$). Resistentsus teistele antimikroobsetele ühenditele ei olnud multiresistentsete ja mitte multiresistentsete tüvede võrdluses oluliselt erinev ($p>0.05$). Seega aastatel 2005 ja 2006 toimunud uuringud osutasid võimalusele, et fluorokinolonide kasutamine linnukasvatustes võib esile kutsuda multiresistentsete tüvede tekket.

Tabel 6. Broilerilihast 2005. ja 2006. aastal isoleeritud *C. jejuni* tüvede ($n = 131$) antibiootikumidele tundlikkus (Roasto et al., 2011)

| Antibiootikum | Antibiootikumi kontsentratsioon ($\mu\text{g/ml}$) VetMIC TM Camp | Tundlikkuse piir* ($\mu\text{g/ml}$) | Resistentsete tüvede arv (%) |
|---------------|--|--|------------------------------|
| Am | 0,5-64 | 32 | 10 (7,6) |
| Ef | 0,03-4 | 1 | 96 (73,3) |
| Em | 0,12-16 | 16 | 26 (19,8) |
| Gm | 0,25-8 | 8 | 25 (19,1) |
| Nal | 1-128 | 32 | 99 (75,6) |
| Tc | 0,25-32 | 4 | 42 (32,1) |

^aantibiootikum: Am, Ampitsilliin; Ef, Enroflokstsatiin; Em, Erütromütsiin; Gm, Gentamütsiin; Nal, Nalidiksiinhape; Tc, Oksütetratsükliin

*piirväärtus, alates millest loetakse *Campylobacter* isolaat resistentseks

Kampülobakterite antibiootikumidele resistentsete tüvede tundlikkuse määramise uurimuse tulemused on olulised, sest kemoterapeutikumi valik bakteriaalse infektsiooni korral sõltub diagnoosist ja tekitaja antibiootikumi tundlikkusest. Õige kemoterapeutikumi annustamine ja raviskeemist kinnipidamine on mikrobiaalse nakkuse ravi ning polüresistentsete mikroobitüvede tekke vältimise aluseks. Teadustööde tulemusena on selgunud, et termofiilsetel kampülobakteritel on unikaalne võime muutuda resistentseks kinoloonrühma preparaatide suhtes (Gootz et al., 1991).

Uuringute tulemusi aluseks võttes soovitati lindude haiguste profülaktikas mitte kasutada söötades antibiootikume, kusjuures eriti taunitavaks peeti kinoloonrühma antibiootikumide kasutamist. Profülaktilistel eesmärkidel antibiootikumide kasutamine lindude söödasegudes on Euroopa Liidus keelatud, kuna on leitud, et nende sisaldumine söödasegudes on otseseks põhjuseks bakterite polüresistentsete tüvede tekkes.

Antud uurimuse tulemused osutasid kaudselt faktile, et lindude söödasegudes kasutatakse antibiootikume, mida kinnitab eeskätt aastatel 2005 ja 2006 lindude roojast ja linnulihatoodetest suurel arvul resistentsete tüvede isoleerimine.

Uurimisperioodi 2000-2010 tulemuste kokkuvõte

Eesti väikese võimsusega ettevõtte linnuliha toodang oli võrreldes suure võimsusega ettevõtte toodanguga oluliselt ($P < 0.001$) rohkem kampülobakteritega saastunud. Lindude rümbad ja tiivatükid (vastavalt 28% ja 31,3%) olid oluliselt ($P < 0.001$) sagedamini saastunud, võrreldes rinna- ja kintsutükkidega (0% ja 0%). Eesti päritolu jahutatud linnulihatoodete saastumine termofiilsete kampülobakteritega oli 9,1%, kusjuures külmutatud impordtoodetel ulatus see näitaja 15,9%-ni. Imporditud linnuliha kõrgem saastumine võis olla tingitud algtootmise kõrgest kontaminatsioonist termofiilsete kampülobakteritega.

Võrreldes Tallinnast kogutud proovidega osutusid Tartu turgudel võetud linnuliha proovid oluliselt rohkem saastunuteks termofiilsete kampülobakteritega. Selline oluline erinevus võis olla tingitud proovide laboratooriumisse toimetamise erinevatest transpordiaegadest. Tartust võetud proovid toimetati analüüside teostamiseks laboratooriumi praktiliselt kohe pärast proovide võtmist, kuid Tallinnast võetud proovid analüüsiti Helsingi Ülikooli Toidu- ja Keskkonnahügieeni laboris, mis tähendas mitmete tundide võrra pikemat aega analüüsi alguseni. Hooajaliselt isoleeriti Eestis müüdud tooretelt linnulihatoodetelt termofiilseid kampülobaktereid kõige sagedamini juunist kuni novembrini.

Võttes kokku termofiilsete kampülobakterite uuringud aastast 2000 kuni 2010 võib järeldada, et võrreldes enamike Euroopa Liidu liikmesriikide vastavate näitajatega on Eesti broileriliha *Campylobacter* spp. saastatus viimastel aastatel olnud märkimisväärselt madal. Sarnaselt Taani, Norra, Rootsi ja Soomega esineb Eesti linnuliha *Campylobacter* kontaminatsioonimäärades selge hooajaline erinevus ning termofiilsete kampülobakterite esinemise kõrghooajaks võib pidada ajavahemikku juulist kuni septembrini. Kõige enam domineerib *Campylobacter* spp. tüvede seas *C. jejuni*.

Uuringutest saadud tulemused osutasid toiduainetest isoleeritud kampülobakterite tüvede sero- ja genotüüpilisele mitmekesisusele. Olulist seost serotüüpilise jaotumuse ja proovide päritolu vahel antud uuringutes ei leitud. Seitsmekümne *Campylobacter*'i isolaadi genotüüpiseerimine näitas, et restriksiooniensüüm *KpnI* on võrreldes *SmaI*-ga suurema genotüüpide eraldamisvõimega.

Nimelt andis restriksiooniensüüm *KpnI* meie uuringutes 34 PFGE tüüpi võrreldes *SmaI* restriksiooniensüümi 29 genotüübiga. PFGE analüüs *KpnI* ja *SmaI* ensüümidega tõestas head kampülobakterite isolaatide tüpiseerimise ning katsete korratavuse võimet. Selge seos oli genotüüpilise jaotumuse ja proovide päritolu vahel, kuid genotüüpide ja geograafilise piirkonna seotus vajab ulatuslikemaid uuringuid.

Antud uurimuse tulemused näitasid toiduainetest isoleeritud kampülobakterite tüvede kõrget resistentsust praktiliselt kõikide uuringus kasutatud antimikroobsete ühendite suhtes. Kõrged minimaalsed inhibeerivad kontsentratsioonid (MIK) makroliidide ja fluorokinoloonide suhtes osutavad tõenäoliselt võimalikele tervishoiualastele probleemidele tingituna asjaolust, et erütromütsiin ja teatud fluorokinoloonid on inimeste kampülobakteritest põhjustatud infektsioonide ravis esimesteks valikpreparaatideks. Teostatud uuringute tulemuste eriti murettekitavaks faktiks tuleb aga pidada multiresistentsete kampülobakterite tüvede kõrget arvu, 36 isolaati ehk 27,5% isoleeritud kampülobakterite tüvedest, osutus multiresistentseks. Aastatel 2005 ja 2006 toimunud uuringud osutasid selgelt faktile, et fluorokinoloonide kasutamine võib esile kutsuda multiresistentsete tüvede tekke.

7.2. Aastatel 2012-2014 teostatud *Campylobacter* uuringud Eestis

7.2.1. *Campylobacter* levimuse uuring linnulihas

Aastal 2012 teostati Eestis kaks iseseisvat uuringut, millest esimene uuring korraldati Veterinaar- ja Toiduameti poolt ning analüüside teostajaks oli Veterinaar- ja Toidulaboratoorium (esimene uurimus). Teine uurimustöö planeeriti ja teostati Eesti Maaülikooli toiduhügieeni osakonnas (teine uurimus) Eesti Teadusagentuuri grandiprojekti ning aastal 2013 ka Põllumajandusministeeriumi rakendusuuringute projekti (leping nr T13057VLTH) raames. Proovivõtuplaanid olid antud uuringutes mõneti erinevad ning seetõttu on põhitulemused esitatud uurimuste kaupa eraldi, kuid kuna mõlemas uurimuses oli ka palju kattuvaid elemente, nt uurimisperiood ja laboratoorsed meetodikad, siis moodustab uurimuste arutelu osa ühtse terviku. Esimeses uurimuses kasutati üksnes *Campylobacter* tuvastamise meetodit, kuid teises uurimuses nii *Campylobacter* tuvastamise kui arvukuse määramise meetodit.

Proovide kogumine

Mõlema uurimuse raames võeti ühtekokku 600 linnuliha proovi, mis kõik koguti Eesti jaemüügi tasandilt. Täiendavalt koguti ja analüüsiti teise uurimuse raames 380 kana broilerite umbsoolesisaldise proovi tapamaja tasandilt. Kõik proovid koguti ja analüüsiti aastal 2012 ning mõlemas kanabroileriliha uurimuses olid kõik 12 kuud esindatud. Viimane on oluline *Campylobacter* kontaminatsiooni hooajalise varieeruvuse hindamiseks. Lihaproovid pärinesid Eestist (44,1%), Leedust (43,2%) ja Lätist (8,4%), kuid täiendavalt Poolast (1,7%), Saksamaalt (1,1%), Soomest (0,9%), Belgiast (0,3%) ja Ungarist (0,3%). Teises uurimuses olid kõik kogutud linnuliha proovid tootjapoolsetes originaalpakendites, mis välistas proovide transpordist ja jaekaubandusest tingitud ristsaastumise. Ka esimeses uurimuses saadeti linnulihaproove laboratooriumisse originaalpakendis, kuid osa proovidest võeti jaekaubanduse lettidele paigutatud pakendamata linnulihast, mis positiivsete proovide puhul võimaldab spekuloida *Campylobacter* saaste päritolu üle.

Esimeses uurimuses koguti linnuliha proovid *Campylobacter* levimuse uuringuteks üle kogu Eesti paiknevatest jaemüügi lettidelt ning ühtekokku koguti 380 erinevatesse linnuliha kategooriatesse kuuluvat lihaproovi. Kategooriateks oli värske liha (58,0%), rümbad (11,6%), hakkliha (5,4%) ja lihavalmistised (25,0%). Täiendavalt kana-broilerilihale (76,3%) koguti ka kalkuni liha (18,7%), kanaliha (4,7%) ning pardiliha (0,3%).

Teise uurimuse eesmärgiks oli hinnata *Campylobacter* spp. levimust ja arvukust kõrgesse toidu riskikategooriasse kuulavas värskes kana-broilerlihas. Sellest tingituna koguti üksnes nahka sisaldavat kana-broileriliha, mis oli tootjapoolses pakendis (vaakumpakend, kile, termokahanev kile). Proovid koguti suurematest jaemüügi poe kettidest Tartus (Selver, Rimi, Säästumarket, Maxima, Konsum, Maksimarket), kuid sellegipoolest esindas valim kogu Eesti värske kana-broilerilihaga varustatust, kuna juba proovide kogumisele eelnevalt tehti kindlaks, et Tartus müüdavate tapapartiide broileriliha oli enamasti samal hetkel müügis ka teiste Eesti piirkondade samade poekettide poodides. Teises uurimuses koguti üksnes Eesti (53,6%), Leedu (37,3%) ja Läti (9,1%) päritolu värsket kana-broileriliha, kuna värskel kujul originaalpakendisse pakendatuna oli teiste riikide toodangu osatähtsus Eesti jaekaubanduses marginaalne. Mõlemas uuringus arvestati linnuliha proovide kogumisel läbimüükide proportsioonidega.

Teises uurimuses koguti aastaringselt (igal kuul) üksnes Eesti ja Leedu värsket broileriliha proove, kuna aastal 2012 oli Läti värsket kana-broileriliha jaekaubanduses saadaval alates septembrist kuni detsembrini. Teises uurimuses koguti ühtekokku 220 värsket kana-broileriliha proovi ning täiendavalt 380 umbsoolesisaldise proovi. Viimane esindas praktiliselt kogu Eesti broilerifarmi tasandit, kuna ligikaudu 95% Eesti värsket broileriliha toodangust pärineb ühest konkreetsest ettevõttest ning tapamaja tasandilt kogutud roojaproovide analüüsid näitavad olukorda erinevate farmide ja farmisiseste linnukarjade (erinevate lautade) *Campylobacter* saastumises. Umbsoolesisaldise proovid koguti viie kuu jooksul juunist oktoobrini aastal 2012, kusjuures kasutati riiklikust kontrollist veidi erinevat proovide kogumist ja transportimist. Proovid koguti erinevatest linnufarmidest pärit broileritelt võttes konkreetse tapapartii lindudel proove tapaliini töötamise erinevatel aegadel ning proovimaterjalina võetud umbsoolesisaldis asetati tapamajas kohapeal rikastuspuljongit (Bolton, Oxoid) sisaldavasse tuubi. Tuubid paigutati seejärel külmakastidesse ning toimetati samal päeval laboratooriumisse, kus proovid paigutati õige temperatuuriga termokappidesse ning edaspidiselt jälgiti analüüside teostamisel vastavaid ISO standardeid.

Esimese uurimuse tulemused, 2012

Analüüsid ühtekokku 380 linnuliha proovi leiti, et *Campylobacter* positiivsete proovide proportsioon aastal 2012 oli 12,9% (tabel 7).

Enim olid kampülobakteritest saastunud Läti linnuliha (26,7%), järgnesid Eesti (15,0%), Leedu (10,6%) ja teised riigid (0%). Tooretest linnuliha toodetest müüakse Eesti jaekaubanduses enim värsket kana-broileriliha, mille saastumine Eesti, Leedu ja Läti toodete seas oli vastavalt 17,0%, 9,1% ja 22,7%. Erinevate liha kategooriate võrdluses oli enim saastunud hakkliha (23,8%), millele järgnesid värsket linnuliha (13,2%), rümbad (11,4%) ja lihavalmistised (10,4%).

Tabel 7. Erinevate linnuliha kategooriate *Campylobacter* kontaminatsioon¹

| Päritolu | Positiivsete proovide arv/Proovide arv (positiivsete proovide %) | | | | | |
|---------------------|--|----------------|----------------|-----------------|------------------|---------|
| | Värske liha | Rümbad | Hakkliha | Lihavalmistised | Kokku | 95% CI* |
| Eesti | 10/56 (17,9) | 1/20 (5,0) | 4/11 (36,4) | 7/60 (11,7) | 22/147 (15,0) | 10%-22% |
| Leedu | 14/125 (11,2) | 1/18 (5,6) | 1/10 (10,0) | 3/26 (11,5) | 19/179 (10,6) | 7%-16% |
| Läti | 5/22 (22,7) | 3/6 (50,0) | - | 0/2 (0,0) | 8/30 (26,7) | 13%-46% |
| Teised ² | 0/16 (0,0) | - | - | 0/8 (0,0) | 0/24 (0,0) | 0%-17% |
| Kokku | 29/219 (13,2) | 5/44 (11,4) | 5/21 (23,8) | 10/96 (10,4) | 49/380 (12,9) | 10%-17% |

* Usaldusvahemik

¹ Esimene uurimus² Poola, Saksamaa, Soome, Belgia, Ungari

-, proovid puudusid

Teise uurimuse tulemused, 2012

Ühtekokku analüüsiti aasta jooksul (kõik 12 kuud esindatud) 220 värske kana-broileriliha proovi ning *Campylobacter* positiivsete proovide proportsioon oli 35% (tabel 8). Eesti, Leedu ja Läti päritolu värske kana-broileriliha toodete *Campylobacter* positiivsete toodete proportsioonid olid vastavalt 20,3%, 50% ja 60%.

Tabel 8. *Campylobacter* tuvastamise tulemused*

| Päritolu | Proovide arv | Positiivsete proovide arv (%) | 95% CI** |
|----------|--------------|-------------------------------|----------|
| Eesti | 118 | 24 (20,3) | 14%-29% |
| Leedu | 82 | 41 (50) | 39%-61% |
| Läti | 20 | 12 (60) | 39%-78% |
| Kokku | 220 | 77 (35) | 29%-42% |

*Teine uurimus

**Usaldusvahemik

Analüüsitud Läti päritolu toodete arv oli väike, kuna Läti päritolu tooteid müüdi valimisse kuulunud poodides septembrist kuni detsembrini ning proovide kogumisel arvestati müügi proportsioonidega. Oluline on lisada, et ka Lätis teostatud uuringus saadi *Campylobacter* spp. positiivsete kana-broileriliha proportsiooniks ligikaudu 60% (Kovalenko et al., 2013). EFSA ekspertide teaduslikule arvamusele toetudes (EFSA, 2011) saab järeldada, et rahvatervise riske saab 50% ja 90% ulatuses vähendada siis, kui kana-broilerite tapapartiide kaela- ja rinnakunaha kampülobakterite arvukused oleksid vastavalt mitte üle 1000 ja 500 PMÜ grammi kohta. Värske kana-broileriliha *Campylobacter* spp. loendamise tulemused liigitati järgnevalt: <100 PMÜ/g; 100-499 PMÜ/g; 500-1000 PMÜ/g ja >1000 PMÜ/g. EL-i alusuuringute andmed andsid Eesti päritolu kana-broileri rümpade kampülobakterite arvukuseks <10 PMÜ/g 98% loendamisel positiivseks osutunud proovide ulatuses (EFSA, 2010). Aastal 2012 teostatud uuringus olid broileriliha *Campylobacter* kontaminatsiooni määrad suuremad.

Loendamisel positiivseteks osutunud proovide kampülobakterite keskmiseks arvukuseks oli 3,2 log₁₀PMÜ/g ehk 1600 bakterit grammi toote kohta (tabel 9). Keskmised kampülobakterite arvukused olid kõige kõrgemad Läti päritolu toodetes (2600 PMÜ/g). Loendamisel positiivseks osutunud Eesti ja Leedu päritolu toodete keskmised kampülobakterite arvukused olid vastavalt 660 ja 1600 PMÜ/g. Leedus varasemalt teostatud uuringus saadi kana-broileriliha keskmiseks kampülobakterite arvukuseks 110 PMÜ/g (Bunevičienė et al., 2010). Erinevus võib olla tingitud sellest, et Eestis teostatud uuringus võeti kampülobakterite keskmise arvukuse määramisel arvesse vaid loendamisel positiivseteks osutunud proovid.

Tabel 9. *Campylobacter* loendamise tulemused*

| Päritolu | Keskmine log ₁₀ PMÜ/g (reaalarv) | Mediaan log ₁₀ PMÜ/g (reaalarv) | 95% CI** |
|----------|--|---|----------|
| Eesti | 2,8 (660) | 2,5 (300) | 190-1120 |
| Leedu | 3,2 (1600) | 2,9 (800) | 372-2814 |
| Läti | 3,4 (2600) | 3,3 (1800) | 919-4261 |
| Kokku | 3,2 (1600) | 3,0 (900) | 782-2390 |

*Üksnes loendamisel positiivseks osutunud proovid

**Usaldusvahemik

Eesti, Leedu ja Läti loendamisel positiivseks osutunud proovides olid kampülobakterite arvukused suuremad kui 1000 PMÜ/g vastavalt 1,7%, 14,6% ja 35,0% (tabel 10). Kampülobakterite kõrged kontsentratsioonid võimaldavad ristsaastumise tulemusena patogeenide kergelt ülekandumist toidu töötlemise ning tarbimise ahelasse. Sellest tulenevalt peaks linnulihatööstuse üheks põhieesmärgiks olema kampülobakterite arvukuse vähendamine rümpadel. Seda on võimalik saavutada fekaalse saaste olulise vähendamisega linnuliha algtootlemisel ning positiivsetest karjadest pärit linnuliha külm- või kuumtöötlemisega (FAO/WHO, 2009, Rosenquist et al., 2003).

Table 10. Värske kana-broileriliha *Campylobacter* loendamise tulemused

| Päritolu | <i>Campylobacter</i> arvukus (PMÜ/g) | | | | |
|----------|--------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 0* | <100** | 100-499 | 500-1000 | >1000 |
| Eesti | 94 (79,7) | 13 (11,0) | 7 (5,9) | 2 (1,7) | 2 (1,7) |
| Leedu | 41 (50,0) | 7 (8,6) | 12 (14,6) | 10 (12,2) | 12 (14,6) |
| Läti | 8 (40,0) | 2 (10,0) | 1 (5,0) | 2 (10,0) | 7 (35,0) |
| Kokku | 143 (65,0) | 22 (10,0) | 20 (9,1) | 14 (6,4) | 21 (9,5) |

Proovide arv (protsent)

* negatiivne tuvastamise ja negatiivne loendamise tulemus

** negatiivne loendamise kuid positiivne tuvastamise tulemus, arvukuse määramise piir

Mõlemate uuringute tulemused ja arutelu

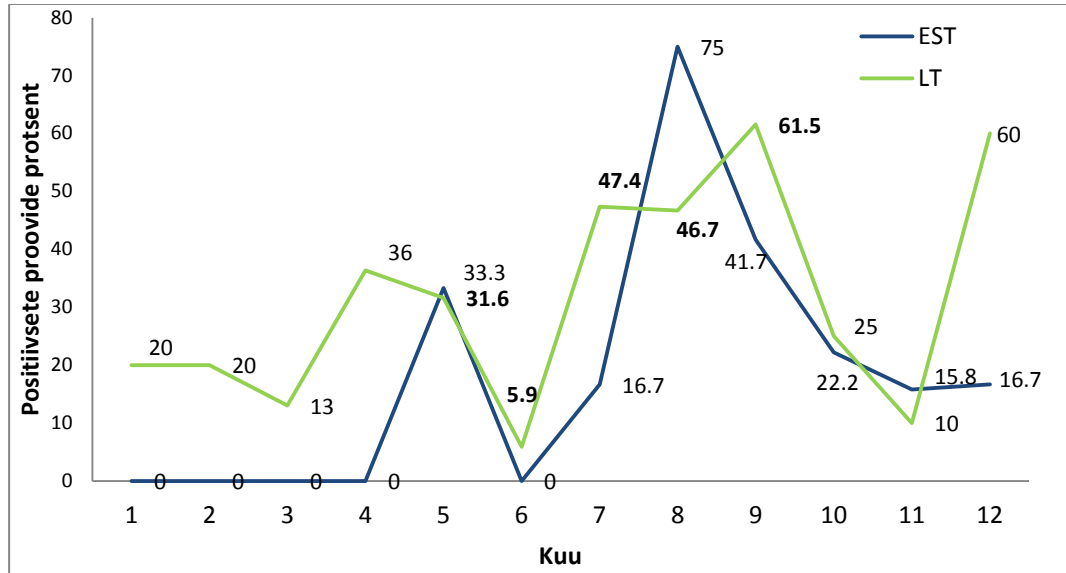
Värske kana-broileriliha *Campylobacter* levimus esimeses ja teises uurimuses oli vastavalt 13,5% ja 35,0%. Erinevusi saab selgitada tõsiasjaga, et teises uurimuses analüüsiti üksnes kana-broileriliha proove, mis sisaldasid nahka ehk uurimismaterjaliks oli kana-broilerinahk. Esimeses uurimuses analüüsiti ka värske kana-broileriliha fileed ja tooteid, mis ei sisaldanud nahka. Eelnevatest uurimistöödest on teada, et *Campylobacter* spp. võib kõrgel arvukusel koloniseerida lindude sooletrakti ning tapamajas lindude töötlemisel nt sisikonna eemaldamisel tehtud vigadest tingituna satub fekaalne materjal rümpade välispinnale kandes sinna ka arvukalt kampülobakterid (Reich et al., 2008; Allen et al., 2007). Soomes tehtud uuringus (Katzav et al., 2008) leiti, et kampülobakterite levimus kana-broileri nahata tükilihas, rinnafilees ja nahaga toodetes oli vastavalt 9,4%, 4,7% ning 30,4%.

Analüüsidest Eestis aastal 2012 teostatud kahe erineva uurimuse tulemusi, saame väita, et *Campylobacter* positiivsete toodete osakaal oli märkimisväärselt suurem, kui analüüsitava materjaliks oli värsketelt linnuliha toodetelt võetud nahk. Oluline on mainida, et põhiosa Eesti jaekaubanduses müüdavast värskest kana-broilerilihast sisaldab nahka, sest tegemist on rümpade, rinnakutükkide, koibade või tiivatükkidega.

Aastal 2008 teostatud EI-i alusuuringud (EFSA, 2011) näitasid, et Eesti broileri tapapartiide *Campylobacter* levimus oli üks Euroopa madalamaid, vastavalt 2,0%. Hetkel käsitletavas esimeses ja teises uurimuses oli Eesti päritolu värskel kana-broilerilihal *Campylobacter* levimus vastavalt 17,0% ja 20,3%. Alusuuringu ja käesolevate uurimuste erinevused võivad suure tõenäosusega olla tingitud erinevatest proovivõtuplaanidest, sest alusuuringute jaoks koguti ning analüüsiti üksnes rümpade ja kaelanaha proove, kuid aastal 2012 teostatud uurimustes oli proovimaterjaliks jaekaubandusest hangitud kana-broileriliha tooted (koivad, rinnaku- ja tiivatükid jne.). Tegelikult ei ole ka väga täpselt teada, kui esinduslikud on kaelanaha ja rinnaku naha proovid näitamaks kogu broileriliha tegelikku *Campylobacter* saastumist. Jørgensen et al., (2002) leidis oma uuringutega, et kampülobakterite tuvastamise tõenäosus ei olnud oluliselt mõjutatud proovi tüübist, kuid kampülobakterite kõrgemad arvukused määrati juhtudel, kus proovimaterjaliks oli rümpade loputusvedelik võrreldes kaelanahaga. Viimane viitab sellele, et broileri lihakehade erinevad regioonid võivad olla kampülobakteritest erinevatel määradel saastunud. Viimane võib selgitada ka käsitlevate uurimuste ning alusuuringute Eesti andmete erinevusi. Oluline on mainida, et 2012. aasta kana-broileri rümpade analüüsid andsid *Campylobacter* positiivsete rümpade proportsiooniks 5%, mis on suhteliselt sarnane 2008. aasta alusuuringute tulemusega (2%). Võime järeldada, et proovimaterjal (liha kategooria, nahk või nahata toode, rump või tiivatükid jne.) võib mõjutada *Campylobacter* levimuse näitajaid. Seda leiti ka Roasto et al., (2005) varasemas uuringus, mida on antud aruandes kajastatud perioodi 2000-2010 uuringute tulemustes.

Meie teise uurimuse andmed kattuvad hästi Lätis ja Leedus läbi viidud *Campylobacter* levimuse uuringute andmetega, kus Lätis oli *Campylobacter* positiivsete linnurümpade proportsioon jaemüügi tasandil 59,2% (Kovalenko et al., 2013) ning Leedus oli *Campylobacter* positiivsete broilerikoibade ja tiivatükkide proportsioon jaekaubanduse tasandil 46,5%. Aastal 2012 Eesti jaekaubanduse tasandil teostatud teise uurimuse andmetel olid Läti ja Leedu päritolu värskel kana-broilerilihal *Campylobacter* saastumise proportsioonid vastavalt 60% ja 50%.

Analüüsidest Eesti ja Leedu päritolu linnuliha saastumist 12 kuu lõikes kaasates mõlemate uurimuste andmed (joonis 6) saame väita, et Eesti jaemüügitasandi linnuliha *Campylobacter* kontaminatsioon suurenes kevadel, püsis kõrge suvekuudel ja hakkas langema sügisel.



Joonis 6. Värske kana-broileriliha *Campylobacter* kontaminatsiooni hooajaline varieeruvus

Tavapärasega võrreldes oli 2012. aasta juunikuu ilm vihmane ning külm, mis suure tõenäosusega põhjustas *Campylobacter* kontaminatsiooni järsu languse. Viimane on heaks näiteks ilmastiku mõjust *Campylobacter* levimusele kana-broilerilihas.

Täiendavalt hinnati 2012. aastal *Campylobacter* kontaminatsiooni hooajalist varieeruvust ka tapamaja tasandil, kus umbsoolesisaldise proovid koguti juunist oktoobrini ning määrati *Campylobacter* levimus. Uuritud farmide ja linnukarjade *Campylobacter* levimus oli juunist oktoobrini vastavalt 0%, 39,0%, 92,0%, 45,0% ja 39,2% ning Eesti päritolu värske kana-broileriliha *Campylobacter* levimus samadel kuudel vastavalt 0%, 16,7%, 75%, 41,7% ja 22,2%. Seega kattuvad erinevate tasandite *Campylobacter* levimuse suundumused, mis annab võimaluse oletuseks, et linnuliha *Campylobacter* saastumine Eestis on enamasti põhjustatud positiivsetest karjadest pärinevate kana-broileri rümpade fekaalsest saastest tapamaja tasandil. Meie uurimuse mõningased erinevused (liha versus umbsoolesisaldis) on aga mingil määral tingitud ka ajaliselt mitte kattuvatest proovivõtuaegadest, kuna tapapartiisid ei jälgitud kuni jaekaubanduseni ehk tapamaja umbsoolesisaldise proovid ja jaekaubanduse lihaproovid võeti erinevatel aegadel.

Sellegipoolest võime järeldada, mida rohkem oli *Campylobacter* positiivseid umbsoolesisaldise proove, seda kõrgemad olid ka *Campylobacter* positiivsete Eesti päritolu kana-broileriliha proovide proportsioonid konkreetsetel kuudel.

Uuringute andmel saame väita, et Eestis on *Campylobacter* positiivsete proovide proportsioonides näha selge hooajaline varieeruvus, mis võrreldes teiste aastaegadega väljendub soojade suvekuude kõrgemates linnuliha saastumisnäitajates. Ka mõnedes teistes Euroopa riikides (Horrocks et al., 2009; Rautelin ja Hänninen, 2000) ning Uus-Meremaal (Brieseman, 1990) on täheldatud *Campylobacter* kontaminatsiooni kõrgperioode ning selle sõltuvust konkreetsetest aastaegadest. Inimeste kampülobakterioosi haigestumise kõrghooaeg Eestis on juunist septembrini (Meremäe et al., 2010), mis kattub otseselt värsket linnuliha *Campylobacter* kõrgema saastumisega jaekaubanduse tasandil antud perioodil.

Antud uuringus töödeldi statistiliselt nii *Campylobacter* levimuse kui arvukuse tulemusi erinevat päritolu linnuliha toodetes ning võttes arvesse mõlema uurimuse kogu valimit (n=606) leiti, et Eesti toodete saastumine termofiilsete kampülobakteritega oli Läti ja Leedu toodetega võrreldes statistiliselt oluliselt väiksem nii levimuses kui arvukuses ($p < 0,001$). Siinkohal on oluline rõhutada, et oluline erinevus kampülobakterite arvukuses tekkis vaid kogu valimi statistilisel töötlemisel ehk Kruskal-Wallis astaksumma testis võeti arvesse ka kõik negatiivsed tulemused ehk analüüsid, kus nii tuvastamine kui arvukuse määramine andis negatiivsed tulemused. Samuti võeti mainitud statistika testis arvesse tuvastamisel positiivseteks ning loendamisel negatiivseteks osutunud tulemused. Läti ja Leedu toodete *Campylobacter* levimuse ja arvukuse tulemuste statistilisel võrdlemisel oluline erinevus puudus.

Mõlema uurimuse andmeid analüüsid võime väita, et kampülobakterioosi haigestumise risk on Eestis kõrgem juhtudel, kus käideldakse või tarbitakse Läti või Leedu päritolu värsket kanabroileriliha. *Campylobacter* spp. levimus Eesti broilerilihas oli väike ning arvukus madal, mis annab alust eeldada, et tarbides kodumaist linnuliha on tarbijate kampülobakterioosi haigestumise risk väike.

7.2.2. *Campylobacter* isolaatide antibiootikumidele tundlikkus

7.2.2.1. *Campylobacter* spp. liigilise kuuluvuse määramine

Aastal 2012 *Campylobacter* levimuse uurimuse käigus isoleeritud kampülobakterite tüvedest valiti juhuvalimina ühtekokku 136 tüve, millele teostati DNA-põhine liigilise kuuluvuse määramine. Kasutades konventsionaalset multipleks PCR-testi identifitseeriti ja diferentseeriti *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis* ja *C. fetus* subsp. *fetus* vastavalt Wang et al. (2002) poolt kirjeldatule. Eesti, Leedu ning Läti päritolu tüvesid oli vastavalt 74, 46 ja 16. Liigiline määramine teostati ühtekokku 136 tüvele, millest 98 olid isoleeritud kana-broilerilihas; 28 olid inimpäritolu ning 10 pärinesid kana-broilerite umbsooltest Eestis.

Kampülobakterite molekulaarsel liigilisel määramisel selgus, et 121 (89%) *Campylobacter* isolaadi puhul oli tegemist *Campylobacter jejuni*'ga ning 15 (11%) isolaadi puhul tehti kindlaks *Campylobacter coli*. Inimpäritolu tüvedest, mis kõik pärinesid Eestist, olid 24 (85,7%) *C. jejuni*'d ning 4 (14,3%) *C. coli*'d. Eesti kana-broilerilihas isoleeritud tüvedest (n = 36) olid kõik *C. jejuni*'d. Leedu kana-broilerilihas isoleeritud tüvedest (n = 46) olid 35 (76,1%) *Campylobacter jejuni*'d ning 11 (23,9%) *Campylobacter coli*'d.

Kõik Läti päritolu kana-broileriliha päritolu *Campylobacter* tüved (n=16) identifitseeriti *C. jejuni*'na. Liigilise kuuluvuse määramise tulemustest saab järeldada seda, et kahe uurimuse raames isoleeritud kampülobakterite liigiline kuuluvus on sarnane enamikele Euroopa riikidele, kus ligikaudu 90% kana-broilerilihas isoleeritud tüvedest on *C. jejuni*'d ning ülejäänud enamasti *C. coli*'d. Vaid vähestes Euroopa riikides nt Poolas ja Lätis on mõnedest farmidest pärit linnulihas domineerinud *C. coli* (Kovalenko, 2013). Antud valimi põhjal ei saa liiga ulatuslikke järeldusi teha, kuid kuna kõik Eesti kana-broilerilihas isoleeritud tüved osutusid *C. jejuni*'ks, siis võib oletada, et inimeste haigusjuhtumite põhjustajateks on kindlasti ka mõned muud allikad kui Eesti päritolu linnuliha, sest 14,3% inimestelt isoleeritud *Campylobacter* tüvedest osutusid *C. coli*'deks. Usaldusväärsemad tulemused saame pärast *Campylobacter* tüvede genotüpiseerimist, sest tüpiseerimise ja sekveneerimise meetoditega saadav isolaatide eristamisvõime on liigilise kuuluvuse määramisega võrreldes vaieldamatult täpsem.

Campylobacter tüvede liigiline määramine oli vajalik eelkõige seetõttu, et antibiootikumide tundlikkuse määramisel oleneb minimaalse inhibeeriva kontsentratsiooni (MIC) väärtuste tõlgendamine sellest, kas tegemist on *C. jejuni*'ga või *C. coli*'ga ehk resistentsuspiirid on *Campylobacter* liigiti mõnede antibiootikumide puhul erinevad.

7.2.2.2. *Campylobacter* tüvede antibiootikumidele tundlikkus

Campylobacter tüvede antibiootikumidele resistentsus määrati aastatel 2013 ja 2014. Ühtekokku 98-st *Campylobacter* isolaadist 87 (88,8%) puhul tehti kindlaks *C. jejuni* ning 11 (11,2%) isolaadi puhul *C. coli*. Kana-broilerilihas pärinevate *C. jejuni* ning *C. coli* isolaatide võrdluses ei esinenud resistentsusnäitajates statistiliselt olulist erinevust (p -väärtus $< 0,05$). Ühe või enama antibiootikumi suhtes osutusid resistentseks 63,3% ($n = 62$) broilerilihas isoleeritud *Campylobacter* tüve. Resistentsushinnangute andmisel arvestati tsiprofloksatsiin ja nalidiksiinhape ühte antibiootikumide gruppi kuuluvaks. Tulemused näitasid, et 45,9% ($n = 45$) broilerilihas pärinevatest isolaatidest olid resistentsed ühe antibiootikumi suhtes; 12,2% ($n = 12$) *Campylobacter* isolaati olid resistentsed kahe erineva antibiootikumi suhtes; 4,1% ($n = 4$) isolaatidest olid resistentsed kolme erineva antibiootikumi suhtes ning üks isolaat (1,0%) oli resistentne koguni nelja erineva antibiootikumi suhtes. Kõikidele antibiootikumidele tundlikuks osutus ühtekokku 36,7% ($n = 36$) *Campylobacter* isolaatidest.

Kõrge resistentsus tehti kindlaks fluorokinolonide suhtes, kuna tsiprofloksatsiini ja nalidiksiinhape suhtes osutusid resistentseks koguni 60,2% ja 59,2% Eesti jaekaubandusest hangitud kana-broilerilihas pärinevatest kampülobakterite tüvedest. Sarnane resistentsus määrati ka Eesti päritolu *Campylobacter* inimtüvedele millest 71,4% ($n = 20$) osutusid fluorokinolonide suhtes resistentseteks. Multiresistentseteks arvati *Campylobacter* isolaadid, mis olid resistentsed vähemalt kolme erinevasse gruppi kuuluva antibiootikumi suhtes ning selle alusel osutusid 5,1% ($n = 5$) broilerilihas isoleeritud *Campylobacter* tüvedest ning 7,1% ($n = 2$) inimpäritolu *Campylobacter* tüvedest multiresistentseteks.

Erütromütsiinile osutus resistentseks vaid üks (1,0%) broilerilihas isoleeritud *Campylobacter* tüvi, mis on võrreldes Eesti varasemate perioodide tulemustega märkimisväärselt madalam tulemus. Gentamütsiini suhtes osutusid resistentseteks kaks (2,0%) kana-broilerilihas isoleeritud ning mitte ükski (0%) inimpäritolu *Campylobacter* tüve.

Resistentsuse fenotüübid on esitatud tabelis 11 ning selle alusel saab väita, et kõige sagedamini esinenud antibiootikumidele resistentsuse kombinatsioon oli tsiprofloksatsiin/nalidiksiinhape ning tetratsükliin, vastavalt 8,2% ning 28,6% kana-broileriliha ja inimpäritolu *Campylobacter* tüvedest. Kolme erineva antibiootikumi suhtes sagedasem kombinatsioon oli tsiprofloksatsiin/nalidiksiinhape, tetratsükliin ning streptomütsiin, vastavalt 3,1% ning 7,0% kana-broileriliha ja inimpäritolu *Campylobacter* tüvedest.

Tabel 11. Kana-broileriliha ning inimpäritolu *Campylobacter* tüvede resistentsus-fenotüübid

| Resistentsuse fenotüüp ^a | Broileriliha | | Kliinilised proovid inimestelt | |
|-------------------------------------|--------------|-----------------|--------------------------------|-----------------|
| | Arv | Proportsioon, % | Arv | Proportsioon, % |
| CI/TC/SM/GM/NA | 1 | 1,0 | - | - |
| CI/SM/GM/NA | 1 | 1,0 | - | - |
| CI/TC/SM/NA | 3 | 3,1 | 2 | 7,1 |
| CI/TC/NA | 8 | 8,2 | 8 | 28,6 |
| CI/SM/NA | 2 | 2,1 | 1 | 3,6 |
| EM/CI/NA | 1 | 1,0 | - | - |
| TC/NA | 1 | 1,0 | 1 | 3,6 |
| CI/TC | - | - | 1 | 3,6 |
| CI/NA | 41 | 41,8 | 7 | 25,0 |
| CI | 2 | 2,1 | - | - |
| TC | 1 | 1,0 | - | - |
| SM | 1 | 1,0 | - | - |
| Tundlikud | 36 | 36,7 | 8 | 28,6 |
| Kokku | 98 | 100,0 | 28 | 100,0 |

^a Antibiootikumid: EM, Erütromütsiin; CI, Tsiprofloksatsiin; TC, Tetratsükliin; SM, Streptomütsiin; GM, Gentamütsiin; NA, Nalidiksiinhape

Sulgudes: *Campylobacter* inimtüvede arv ja protsent

Eraldi hinnatuna osutusid kana-broilerilihast pärinevad isolaadid resistentseks tsiprofloksatsiini suhtes (60,2%), nalidiksiinhappe suhtes (59,2%), tetratsükliini suhtes (14,3%), streptomütsiini suhtes (8,2%), gentamütsiini suhtes (2%) ning erütromütsiini suhtes (1%). Ühtekokku 28-st *Campylobacter* inimtüvest 67,9% olid resistentsed nii tsiprofloksatsiini kui nalidiksiinhappe suhtes; tetratsükliini suhtes 42,9%, streptomütsiini suhtes 10,7% ning resistentsust ei esinenud gentamütsiinile ning erütromütsiinile.

Uurimistulemuste põhjal võib väita, et Eesti, Läti ja Leedu päritolu *Campylobacter* tüvedel oli erinev antibiootikumidele tundlikkus. Võrreldes Läti ja Leedu päritolu *Campylobacter* tüvedega esines Eesti tüvedel statistiliselt oluliselt (p -väärtus < 0.05) harvem resistentsust ühe või enama antibiootikumi suhtes. Kana-broilerilihas isoleeritud Eesti päritolu *Campylobacter* tüved olid oluliselt vähem (p -väärtus < 0.05) resistentsed ka tsiprofloksatsiinile ning nalidiksiinhappele.

Tabelis 12 esitatud tulemuste kokkuvõttes on näha, et tsiprofloksatsiini suhtes osutusid resistentseteks 16,7% Eesti päritolu *Campylobacter* tüvedest ning 87,5% ja 84,8% vastavalt Läti ja Leedu päritolu *Campylobacter* tüvedest.

Tabel 12. *Campylobacter* resistentsete tüvede arv* ja proportsioon

| Antibiootikum | Päritolumaa | | | Kokku Arv (%) |
|----------------------------------|------------------|-----------------|------------------|------------------|
| | Eesti Arv (%) | Läti Arv (%) | Leedu Arv (%) | |
| Erütromütsiin | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1 (2,2) | 1 (1,0) |
| Tsiprofloksatsiin | 6 (16,7) | 14 (87,5) | 39 (84,8) | 59 (60,2) |
| Tetratsükliin | 4 (11,1) | 1 (6,3) | 9 (19,6) | 14 (14,3) |
| Streptomütsiin | 1 (2,8) | 0 (0,0) | 7 (15,2) | 8 (8,2) |
| Gentamütsiin | 1 (2,8) | 0 (0,0) | 1 (2,2) | 2 (2,0) |
| Nalidiksiinhape | 7 (19,4) | 14 (87,5) | 37 (80,4) | 58 (59,2) |
| Tundlikud | 29 (80,6) | 2 (12,5) | 5 (10,9) | 36 (36,7) |
| Resistentne ühele või enamale | 7 (19,4) | 14 (87,5) | 41 (89,1) | 62 (63,3) |
| Multiresistentne** | | | | |
| Tüvede koguarv | 1 (2,8) 36 | 0 (0,0) 16 | 4 (8,7) 46 | 5 (5,1) 98 |

*Isoleeritud Eesti jaekaubandusest pärit värskest kana-broilerilihas aastal 2012

**Resistentne kolme või enama samasse gruppi mittekuulva antibiootikumi suhtes

EFSA kokkuvõttes aruandes puuduvad andmed kõigi kolme Balti riigi kana-broilerilihas isoleeritud *Campylobacter* tüvede resistentsusnäitajate osas, kuid esindatud on Eesti ja Leedu inimestelt isoleeritud *Campylobacter* tüvede tundlikkused antibiootikumidele, kus murettekitavaks asjaoluks on kõrge resistentsus tsiprofloksatsiini suhtes, vastavalt 58,5% ja 83,1% (EFSA, 2013).

Senini puudusid andmed Läti broileriliha ning inimpäritolu *Campylobacter* tüvede resistentsusnäitajate osas, kuid värskelt avaldatud artiklis (Kovalenko et al., 2014) selgub, et Läti päritolu kana-broilerilihast isoleeritud *Campylobacter* tüved olid resistentsed tsiprofloksatsiinile (100%) ning nalidiskiinhappele (87,9%) ehk fluorokinolonidele ning kõik isolaadid (100%) olid resistentsed vähemalt ühe antibiootikumi suhtes. Leiti, et 44,8% ning 77,6% isolaatidest olid resistentsed erütromütsiinile ja tetratsükliinile. Kõige vähem esines resistentsust (39,6%) streptomütsiini suhtes (Kovalenko et al., 2014). Eeltoodud andmete põhjal võib väita, et Läti broilerilihaga seonduvad *Campylobacter* antibiootikumidele tundlikkuse probleemid on väga tõsised ning seda peaks arvesse võtma ka Läti päritolu linnuliha impordil Eestisse.

Meie uuringute tulemused osutavad asjaolule, et Eesti inimestelt isoleeritud kampülobakterite tüved pärinevad ka muudest allikatest kui Eesti kana-broileriliha. Seda näitab Eesti inimpäritolu tüvede märkimisväärselt kõrgem resistentsus fluorokinolonidele (67,9%) võrreldes Eesti kana-broilerliha päritolu tüvedega (19,4%). Teades asjaolu, et aastal 2012 teostatud uuringutes osutusid Läti ja Leedu päritolu värsked kana-broileriliha tooted statistiliselt oluliselt ($p < 0.001$) suuremal määral (positiivsete proportsioon + arvukus) kampülobakteritest saastunuks ning teades, et linnuliha põhjustab arenenud riikides enim kampülobakterioosi juhtumeid, võib oletada, et imporditud värsked kana-broileriliha omab Eesti inimeste kampülobakterioosi haigestumisel suuremat rolli kui Eesti päritolu kana-broileriliha. Suurema arvulise *Campylobacter* inimtüvede kollektsiooni tekkimisel saab eelnevat oletust kinnitada pärast erinevat päritolu (toit, inimene) *Campylobacter* spp. tüvede genotüüpilise koosluse määramist, mida kavatakse tulevastel uuringutes ka teha.

Aastal 2013 ja 2014 teostatud *Campylobacter* antibiootikumidele tundlikkuse uuringute alusel võib kokkuvõtlikult öelda, et võimalikud rahvatervise riskid seonduvad kampülobakterite kõrge resistentsusega fluorokinolonide suhtes ning seda eelkõige Läti ja Leedu päritolu kampülobakterite puhul. Võrreldes kana-broilerilihast isoleeritud *Campylobacter* tüvede resistentsusega osutusid Eesti inimpäritolu tüved tetratsükliinile rohkem resistentseteks. Nii broilerilihast kui inimestelt isoleeritud kampülobakterite tüved osutusid kõige tundlikumateks gentamütsiini ja erütromütsiini suhtes. Kana-broileriliha päritolust sõltuvalt võivad kampülobakterite riskid Eesti inimestele olla erinevad, kuna Läti ja Leedu kana-broileriliha puhul määrati Eesti toodetega võrreldes kõrgem kampülobakterite levimus, arvukus ning antibiootikumidele resistentsus.

Aastatel 2012-2014 teostatud *Campylobacter* uuringute kokkuvõte

Uuringute tulemusel leiti, et nii Eesti, Leedu kui Läti päritolu linnuliha tooted olid termofiilsetest kampülobakteritest saastunud. *Campylobacter* levimus Eesti päritolu värskes kana-broilerilihas oli EL-i maade keskmisest madalam. Võrreldes Eesti jaemüügis müüdüd Läti ja Leedu linnulihatoodetega olid Eesti värsked kana-broilerilihatooted statistiliselt oluliselt vähem kampülobakteritest saastunud. Statistiliselt oluline erinevus ilmnis nii levimuse kui arvukuse osas. Värske kanabroileriliha *Campylobacter* kontaminatsiooni kõrghooaeg Eestis on soojadel suvekuudel.

8. *Campylobacter* spp. kontrollmeetmed

Esmatootmine peab olema organiseeritud viisil, mis vähendab maksimaalsel viisil ohtude sisse toomist ning selle levimist karjades. Klassikaliste toiduohutuse riskide kõrval on olemas terve rida ohtusid, mida ei saa tavapärase lihainspektsiooni kontrollmeetmetega tuvastada, kuna toidupatogeenidest nakatunud (või kandjatel) loomadel puuduvad haiguste iseloomulikud kliinilised tunnused ning patoloogilis-anatoomilised muutused siseorganites või lihakehal. Kampülobakterioosi, salmonelloosi, jersinioosi ning nt. verotoksilise *E. coli* nakkuse puhul ei ole enamikel juhtudel palpeerimine, sisselõigete tegemine ning visuaalne vaatlus piisav selleks, et tuvastada toidupõhine haigus või selle kandja. Veelgi enam, mõningatel juhtudel on palpeerimise ja sisselõigete tegemisega võimalik hoopiski haigustekitajaid levitada saastunud toidumaterjalilt teisele. Võrreldes tapamaja laudas või tapaliinil teostatavate uuringutega on enamikke toidupatogeenide esinemust võimalik määrata efektiivsemalt hoopiski karja tasandil. Riski-põhine lähenemine lihahügieenile sisaldab selliste riskiohjamise meetmete rakendamist, millel on märkimisväärne riskide vähendamise mõju nii toidu algtootmise (farm, kari), tapmise kui liha töötlemise tasandile. Bioohutuse meetmed on kindlasti kõige olulisemad haiguste ennetamise või ohtude minimeerimise meetmed esmatootmise tasandil ning on äärmiselt oluline, et farmerid tunneksid ning rakendaksid peamisi bioohutuse printsiipe ning -võtteid. Need on nt. karja tervise olukorra teadmine, ravimikeeluaegadest kinnipidamine, karantiini rakendamine sisse toodavatele loomadele ning mitmed sanitaarmedet nagu jalanõude vahetamine, tootmistsüklite vaheline korralik sanitatsioon, putukate ja näriliste tõrje ning maksimaalsel viisil kõik-sisse/kõik-välja printsiibi rakendamist. Tabelis 13 on esitatud näiteid, millisel viisil on võimalik patogeenide levimine karja tasandil.

Tabel 13. Patogeenide võimalik teekond farmi loomade ja lindudeni

| Levik | Selgitus |
|---|--|
| Õhk | Nakatunud loomade hingamisel tekkivad aerosoolid. Haigustekitajatega saastunud fekaalne materjal, tolm, suled jne. Nakatunud putukad, metslinnud ning nahkhiired jne. |
| Sama liiki elusloomad | Nakatunud loomade toomine tervete loomadega karjadesse. Nakatunud loomade karjatamine ning ühes sulus pidamine koos tervete loomadega. Nakatunud loomade kasutamine tervete loomade paaritamisel. |
| Surnud või haiged loomad | Teised looma- ja linnu liigid, kes on nakatunud või haigustekitajate kandjateks. Närilised, kes on haigustekitajate kandjateks ning saaste levitajateks. |
| Teise liigilise kuuluvusega elusloomad | Haigete loomade ning surnud loomade ebaadekvaatne käsitlemine, mis võivad kokku puutuda tervete loomadega ning rõõvloomade (rebased, kassid jne.) ligipääs nakkusmaterjalile. |
| Sööt | Sööda koostisosad võivad olla saastunud haigustekitajatega nt. salmonellade või kampülobakteritega. Sööt võib saastuda kokkupuutes nakatunud või haigustekitajate kandjate metslindude ja -loomade, näriliste või koduloomadega. |
| Vesi | Vesi võib saastuda kokkupuutes nakatunud või haigustekitajate kandjate metslindude ja -loomade, näriliste või koduloomadega. |
| Jäätmed | Tervete loomade kokkupuude kodu- või naaber farmidest pärineva ning haigustekitajatest saastunud jäätmematerjalidega. |
| Personal ning töövahendid | Inimeste ja töövahendite liikumine saastunud ja mitte saastunud hoonete vahel. |

Campylobacter kontaminatsiooni kõige efektiivsemaks ennetamiseks on bioohutuse meetmete ning heade farmipraktikate rakendamine broilerikarjade tasandil (Rosenquist *et al.*, 2003). *Campylobacter* kontaminatsiooni kontroll farmi tasandil võib oluliselt vähendada kana-broileri rümpade saastemäärasid ning seeläbi ka kampülobakterite arvukust lõpptoodetes (Rosenquist *et al.*, 2003; Kapperud *et al.*, 1992).

Bioturvalisuse meetmed broilerifarmide tasandil peavad sisaldama järgmist:

- farmi territoorium peab olema eraldatud aiaga;
- lauda ümbrus peab olema hooldatud, hea dreneažiga, eelistatult taimestiku- ja tolmuvaba tsooniga;
- ligipääsuteed peavad olema korras ja ilma loikudeta;
- lemmikloomad ei tohi pääseda farmi territooriumile;
- metslinnud ei tohi pääseda lautadesse;
- vöörad ei tohi farmi siseneda või siis ainult eriloal;
- farmi töötajad ei tohi kokku puutuda teiste farmi- ja kodulindudega;
- vahetada/desinfitseerida jalanõud enne farmi sisenemist ja läbida kõik hügieenibarjäärid;
- lautade aknad peavad olema suletud või kaetud võrkudega;
- peab rakendama näriliste tõrjeprogrammi;
- sööda ja joogivee kontroll;
- tuleb vältida kontamineeritud töövahendite ja transportpuuride kasutamist;
- kõik-sisse/kõik-välja printsiibi rakendamine;
- karja vahetusel vähemalt nädalane puhkeperiood.

Laudad peavad olema konstrueeritud selliselt, et oleks tagatud pidevalt toimiv hügieenibarjäär lauda sise- ja väliskesskonna vahel ning farmide ümbrus võiks olla betoonist või mõnest muust materjalist kõvakattega. Juba kümneid aastaid tagasi tõestati (Humphrey *et al.*, 1993; Kapperud *et al.*, 1993), et ranged hügieenibarjäärid võimaldavad oluliselt langetada broilerite soolestikus kampülobakterite arvukust, mis on omakorda oluline selleks, et tagada lõpptoodetes väiksemad kampülobakterite arvukused. Joogivesi peab vastama joogiveele kehtestatud nõuetele ning vajadusel tuleb rakendada joogivee kloreerimist. Nippel joogiveesüsteemid vähendavad oluliselt joogivee fekaalset saastumist (National Advisory Committee on Microbiology, 1994; Pearson *et al.*, 1993). Tabelis 14 on esitatud erinevad interventsiooni meetmed, mille efektiivsust on erinevate uurimistöödega hinnatud ning millest mõningaid saaks farmides hõlpsasti rakendada.

Tabel 14. Interventsiooni meetmed linnukarjade tasandil*

| Meede | Ennetab karja koloniseerimist | Vähendab kampülobakterite arvukust soolestikus | Rakendamiseks valmis | Vajab arendamist |
|--|--------------------------------------|---|-----------------------------|-------------------------|
| Bioohutus | | | | |
| Farmi ja farmeri hügieen | + | - | + | - |
| Farmi ümbrus | + | - | + | - |
| Putukate kontroll (sirmid akendel jne.) | + | - | (+) | + |
| Broilerite varane tapmine (31-33 p.) | + | - | + | - |
| Harvendamine | + | - | + | - |
| Joogivee ja sööda lisandid | | | | |
| Piimhappebakterid | +/- | + | +/- | + |
| Orgaanilised happed | | | | |
| Kaprüülhape jne. | | | | |
| Faagiteraapia | - | + | - | + |
| Bakteriotsiinid | - | + | - | + |
| Vaktsineerimine | + | - | - | + |
| Kana tõugude geneetiline resistentsus | + | - | - | + |
| Vee kvaliteet (UV, kloor) | + | - | + | - |
| Teiste loomaliikide vältimine | + | - | + | - |

*Rosenquist, 2008; +, JAH; -, EI; (+), pigem JAH; +/-, osaliselt JAH ning osaliselt EI

Interventsiooni meetmed tapmisel:

- Hügieenimeetmed, mille eesmärgiks on fekaalse saaste vähendamine
 - Head Tootmistavad
- Dekontamineerimine, mille eesmärgiks on bakterite kontsentratsiooni vähendamine rümpadel
 - Keemiline nt hapustatud naatriumkloriid, kloor, kloriindioksiid, naatrium fosfaat, peroksühapped, osoon jt.
 - Füüsikaline nt külmutamine, aur/ultraheli, aur/kuum vesi, võimendatud õhkjahutus, kuumtöötlemine, kiiritamine.

Täiendavalt võib kasutada nt. pakendi märgistust, kus positiivsetest karjadest pärit värsketele lihatoodetele on esitatud vastavasisuline informatsioon. Arvatakse, et sellise meetme efekt on siiski minimaalne. Võimalik on avalikkusele teada anda ettevõtetest, kelle kana-broileriliha on kõrgetes kontsentratsioonides kampülobakteritest saastunud, kuid seda meetet peetakse suhteliselt kalliks, kuna kõiki tapapartiisid tuleb kontrollida. Mõistlikum meede oleks *Campylobacter* positiivsetest karjadest pärit lihale odavama hinna kehtestamine. Viimase variandi puhul tuleb farmeritele pakkuda konsultatsiooni, kuidas patogeenide saastet ennetada või vähendada, et olukorra paranemisel oleks võimalik linnuliha eest saada kõrgemat hinda. Keemiline dekontamineerimine on efektiivne, kuid vajab tarbijate poolset aktsepteerimist. Liha kuum- ja külmtöötlemine ning marineerimine on tõestatud efektiivsusega, kuid selliselt töödelduna ei ole tegemist enam värskel lihaga ning probleemid võivad tekkida toodete stabiilse (aastaringse) turustamisega.

Ettepanekud

Eestis on vaja rakendada *Campylobacter* spp. monitooringu programmi kogu toiduahela ulatuses alates algtootmisest kuni jaekaubanduseni. Eestis tuleb *Campylobacter* spp. kontrollprogrammide loomisel ja rakendamisel lähtuda Põhjamaade senisest kogemusest ning praktikast. Põhjamaades rakendatavate *Campylobacter* spp. kontrollprogrammide üldine tähelepanu on suunatud bioohutuse tagamisele linnufarmide tasandil, et vältida karjade nakatumist või vähendada karjasisest nakatumist.

Lindlates tuleb rakendada rangeid bioohutuse võtteid. Teise olulise strateegiana tuleb rakendada lindude logistilist tapmist, mis eeldab tapmisele eelnevalt broilerikarjade *Campylobacter* kontaminatsiooni välja selgitamist ning seejärel tuleb *Campylobacter* positiivsed karjad tappa eraldi *Campylobacter* vabadest karjadest. Kaaluda võiks positiivsetest karjadest pärit lindude liha töötlemist nii, et oleks välistatud või minimeeritud potentsiaalse ohu jõudmine tarbijani. Efektiivseteks dekontamineerimise viisideks on positiivsetest karjadest pärit broilerirümpade kuumtöötlemine või vähemalt viie nädalane külmutamine temperatuuril $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. See meede on mõttekas juhtudel, kus positiivsetest karjadest pärit linnuliha on tuvastatud kõrge kampülobakterite arvukus.

Tapamaja tasandil tuleb suuremat tähelepanu pöörata sellele, et tapmisele järgnevad protseduurid minimeeriks soolesisaldise sattumise rümpadele. Üheks võimaluseks on tapaliinide töökiiruse vähendamine ja/või kasutatava loputusvee koguse suurendamine. Oluline võimalus kontaminatsiooni vähendamiseks on intensiivsema ning pikemaajalise rümpade õhkjahutamise kasutamine. Efektiivne rümpade õhkjahutamine tähendab seda, et jahutamise järgselt on rümpade välispind pigem kuiv kui märg. Oluline on mainida, et rümpade efektiivne õhkjahutamine alandab lisaks kampülobakterite arvule oluliselt ka teiste *Enterobacteriaceae* bakterite arvukust, mis omakorda tagab liha pikema säilivuse ning parema liha kvaliteedi. Head hügieenitavad peavad leidma rakendamist nii tootmise, jaekaubanduse kui tarbimise tasandil, mis võimaldab paljude enteraalsete haiguste ennetamist või haigusjuhtumite olulist vähendamist. Antibiootikumide kasutamine linnufarmides peab olema rangelt kontrollitud ning lubamatu on nende profülaktiline kasutamine.

Resistentsust, eriti multiresistentsust, tuleb antibiootikumide vältimise ja/või õigete raviskeemidega rakendamise ennetada. Tuleb tagada iga-aastane ehk pidev *Campylobacter* riiklik seire. Seire peab laienema farmitasandile, et tapmisele eelnevalt teha kindlaks *Campylobacter* positiivsed karjad. Samuti tuleb tagada otseturustatava toorpiima analüüsimine termofiilsetele kampülobakteritele. Lisaks tuvastamise meetodi kasutamisele peab linnuliha kontrollil rakendama ka loendamise meetodikat ehk kampülobakterite arvukuse määramist, sest *Campylobacter* kõrge levimus ja suured kampülobakterite arvukused suurendavad oluliselt inimeste kampülobakterioosi haigestumise riski.

Tuleb jätkata uuringutega nii veterinaar- kui humaanmeditsiini tasandil, et tekiks pidevalt piisavalt andmeid *Campylobacter* spp. teaduspõhiseks riskihindamiseks ning sellest tulenevaks riskiohjamise ja riskikommunikatsiooni meetmete rakendamiseks toidu algtootmise, töötlemise ning tarbimise tasandil.

Lõpphinnanguga seonduvad küsimused ja vastused

Kui tõsist haigust kampülobakterid inimestel põhjustavad ning millised on haigustekitajate ülekandeteed?

Vastus: *Campylobacter* spp. infektsioonide korral on enamikel juhtudel tegemist kergekujulise haigusega, mille põhisümptomiks on kõhulahtisus. Harvadel juhtudel võib haigus kulgeda soolestikuvälise infektsioonina või kroonilise järelhaigusena, mille tagajärjel võib tekkida tekkida bakterieemia, artriit, bursiit, meningiit, endokardiit, peritoniit, pankreatiit, kuseteede infektsioonid, abort ning neonataalne sepsis. Väga harva võivad kampülobakterid põhjustada ka Guillain-Barre ja Miller-Fisher sündroomi, mis iseloomustub perifeerse närvisüsteemi paralüütilise kahjustusena. Raskematel juhtudel võib haigus lõppeda patsiendi surmaga. Haigustekitaja põhiülekandeteeks inimeseni on saastunud toit millest kõige olulisemaks tuleb pidada toorest linnuliha, toorpiima ning saastunud joogivett. Harvemini võib haigustekitaja ülekannet inimeseni toimuda otsekontakti teel haigustekitajaid kandvate põllumajandus- ja lemmikloomadega. Viimati mainitud ülekannet saab vältida isikliku hügieenireeglite nõuete täitmisega. Täiendavalt on kampülobaktereid isoleeritud metslindudel ning ulukloomadelt, kuid Eestis vastavaid uuringuid ei ole senini tehtud. Samuti ei ole Eestis senini uuritud kampülobakterite esinemist veistel ja sigadel ning nendega seonduvad haiguse ülekandeteed ei ole Eestis teada.

Millised toidud on kampülobakteritest enim saastunud?

Vastus: tuginedes riskiprofiilis esitatud teaduskirjanduse, erinevate andmebaaside ning käesoleva uuringu käigus teostatud laboratoorsete analüüside andmetele, võib väita, et kampülobakteritest enim saastunud toiduks on toores linnuliha, toorpiim ning joogivesi, mis on põhjustanud enamiku *Campylobacter* üksik- ning haiguspuhangutest, kusjuures kanabroileriliha on kõige olulisem haiguse põhjustaja inimestel. Haigustekitajaid on ristsaastumisest tingituna tuvastatud ka teistest toitudest.

Milliseid toite on Eestis uuritud kampülobakterite esinemise suhtes ning kas olemasolevate andmete põhjal saab eristada kõrge riskikategooriaga toite Eestis?

Vastus: Enamik Eestis teostatud teadusuuringutest seondub toore linnulihaga ning uuringuid on teostatud alates aastast 2000. Viimase paari aasta jooksul on alustatud toorpiima ning ulukiliha *Campylobacter* levimuse uuringutega, kuid riskihinnangutega seonduvate järelduste tegemiseks on neid andmeid veel liiga vähe. Käesoleva projekti raames uuriti eelkõige Eesti jaekaubanduses müüdavat värsket linnuliha ning leiti, et kanabroileriliha on sageli kampülobakteritega saastunud ning seda eelkõige importtoodete puhul. Euroopa keskmise levimusega võrreldes on *Campylobacter* levimus toores linnulihas Eestis väiksem. Võttes arvesse erinevaid riskihinnanguid võib väita, et kõrge riskikategooria toidutoormeks on toores linnuliha. Korralikult kuumtöödeldud linnuliha kategoriseerub madala riskikategooria toiduks.

Kuidas hinnata kampülobakterite levimust ja arvukust toores linnulihas?

Vastus: Rahvatervise seisukohast on olukord parim juhtudel, kus kontaminatsioon puudub või nii *Campylobacter* levimus kui arvukus toores linnulihas on väga madalad kuni madalad. Kõrge risk rahvatervisele avaldub juhtudel, kus toidu kampülobakteritest saastumise määrad on kõrged ehk tegemist on nii kõrge levimuse kui arvukusega. Rahvatervise riskid avalduvad eelkõige juhtudel, kus koduköökidest ei täideta üldhügieeni ning toidu valmistamise nõudeid. Tuginedes arenenud riikide suundumustele peab ettevõtete tasandil põhieesmärgiks olema erinevate interventsiooni meetmetega tagada kampülobakterite madal arvukus toores linnulihas (alla 1000 pmü/g), kuna kampülobakterite kõrge arvukus on haigusetekkes olulisem kui üksnes *Campylobacter* levimuse näitaja.

Milline on tarbijate haigestumise tõenäosus tarbides Eestis müüdavat värsket kanabroileriliha?

Vastus: Võttes arvesse *Campylobacter* enteriidi juhtumite arvu Eestis ning kampülobakterite levimust ning arvukust Eestis müüdavas värskes kanabroilerilihas, hindame kampülobakterioosi haigestumise riski ebaolulisest kuni keskmiseni. Haigestumise risk on ebaoluline kuni väike kui tarbitakse Eesti päritolu värsket kanabroileriliha. Haigestumise risk on väike kuni keskmine tarbides Läti ja/või Leedu päritolu värsket kanabroileriliha. Haigestumise tõenäosus on suurem soojadel suvekuudel, mil kampülobakterite levimus ja arvukus värskes kanabroilerilihas on suurim. Hooajalisest kontaminatsiooni erinevusest ning doosi-vastuse informatsiooni puudumisest on tingitud hinnangu osaline määramatus.

Kas tavapärased toidu kuumtöötlemise praktikad/viisid välistavad kampülobakteritest tingitud toiduohu?

Vastus: Jah, sest termofiilsed kampülobakterid on temperatuuritundlikud ning hävinevad juhtudel, kus tagatakse toidu sisetemperatuur vähemalt + 72 °C.

Kas toidu kodusel ettevalmistamisel tuleb arvestada hügieeninõuete järgimisega, et vältida kampülobakteritest tekkivaid võimalikke tervisehäireid?

Vastus: Jah, sest oluline on vältida pindade ja valmistoitude ristsaastumist termofiilsete kampülobakteritega. Ristsaastumise ärahoidmiseks tuleb vältida linnurümpade pesemist; verise lihamahla eemaldamiseks kasutada puhtaid ning imavaid paberrätte ning pärast toore linnuliha töötlemist puhastada hoolikalt kõik toiduettevalmistamispinnad k.a. töövahendid. Liha ning taimse materjali töötlemisel (nt tükeldamisel) peavad kasutusel olema erinevad lõikelauad (soovitavalt erivärvi).

Kas toore linnuliha külmutamine hävitab kampülobakteritest tingitud ohu?

Vastus: Ei, sest liha külmutamine üksnes alandab kampülobakterite arvukust lihas, kuid ei suuda tagada kõikide kampülobakterite hävitamist. Seetõttu kehtivad külmutatud liha toiduks ettevalmistamisel kõik tavapärased toiduhügieeni ja toidu valmistamise reeglid.

Milliseid interventsiooni meetmeid rakendada, et vähendada termofiilsete kampülobakteritega seonduvaid rahvaterviseriske?

Vastus: Projekti põhitäitjate arvates on Eesti tasandil kõige olulisem tagada *Campylobacter* vabade kanabroilerikarjade üles kasvatamine rakendades selleks bioohutuse peatüki all mainitud bioturvalisuse meetmeid. Suure tõenäosusega on *Campylobacter* positiivsetest karjadest pärit kogu linnuliha külmutamise ning kuumtöötlemise nõue majanduslikult mitte õigustatud, sellegipoolest peab tegema jõupingutusi, et määrata enne tapmist kindlaks kampülobakteritest saastunud linnukarjad ning seejärel rakendada meetmeid, et vähendada kampülobakterite arvukust ning ristsaastumist. Konkreetsete interventsiooni meetmete rakendamise peavad otsustama riskijuhtijad.

Milliste uuringutega tuleb jätkata, et riskijuhtimise tasandil vastu võtta adekvaatseid otsuseid vähendamaks kampülobakteritest tingitud riski rahvatervisele?

Vastus: eraldi riskihindamine koos piisava hulga laboranalüüsidega tuleb teostada seni läbiuurimata toidu kategooriate osas, milleks on mets- ja kodusigadelt pärinev liha ning toorpiim. Loomaks seoseid inimestel esineva kampülobakterioosi ning saastunud toidu vahel tuleb luua molekulaartüüpiseerimise võimekus riiklikul tasandil kuna see on tänapäevaste epidemioloogiliste uuringute oluline töövahend.

Kasutatud kirjandus

- Abbott, S.L., Waddington, M., Lindquist, D., Ware, J., Cheung, W., Ely, J., Janda, J.M. 2005. Description of *Campylobacter curvus* and *C. curvus*-like strains associated with sporadic episodes of bloody gastroenteritis and Brainerd's diarrhea. *Journal of Clinical Microbiology*, 43, 585-588.
- Allen, V. M., Bull, S. A., Corry, J. E., Domingue, G., Jorgensen, F., Frost, J. A., Whyte, R., Gonzalez, A., Elviss, N., & Humphrey, T. J. 2007. *Campylobacter* spp. contamination of chicken carcasses during processing in relation to flock colonisation. *International Journal of Food Microbiology* 113, 54–61.
- Bhaduri, S., Cottrell, B. 2004. Survival of Cold-Stressed *Campylobacter jejuni* on Ground Chicken and Chicken Skin during Frozen Storage. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 7103-7109.
- BfR, The Federal Institute for Risk Assessment. 2012. Food involved in disease outbreaks in Germany in 2011. BfR Information No. 035/2012.
- Black, A. P., Kirk, M. D. Millard, G. 2006. *Campylobacter* outbreak due to chicken consumption at an Australian Capital Territory restaurant. *Commun Dis Intell Q Rep.*, 30(3), 373-7.
- Brieseman, M.A. (1990). A further study of the epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections. *New Zealand Medical Journal*, 103, 207–209.
- Bunevičienė, J., Kudirkienė, E., Ramonaitė, S., & Malakauskas, M. (2010). Occurrence and numbers of *Campylobacter* spp. on wings and drumsticks of broiler chickens at the retail level in Lithuania. *Veterinarija ir Zootechnika*, 72, 9–14.
- Calciati, E., Lafuente, S., De Simó, M., Balfagon, P., Bartolomé, R., Caylà, J. 2012. A *Campylobacter* outbreak in a Barcelona school. *Enferm Infecc Microbiol Clin.*, 30, 223-224.
- Carpenter, L. 2013. Second outbreak of *Campylobacter* illness in 2013 associated with raw milk. State of Alaska, Department of Health and Social Services, Press Release, <http://dhss.alaska.gov/>.
- Chantarapanont, W., Berrang, M., Frank, J.F. 2003. Direct microscopic observation and viability determination of *Campylobacter jejuni* on chicken skin. *Journal of Food Protection*, 66, 2222-2230.

- Claeys, W.L., Cardoen, S., Daube, G., De Block, J., Dewettinck, K., Dierick, K., De Zutter, L., Huyghebaert, A., Imberechts, H., Thiange, P., Vandenplas, Y., Herman, L. 2013. Raw or heated cow milk consumption: review of risks and benefits. *Food Control*, 31, 251-262.
- Coleman, M., Marks, H. (1998). Topics in dose-response modelling. *Journal of Food Protection*, 6, 1550-1559.
- De Buyser, M.-L., Dufor, B., Maire M., Lafarge, V. 2001. Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries. *International Journal of Food Microbiology*, 67:1-17.
- Djenane, D., Roncales, P. (2011). Risk assessment and new developing strategies to reduce prevalence of *Campylobacter* spp. in broiler chicken meat. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances (A. Méndez-Vilas, Ed.).
- Domingues, C., Gomez, I., Zumalacarregui, J. 2002. Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in retail chicken meat in Spain. *International Journal of Food Microbiology*, 72, 165-168.
- EFSA, European Food Safety Authority. (2014). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2012. *EFSA Journal* 2014, 12(2), 3547.
- EFSA, European Food Safety Authority. (2013). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2011. *EFSA Journal* 2013, 11(4), 3129.
- EFSA, European Food Safety Authority. (2011). Scientific opinion on *Campylobacter* in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain. *EFSA Journal* 2011, 9(4), 2105.
- EFSA, European Food Safety Authority. (2010). Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses in the EU, 2008. EFSA Scientific Report, *EFSA Journal* 2010, 8(03), 1503.
- EFSA, European Food Safety Authority. (2010). Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents and Food-Borne Outbreaks in the European Union in 2008.

- EFSA, European Food Safety Authority. (2009). Assessing health benefits of controlling *Campylobacter* in the food chain. EFSA Scientific Colloquium, Summary Report. ISBN: 978-92-9199-134-1.
- Euzeby, J.P. 2006. Dictionnaire de bacteriologie veterinaire. <http://www.bacdico.net>.
- Evans, M. R., Roberts, R. J., Ribeiro C. D., Gardner, D., Kembrey, D. 1996. A milk-borne *Campylobacter* outbreak following an educational farm visit. *Epidemiology and Infection*, 117, 457-462.
- FAO/WHO, 2009. *Salmonella* and *Campylobacter* in chicken meat. Microbiological Risk Assessment Series 19, pp. 69.
- FAO/WHO, 2001. Hazard identification, exposure assessment and hazard characterization of *Campylobacter* spp. in broiler chickens and *Vibrio* spp. in seafood, a joint FAO/WHO expert consultation. FAO/WHO, Geneva, Switzerland. 23–27 July 2001.
- Farmer, S., Keenan, A., Vivancos, R. 2012. Food-borne *Campylobacter* outbreak in Liverpool associated with cross-contamination from chicken liver parfait: implications for investigations of similar outbreaks. *Public Health*, 126, 657-659.
- Fica, C.A., Porte T.L., Braun, J.S., Veas, P.N., Pavez, A.C., Dabanch, P.J., & Morales, I.R. (2011). Bacteremia and endarteritis cases secondary to *Campylobacter* spp. in a metropolitan hospital: our experience along a quarter of a century. *Revista chilena de infectología*, 28, 211–216.
- Friedman, C.R., Hoekstra, R.M., Samuel, M., Marcus, R., Bender, J., Shiferaw, B., Reddy, S., Ahuja, S.D., Helfrick, D.L., Hardnett, F., Carter, M., Anderson, B., Tauxe, R.V. (2004). Emerging Infections Program FoodNet Working Risk factors for sporadic *Campylobacter* infection in the United States: A case-control study in FoodNet sites. *Clinical Infectious Diseases*, 38, 285–29.
- Friedman, C.R., J. Neimann, H.C. Wegener, Tauxe, R.V. 2000. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* in the United States and other industrialized nations, In: I. Nachamkin and M.J. Blaser (Eds.) *Campylobacter*, 2nd ed., ASM Press, Washington, USA, 121-138.
- Frost, J.A., Gillespie, J.A., O'Brien, S.J. 2002. Public Health implications of *Campylobacter* outbreaks in England and Wales, 1995-1999: epidemiological and microbiological investigations. *Epidemiology and Infection*, 128, 111-118.

- Garin, B., Gouali, M., Wouafo, M., Perchec, A-M., Thu, P.M., Ravaonindrina, N., Urbes, F., Gay, M., Diawara, A., Leclercq, A., Rocourt, J., Pouillot, R. 2012. Prevalence, quantification and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. on chicken neck-skins at points of slaughter in 5 major cities located on 4 continents. *International Journal of Food Microbiology*, 157, 102–107.
- Gardner, T., Tracie, J., Fitzgerald, C., Xavier, C., Klein, R., Stroika, S., McLaughlin, J. 2011. Outbreak of Campylobacteriosis Associated with Consumption of Raw Peas. *Clinical Infectious Diseases*, 53(1): 26-32.
- Gootz, T.D., Martin, B.A. 1991. Characterization of high-level quinolone resistance in *Campylobacter jejuni*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 35, 840-846.
- Gorkiewicz, G., Feierl, G., Zechner, R., Zechner, E.L. 2002. Transmission of *Campylobacter hyointestinalis* from pig to human. *Journal of Clinical Microbiology*, 40, 2601-2605.
- Hansson, I., Mars-Ahgren, M., Sahlander, P., Smedjegard, J., Olsson Engvall, E. 2011. Outbreak of campylobacteriosis in Sweden associated with consumption of raw milk. EURL-Campylobacter 6th workshop. 3 – 5 October, Uppsala. Posterettekanne.
- Herrmann, R. 2010. *Campylobacter* outbreak at Montana resort. Infectious Diseases Today. <http://bactiman63.blogspot.com/2010/08/campylobacter-outbreak-at-montana.html>
- Heuvelink, A. E., van Heerwaarden, C. Zwartkruis-Nahuis, A. Tilburg, J. J. H. C., Bos, M. H., Heilmann, F. G. C., Hofhuis, A., Hoekstra, T., de Boer, E. 2009. Two outbreaks of campylobacteriosis associated with the consumption of raw cow's milk. *International Journal of Food Microbiology*, 134 (1-2), 70-74.
- Hofshagen, M., Kruse, H. (2013). Two years with the Norwegian action plan against *Campylobacter* spp. in broilers, Abstracts from CHRO 2003 12th International Workshop on Campylobacter, Helicobacter and Related Organisms Aarhus, Denmark, September 6–10, *International Journal of Medical Microbiology*. 293 (2003) (Suppl. 35), p. 21 (abstract D15).
- Horrocks, S. M., Anderson, R. C., Nisbet, D. J., & Ricke, S. C. (2009). Incidence and ecology of *Campylobacter jejuni* and *coli* in animals. *Anaerobe*, 15, 18–25.
- Hänninen, M.-L., Perko-Mäkelä, P., Pitkälä, A., Rautelin, H., 2000. A three-year study of *Campylobacter jejuni* genotypes in humans with domestically acquired infections and in chicken samples from the Helsinki area. *Journal of Clinical Microbiology*. 38, 1998-2000.

- Hänninen, M.-L., Haajanen, H., Pummi, T., Wermundsen, K., Katila, M.-L., Sarkkinen, H., Miettinen, I., Rautelin, H. 2003. Detection and typing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* and analysis of indicator organisms in three waterborne outbreaks in Finland. *Applied and Environment Microbiology*, 69, 1391-1396.
- Hänninen, M.-L., Kärenlampi, R. 2004. *Campylobacter* in waterborne epidemics in Finland. *Water Science and Technology*, 4, 39-45.
- Humphrey, T.J., Henley, A., Lanning, D.G. 1993. The colonization of broiler chickens with *Campylobacter jejuni*; some epidemiologic investigations. *Epidemiology and Infection*, 110, 601-607.
- Humphrey, T.J. 1994. Techniques for the isolation of *Campylobacter* from food and the environment. Report on a WHO. Consultation on epidemiology and control of campylobacteriosis. The Netherlands, 79-83.
- Inns, T., Foster, K., Gorton, R. Cohort study of a campylobacteriosis outbreak associated with chicken liver parfait, United Kingdom, June 2010. *Euro Surveill.* 2010;15(44):pii=19704. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19704>.
- Jakopanec, J., Borgen, K., Vold, L., Lund, H., Forseth, T., Hannula, R., Nygård, K. 2008. A large waterborne outbreak of campylobacteriosis in Norway: The need to focus on distribution system safety. *BMC Infectious Diseases*, 8(128), 1-11.
- Kapperud, G., Skjerve, E., Bean, N.H., Ostroff, S.M., Lassen, J. 1992. Risk factors for sporadic *Campylobacter* infections: results of a case-control study in southeastern Norway. *Journal of Clinical Microbiology*, 30, 3117-3121.
- Kapperud, G., Skjerve, E., Vik, L., Hauge, K., Lysaker, A., Aalmen, I., Ostroff, S.M., Potter, M. 1993. Epidemiological investigation of risk factors for *Campylobacter* colonization in Norwegian broiler flocks, *Epidemiology and Infection*, 111, 245-255.
- Katzav, M., Isohanni, P., Lund, M., Hakkinen, M., & Lyhs, U. (2008). PCR assay for the detection of *Campylobacter* in marinated and non-marinated poultry products. *Food Microbiology*, 25, 908-914.
- KDHE, Kansas Department of Health and Environment. 2007. Outbreak of *Campylobacter jejuni* infections associated with consumption of cheese from raw milk – Western Kansas, 2007. http://www.kdheks.gov/epi/download/Western_KS_OCT07_Campylobacter.pdf

- Keener, K. M., Bashor, M. P., Curtis, P. A., Sheldon, B. W. Kathariou, S. 2004. Comprehensive review of *Campylobacter* and poultry processing. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3, 105-116.
- Kovalenko, K., Roasto, M., Liepinš, E., Mäesaar, M., & Hörman, A. 2013. High occurrence of *Campylobacter* spp. in Latvian broiler chicken production. *Food Control*, 29, 188–191.
- Kovalenko, K. 2013. Thermophilic *Campylobacter* in broiler chicken meat production chain in Latvia. Doctoral thesis. Latvian University of Agriculture, Jelgava 2013, pp. 128.
- Kovalenko, K., Roasto, M., Šantare, S., Bērziņš, A., Hörman, A. 2014. *Campylobacter* species and their antimicrobial resistance in Latvian broiler chicken production. *Food Control*, 46, 86-90.
- Kuusi, M., Klemets, P., Miettinen, I., Laaksonen, I., Sarkkinen, H., Hänninen, M-L., rautelin, H., Kela, E., Nuorti, J. P. 2004. An outbreak of gastroenteritis from a non-chlorinated community water supply. *Journal of Epidemiology and Community Health*, 58, 273-277.
- Kuusi, M., Nuorti, J.P., Hänninen, M-L., Koskela, M., Jussila, V., Kela, E., Miettinen, I., Ruutu, P. 2005. A large outbreak of campylobacteriosis associated with a municipal water supply in Finland. *Epidemiology and Infection*, 133(4), 593-601.
- Kuwabara, S. (2011). Does *Campylobacter jejuni* infection elicit axonal or demyelinating Guillain–Barré syndrome, or both? *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 82, 238.
- López, C., Agostini, A., Giacoboni, G., Cornero, F., Tellechea, D. and Trinidad, J. J. 2003. Campilobacteriosis en una comunidad de bajos recursos de Buenos Aires, Argentina, *Rev. Sci.Tech.* 22, 1013–1020.
- Mazick, A., Ethelberg, S., Møller Nielsen, E., Mølbak, K., Lisby, M. 2006. An outbreak of *Campylobacter jejuni* associated with consumption of chicken, Copenhagen, 2005. *Euro Surveill.* 2006;11(5):pii=622.
- Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=622>.
- McGrogan, A., Madle, G. C., Seaman, H. E., & de Vries. (2009). The epidemiology of Guillain-Barre syndrome worldwide. A systematic literature review. *Neuroepidemiology*, 32, 150–163.
- Mentzing, L-O. 1981. Waterborne outbreaks of *Campylobacter* enteritis in central Sweden. *The Lancet*, 318, 352-354.

- Meremäe, K., Elias, P., Tamme, T., Kramarenko, T., Lillenberg, M., Karus, A., Hänninen M.L., & Roasto, M. (2010). The occurrence of *Campylobacter* spp. in Estonian broiler chicken production in 2002-2007. *Food Control*, 21, 272–275.
- Merritt, T., Combs, B., Pingault, N. 2011. *Campylobacter* outbreaks associated with poultry liver dishes. *Communicable Diseases Intelligence*, 35(4), 299-300.
- Morgan, D., Gunneberg, C., Gunnell, D., Lamerton, S., Soltanpoor, N, Lewis, D. A., White, D. G. 1994. An outbreak of *Campylobacter* infection associated with the consumption of unpasteurized milk at a large festival in England. *European Journal of Epidemiology*, 10(5), 581-585.
- Mäesaar, M., Praakle, K., Meremäe, K., Kramarenko, T., Sögel, J., Viltrop, A., Muutra, K., Kovalenko, K., Matt, D., Hörman, A., Hänninen, M-L., Roasto, M. 2014. Prevalence and counts of *Campylobacter* spp. in poultry meat at retail level in Estonia. *Food Control*, 44, 72-77.
- Nachamkin, I., Blaser, M. J. 2000. *Campylobacter* 2nd Edition / Ed-s I., ASM Press, American Society for Microbiology, Washington DC, USA, pp. 545.
- National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods. 1994. *Campylobacter jejuni/coli*. *Journal of Food Protection*, 57, 1101-1121.
- Parry, A., Fearnley, E., Denehy, E. 2012. "Suprise": Outbreak of *Campylobacter* infection associated with chicken liver pate at a suprise birthday party, Adelaide, Australia, 2012. *Western Pacific Surveillance and Response Journal*, 3(4), 16-19.
- Pearson, A.D., Greenwood, M., Healing, T.D., Rollins, D., Shahamat, M., Donaldson, J., Colwell, R.R. (1993). Colonization of broiler chickens by waterborne *Campylobacter jejuni*. *Applied Environmental Microbiology*, 59, 987-996.
- Pieskus, J., Butrimaite-Ambrazeviciene, C., & Kazeniauskas, E. (2008). Risk Factors for the Presence of *Campylobacter* spp. in Lithuanian Broiler Flocks. *International Journal of Poultry Science*, 7, 1242–1246.
- Rautelin, H., & Hänninen, M-L. (2000). *Campylobacter*s: the most common bacterial enteropathogens in the Nordic countries. *Annals of Medicine*, 32, 440–445.
- Reich, F., Atanassova, V., Haunhorst, E., & Klein, G. (2008). The effect of *Campylobacter* numbers in ceaca on the contamination of broiler carcasses with *Campylobacter*. *International Journal of Food Microbiology*. 127, 116–120.
- Roasto, M., Praakle, K., Korkeala, H., Elias, P & Hänninen, M.-L. (2005). Prevalence of *Campylobacter* in raw chicken meat of Estonian origin. *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 56(3), 61–62.

- Roasto, M., Juhkam, K., Tamme, T., Hörman, A., Häkkinen, L., Reinik, M., Karus, A., Hänninen, M.-L. (2007). High level of antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* isolated from broiler chickens in Estonia in 2005-2006. *Journal of Food Protection*, 70(8), 1940-1944.
- Roasto, M., Meremäe, K., Praakle-Amin, K., Hörman, A., Elias, T., Lillenberg, M., Elias, A., Kramarenko, T., Häkkinen, L., Põltsama, P., Mäesaar, M., Elias, P., Hänninen, M.-L. 2011. Termofiilsete kampülobakterite uuringud Eestis 2000 – 2010. *Agraarteadus*, 22(1), 31-39.
- Rosenquist, H., Nielsen, N.L., Sommer, H.M., Norrung, B., Christensen, B.B. 2003. Quantitative risk assessment of human campylobacteriosis associated with thermophilic *Campylobacter* species in chickens. *International Journal of Food Microbiology*, 83, 87-103.
- Rosenquist, H. 2008. Measures to control *Campylobacter* in broilers and broiler meat. In: Assessing health benefits of controlling *Campylobacter* in the food chain. Summary Report EFSA Scientific Colloquium 12, 4-5 December 2008, Rome, Italy, 133-148.
- Rosenquist, H., Boysen, L., Galliano, C., Nordentoft, S., Ethelberg, S., Borck, B. 2009. Danish strategies to Control *Campylobacter* in broilers and broiler meat: facts and effects. *Epidemiology and Infection*, 137, 1742-1750.
- Rowan, K. 2013. Raw Milk Sickened 148 In *Campylobacter* Outbreak Last Year. Published: 05/04/2013 07:46 AM EDT on MyHealthNewsDaily.
- Sanches, M.X., Fluckey, W.M., Brashears, M.M., McKee, S.R. 2002. Microbial profile and antibiotic susceptibility of *Campylobacter* spp. and *Salmonella* spp. in broilers processed in air-chilled and immersion-chilled environments. *Journal of Food Protection*, 65, 948-956.
- Savas,şı, M. ja Özdemir, H. 2006. Prevalence of thermophilic *Campylobacter* spp. in retail chicken meat in Ankara, *Journal of Food Safety*, 26, 244–250.
- 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. *Emerging Infectious Diseases*, 17, 7-15.
- Schildt, M., Savolainen, S., & Hänninen, M.-L. (2006). Long-lasting *Campylobacter jejuni* contamination of milk associated with gastrointestinal illness in a farming family. *Epidemiology and Infection*, 134(2), 401-405. Cambridge University Press.

- Schönberg-Norio, D., Takkinen, J., Hänninen, M-L., Katila, M.L., Kaukoranta, S.S., Mattila, L., Rautelin, H. 2004. Swimming and *Campylobacter* infections. *Emerging Infectious Diseases*, 10(8), 1474-1477.
- Serraino, A., Florio, D., Giacometti, F., Piva, S., Mion, D., & Zanoni, G. (2013). Presence of *Campylobacter* and *Arcobacter* in in-line milk filter of farms authorized to produce and sell raw milk and of a water buffalo dairy farm in Italy. *Journal of Dairy Science*, 96, 2801-2807.
- Stern, N.J., Hielt, K.L., Alfredsson, G.A. Kristinsson, K.G., Reiersen, J., Hardardottir, H., Briem, H., Gunnarsson, E., Georgsson, F., Lowman, R., Berndtson, E., Lammerding, A.M., Paoli, G.M., Musgrove, M.T. 2003. *Campylobacter* spp. in Icelandic poultry operations and human disease, *Epidemiology and Infection*, 130, 23-32.
- Stoyanchev, T., Vashin, I., Ring, C. and Atanassova, V. 2007. Prevalence of *Campylobacter* spp. in poultry and poultry products for sale on the Bulgarian retail market, *Antonie Van Leeuwenhoek* 92, 285–288.
- Suzuki, H., & Yamamoto, S. (2009). *Campylobacter* contamination in retail poultry meats and by-products in the world: a literature survey. *Journal of Veterinary Medicine and Science*, 71, 255–261.
- Taremi, M., Mehdi Soltan Dallal, M., Gachkar, L., MoezArdalan, S., Zolfagharian, K. and Reza Zali, M. 2006. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolated from retail raw chicken and beef meat, Tehran, Iran. *International Journal of Food Microbiology*, 108, 401–403.
- Taylor, E. V., Herman, K. M., Ailes, E. C., Fitzgerald, C., Yoder, J. S., Mahon, B. E., Tauxe, R. V. 2013. Common source of *Campylobacter* infection in the USA, 1997-2008. *Epidemiology and Infection*, 141, 987-996.
- Terviseamet. 2013. Nakkushaigused ja immunoprofülaktika Eestis 2012. http://www.terviseamet.ee/fileadmin/dok/Nakkushaigused/statistika/2012/Epid_ylevaade_2012.pdf
- Teuber, M. 2004. Veterinary use and antibiotic resistance. In: Smulders, F.J.M., Collins, J.D. (Eds), Food safety assurance and veterinary public health, Volume 2, Safety assurance during food processing, Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, pp. 229-241.
- Teufel, P. 2003. *Campylobacter* spp. In: Roginski, H., Fuquay, J.W., Fox, P.F. (Eds.), Encyclopedia of Dairy Sciences. Academic Press, pp. 237-243.

- Unicomb, L. E., Fullerton, K. E., Kirk, M. D., Stafford, R. J. 2009. Outbreaks of campylobacteriosis in Australia, 2001 to 2006. *Foodborne Pathogens and Diseases*, 6(10), 1241-1250.
- Vellinga, A., Van Lock, F. 2002. The dioxin crisis as experiment to determine poultry-related *Campylobacter enteritis*. *Emerging Infectious Diseases*, 8, 19-22.
- Waller, P. 2013. Alaska Raw Milk Cow Share Campylobacter Outbreak Now 18. Food Poison Journal, <http://www.foodpoisonjournal.com/foodborne-illness-outbreaks/alaska-raw-milk-cow-share-campylobacter-outbreak-now-18/#.UkwjKNKnjps>.
- Wang, G., Clark, C. G., Taylor, T. M., Pucknell, C., Barton, C., Price, L., W, D. L., Rodgers, G. 2002. Colony multiplex PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus* subsp. *fetus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(12), 4744. DOI:10.1128/JCM.40.12.4744-4742.2002.
- Wang, J., Guo, Y.C., Li, N. 2013. Prevalence and risk assessment of *Campylobacter jejuni* in chicken in China. *Biomedical and Environmental Sciences*, 26(4), 243-248.
- Whyte, P., McGill, K., Cowley, D., Madden, R. H., Moran, L., Scates, P., Carroll, C., O’Leary, A., Fanning, S., Collins, J. D., McNamara, E., Moore, J. E. and Cormican, M. 2004. Occurrence of *Campylobacter* in retail foods in Ireland. *International Journal of Food Microbiology*, 95, 111–118.
- Wingstrand, A., Neimann, J., Engberg, J., Nielsen, E.M., Gerner-Smidt, P., Wegener, H.C., Molbak, K. 2006. Fresh chicken as main risk factor for campylobacteriosis, Denmark. *Emerging Infectious Diseases*, 12(2), 280-284.
- Wood, R. C., MacDonald, K. L. Osterholm, M. T. 1992. *Campylobacter* enteritis outbreaks associated with drinking raw milk during youth activities. A 10-year review of outbreaks in the United States. *JAMA*, 9, 3228-3230.
- Workman, S. N., Mathison, G. E. and Lavoie, M. C. 2005. Pet dogs and chicken meat as reservoirs of *Campylobacter* spp. in Barbados. *Journal of Clinical Microbiology*, 43, 2642–2650.
- Yu, J-H., Kim, N-Y., Cho, N-G., Kim, J-H., Kang, Y-A., Lee, H.G. 2010. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* outbreak in a middle school in Incheon, Korea. *Journal of Korean Medical Science*, 25, 1595-1600.

OSA 2

LISTERIA MONOCYTOGENES

RISKIPROFIIL

Sisukord

| | |
|---|-----|
| Sissejuhatus | 69 |
| 1. <i>L. monocytogenes</i> 'e üldiseloomustus | 69 |
| 2. <i>L. monocytogenes</i> 'e levik | 70 |
| 3. Listerioos | 71 |
| 4. Ülevaade riskifaktoritest | 72 |
| 5. Potentsiaalse riski hindamine | 74 |
| 5.1. <i>L. monocytogenes</i> toores lihas ja lihatoodetes | 74 |
| 5.2. <i>L. monocytogenes</i> toores kalas ja kalatoodetes | 79 |
| 5.3. <i>L. monocytogenes</i> toorpiimas ja piimatoodetes | 82 |
| 5.4. <i>L. monocytogenes</i> muudes toitutes (sh salatid) | 85 |
| 6. Listerioosipuhangud | 88 |
| 7. Eesti tulemused | 96 |
| 7.1. Uurimisperiood 2008-2010 | 96 |
| 7.2. Uurimisperiood 2012-2014 | 102 |
| 7.3. Uurimisperiood 2011-2014, toorpiim | 107 |
| Kokkuvõtte ja järeldused | 109 |
| Lõpphinnanguga seonduvad küsimused ja vastused | 110 |
| Kasutatud kirjandus | 113 |

Sissejuhatus

Listeria monocytogenes on gram-positiivne fakultatiivselt anaeroobne bakter, mis on looduses laialdaselt levinud. Nimetatud bakterit on isoleeritud nii pinnasest, mullast, veest, taimedelt kui ka imetajatelt. *L. monocytogenes*'e laia leviku tõttu keskkonnas kontakteeruvad inimesed ja loomad nimetatud bakteriga sageli. Nii tuntakse *L. monocytogenes*'t zoonootilise haiguse põhjustajana, millesse võivad nakatuda nii loomad kui inimesed. Praeguseks on kindlaks tehtud vähemalt 16 *L. monocytogenes*'e serotüüpi, milledest 4b, 1/2a ja 1/2b serotüüpe seostatakse enamike listerioosi juhtudega. Siiski on listerioos harva esinev haigus, kuid suremus sellesse on suur. Riski hindamine on näidanud, et enamik listerioosi puhanguid on seotud toodetega, mis on sisaldanud *L. monocytogenes*'t üle 100 pmü/g/ml kohta. Riskikategooriasse kuuluvad eelkõige RTE (*ready to eat*) tooted, mis on mõeldud tarbimiseks ilma eelneva kuumtöötlemiseta. Listerioosipuhangutele on eelnenud toiduainete kontaminatsioon kas tootmiskeskonna kaudu või ristsaastumise teel ettevõtte ja/või tarbija tasandil. Käesolev peatükk annab ülevaate *L. monocytogenes*'e esinemismääradest ja arvukustest nii tooraines kui erinevatest toiduainetes, riskifaktoritest ja esinenud haiguspuhangutest.

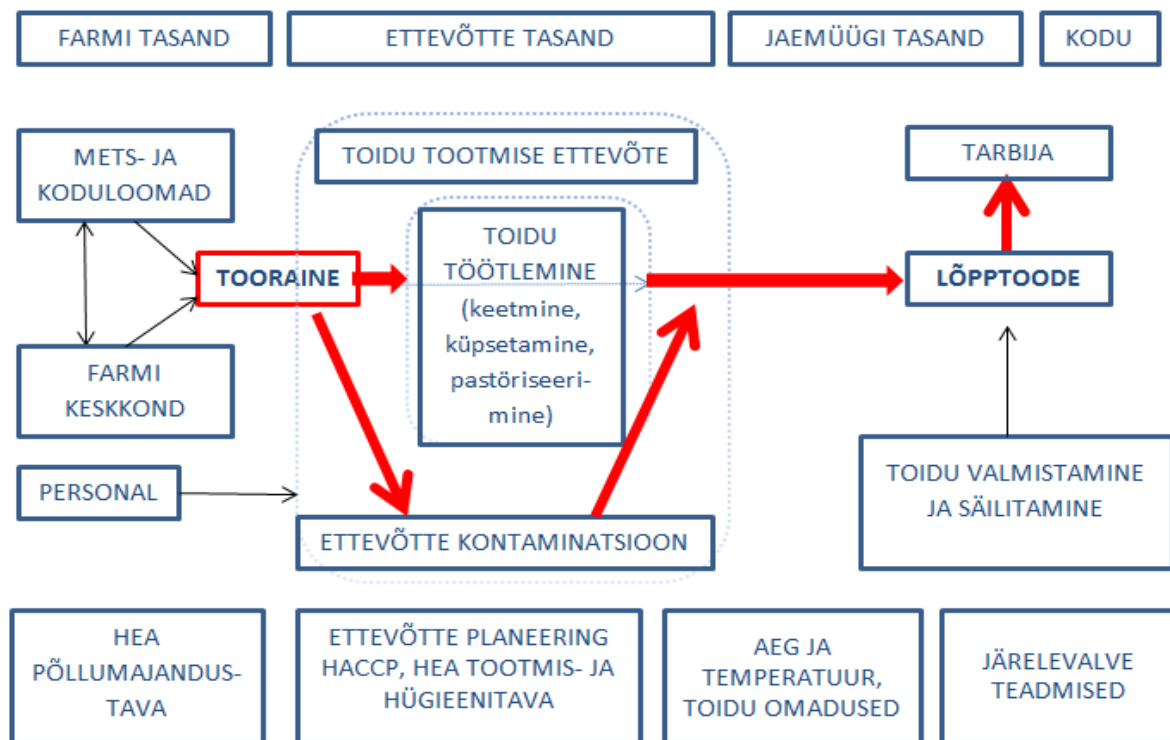
1. *L. monocytogenes*'e üldiseloomustus

Listeria perekonda kuuluvatest liikidest (*L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. ivanovii*, *L. grayi*, *L. marthii*, *L. rocourtiae*, *L. fleischmannii* ja *L. weihenstephanensis*) on *L. monocytogenes* rahvatervise seisukohalt kõige olulisem toidupatogeen (Jamali et al., 2013). Peamine viis *L. monocytogenes*'e ülekandeks inimesele on saastunud toidu tarbimine (Carpentier, Cerf, 2011). *L. monocytogenes*'e puhul on tegemist väikese (diameeter 0,5 µm, pikkus 1-2 µm), gram-positiivse, spore mittemoodustava, fakultatiivselt anaeroobse pulgakujulise bakteriga, mis on võimeline paljunema hapniku olemasolul, aga kapuudumisel ning nii modifitseeritud atmosfääri kui ka vaakumpakendatud toiduainetes (Meremäe et al., 2011). *L. monocytogenes*'e rakud võivad esineda üksikult, samas on nad võimelised moodustama Y- ja V-kujulisi ahelaid (Berzinš, 2010). *L. monocytogenes*'e optimaalne kasvutemperatuur on 30-37 °C, aga ta suudab paljuneda temperatuurivahemikus 0-45 °C ja pH vahemikus 4,4-9,5; taludes ka väga erinevaid NaCl kontsentratsioone (<0,5%...16%) ja madalat veeaktiivsust (0,90...>0,99).

Peamiseks *L. monocytogenes*'e riskiallikaks peetakse valmistoitu (Kramarenko jt., 2013), mida säilitatakse külmkapi temperatuuridel ning tarvitatakse toiduks eelneva kuumtöötluseta (Jadhav et al., 2013). Kuna *L. monocytogenes*'t iseloomustab võime paljuneda ka külmkapi temperatuuridel, siis võivad ohtu tarbijate tervisele kujutada külmikus säilitatavad pika säilivusajaga tooted (Low, Donachie, 1997).

2. *L. monocytogenes*'e levik

L. monocytogenes on väga vastupidav erinevatele keskkonnatingimustele ning on laialdaselt levinud looduskeskkonnas, sellest tulenevalt võib teda leida ka toidu tootmise ahelas alates tooraine tootmisest kuni lõpptoote valmistamiseni. Joonisel 1 on näidatud *L. monocytogenes*'e kontaminatsiooni teed „farmist lauari“ (joonis koostatud Hellström, 2011 järgi). *L. monocytogenes*'e leviku põhjus ja kontaminatsiooni edasikanne toimub eeskätt toiduainetetööstuse etappide (tooraine vastuvõtt, töötlemine, toote viilutamine jms) kaudu (Hellström, 2011).



Joonis 1. *L. monocytogenes*'e kontaminatsiooni teed „farmist lauari“. Ülemine kastide jada illustreerib toidu tootmise etappe ning alumine kastide jada näitab *L. monocytogenes*'e kontrollistrateegiaid. Nooled näitavad kõige tähtsamaid kontaminatsiooni teid toiduainete saastumisel *L. monocytogenes*'ega (koostatud: Hellström, 2011 järgi).

Toiduainetetööstuse kriitilisteks kontrollpunktideks *L. monocytogenes* suhtes on need piirkonnad, kus toimub tooraine vastuvõtt ning töötlemine ja kohad, mis on otseses kontaktis toidutoormega (tooraine purustajad, lõikurid, pakkimisseadmed, käsitööriistad, kindad, kitlid, põlled jne) (Tompkin et al., 1999). Näiteks on teada, et *L. monocytogenes*'t on leitud toiduainetetööstuse konveierite rullikutelt, erinevate seadmete lülititelt, pragnenud materjalidelt, voolikutelt jne (Tompkin et al., 1999).

Ettevõttesse sattununa on *L. monocytogenes* toiduainetetööstuste tootmiskeskkonnas väga vastupidav. On leitud, et tooted võivad kontamineeruda *L. monocytogenes*'ega tehnoloogilises protsessis seadmetele moodustatud biokirmete kaudu (Møretro, Langsrud, 2004). Sellisel viisil on *L. monocytogenes* väga vastupidav ettevõttes kasutatavate pesemis- ja desinfitseerimisainete suhtes (Kadam et al., 2013).

Toiduainetetööstuses ringlevad ja kontaminatsiooni põhjustavad *L. monocytogenes*'e tüved kuuluvad eeskätt kolme serotüübi hulka – 4b, 1/2a ja 1/2b – ja neid serotüüpe seostatakse ka enamike listerioosipuhangutega (Castro et al., 2012; Pichler et al., 2009; Vit et al., 2007). Sellegipoolest ei peeta tänapäeval serotüüpiseerimist oma nõrga eristamisvõime poolest piisavaks meetodiks, et teha kindlaks toidupõhiste haiguspuhangute algpõhjuseid ning kontaminatsiooni levikuteid. Serotüüpiseerimisele lisaks kasutatakse erinevaid molekulaarseid tüüpiseerimise meetodeid ning isoleeritud tüvede kogu genoomi sekveneerimist (*whole genome sequencing*).

3. Listerioos

Listerioosi defineeritakse kui *L. monocytogenes*'e poolt esile kutsutud nakkushaigust, mis ohustab eelkõige immuunpuudulikkusega inimesi ning avaldub palaviku, meningiidi, septitseemia, baktereemia või seedetrakti häiretena (Terviseamet, 2014a; Norton, Braden, 2007). Seejuures on võimalik eristada invasiivset listerioosi (sümptomiteks näiteks meningiit, septitseemia) ja mitteinvasiivset listerioosi (sümptomiks seedetrakti häired või haiguse asümptomaatiline kulg) (Jadhav et al., 2013). Riskigrupi kuuluvad eelkõige rasedad, vastündinud ning vanurid. Invasiivsesse listerioosi haigestumist esineb suhteliselt harva, kuid enamikel juhtudel vajavad patsiendid haiglaravi ning haigestunute suremus on kõrge.

Esinenud haiguspuhangute põhjuseks on peamiselt olnud *L. monocytogenes*'ega kontamineerunud (sh värskete, toorete või ebapiisavalt kuumtöödeldud) ja ristsaastunud loomsete toiduainete tarvitamine (Hächler et al., 2013; Castro et al., 2012). Listerioosi inkubatsiooniperioodi pikkuseks võib olla 3 kuni 70 päeva, keskmiselt 3 nädalat, mis raskendab haigustekitajatega kontamineerunud toote kui nakkusallika tuvastamist (Hächler et al., 2013).

Eestis on listerioosi haigestunute arv olnud madal. Aastatel 2004-2012 on listerioosi haigestunuid kokku 30 inimest, keskmine haigestumus 100 000 elaniku kohta on 0,27 (Terviseamet, 2014b). Terviseameti andmetel (2012) on haigestunute seas peamiselt vanemad inimesed, vanuses üle 50 eluaasta ning nende seas domineerivad mittetöötavad elanikud (sh pensionärid). Haigestumisi on esinenud aastaringselt ning Eesti eri piirkondades. Kui Eestis oli 2011. aastal 3 listerioosi juhtu, s.o 0,2 juhtu 100 000 elaniku kohta (Terviseamet, 2014b), siis võrdluseks, 2011. aastal esines Euroopa Liidus ühtekokku 1476 listerioosijuhtu, millest 12,7% lõppes surmaga, ja keskmine haigestumus 100 000 elanike kohta oli 0,32 (EFSA, 2013).

4. Ülevaade riskifaktoritest

L. monocytogenes't peetakse väga oluliseks toidupatogeeniks, kuna *L. monocytogenes*'ega kontamineerunud toidu tarbimine kujutab tõsist ohtu inimeste tervisele (Hächler et al., 2013; Castro et al., 2012; Yde et al., 2012).

Põhilised toidupõhised riskifaktorid, mida seostatakse listerioosi haiguspuhangutega, on järgmised (Food Safety, 2005):

- valmistoit (RTE, ingl. k. *ready-to-eat*);
- toiduained, mida säilitatakse külmkapi temperatuuridel;
- toiduained, millel on väga pikk säilivusaeg;
- toit, mida ei ole kuumtöödeldud piisavalt kõrgetel temperatuuridel (vähemalt 3 sekundit temperatuuril 71,7 °C) hävitamiseks *L. monocytogenes*'t;
- toiduained, mis soodustavad *L. monocytogenes*'e kasvu;
- toiduained, mida tarbivad riskirühma kuuluvad inimesed (rasedad, vanurid jne);
- toiduained, mis on kuumtöötlemisjärgselt saastunud.

L. monocytogenes'e suhtes kõrge riski kategooriasse kuuluvad eeskätt RTE liha- ja kalatooted (Jadhav et al., 2013), aga ka teatud piimatooted ja köögiviljad. Toiduainetest on tavaliselt *L. monocytogenes*'ega kontamineerunud näiteks frankfurterid, wrapid, pasteet, suitsulõhe, fermenteeritud toored vorstid, aga ka pehme juust, toorpiim, kapsasalat jne (Food Safety, 2005). *L. monocytogenes*'e kõrgeid esinemismäärasid (20,5-42,1%) on tuvastatud suitsukalatoodetes, majoneesi baasil valmistatud delikatesssalatites, hakklihas ning viilutatud ja seejärel vaakumpakendatud salaami toodetes (Di Pinto et al., 2010; Garrido et al., 2009; Van Coillie et al., 2004). Listerioosipuhanguid on põhjustanud näiteks lihatoodete (Hächler et al., 2013; Smith et al., 2010), kalatoodete (Lyytikäinen et al., 2000; Miettinen et al., 1999), juustu (Yde et al., 2012; Castro et al., 2012; Bille et al., 2006) ja teiste piimatoodete (Centers for Disease Control and Prevention, 2008; Lyytikäinen et al., 2000) ning salati (Vit et al., 2007) tarbimine.

L. monocytogenes'e miinimumarvukus, mille olemasolu toiduaines kutsub esile selle tarbimisel haigestumise, on ebaselge. Põhjus selles, et listerioosipuhanguid on seostatud nii toiduainetega, mis sisaldasid *L. monocytogenes*'t <100 pmü/g/ml (Yde et al., 2012) kui ka toiduainetega milles haigustekitaja arvukus oli kõrgem kui 100 pmü/g/ml kohta (Pichler et al., 2009). *L. monocytogenes*'e arvukus tootes vahemikus 10-100 pmü/g ei ole rahuldav tulemus ning arvukus >100 pmü/g/ml ei ole vastuvõetav (Nørrung et al., 1999). Ollakse seisukohal, et potentsiaalset ohtu tarbijate tervisele kutsuvad esile tooted, kus *L. monocytogenes*'e arvukus on >100 pmü/g/ml (EFSA, 2013; Hächler et al., 2013). EFSA (2013) andmetel ületas *L. monocytogenes*'e suhtes kehtestatud 100 pmü/g piirmäär 1,7% uuritud kalaproovidest, 0,43% lihaproovidest ja 0,06% juustuproovidest.

Vastavalt Komisjoni Määrusele (EÜ) nr. 1441/2007, kehtib valmistoodetele reegel, et 100 pmü-d grammi toote kohta ei tohi saada ületatud kogu toote kõlblikkusaja jooksul (n=5, c=0). Toiduainetes, mis soodustavad *L. monocytogenes*'e kasvu, ei tohi antud patogeeni esineda 25 grammis tootes (n=5, c=0) selle valmistamise lõpus. Erand kehtib siis, kui tootja suudab tõestada, et kogu säilivusaja jooksul ei saa kriteerium 100 pmü-d grammi toote kohta ületatud. Juhul, kui järgitakse piinormi „alla 100 pmü/g/ml“ või „puudub 25 milliliitris või grammis“, siis kutsub see esile vaid üksikute listerioosijuhtumite esinemise. Reaalne oht inimeste tervisele esineb eelkõige siis, kui tooted sisaldavad *L. monocytogenes*'t tunduvalt rohkem kui 100 pmü/g/ml.

5. Potentsiaalse riski hindamine

5.1. *L. monocytogenes* toores lihas ja lihatoodetes

Tabel 1 annab ülevaate toorliha ja toorlihatoodete saastumismääradest *L. monocytogenes*'ega. Teadusuuringud on näidanud, et linnulihas on *L. monocytogenes*'e saastumismäärad olnud väga kõrged, näiteks 76,5% Kreekas (Samelis, 1999), 62,3% Soomes (Miettinen et al., 2001), 60% Portugalis (Mena et al., 2004) ja 50,5% Norras (Rørvik et al., 2003). Siiski hiljutine Kramarenko et al. (2013) uuring näitas, et Eestis oli vaid 0,95% linnulihaproovidest kontamineerunud *L. monocytogenes*'ega, samas kui varasemas Eesti uuringus oli see näitaja koguni 72,3% (Praakle-Amin et al., 2006).

Tabel 1. Toorliha ja toorlihatoodete saastumismäärad *Listeria monocytogenes*'ega

| Riik | Liha | Proovide arv | Esinemis-sagedus (%) | Viide |
|-------------|-----------|--------------|----------------------|-------------------------------|
| Kreeka | linnuliha | 17 | 76,5 | Samelis, 1999 |
| Eesti | linnuliha | 231 | 72,3 | Praakle-Amin et al., 2006 |
| Soome | linnuliha | 61 | 62,3 | Miettinen et al., 2001 |
| Portugal | linnuliha | 15 | 60,0 | Mena et al., 2004 |
| Norra | linnuliha | 95 | 50,5 | Rørvik et al., 2003 |
| Hispaania | linnuliha | 158 | 36,0 | Vitas & Garcia-Jalon, 2004 |
| Iirimaa | linnuliha | 80 | 17,5 | Soultos et al., 2003 |
| Eesti | linnuliha | 105 | 0,95 | Kramarenko et al., 2013 |
| Kreeka | sealiha | 34 | 38,2 | Samelis, 1999 |
| Holland | sealiha | 296 | 36,1 | van den Elzen, Snijders, 1993 |
| Prantsusmaa | sealiha | 121 | 33,9 | Thevenot et al., 2005 |
| Eesti | sealiha | 76 | 21,1 | Kramarenko et al., 2013 |
| Bulgaaria | sealiha | 122 | 4,9 | Karakolev, 2009 |
| Saksamaa | sealiha | 179 | 3,4 | Meyer et al., 2011 |
| Holland | veiseliha | 94 | 12,8 | van den Elzen, Snijders, 1993 |
| Eesti | veiseliha | 50 | 12,0 | Kramarenko et al., 2013 |
| Bulgaaria | veiseliha | 125 | 6,4 | Karakolev, 2009 |
| Saksamaa | veiseliha | 190 | 1,6 | Meyer et al., 2011 |

Linnuliha saastumise põhjuseks võib olla kas *L. monocytogenes*'e esinemine broilerikarjades või kontaminatsiooni levik tapamajas ja/või tootmisettevõttes. Aury et al. (2011) uuring näitas, et 31,7% broilerikarjadest osutusid Prantsusmaal *L. monocytogenes*'e suhtes positiivseks. Nimetatud uuringu raames teostatud riskihindamine näitas, et *L. monocytogenes*'e esinemissagedus suurenes märkimisväärselt, kui farmerid ei pidanud kinni bioohutuse meetmetest. Võrdluseks, Kanarat et al. (2011) leidsid, et broilerikarjad olid enne tapamajja toomist *L. monocytogenes*'e vabad, kuid 2,5% külmutatud linnulihaproovidest ning 0,2% külmutatud RTE linnulihatoodetest osutusid siiski *L. monocytogenes*'e suhtes positiivseks. Samas uuringus leiti, et kontaminatsioon pärines ettevõtte tootmiskeskonnast, saastunud seadmetelt, töövahenditelt ja/või töötajatelt. Järeldati, et nii tapamajas kui tootmisettevõttes esines hea hügieenitava ja hea tootmistava nõuete rikkumisi.

Sealiha uuringud on näidanud, et 38,2% Kreekas (Samelis, 1999), 36,1% Hollandis (van den Elzen & Snijders, 1993), 33,9% Prantsusmaal (Thevenot et al., 2005) ja 21,1% Eestis (Kramarenko et al., 2013) uuritud proovidest olid *L. monocytogenes*'e suhtes positiivsed. Võrreldes linnuliha ja sealihaga saastumismääradega, on veiseliha mõnevõrra vähem saastunud *L. monocytogenes*'ega. Uuringud näitavad, et 12,8% Hollandis (van den Elzen, Snijders, 1993), 12% Eestis (Kramarenko et al., 2013), 6,4% Bulgaarias (Karakolev, 2009) ja 1,6% Saksamaal (Meyer et al., 2011) analüüsitud toorest veiselihast olid *L. monocytogenes*'e suhtes positiivsed.

Hellström et al. (2010) leidis, et sealihaga saastumine *L. monocytogenes*'ega pärineb farmist. Nimetatud uuringus oli 11% sööda ja allapanuproovidest, 1% kloaagitampooniproovidest, 1% soolesisaldise proovidest, 24% tonsillidest, 1% rümpadest ning 4% tükiliha toodetest *L. monocytogenes*'ega saastunud. Samad *L. monocytogenes*'e genotüübid avastati nii farmist kui sealihaga töötlemise ahelast. On leitud, et peamine viis, kuidas *L. monocytogenes*'e kontaminatsioon jõuab ettevõttesse ja sealt edasi toodetesse, on saastunud tooraine kaudu (Berziņš et al., 2010). Mitmed teadusuuringud on näidanud seost *L. monocytogenes*'e esinemisel ettevõtte tootmiskeskonnas ja –pindadel ning RTE lõpptoote saastatuse vahel (Berziņš et al. 2007; Heir et al., 2004). Berziņš et al. (2007) uuringus varieerus *L. monocytogenes*'e esinemine RTE külmsuitsusealihas vahemikus 0-67% Läti toodetes ja 10-73% Leedu toodetes. Samas uuringus leiti, et tõenäoliselt toimus külmsuitsusealiha saastumine *L. monocytogenes*'ega soolvee pritsimise käigus.

Teadusuuringud kinnitavad, et tooraine ja töödeldud toiduained võivad *L. monocytogenes*'ega saastuda ka ristsaastumise teel tööstuse seadmete, toiduga kokkupuutuvate pindade ja töötajate riietuse kaudu (Berziņš et al., 2010; Keto-Timonen et al., 2007). Kõige enam on *L. monocytogenes*'ega saastunud olnud näiteks konveierid, jahutid, viilutusseadmed, lõikeriistad, soolamisseadmed, mida on raske puhastada ja desinfitseerida (Berziņš et al., 2010; Keto-Timonen et al., 2007; Autio et al., 1999).

Listerioosi haiguspuhangud on enamasti olnud seotud viilutatud ja seejärel pakendatud lihatoodete, sh singiga. Hächler et al. (2013) uuringus leiti seos Šveitsis esinenud 9 listerioosi juhtumi ja singis leitud *L. monocytogenes*'e vahel. Sama tüvi, mis isoleeriti listerioosi haigestunult, leiti ka müügil olnud singist. Kahes singiproovis oli *L. monocytogenes*'e arvukus rohkem kui 100 pmü/g, vastavalt 470 pmü/g ja 4800 pmü/g. Ettevõtte inspekterimisel selgus, et sink ei olnud saastunud tootmisettevõttes, vaid tütarettvõttes, kus toimus singi viilutamine ja pakkimine. Prantsusmaal registreeriti 1993. aastal listerioosi haiguspuhang, kus haigestus 38 inimest singikonservide söömise tagajärjel (Goulet et al., 1998). Selles juhtumis leiti, et kõige tõenäolisem *L. monocytogenes*'e allikas ettevõttes oli konservliha tootmisel toorainena kasutatud sealiha, kuigi searümpade päritolu ei suudetud kindlaks teha. *L. monocytogenes*'e kontaminatsioon jõudis ettevõttesse saastunud toorainega. Selle tulemusena leiti samasid *L. monocytogenes*'e genotüüpe nii ettevõtte tootmispindadel kui ka pakkeseadmetel. Lihakonservid saastusid konservpurkide täitmise ajal. Haiguspuhangu põhjuseks peeti ettevõttes märkimisväärselt suurenenud tootmismahтусid ning sellest tingitud seadmete desinfitseerimisaja lühendamist konkreetsel perioodil.

Läti uuringus (Berziņš et al., 2007) leiti, et 30% RTE vaakumpakendatud ja viilutatud lihaproovidest olid *L. monocytogenes*'e suhtes positiivsed. Nendest toodetest kõige enam olid kontamineerunud külmsuitsulihatooded (40%) ja vähemal määral esines kontaminatsiooni keedetud ja kuumsuitsulihatoodetes (0,8%). Samas Läti uuringus (Berziņš et al., 2007) leiti, et 95% *L. monocytogenes*'e isolaatidest kuulusid 1/2a ja 1/2c serogruppi, samal ajal kui vaid 5% isolaatidest kuulusid 1/2b, 3b ja 4b serogruppi.

Awaisheh (2010) leidis, et 19,2% RTE veiselihatoodetest ja 15% RTE linnulihatoodetest olid kontamineerunud *L. monocytogenes*'ega, kusjuures vaid ühes RTE veiselihatootes ületas *L. monocytogenes*'e arvukus 100 pmü/g piirmäära.

Kuumtöödeldud linnulihatoodetest on Taanis olnud 7,3% (Ojeniyi et al., 2000), Hispaanias 6,8% (Cabedo et al., 2008), Inglismaal 3,2% (Nichols et al., 1998) *L. monocytogenes*'e suhtes positiivsed. Lätis (Berzinš et al., 2009) ja Kreekas (Angelidis, Koutsoumanis, 2006) kuumtöödeldud linnulihatoodetes *L. monocytogenes*'t ei leitud.

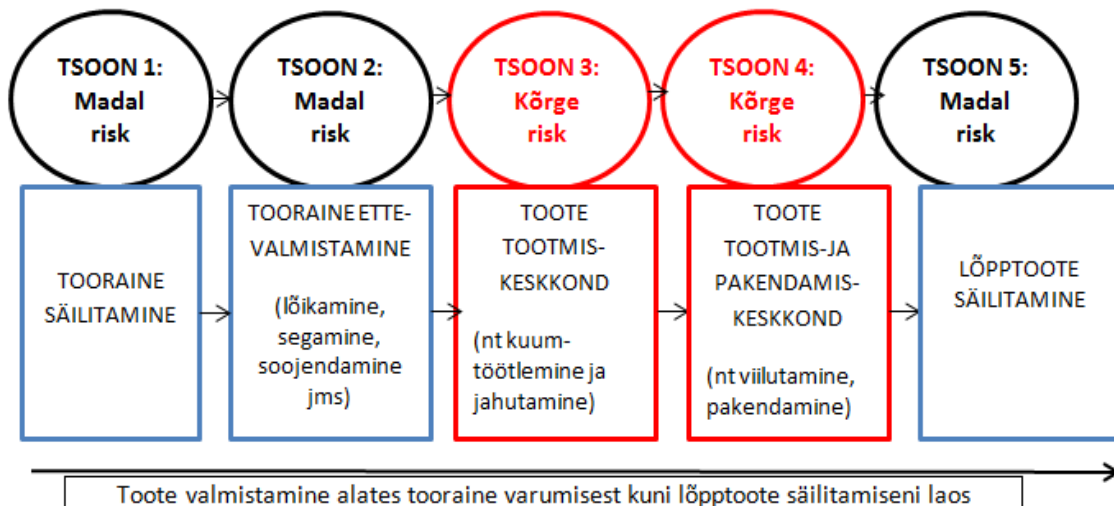
Kuumtöödeldud lihatoodete proovidest on Kreekas olnud 9,4% (Angelidis & Koutsoumanis, 2006), Taanis 8,7% (Nørrung et al., 1999), Šveitsis 5,9% (Jemmi et al., 2002), Hispaanias 1,8% (Cabedo et al., 2008) ja Rootsis 1,1% (Lambertz et al., 2012) *L. monocytogenes*'e suhtes positiivsed. Lätis (Berzinš et al., 2009) kuumtöödeldud lihatoodetes *L. monocytogenes*'t ei leitud. Mena et al. (2004) uuringus selgus, et Portugalis oli kõige enam *L. monocytogenes*'ega saastunud sink (25% proovidest positiivsed), suitsuvorstides aga listeriaid ei leitud.

Wong et al. (2005) uuringus analüüsiti säilivusaja lõpus 104 RTE singiproovi, kuid vaid üks proov (1%) sisaldas *L. monocytogenes*'t (arvukuses 50 pmü/g). Samas uuringus leiti, et vaid 0,3% (n = 1) pasteediproovidest (ingl k. *pâté*) olid *L. monocytogenes*'e suhtes positiivsed. Positiivseks osutunud proov sisaldas *L. monocytogenes*'t kõrgel arvukusel ehk 1700 pmü/g (Wong et al., 2005). Võrdluseks, Dominguez et al. (2001) leidis, et 5,4% pasteediproovidest (ingl k. *pâté*) olid *L. monocytogenes*'e suhtes positiivsed ning üks proov sisaldas nimetatud patogeeni >100 pmü/g.

Uus-Meremaal registreeriti listerioosi haiguspuhang, mille kutsus esile pika säilivusajaga singi söömine (Sim et al., 2002; Whyte, 2000). Nimetatud singiproovis oli *L. monocytogenes*'e arvukus $1,8 \times 10^7$ pmü/g. See haiguspuhang näitas, et pika säilivusajaga RTE toode kujutab endast ohtu isegi siis, kui seda on korrektselt säilitatud madalatel temperatuuridel. Cornelius et al. (2008) leidis, et kokku 4,3% pakendamata singiproovidest sisaldas *L. monocytogenes*'t. Nimetatud uuringus kokku kahes proovis tuvastati *L. monocytogenes*'e arvukus >100 pmü/g, milledest ühes proovis oli arvukus $1,6 \times 10^3$ pmü/g ja teises $1,5 \times 10^2$ pmü/g. Sim et al. (2002) uuringus tõdeti, et listerioosi puhanguid on esile kutsunud nii RTE võileiva sink (*L. monocytogenes*'e arvukus <100 pmü/g), RTE veiseliha (*L. monocytogenes*'e arvukus $10^5 \dots 10^6$ pmü/g) kui RTE sink, milles oli *L. monocytogenes*'e arvukus 10^7 pmü/g.

Listerioosi haigestumise üksikjuhtumeid on põhjustanud USAs näiteks frankfurteri vorst, mis sisaldas *L. monocytogenes*'t arvukuses >1100 pmü/g (avatud pakendis patsiendi külmikus), kuid jaemüügi tasandil müügil olnud samas pakendatud tootes oli *L. monocytogenes*'e arvukus <0,3 pmü/g (Barnes et al., 1989). Kodustes tingimustes valmistatud vorst oli 1989. aastal listerioosi üksikjuhtumi põhjustajaks Itaalias, kus kontamineeritud vorstist leiti *L. monocytogenes*'t arvukuses $2,7 \times 10^6$ pmü/g (Cantoni et al., 1989).

Lihatooteid peetakse tähtsaimaks *L. monocytogenes*'e allikaks, mis võib esile kutsuda listerioosi. Siinkohal on oluline hoida toore liha saastumismäär *L. monocytogenes*'ega võimalikult madal. Toorliha kõrge *L. monocytogenes*'e arvukuse korral suureneb oht ettevõtte tootmiskeskonna saastumiseks. Eriti sel juhul, kui hügieenitsoonid ettevõttes ei ole piisaval määral eraldatud. Tompkin'i (2002) uuringus on leitud, et *L. monocytogenes*'e leviku piiramiseks tuleks tootmisettevõtte jagada poolkinnisteks tsoonideks, mis kontaminatsiooni korral võimaldab kiirelt tuvastada saastatuse algallikad. Joonisel 2 on näha, et kõrge risk esineb eeskätt tsoonis 3 ja 4, kui tootmiskeskonnas toimub toote kuumtöötlemine ja jahutamine ning sellele järgnev toote pakendamine.



Joonis 2. Toiduainetetööstuse tasandil hügieenitsoonid (koostatud: Food Safety, 2005 järgi)

5.2. *L. monocytogenes* toores kalas ja kalatoodetes

Tabelis 2 on näidatud *L. monocytogenes*'e esinemas toorkalas ja kalatoodetes. Uuringutulemused on näidanud, et Inglismaal on 35% uuritud toorkalaproovidest kontamineerunud *L. monocytogenes*'ega (Dauphin et al., 2001). Teistes riikides on see näitaja mõnevõrra madalam, 14,6% Soomes (Miettinen, Wirtanen, 2005), 12% Portugalis (Mena et al., 2004), 8,8% Eestis (Kramarenko et al., 2013) ja 7% Norras (Fonnesbech Vogel et al., 2001).

Tabel 2. Toorkala ja kalatoodete saastumine *L. monocytogenes*'ega

| Riik | Kala | Proovide arv | Esinemis- sagedus (%) | Viide |
|-------------|----------------------|--------------|--------------------------|-------------------------------|
| Inglismaa | toorkala | 33 | 35,0 | Dauphin et al., 2001 |
| Soome | toorkala | 103 | 14,6 | Miettinen, Wirtanen, 2005 |
| Portugal | toorkala | 25 | 12,0 | Mena et al., 2004 |
| Eesti | toorkala | 317 | 8,8 | Kramarenko et al., 2013 |
| Norra | toorkala | 217 | 7,0 | Fonnesbech Vogel et al., 2001 |
| Soome | toorkala | 60 | 2,0 | Autio et al., 1999 |
| Itaalia | toorkala | 26 | 0 | Pourshaban et al., 2000 |
| Šveits | kuumsuitsukalatooted | 471 | 12,1 | Jemmi et al., 2002 |
| Eesti | kuumsuitsukalatooted | 197 | 5,6 | Kramarenko et al., 2013 |
| Rootsi | kuumsuitsukalatooted | 113 | 1,8 | Lambertz et al., 2012 |
| Soome | kuumsuitsukalatooted | 48 | 2,1 | Johansson et al., 1999 |
| Eesti | külmsuitsukalatooted | 70 | 32,9 | Kramarenko et al., 2013 |
| Hispaania | külmsuitsukalatooted | 170 | 22,4 | Dominguez et al., 2001 |
| Rootsi | külmsuitsukalatooted | 206 | 15,5 | Lambertz et al., 2012 |
| Šveits | külmsuitsukalatooted | 814 | 14,0 | Jemmi et al., 2002 |
| Soome | külmsuitsukalatooted | 356 | 12,9 | Hatakka et al., 2002 |
| Prantsusmaa | külmsuitsukalatooted | 1010 | 10,3 | Beaufort et al., 2007 |
| Taani | külmsuitsukalatooted | 1000 | 5,9 | Fonnesbech Vogel et al., 2001 |

RTE kalatooteid peetakse *L. monocytogenes*'e suhtes kõrge riskiastmega toodeteks. Kuumsuitsukalatoodete uuringud on näidanud, et 12,1% Šveitsis (Jemmi et al., 2002), 5,6% Eestis (Kramarenko et al., 2013) ja keskmiselt 2% Rootsis ja Soomes (Lambertz et al., 2012; Johansson et al., 1999) uuritud proovidest olid *L. monocytogenes*'e suhtes positiivsed.

Külmsuitsukalatooted on oluliselt rohkemal määral kontamineerunud *L. monocytogenes*'ega kui kuumsuitsukalatooted. Eestis oli 32,9% külmsuitsukalatoodete proovidest positiivsed *L. monocytogenes*'e suhtes (Kramarenko et al., 2013). Võrdluseks, 22,4% Hispaanias (Dominguez et al., 2001), 15,5% Rootsis (Lambertz et al., 2012), 14% Šveitsis (Jemmi et al., 2002), 12,9% Soomes (Hatakka et al., 2002), 10,3% Prantsusmaal (Beaufort et al., 2007) ja 5,9% Taanis (Fonnesbech Vogel et al., 2001) uuritud külmsuitsukalatoodetest olid positiivsed *L. monocytogenes*'e suhtes. Prantsusmaal (Beaufort et al., 2007), Islandil (Gudbjörnsdóttir et al., 2004) ja Jaapanis (Nakamura et al., 2004) on *L. monocytogenes*'e esinemissagedus külmsuitsukalal olnud vahemikus 4-13%.

Mitmed uuringud on leidnud, et külmsuitsukalatoodete kontaminatsioon *L. monocytogenes*'ega on toimunud tootmise ajal kas seadmete või keskkonna kaudu (Dauphin et al., 2001; Vogel et al., 2001). Näiteks 1997. aastal haigestus Soomes 5 inimest listerioosi vaakumpakendatud külmsuitsuforelli söömise tagajärjel ning selles juhtumis isoleeriti sama *L. monocytogenes*'e tüvi nii tootest kui ettevõtte tootmispindadelt (Miettinen et al., 1999).

Dauphin et al. (2001) uuring näitas, et tootmisettevõttes isoleeriti külmsuitsulõhelt *L. monocytogenes*'e tüvi, mida ei leitud toorkalal, küll aga tootmiskeskkonnas, ning suure tõenäosusega leidis saastumine aset lõpptoote viilutamise ajal. Lõpptoote viilutamine on väga oluliseks kriitiliseks kontrollpunktiks toidu tootmise ahelas, millest tingituna tuleb antud viilutamisseadmetele rakendada erilist sanitatsiooni, et viia miinimumini lõpptoote *L. monocytogenes*'ega saastumisvõimalus. Vaakumpakendatud külmsuitsulõhet peetakse kõrge riskiga tooteks, kuna selle toote soola kontsentratsioon, pH ja veeaktiivsus on sellistes piirides, mis võimaldab *L. monocytogenes*'e kasvu toote realiseerimisajal (Rorvik et al., 2000). Suitsukalatoodetes on leitud *L. monocytogenes*'e esinemismääraks Põhja-Itaalias 34,1% (Di Pinto et al., 2010), Belgias 33,3% (Van Coillie et al., 2004), Põhja-Hispaanias 25% (Garrido et al., 2009) ja Poolas 0,88% (Kwiatak, 2004). Jemmi et al. (2002) poolt läbi viidud Šveitsi uuringus selgus, et aastatel 1992-2000 oli kõrgeim *L. monocytogenes*'e risk (38% proove positiivseid) seotud eelkõige marineeritud kalaga.

Kuigi *L. monocytogenes*'e levik ja esinemissagedus RTE toodetes võib olla kõrge, jääb *L. monocytogenes*'e arvukus üldjuhul suitsukalatoodetes madalaks, alla 10 pmü/g (Beaufort et al., 2007; Meldrum et al., 2010). Siiski on leitud, et mõnedes suitsukalatoodete proovides on *L. monocytogenes*'e arvukus ületanud 100 pmü/g piirmäära näiteks Belgias (Van Coillie et al., 2004). Samalaadse näite võib tuua ka Soome kohta, kus aastatel 1996-1998 ühtekokku 8-25% vaakumpakendatud suitsu- ja külmsoolatud kalatooteid sisaldasid *L. monocytogenes*'t (Lyytikäinen et al., 2000). Samas uuringus selgus, et arvukused enamikes uuritud toodetes olid madalad (<100 pmü/g), kuid esines ka tooteid milles *L. monocytogenes* arvukus oli koguni 1000-20 000 pmü/g.

Taani uuringus selgus, et kõrgemad *L. monocytogenes*'e esinemismäärad (34-60%) olid külmsuitsulõhes, kus oli ka kõrgeim *L. monocytogenes*'e arvukus (>1000 pmü/g). Madalamad esinemismäärad (4-12%) tuvastati kuumtöödeldud ning soolatud mereandides (Jørgensen, Huss, 1998). Cortesi et al. (1997) uuringus 19% külmsuitsulõheproovidest Itaalias olid *L. monocytogenes*'e suhtes positiivsed ning kõrgeim tuvastatud arvukus oli neis >1100 pmü/g. Selles uuringus leiti, et *L. monocytogenes*'e kõrge arvukus oli tingitud peamiselt juhuslike (koolitamata) töötajate kasutamisest toodete viilutamise ja pakkimise etapis. Loncarevic et al. (1996) poolt Rootsis läbi viidud uuringus leiti, et 11,5% külmsuitsukala ja 1,5% (üks proov) kuumsuitsukalaproovi olid *L. monocytogenes*-positiivsed. Selles uuringus oli märkimisväärne leid see, et jaemüügi tasandilt võetud proovides oli *L. monocytogenes* arvukus paljudes proovides väga kõrge (kõrgeim arvukus oli 132 000 pmü/g). Dominguez et al. (2001) uuringus sisaldasid 52% positiivsetest suitsukalaproovidest *L. monocytogenes*'t arvukuses >100 pmü/g. Võrdluseks, USAs olid suitsukalaproovid vähesel määral saastunud (keskmiselt 4%), kuid kõrgeim arvukus positiivsetes proovides oli >100 000 pmü/g (Gombas et al., 2003).

RTE kalatooted (sh suitsutatud) on olnud mitmete listerioosipuhangute põhjustajaks (Lyytikäinen et al., 2000; Tham et al, 2000; Miettinen et al., 1999; Ericsson et al., 1997). Näiteks Rootsis haigestus aastatel 1994-1995 kokku 9 inimest, kelledest 2 surid, suitsutatud mereandide söömise tagajärjel listerioosi (Tham et al, 2000). Nimetatud juhtumist leiti, et suitsutatud mereannid (molluskid, forell) olid saastunud *L. monocytogenes*'ega arvukuses 100-1 000 000 pmü/g.

5.3. *L. monocytogenes* toorpiimas ja piimatoodetes

Piimafarmis toorpiima saastumine *L. monocytogenes*'ega on üsna tõenäoline, hoolimata sellest, et farmides rakendatakse häid hügieenitavasid (Ruusunen et al., 2013). Seda kinnitab tõsiasi, et lüpsilehmi ümbritsevas keskkonnas (laudas ja karjamaal) on *L. monocytogenes* väga levinud mikroob (Martin ja Fisher, 2000). Nii on toorpiima saastumise peamiseks allikaks listeeriatega kokku puutunud lüpsilehmad ning listeeriatest saastunud udarad. Juhtudel, kus toorpiima tootmishügieenis esineb puudusi (näiteks lüpsihügieeninõudeid ei ole piisaval määral järgitud) või on toorpiima tootmisel farmi personal rikkunud hügieenieeskirju, siis võib *L. monocytogenes* sageli esineda toorpiimas ja sellest valmistatud piimatoodetes (Lundén et al., 2004). Farmi tasandil on ebapiisavalt pestud ja desinfitseeritud seadmed ning nende pindadel listeeriate poolt moodustatud biokirme olnud sageli toorpiima kontaminatsiooni allikaks (Latorre et al., 2010; Lundén et al., 2000; Miettinen et al., 1999). Kui *L. monocytogenes* on toorpiima sattunud, siis on ta võimeline paljunema ka madalatel säilitustemperatuuridel (Kasalica et al., 2011; Hudson et al., 1994) ja erinevate pH väärtuste juures (Farber et al., 1989), mis võimaldab patogeenil paljuneda toorpiimas sel määral, et võib kujutada ohtu ka inimese tervisele. Toorpiima järjest suurenevat tarbimist on arenenud riikides seostatud haiguspuhangute sagedasema esinemisega (Langer et al., 2012; Newkirk et al., 2011; Oliver et al., 2009). Nii on toorpiima ja sellest valmistatud piimatoodete tarbimist seostatud mitmete listerioosi puhangutega Euroopas (Lundén et al., 2004). Kirjanduse andmetel tarbib kogu rahvastikust 1-3% toorpiima ja sellest valmistatud piimatooteid just kuumtöötlemata kujul (Langer et al., 2012; Centers for Disease Control and Prevention, 2002–2003). Piima pastöriseerimine on aga kõige efektiivsem meetod hävitamiseks *L. monocytogenes*'t piimas ning piimatoodetes (Lejeune ja Rajala-Schultz, 2009).

L. monocytogenes'e esinemismäärad toorpiimaproovides on esitatud tabelis 3. Kirjanduse andmetel esineb *L. monocytogenes*'t madalates kontsentratsioonides (<10 pmü/ml) regulaarselt farmi tankipiimas (Ryser, 2002). Meyer-Broseta et al. (2003) uuringus selgus, et kuigi 2,4% toorpiimaproovidest olid *L. monocytogenes*'e suhtes positiivsed, siis farmi tankipiimas *L. monocytogenes*'e arvukus oli väga madal, keskmiselt 0,1 pmü/ml. Kasalica et al. (2011) uuring näitas, et keskmiselt 2,5-6% toorpiima proovidest on kontamineerunud *L. monocytogenes*'ega.

Tabelis 3 selgub, et kõrgemad *L. monocytogenes*'e esinemissagedused toorpiimas on tuvastatud Eestis (18,1%), Šotimaal (15,6%), Belgias (6%), Prantsusmaal (5,8%) ja Soomes (5,5%) (Kramarenko et al., 2013; Ruusunen et al., 2013; Jay et al., 2005; De Reu et al., 2004; Desmaures et al., 1997). Ruusunen et al. (2013) uuring näitas, et Soomes jäävad *L. monocytogenes*'e arvukused toorpiimas vahemikku <1...30 pmü/ml. Samas ei ole nimetatud toidupatogeeni isoleeritud toorpiimas Lätis (Konosonoka et al., 2012), Norras (Mørk et al., 2003), Šveitsis ning Austrias (Stephan ja Bühler, 2002).

Tabel 3. *L. monocytogenes*'e esinemine toorpiimas

| Riik | Proovidest positiivseid | Kirjandusallikas |
|---------------|--------------------------------|---------------------------------------|
| Eesti | 18,1% | Kramarenko et al., 2013 |
| Šotimaa | 15,6% | Jay et al., 2005 |
| Belgia | 6% | De Reu et al., 2004 |
| Prantsusmaa | 5,8% | Desmaures et al., 1997 |
| Soome | 5,5% | Ruusunen et al., 2013 |
| Hispaania | 3,6...6,5% | Vilar et al., 2007; Gaya et al., 1998 |
| Holland | 4,4% | Beckers et al., 1987 |
| Inglismaa | 3% | Sagoo et al., 2003 |
| Tšehhi | 2,1% | Navratilova et al., 2004 |
| Iirimaa | 2% | Francis & O'Beirne, 2006 |
| Austria | 1,5% | Deutz et al., 1999 |
| Põhja-Itaalia | 1% | Giacometti et al., 2012 |
| Rootsi | 1% | Waak et al., 2002 |
| Läti | 0% | Konosonoka et al., 2012 |
| Norra | 0% | Jakobsen et al., 2011 |
| Šveits | 0% | Stephan ja Bühler, 2002 |
| Austria | 0% | Wagner et al., 2007 |

Toorpiimaga või toorpiimast valmistatud piimatoodetega seotud listerioosipuhanguid on registreeritud näiteks 1997. aastal Prantsusmaal (Goulet et al., 1995; Ryser, 1999), 1986. aastal Austrias (Allenberger, Guggenbichler, 1989) ning aastatel 1949-1957 Saksamaal (Seeliger, 1961) (Tabel 5). Piimatoodetest on listerioosipuhangud olnud eeskätt seotud juustude tarbimisega (Yde et al., 2012; Fretz et al., 2010).

Erinevates riikides teostatud uuringud on näidanud, et 2,2% Itaalias (Prencipe et al., 2010), 1,4% Norras (Jakobsen et al., 2011), 0,39% Rootsis (Lambertz et al., 2012) ja 0,3% Hispaanias (Cabedo et al., 2008) uuritud juustuproovidest on olnud *L. monocytogenes*'e suhtes positiivsed. Haigestumisi pärast juustu tarbimist on esinenud eelkõige seetõttu, et *L. monocytogenes*'e arvukus juustudes on olnud kõrge (Castro et al., 2012; Fretz et al., 2010). Hispaanias registreeriti 2012. aastal juhtum, kus *L. monocytogenes*'ega saastunud juust põhjustas kahe inimese haigestumise (Castro et al., 2012). Nimetatud uuringus sisaldas 83% juustrproovidest listeeriat <100 pmü/g ja 17% proovidest >100 pmü/g. Ühes proovis oli *L. monocytogenes*'e arvukus 3.2×10^4 pmü/g.

Aastatel 2009-2010 aset leidnud listerioosipuhangu ajal haigestus 34 inimest nii Austrias, Saksamaal kui Tšehhis ning see oli tingitud saastunud „Quargel“ juustu tarbimisest (Fretz et al., 2010). Leiti, et 45% uuritud juustuproovidest sisaldas listeeriat >100 pmü/g, ning 55% sisaldas <100 pmü/g. 2007. aastal esines listerioosipuhang ka Norras, kus Brie ja Camembert'i juustudest leiti *L. monocytogenes*'t arvukuses koguni 6 000 000 pmü/g (Rapport, 2008). Võrdluseks, Belgias haigestus pastöriseeritud piimast valmistatud kõva juustu (nimega *Pavé du Nord*) tarbimisel listerioosi 12 inimest, kellest 4 surid (Yde et al., 2012). Uuringuks võetud juustuproovid osutusid *L. monocytogenes*'e suhtes positiivseks, kuid *L. monocytogenes*'e arvukus juustus oli madal, keskmiselt 20 pmü/g. Ka juustutööstusest võetud pinnaproovid olid *L. monocytogenes*'e suhtes positiivsed. Pärast seda, kui nimetatud juustutööstus võttis kasutusele ranged sanitatsioonimeetmed, rohkem selliseid haigusjuhtumeid antud ettevõttega seondvalt registreeritud ei ole. Bille et al. (2006) uuringus selgus, et listerioosipuhangu põhjustas juust, mis sisaldas *L. monocytogenes*'t, vahemikus 1000...10 000 pmü/g (ühes proovis kõrgem, 32 000 pmü/g). Ka selles uuringus tõdeti, et *L. monocytogenes*'t leidis laialdaselt juustutootmisettevõttes. Salamina et al. (1996) uuring näitas, et listerioosipuhangu põhjustanud koorejuust „canapé“ sisaldas *L. monocytogenes*'t arvukuses 460 000 pmü/g.

Kõik eeltoodud uuringud kinnitavad, et *L. monocytogenes* suudab ellu jääda ja/või paljuneda nii juustu tehnoloogilises protsessis juustude valmistamise kui laos juustu järelvalmimise ajal (Schvartzman et al., 2011). Võrdluseks on kirjanduses näiteid sellest, kuidas ühes Tšehhi uuringus 2,1% toorpiimaproovidest, 15% toorpiimaproovidest enne pastöriseerimist ja 5% pastöriseeritud piimaproovidest olid kontamineerunud *L. monocytogenes*'ega, kuid sellest valmistatud lõpptoode oli siiski listeeriate vaba (Navratilova et al., 2004).

Soomes aastatel 1998-1999 haigestus listerioosi 25 inimest, kellest 6 surid, või söömise tagajärjel (Lyytikäinen et al., 2000). Nimetatud puhangu põhjustas või saastumine pakendamise etapis ning kontamineeritud tootes oli *L. monocytogenes*'e arvukus üldjuhul <100 pmü/g, kuid ühes proovis määrati arvukuseks 11 400 pmü/g. Ka šokolaadipiim on olnud haiguspuhangu põhjustajaks, kontamineerunud tootest leiti *L. monocytogenes*'t 1×10^9 pmü/ml (Dalton et al., 1997) ning põhjuseks oli toote ristsaastumine kuumtöötlemisjärgselt seadmete kaudu.

Listerioosi haigestumise üksikjuhtumeid, kus haigestus vaid üks inimene piimatootte söömise tagajärjel, on põhjustanud Inglismaal näiteks kitsejuust, mis sisaldas *L. monocytogenes*'t (serotüüp 4b) arvukuses 4×10^7 pmü/g (Azadian et al., 1989), USAs Ricotto juust, mis sisaldas *L. monocytogenes*'t arvukuses 100...1 000 000 pmü/g (Ryser, Marth, 1999), ja Belgias jäätis, kust leiti nimetatud bakterit (serotüüp 4b) arvukuses 10 000 pmü/g (Andre et al., 1990).

Kuigi *L. monocytogenes*'e esinemist on tuvastatud juustus või juustulaadsetes toodetes (19,2% positiivseid) Taanis (Nørrung et al., 1999), RTE piimatoodetes (0,2% positiivseid) Hispaanias (Cabedo et al., 2008) ja 3% positiivseid proove Austrias (Wagner et al., 2007), ning 0,4% võis Inglismaal (Lewis et al., 2006), siiski mitte üheski proovis ei ületanud *L. monocytogenes*'e arvukus 100 pmü/g/ml piirmäära, vaid jäi <10 pmü/g/ml kohta. Lewis et al. (2006) uuringus leiti, et või oli sagedamini kontamineerunud *L. monocytogenes*'ega siis, kui see oli pakendatuna plastikkarpi ning tootmisettevõttes esines HACCP plaanis puudusi või kui töötajate teadmised toiduhügieenist olid puudulikud.

5.4. *L. monocytogenes* muudes toitudes (sh salatid)

Nii toored kui RTE köögiviljad (sh salatid) on olnud kontamineerunud *L. monocytogenes*'ga (Loncarevic et al., 2005; Sagoo et al., 2003; Nørrung et al., 1999). Tabelis 4 on esitatud *L. monocytogenes*'e levimus köögiviljades ja salatites. Kõrgeimad *L. monocytogenes*'e esinemissagedused on leitud Taani uuringus (Nørrung et al., 1999), kus 23,4% analüüsiks võetud kasvavatest ja viilutatud köögiviljadest olid kontamineerunud, ning Malaisias, kus 22,7% lehtköögiviljadest olid listeeriatest saastunud (Arumugaswamy et al., 1994). Nørrung et al. (1999) uuringus 98% positiivsetest proovidest sisaldas *L. monocytogenes*'t alla 100 pmü/g, kuid kahe proovi *L. monocytogenes* arvukused ületasid 100 pmü/g piirmäära.

Võrdluseks, Austria RTE puu- ja köögiviljades (Wagner et al., 2007), Inglismaa (Little et al., 1999) ja Hispaania (Oliveira et al., 2010) lehtsalatis *L. monocytogenes*'t ei leitud.

Tabel 4. *L. monocytogenes*'e esinemine köögiviljades ja nendest valmistatud salatites

| Riik | Tooted | Proovide arv | Esinemis-sagedus (%) | Viide |
|-----------|------------------------------------|--------------|----------------------|---------------------------|
| Taani | Kasvavad ja viilutatud köögiviljad | 350 | 23,4 | Nørrung et al., 1999 |
| Malaisia | Lehtköögiviljad | 22 | 22,7 | Arumugaswamy et al., 1994 |
| Eesti | Toorsalatid | 550 | 18,5 | Kramarenko et al., 2013 |
| Itaalia | Toored köögiviljad | 43 | 6,9 | Legnani et al., 2004 |
| Eesti | Puu- ja köögivili | 717 | 2,1 | Kramarenko et al., 2013 |
| Norra | Puu- ja köögivili | 890 | 0,3 | Johannessen et al., 2002 |
| Austria | RTE puu- ja köögiviljad | 314 | 0 | Wagner et al., 2007 |
| Inglismaa | Lehtsalat | 151 | 0 | Little et al., 1999 |
| Hispaania | Lehtsalat | 72 | 0 | Oliveira et al., 2010 |
| Belgia | Salat majoneesiga | 874 | 21,3 | Uyttendaele et al., 2009 |
| Belgia | Salat majoneesiga | 1187 | 6,7 | Uyttendaele et al., 1999 |
| Inglismaa | Lihasalat | 1268 | 6,0 | Little et al., 2007 |
| Taani | Köögiviljasalat lihaga | 3731 | 5,1 | Nørrung et al., 1999 |
| Inglismaa | Kalasalat | 1418 | 3,8 | Little et al., 2007 |
| Inglismaa | RTE salat köögiviljade baasil | 2950 | 2,9 | Sagoo et al., 2003 |
| Hiina | Köögiviljasalatid | 63 | 1,6 | Lin et al., 1996 |

RTE salatid on sageli olnud saastunud *L. monocytogenes*'ega, näiteks Belgias 21,3% majoneesiga salatist (Uyttendaele et al., 2009). Eestis oli 18,5% toorsalatitest *L. monocytogenes*'e suhtes positiivsed (Kramarenko et al., 2013). Loncarevic et al. (2005) uuring näitas, et orgaaniliselt kasvatatud lehtsalati 179 proovist kaks (1,1%) olid saastunud *L. monocytogenes*'ega, ning leiti, et kontaminatsioon leidis aset lehtsalati kasvatamise käigus.

Inglismaal läbi viidud uuring näitas, et 2,9% RTE köögiviljasalati proovidest, mis pärinesid tootlustusasetustest või kauplustest, olid *L. monocytogenes*'e suhtes positiivsed, ja üks proov ületas arvuliselt 100 pmü/g piirmäära (Sagoo et al., 2003). Nimetatud proovis oli *L. monocytogenes*'e arvukus 840 pmü/g kohta.

Hoolimata sellest, et *L. monocytogenes*'e esinemissagedus köögiviljades on üldjuhul madal, on registreeritud mitmeid listerioosi haiguspuhanguid, mida seostatakse RTE köögiviljade tarbimisega (Salamina et al., 1996; Ho et al., 1986; Schlech et al., 1983). Seepärast on järeldatud, et kui *L. monocytogenes*'t esineb tootes köögiviljades, siis ei suudeta seda täielikul määral eemaldada köögiviljade pesemise käigus (Carrasco et al., 2010).

Taanis läbi viidud uuring näitas, et 5,1% liha või köögiviljasalatist majoneesiga oli kontamineerunud *L. monocytogenes*'ega ning positiivsetest proovidest ühtekokku 17 proovis (9% juhtudest) oli *L. monocytogenes*'e arvukus >100 pmü/g (Nørrung et al., 1999). Lihasalatis oli kahes proovis (2,6% juhtudest) *L. monocytogenes*'e arvukus >100 pmü/g (Little et al., 2007). Lisaks salatitele on *L. monocytogenes*'e suhtes positiivseid proove leitud kondiitritoodete (4,1%) ning jahu (18,5%) uurimisel (Mena et al., 2004).

Listerioosi haigestumise üksikjuhtumeid on põhjustanud Soomes näiteks soolatud seemed, kus *L. monocytogenes*'e (serotüüp 4b) arvukus oli 1 000 000 pmü/g (Juntilla, Brander, 1989); Tasmaanias jõekarbid, kus *L. monocytogenes*'e arvukus oli $1,6 \times 10^7$ pmü/g (Brett et al., 1998); Kanadas tehiskrabiliha, kus *L. monocytogenes*'e arvukuseks määrati $2,1 \times 10^9$ pmü/g (Farber, 1997). USAs mereandidest valmistatud salatites kõrgeim *L. monocytogenes*'e arvukus oli vahemikus 100 kuni 1000 pmü/g ning *L. monocytogenes*'e levimus keskmiselt 5% (Grombas et al., 2003).

Taanis 10,7% (Nørrung et al., 1999), Hispaanias 8,9% (Cabedo et al., 2008), Belgias 11,1% (Uyttendaele et al., 2009) RTE einest oli kontamineerunud *L. monocytogenes*'ega. Kusjuures Taanis kolm proovi (Nørrung et al., 1999) ja Hispaanias üks proov (Cabedo et al., 2008) ületasid *L. monocytogenes*'e arvukuse 100 pmü/g.

6. Listerioosipuhangud

Listerioosi haiguspuhanguid on esinenud nii Euroopas kui USAs. Näiteks Cartwright et al. (2013) uuring annab põhjaliku ülevaate aastatel 1998-2008 USAs esinenud listerioosi haiguspuhangutest. Selles uuringus selgub, et nimetatud perioodil esines USAs 26 listerioosi haiguspuhangut, millest 24 leidis ametliku kinnituse. Haigestunuid oli 359, neist 215 hospitaliseeriti ja 38 haigestunut suri. Listerioosi puhangud olid tekkinud kas kontamineeritud pastöriseeritud piima, tuunisalati, meloni, Mexican-stiili juustu, teiste juustude, ja paljusid koostiscomponente sisaldavate toitude tarbimise tagajärjel.

Tabel 5 annab põhjaliku ülevaate nii Euroopas kui mujal maailmas esinenud listerioosi haiguspuhangutest. Tabel kajastab veel täiendavat informatsiooni haiguspuhangute kohta, näiteks millise toiduaine tarbimise tulemusena listerioos esines, kas on teada, mil määral oli toiduaine saastunud nimetatud bakteriga, milline serotüüp esines jne.

Tabel 5. Ülevaade listerioosi haiguspuhangutest kirjanduse näitel

| Aeg ja koht | Allikas | Haigestu- nuid (surnud) | Täiendav teadaolev informatsioon | Viide kirjandusallikale |
|--|---|-------------------------------|---|--|
| 2013 USA | Juust (nimega Les Frères, Petit Frère) | 6 (1) | Tehti kindlaks, et listerioosi puhangu põhjustajaks oli <i>L. monocytogenes</i> 'ega kontamineerunud juust. Toode kutsuti turult tagasi. | Centers for Disease Control and Prevention, 2014 |
| 2012 Hispaania | Värske juust (ingl k. <i>latin-style fresh cheese</i>) | 2 | Juust oli tehtud pastöriseeritud piimast Portugalis. Juustupartiid olid saastunud. 83% juustrproovidest sisaldas listeeriat <100 pmü/g, 17% ehk üks proov >100 pmü/g (n=6). Selles proovis oli <i>L. monocytogenes</i> 'e arvukus 3,2x10 ⁴ pmü/g. Serotüüp 1/2a. | Castro et al., 2012 |
| 2011 Šveits | Imporditud sink (ingl k. <i>cooked ham</i>) | 9 | Kahes singiproovis oli <i>L. monocytogenes</i> 'e arvukus vastavalt 470 pmü/g ja 4800 pmü/g. Serotüüp 1/2a. | Hächler et al., 2013 |
| 2011 USA | Melon | 146 (31) | Listeria isoleeriti nii melonist kui selle pakkimisseadmelt. Serotüübid 1/2a ja 1/2b. | Foodborne Outbreak Online Database, 2014 |
| 2011 Belgia | Kõva juust | 12 (4) | Kõva juust oli valmistatud pastöriseeritud piimast. <i>L. monocytogenes</i> 'e arvukus oli madal, keskmiselt 20 pmü/g. Serotüüp 1/2a. | Yde et al., 2012 |
| 2011 Inglismaa | Võileivad ja salat | 3 | Täpsed asjaolud ei ole teada. | Coetzee et al., 2011 |
| 2009-2010 Austria, Saksamaa, Tšehhi | „Quargel“ juust (ingl k. <i>sour milk curd cheese</i>) | 34 (3) | 45% uuritud juustuproovidest sisaldas listeeriat >100 pmü/g, ning 55% sisaldas <100 pmü/g. Serotüüp 1/2a. | Fretz et al., 2010 |

| | | | | |
|-----------------------|--|---------|--|--|
| 2009 Taani | Veiseliha (viilutatud) | 8 (2) | Arvatavasti saastumine toimus haiglas lõunasöögi jagamise ajal. Järelejäänud toiduproovidest <i>L. monocytogenes</i> 't ei tuvastatud. | Smith et al., 2010 |
| 2009 Austraalia | Wrap (ingl k. <i>chicken wrap</i>) | 36 (3) | Listeria isoleeriti linnuliha wrapist, leiti puudusi linnuliha tootmishügieenis. | OzFoodNet, 2009 |
| 2008 Kanada | Delikatessliha (ingl k. <i>deli meats</i>) | 57 (22) | Listeria isoleeriti liha tootmiskeskonnast, eriti leidis listeeriat kõrges arvukuses liha viilutusseadmel. Serotüüp 1/2a. | Birk-Urovitz, 2008 |
| 2008 Austria | Sealiha tarretis | 19 | <i>L. monocytogenes</i> isoleeriti järelejäänud toidus arvukuses $3 \times 10^3 \dots 3 \times 10^4$ pmü/g. Serotüüp 4b. | Pichler et al., 2009 |
| 2007 Norra | Brie ja Camembert'i juustud | 12 (2) | Norra tootja Varø Gardsmeieri Brie ja Camembert'i juustudest leiti <i>L. monocytogenes</i> 't arvukuses 6 miljonit pmü/g. Põhjuseks oli juustude soolvee saastumine listeeriatega. | Rapport, 2008 |
| 2007 USA | Pastöriseeritud piim | 5 (3) | Piima saastumine toimus pärast piima pastöriseerimist, arvatavasti seadmete kaudu. Täpsed saastumise asjaolud on teadmata. | Centers for Disease Control and Prevention, 2008 |
| 2006-2007 Saksamaa | Kuumtöödeldud vorst (ingl k. <i>scalded sausages</i>) | 16 (5) | Vorstides, mida uuriti 3 nädalat pärast säilivusaja lõppu, tuvastati listeeriate arvukuseks 2×10^2 pmü/g. Serotüüp 4b. | Winter et al., 2009 |
| 2006 Tšehhi | Juust ja salat (mis sisaldas juustu) | 75 (12) | Listerioosipuhanguid esile kutsunud <i>L. monocytogenes</i> 'e tüvesid leiti ka juustutööstuse tootmiskeskonnast. Serotüüp 1/2b. | Vit et al., 2007 |
| 2005 USA | Delikatessliha, kalkuniliha | 13 (1) | Tooraine saastunud. | Foodborne Outbreak Online Database, 2014 |

| | | | | |
|------------------------|--|--------|--|--|
| 2005 Šveits | Pehme juust (nimega „Tomme“) | 10 (3) | Ettevõttest võetud juustuproovid sisaldasid listeeriat 1000-10000 pmü/g, üks proov ka 32000 pmü/g, ja võiproovid sisaldasid listeeriat 10-100 pmü/g. Ettevõtte tootmiskeskond oli tugevasti saastunud <i>L. monocytogenes</i> 'ega. Serotüüp 1/2a. | Bille et al., 2006 |
| 2005 USA (New York) | Kanaliha | 3 | Tooraine saastunud. | Foodborne Outbreak Online Database, 2014 |
| 2003 Inglismaa | Eelnevalt pakitud võileivad (ingl k. <i>prepacked sandwiches</i>) | 5 | Haigestusid rasedad, kes sõid haigla poest ostetud võileibu. | Dawson et al., 2006 |
| 2002 Prantsusmaa | Toorvorstid | 11 | Saastumine leidis tõenäoliselt aset ettevõtte tootmiskeskonnas. | Goulet et al., 2002 |
| 2001 Rootsi | Pehme juust | 33 | Haigestusid inimesed, kes külastasid piimafarmi ja tarbisid sealseid piimast valmistatud tooteid. Juust sisaldas <i>L. monocytogenes</i> 't $3 \times 10^1 \dots 6.3 \times 10^7$ pmü/g. Haigestumise põhjustas serotüüp 1/2a. | Carrique-Mas et al., 2003 |
| 2000 USA | Delikatess türki liha | 29 (7) | Haigestumise põhjustas serotüüp 1/2a. Saastumine leidis tõenäoliselt aset ettevõtte tootmiskeskonnas. | Centers for Disease Control and Prevention, 2000 |
| 2000 Portugal | Juust | 1 | Saastumine leidis tõenäoliselt aset ettevõtte tootmiskeskonnas. | De Valk et al., 2005 |
| 2000 Uus-Meremaa | Sink | 28 | Singiproovist leiti listeeriat arvukuses $1,8 \times 10^7$ pmü/g. Tootel oli väga pikk säilivusaeg: 3 kuud. | Sim et al., 2002 Whyte, 2000 |
| 2000 Prantsusmaa | Seakeeletarretis | 32 | Haigestumise põhjustas serotüüp 4b. Täpset kontaminatsiooni allikat ei õnnestunud tuvastada, sest <i>L. monocytogenes</i> 'e arvukus lõpptootes säilivusaja jooksul oli <10 pmü/g. | De Valk et al., 2001 |

| | | | | |
|----------------------------|--|----------|---|--|
| 1999-2000 Prantsusmaa | Seakeeled želees | 26 (7) | Leiti, et toote saastumine listeeriaga toimus ettevõttes toote viilutamise ajal, kui kontaminatsioon kanti üle seadme viilutusnugadelt tootesse (ristsaastumine). | Dorozynski, 2000 |
| 1999-2000 Soome | Vaakumpakendatud kalatooted | 23 | Selle haiguspuhangu kohta täpsed andmed puuduvad, kuid on teada, et Soomes aastatel 1996-1998 kokku 8-25% vaakumpakendatud suitsu- ja külmsoolatud kalatooteid sisaldasid <i>L. monocytogenes</i> 't. Arvukus oli tavaliselt madal (<100 pmü/g), kuid mõnikord oli detekteeritud ka kõrgemaid sisaldusi (1000-20000 pmü/g). | Lyytikäinen et al., 2000 |
| 1999 Inglismaa ja Wales | Juust / juustusalat/ võileivad | 2 | Haiguspuhang oli põhjustatud haigla poes müügil olnud võileibade söömisest. | Graham et al., 2002 |
| 1998 USA (Colorado) | Hot dog | 4 | Kodustes tingimustes valmistatud hot dog põhjustas 4 inimese haigestumise. | Foodborne Outbreak Online Database, 2014 |
| 1998-1999 Soome | Või | 25 (6) | Või saastumine pakendamise etapis. <i>L. monocytogenes</i> 'e arvukus tootes $10^1 \dots 10^4$ pmü/g, s.t. arvukus oli üldjuhul <100 pmü/g, kuid ühes proovis oli 11400 pmü/g. Serotüüp 3a. | Lyytikäinen et al., 2000 |
| 1998-1999 USA | Hot dog, frankfurterid, delikatsessliha | 101 (21) | Haigestumise põhjustas serotüüp 4b. Frankfurteritest leiti <i>L. monocytogenes</i> 'e arvukus <0,3 pmü/g. | Mead et al., 1999 |
| 1997 Soome | Külmsuitsu vikerforell | 5 | Tegemist oli vaakumpakendatud külmsuitsu forelliga, mis oli saastunud <i>Listeria monocytogenes</i> 'ega. Isoleeriti serotüüp 1/2a. Listeria isoleeriti nii kalatootest kui ettevõtte pinnaproovidelt. | Miettinen et al., 1999 |
| 1997 Itaalia | Maisi ja tuunikala salat | 1566 | Võimalik ristsaastumine teiste töötlemata toiduainetega. Serotüüp 4b. | Aureli et al., 2000 |

| | | | | |
|---------------------|--|--------------------|---|---|
| 1997 Prantsusmaa | Toorpiima baasil Livarot, Pont-L'évêque juust ehk pehme juust | 14 | Toorpiim oli saastunud ja selle kaudu jõudis listeeria ka lõpptootesse. Serotüüp 4b. | Ryser, 1999 De Buyser et al., 2001 |
| 1996 Itaalia | Riisisalat | 39 | <i>L. monocytogenes</i> isoleeriti järelejäänud salatist, külmikust ja mikserist. Leiti, et tõenäoliselt oli riisisalatit säilitatud valedele temperatuuridel. Serotüüp 1/2b. | Salamina et al., 1996 |
| 1995 Prantsusmaa | Brie de Meaux, Camembert, Brie, Feta, Mozzarella juustud ehk pehmed juustud | 37 (11) | Tooraine saastunud. Toorpiima baasil valmistatud juust, niiskusesisaldusega >50%. Serotüüp 4b. | Goulet et al., 1995 Jacquet et al., 1995 De Buyser et al., 2001 |
| 1994-1995 Rootsi | Suitsutatud mereannid (molluskid, forell) | 9 (2) | <i>L. monocytogenes</i> 'e arvukus tootes $10^2 \dots 10^6$ pmü/g. Serotüüp 4b | Tham et al, 2000 Ericsson et al., 1997 |
| 1994 USA | Šokolaadipiim | 45 | Tootes <i>L. monocytogenes</i> 'e arvukus 1×10^9 pmü/ml. Leiti serotüüp 1/2b. Kontaminatsiooni põhjuseks peeti kuumtöötlemisjärgset ristsaastumist ettevõtte seadmete kaudu, sanitatsioon ei olnud piisav. | Dalton et al., 1997 |
| 1993 Prantsusmaa | RTE singikonservid (<i>ingl k. rillettes</i>) | 38 (7) | Toote saastumine pakendamise etapis. <i>L. monocytogenes</i> 'e arvukus tootes $10^2 \dots 10^4$ pmü/g. Serotüüp 4b. | Goulet et al., 1998 |
| 1993 Itaalia | Koore juust „canapé“ (<i>ingl k. cream cheese</i>) Puuviljatort Riisisalat | 18 18 18 | Serotüüp 1/2b. <i>L. monocytogenes</i> 'e arvukus $4,6 \times 10^5$ pmü/g. Serotüüp 1/2b. <i>L. monocytogenes</i> 'e arvukus 0,93 pmü/g. | Salamina et al., 1996 |
| 1992 Prantsusmaa | Sea keel tarretises | 280 (63) | <i>L. monocytogenes</i> 'e arvukus tootes $10^4 \dots 10^6$ pmü/g. Serotüüp 4b. | Jacquet et al., 1995 |

| | | | | |
|------------------------|--|----------|---|-----------------------------------|
| 1992 Norra | Viilutatud lihatoode (<i>ingl k. sliced cold meat</i>) | 6 | Listeeriat leiti ettevõtte tootmiskeskonnast. | De Valk et al., 2005 |
| 1992 Uus-Meremaa | Suitsutatud mereannid (jõekarp) | 4 | Listeeria isoleeriti avamata toote pakendist, mis oli säilitatud külmikus, kui haiguspuhang tekkis. Sama tüvi leiti ka ettevõtte tootmiskeskonnast ning patsientidelt, kellel haiguspuhang diagnoositi. | Brett et al., 1998 |
| 1992 Prantsusmaa | Sea keel tarretises | 279 (92) | Listeria isoleeriti ettevõtte tootmisest. | De Valk et al., 2005 |
| 1991 Austraalia | Suitsutatud mereannid (jõekarp) | 4 | <i>L. monocytogenes</i> 'e arvukus tootes 10 ⁷ pmü/g. Serotüüp 1/2a. | Mitchell, 1991 |
| 1990 Austria | Lihamäärde (ingl k. Pâté & meat spreads) | 11 (6) | <i>L. monocytogenes</i> 'e arvukus tootes 10 ³ pmü/g. Serotüüp 1/2a. | Ryser, 1999 |
| 1989-1990 Taani | Sinihallitusjuust ja kõva juust | 26 (6) | Uuringus leiti, et haiguspuhangu põhjustas listeeriaga saastunud toorpiima kasutamine juustude tehnoloogias. Serotüüp 4b. | Jensen et al., 1994 |
| 1987-1989 Inglismaa | Lihamäärde (ingl k. Pâté & meat spreads) | 355 (94) | <i>L. monocytogenes</i> 'e arvukus tootes 10 ² ...10 ⁶ pmü/g. Serotüüp 4b. | McLaughlin et al., 1991 |
| 1986-1987 USA | Jäätis, salaami, brie juust | 36 (16) | Serotüübid 4b, 1/2b, 1/2a. | Schwartz et al., 1989 |
| 1986 Austria | Toorpiim ja köögivilj | 28 (5) | Leiti, et toorpiim ja toored köögiviljad olid saastunud. | Allenberger & Guggenbichler, 1989 |
| 1983-1987 Šveits | Pehme juust (nimetus: Vacherin Mont d'Or) | 122 (33) | Tooraine saastunud. <i>L. monocytogenes</i> 'e arvukus tootes 10 ⁴ ...10 ⁶ pmü/g. Serotüüp 4b. | Büla et al., 1995 |

| | | | | |
|-------------------------|--|---------|--|--------------------------|
| 1985 USA | Mexican-tüüpi juust | 93 (48) | <i>L. monocytogenes</i> 'e arvukus tootes $10^3 \dots 10^4$ pmü/g. Serotüüp 4b. Põhjuseks piima ebaõige pastöriseerimine. | Linnan et al., 1988 |
| 1983 USA | Pastöriseeritud piim | 32 (14) | On teada, et piim, mis oli seotud haiguspuhanguga, pärines farmist, kus lehmadel diagnoositi listerioos. Samas piimatööstuses ei leitud tõendeid, et pastöriseerimisprotsess ebaõnnestus. Selles uuringus on teadmata, kas kasutatavad pastöriseerimistemperatuurid suudavad inaktiveerida ka väga suurtes hulkades listeriaid kontamineeritud toorpiimast. Serotüüp 4b. | Fleming et al., 1985 |
| 1981 Kanada | Toored köögiviljad (kapsasalat) | 41 (17) | Serotüüp 4b. Kapsas oli saastunud lamba sõnnikuga, mis sisaldas listeriaid. | Schlech et al., 1983 |
| 1981 Inglismaa | Erinevad piimatooted | 11 (5) | Serotüüp 1/2a. | Ryser, 1999 |
| 1980 Uus-Meremaa | Toored mereannid (molluskid, koorikloom jms) | 22 (6) | Haiguspuhang esines haiglas. Täpset põhjust ei suudetud kindlaks teha, kuid arvati, et põhjuseks oli toorete mereandide söömine. | Lennon et al., 1984 |
| 1979 USA | Toored köögiviljad või juust | 20 (3) | Leiti, et toored köögiviljad (tomat, lehesalat, seller) olid kontamineerunud <i>L. monocytogenes</i> 'ga. Haiguspuhang esines haiglas. Serotüüp 4b. | Ho et al., 1986 |
| 1978-1979 Austraalia | Toored köögiviljad | 12 | Haiguspuhang esines haiglas. | Le Souëf & Walters, 1981 |
| 1949-1957 Saksamaa | Toorpiim | ≈ 100 | Tooraine saastunud. Haiguspuhang tekkis toorpiima joomise tagajärjel. | Seeliger, 1961 |

7. Eesti tulemused

7.1. Uurimisperiood 2008-2010

Aastatel 2008-2010 uuriti Eestis ühtekokku 21 574 toiduproovi, millest 554 (2,6%) osutusid *L. monocytogenes*'e suhtes positiivseks (tabel 6) (Kramarenko et al., 2013).

Tabel 6. *Listeria monocytogenes*'e esinemine erinevates Eesti päritolu toiduproovides (Kramarenko et al., 2013)

| Tooted | Positiivsete proovide arv/proovide arv kokku (% positiivseid) | | | |
|---|---|-----------------------|-----------------------|-------------------------|
| | 2008 | 2009 | 2010 | Kokku |
| Puu- ja köögiviljatooted | 0/204 (0) | 7/284 (2,5) | 8/229 (3,5) | 15/717 (2,1) |
| Kastmed | 0/28 (0) | 0/18 (0) | 0/21 (0) | 0/67 (0) |
| Pagaritooted | 4/357 (1,1) | 0/138 (0) | 11/168 (6,5) | 15/663 (2,3) |
| Teraviljatooted | 0/46 (0) | 0/31 (0) | 0/32 (0) | 0/109 (0) |
| RTE kulinaariatooted | 6/1914 (0,3) | 0/1254 (0) | 7/1160 (0,6) | 13/4328 (0,3) |
| Toorsalatid (sisaldavad erinevaid puu- ja köögivilju) | 63/187 (33,7) | 21/227 (9,3) | 18/136 (13,2) | 102/550 (18,5) |
| Toorkala (värske ja külmutatud) | 7/67 (10,5) | 12/106 (11,3) | 9/144 (6,3) | 28/317 (8,8) |
| RTE kalatooted | 24/626 (3,8) | 25/662 (3,8) | 63/787 (8,0) | 112/2075 (5,4) |
| Toorpiim | 11/48 (22,9) | 4/14 (28,6) | 4/43 (9,3) | 19/105 (18,1) |
| RTE piimatooted | 4/1904 (0,2) | 1/1427 (0,1) | 8/1570 (0,5) | 13/4901 (0,3) |
| Toorliha ja toorlihatooted (värsked) | 55/278 (19,8) | 16/147 (10,9) | 27/100 (27) | 98/525 (18,7) |
| RTE lihatooted | 42/2606 (1,6) | 66/2206 (3,0) | 27/1934 (1,4) | 135/6746 (2,0) |
| RTE valmistoidud jaemüügi tasandil | 1/195 (0,5) | 0/131 (0) | 3/145 (2,1) | 4/471 (0,8) |
| Kokku | 217/8460 (2,6) | 152/6645 (2,3) | 185/6469 (2,9) | 554/21,574 (2,6) |

Kõige enam esines *L. monocytogenes*'t toorlihas ja toorlihatoodetes (18,7%), toorsalatites (18,5%) ning toorpiimas (18,1%). *L. monocytogenes*'t esines veel toorkalas (8,8%), RTE kalatoodetes (5,4%), pagaritoodetes (2,3%), puu- ja köögiviljatoodetes (2,1%), RTE lihatoodetes (2,0%), RTE valmistoitudes (0,8%), RTE kulinaariatoodetes (0,3%) ja RTE piimatoodetes (0,3%). Kastmed ja teraviljatooted osutusid *L. monocytogenes*'e suhtes negatiivseks.

Uuring näitas, et tooraines on *L. monocytogenes*'e esinemissagedus kõrgem kui valmistoitudes (RTE). Seda kinnitab ka Gudbjörnsdóttir et al. (2004) uuring Põhjamaades. Võrreldes Eesti tulemustega, kõrgem *L. monocytogenes*'e esinemine RTE toodetes on detekteeritud Lõuna-Itaalias (10%) ja Belgias (23,4%) (Di Pinto et al., 2010; Van Coillie et al., 2004).

Eestis teostatud toorliha ja RTE lihatoodete uuringud aastatel 2008-2010 näitasid, et *L. monocytogenes*'e esinemine toorlihas ja selle baasil valmistatud toodetes oli 18,7% ning RTE lihatoodetes oli 2,0% (tabel 7). Kõige enam oli *L. monocytogenes*'ega kontamineerunud tükilihas tooted (39%), hakkliha (37,5%) ja ulukiliha (36,4%). Sellele järgnesid *L. monocytogenes*'e esinemine sealihhas (21,1%), veiselihhas (12,0%), tooretel vorstides (1,9%) ja broilerilihas (0,95%). Varasemas Eestis läbi viidud uuringus (Praakle-Amin et al., 2006) analüüsiti *L. monocytogenes*'e suhtes 240 toorest broilerikoiba. Proovid olid kogutud jaemüügi tasandil 2002. aastal ning hõlmasid nii kohalikke kui imporditud tooteid. Nimetatud uuringus selgus, et koguni 70% broilerilihaproovidest olid *L. monocytogenes*'e suhtes positiivsed. Eesti päritolu broilerilihaproovides tuvastati *L. monocytogenes*'e kõrgem esinemissagedus (88%) võrreldes imporditud toodetega (53%). Pulseeriva välja geel-elektroforeesi (PFGE) põhjal tuvastati, et *L. monocytogenes*'e kõrge esinemine broilerilihas oli põhjustatud ristsaastumise esinemisest jaemüügi tasandil (Praakle-Amin et al., 2006).

L. monocytogenes't esines RTE lihatoodetest nii suitsulihast toodetes (2,2%), tapasaadustest valmistatud toodetes (1,7%), keedutoodetes (0,4%), suitsuvorstides (0,1%) kui muudes RTE lihatoodetes (3,6%). *L. monocytogenes*'t ei tuvastatud praetoodetes.

Tabel 7. *Listeria monocytogenes*'e esinemine Eesti päritolu toorlihas ja RTE lihatoodetes (Kramarenko et al., 2013)

| Tooted | Positiivsete proovide arv/proovide arv kokku (% positiivseid) | | | |
|---|---|----------------------|----------------------|-----------------------|
| | 2008 | 2009 | 2010 | Kokku |
| Sealiha | 7/40 (17,5) | 6/21 (28,6) | 3/15 (20,0) | 16/76 (21,1) |
| Veiseliha | 2/28 (7,1) | 2/20 (10,0) | 2/2 (100) | 6/50 (12,0) |
| Ulukiliha | NS | 1/2 (50,0) | 3/9 (33,3) | 4/11 (36,4) |
| Broileriliha | 1/45 (2,2) | 0/45 (0) | 0/15 (0) | 1/105 (0,95) |
| Hakkliha | 14/36 (38,9) | 7/18 (38,9) | 0/2 (0) | 21/56 (37,5) |
| Tükilihast tooted | 29/65 (44,6) | 0/18 (0) | 19/40 (47,5) | 48/123 (39,0) |
| Toored vorstid | 2/64 (3,1) | 0/23 (0) | 0/17 (0) | 2/104 (1,9) |
| Toorliha ja toorlihatooted kokku | 55/278 (19,8) | 16/147 (10,9) | 27/100 (27,0) | 98/525 (18,7) |
| Keedutooted (nt vorstid) | 5/542 (0,9) | 0/487 (0) | 0/363 (0) | 5/1392 (0,4) |
| Suitsuvorstid | 1/299 (0,3) | 0/224 (0) | 0/238 (0) | 1/761 (0,1) |
| Praetooted | 0/135 (0) | 0/26 (0) | 0/43 (0) | 0/204 (0) |
| Suitsulihast tooted | 8/482 (1,7) | 11/398 (2,8) | 6/274 (2,2) | 25/1154 (2,2) |
| Tapasaadustest tooted | 3/242 (1,2) | 8/315 (2,5) | 0/109 (0) | 11/666 (1,7) |
| RTE lihatooted | 25/906 (2,8) | 47/756 (6,2) | 21/907 (2,3) | 93/2569 (3,6) |
| RTE kokku | 42/2606 (1,6) | 66/2206 (3,0) | 27/1934 (1,4) | 135/6746 (2,0) |

L. monocytogenes'e esinemine Eesti päritolu valitud RTE kalatoodetes on näidatud tabelis 8. Selgub, et kõige enam esines *L. monocytogenes*'t külmsuitsukalatoodetes (32,9%). *L. monocytogenes*'t tuvastati ka külmtöödeldud (12,0%) ja soolatud kalatoodetes (9,7%), kuumsuitsukalatoodetes (5,6%), kuumtöötlemata kalapreservides (3,0%), suitsutatud kalas (2,4%) ning kalakonservides (1,5%). *L. monocytogenes*'t ei leitud kuumtöödeldud ja kuivatatud kalatoodetest ning kalamarjast.

Tabel 8. *Listeria monocytogenes*'e esinemine Eesti päritolu valitud RTE kalatoodetes (Kramarenko et al., 2013)

| Tooted | Positiivsete proovide arv/proovide arv kokku (% positiivseid) | | | |
|---|---|---------------------|---------------------|----------------------|
| | 2008 | 2009 | 2010 | Kokku |
| Külmsuitsukalatooted | 11/25 (44) | 2/15 (13,3) | 10/30 (33,3) | 23/70 (32,9) |
| Kuumsuitsukalatooted | 2/66 (3,0) | 0/46 (0) | 9/85 (10,6) | 11/197 (5,6) |
| Suitsutatud kala | 0/93 (0) | 7/83 (8,4) | 0/120 (0) | 7/296 (2,4) |
| Kuumtöödeldud kalatooted (suitsutamata) | 0/36 (0) | 0/45 (0) | 0/30 (0) | 0/111 (0) |
| Külmtöödeldud kalatooted | 0/25 (0) | 0/10 (0) | 6/15 (40) | 6/50 (12,0) |
| Kuivatatud kalatooted | 0/20 (0) | 0/40 (0) | 0/29 (0) | 0/89 (0) |
| Soolatud kalatooted | 6/137 (4,4) | 8/85 (9,4) | 24/169 (14,2) | 38/391 (9,7) |
| Kalakonservid (kuumtöödeldud) | 0/51 (0) | 0/76 (0) | 2/9 (22,2) | 2/136 (1,5) |
| Kalapreservid (kuumtöötlemata) | 5/62 (8,1) | 0/90 (0) | 4/147 (2,7) | 9/299 (3) |
| Kalamari | 0/11 (0) | 0/18 (0) | 0/15 (0) | 0/44 (0) |
| Kokku | 24/526 (4,6) | 17/508 (3,3) | 55/649 (8,5) | 96/1683 (5,7) |

Antud uuringus teostati ühtekokku 2230 analüüsi, kus täiendavalt patogeeni tuvastamisele viidi läbi ka *L. monocytogenes*'e arvuline määramine (tabel 9). Tulemused näitasid, et 98,4% toiduproovidest sisaldasid *L. monocytogenes*'t vähem kui 10 pmü/g ning 0,8% proovidest vahemikus 10-100 pmü/g kohta. Siiski, 0,5% uuritud proovidest sisaldas *L. monocytogenes*'t vahemikus 100-1000 pmü/g ning 0,3% proovidest ka üle 1000 pmü/g kohta. *L. monocytogenes*'t arvukuses 100...1000 pmü/g sisaldasid neli külmutatud kalaproovi, kolm külmsuitsukalatoote proovi, kaks soolatud kalatooteproovi, üks külmtöödeldud kalatoote proov ja üks kuumtöötlemata kalapreserv. Üle 1000 pmü/g sisaldasid *L. monocytogenes*'t kaks külmutatud kala ja kaks külmsuitsukalatoodete proovi, üks toorpiima, hakkliha ning broilerilihatootete proov.

Tabel 9. *L. monocytogenes*'e suhtes positiivsed proovid arvulisel loendamisel (Kramarenko et al., 2013)

| Tooted* | Analüüside arv | <i>L. monocytogenes</i> 'e arvukus (pmü/g) | | | |
|-----------------------------------|-------------------|--|-----------------|-----------------|----------------|
| | | <10 | 10-100 | >100-1000 | >1000 |
| Toorpiim | 230 | 229 | - | - | 1 |
| Kohupiimatooted | 601 | 593 | 8 | - | - |
| Värske kala | 223 | 222 | 1 | - | - |
| Külmutatud kala | 399 | 393 | - | 4 | 2 |
| Hakkliha | 522 | 521 | - | - | 1 |
| Broilerilihatooted | 10 | 9 | - | - | 1 |
| Soolatud kalatooted | 129 | 119 | 8 | 2 | - |
| Külmsuitsukalatooted | 29 | 24 | - | 3 | 2 |
| Külmtöödeldud kalatooted** | 52 | 51 | - | 1 | - |
| Kalapreservid (kuumtöötlemata) | 35 | 33 | 1 | 1 | - |
| Kokku | 2230 (100) | 2194 (98,4) | 18 (0,8) | 11 (0,5) | 7 (0,3) |

- ei tuvastatud

*kõik tooted olid Eesti päritolu

**mõeldud tarbimiseks kuumtöödeldult

Uuringud näitasid, et 73,6% *L. monocytogenes*'e isolaatidest kuulusid serogruppi 1/2a, 7,7% serogruppi 4b, 7,4% serogruppi 1/2b ja 1/2c ning 3,5% isolaatidest kuulusid serogruppi 4d (tabel 10).

Tabel 10. *Listeria monocytogenes*'e serotüübid* aastatel 2008-2010** (Kramarenko et al., 2013)

| Toode | Serotüpiseeritud isolaatide arv (%) | | | | | Kokku |
|------------------|-------------------------------------|-----------------|-----------------|-------------------|-----------------|------------------|
| | 1/2a | 1/2b | 1/2c | 4b | 4d | |
| Toorpiim | 37 | 4 | 1 | 3 | 1 | 46 (16,2) |
| Toorliha | 47 | 1 | 11 | 2 | - | 61 (21,5) |
| RTE lihatooted | 51 | 2 | 8 | 4 | - | 65 (22,9) |
| Toorkala | 6 | - | - | - | - | 6 (2,1) |
| RTE kalatooted | 34 | 1 | - | 8 | - | 43 (15,1) |
| RTE salatid | 26 | 13 | 1 | 5 | 9 | 55 (19,4) |
| RTE köögivili | 4 | - | - | - | - | 4 (1,4) |
| RTE valmistoidud | 4 | - | - | - | - | 4 (1,4) |
| Kokku | 209 (73,6) | 21 (7,4) | 21 (7,4) | 22/1 (7,7) | 10 (3,5) | 284 (100) |

- ei tuvastatud

*kõik *L. monocytogenes*'e isolaadid olid Eesti päritolu

**Serotüpiseeritud isolaatide üldarv oli 311, kuid 26 (9,2%) *L. monocytogenes*'e isolaati oli identifitseeritud vaid serogrüpi tasandil ning üks isolaat kuulus serogrüpi 3b. Need 27 isolaati ei ole kaasatud ülaltoodud tabelisse.

7.2. Uurimisperiood 2012-2014

Aastatel 2012-2013 olid uurimisfookuses Eesti suuremates jaekaubanduskettides esindatud Eesti toidutootjate kõrgesse riski kategooriasse kuuluvad tooted, milleks on pika säilimisajaga vaakumpakendatud (VP) ning modifitseeritud gaasikeskkonda pakendatud (MAP) söömiseks valmis (*ready-to-eat* – RTE) liha- ja kalatooted. Uurimisperioodil keskenduti üksnes kõrgesse riskikategooriasse kuuluvate toodete analüüside teostamisele kuna nendest lähtuvad suurimad riskid rahvatervisele.

L. monocytogenes levimuse ja arvukuse uurimiseks koguti kuupõhiselt, perioodil jaanuar 2012 – detsember 2013 jaemüügi tasandilt 370 Eesti päritolu ning Eesti suuremate jaekaubanduskettide kauplustes müüdavat toidu kõrgesse riskikategooriasse kuuluvat RTE liha- ja kalatoodet. Seitsmest erinevast jaekaubandusettevõttest võeti 24 kuu jooksul juhuslikult 13 tootja 185 VP RTE lihatoodet ning 19 tootja 185 RTE MAP ja VP kalatoodet. Kogutud proove säilitati analüüside teostamiseni pakendil märgitud säilitamistemperatuuride juures (enamasti +4 °C...+6 °C juures). Analüüsid teostati "kõlblik kuni" viimasel päeval, mil saastunud toodete *L. monocytogenes* arvukus on kõrgeim ning seega ka inimesele avalduv potentsiaalne listerioosi risk suurim. *L. monocytogenes* isoleerimine ning arvukuse määramine teostati Veterinaar- ja Toidulaboratooriumis kooskõlas vastavalt EVS-EN ISO 11290-1:2000/A1:2004 ning EVS-EN ISO 11290-2:2000/A1:2004 standarditega.

Tabel 11 annab ülevaate *L. monocytogenes* esinemisest RTE liha- ja kalatoodetes aastatel 2012-2013. Tulemustest selgub, et 11 (6,0%) uuritud RTE lihatoodetest ja 31 (16,8%) RTE kalatoodetest osutusid *L. monocytogenes* positiivseks. Võrdluseks, varasemas uuringus (Kramarenko et al., 2013), mis teostati aastatel 2008-2010, oli 2,0% uuritud RTE lihatoodetest ja 5,4% RTE kalatoodetest *L. monocytogenes* suhtes positiivsed. Aastatel 2010-2011 Euroopas teostatud *L. monocytogenes* levimuse uuringud realiseerimisaja viimasel päeval analüüsitud toodetes näitasid, et *L. monocytogenes* esines 2,1% RTE lihatoodetes ja 10,3% RTE kalatoodetes (EFSA, 2013).

Uuringusse kaasatud 13 lihatööstuse 185 VP RTE lihatootest tuvastati *L. monocytogenes* positiivseid kolme ettevõtte toodangust, milles patogeeni levimus jäi vahemikku 6,6-19,4%. Kalatööstuse 19 ettevõttest osutus 185 uuritud RTE kalatootest *L. monocytogenes* positiivseks 7 ettevõtte toodang.

Tabel 11. *L. monocytogenes* esinemine RTE liha- ja kalatoodetes aastatel 2012-2013

| Tooted | Proovide arv | Positiivsete proovide arv/ positiivsete % | CI95% |
|----------------|--------------|--|-----------------|
| RTE lihatooted | 185 | 11 / 6,0 | 3,4-10,3 |
| RTE kalatooted | 185 | 31 / 16,8 | 12,1-22,8 |
| Kokku | 370 | 42 / 11,4 | 8,5-15,0 |

Tabel 12 annab ülevaate *L. monocytogenes* olukorrast Eesti jaekaubanduses. *L. monocytogenes* positiivseid proove leiti kõigist seitsmest uuringusse kaasatud Eesti jaekaubandusketi ettevõtetest. Kõige madalam oli *L. monocytogenes* levimus ettevõttes G (3,7%) ning kõrgeim ettevõttes C (23,1%).

Tabel 12. *L. monocytogenes* levimus Eesti toidutootjate RTE liha- ja kalatoodetes aastatel 2012-2013

| Ettevõtte | Proovide arv | Positiivsete proovide arv/ positiivsete % | CI95% |
|--------------|--------------|--|-----------------|
| Ettevõtte A | 45 | 6 / 13,3 | 6,3-26,2 |
| Ettevõtte B | 13 | 1 / 7,7 | 1,4-33,3 |
| Ettevõtte C | 13 | 3 / 23,1 | 8,2-50,3 |
| Ettevõtte D | 5 | 1 / 20,0 | 3,6-62,5 |
| Ettevõtte E | 57 | 7 / 12,3 | 6,1-23,3 |
| Ettevõtte F | 210 | 23 / 11,0 | 7,4-15,9 |
| Ettevõtte G | 27 | 1 / 3,7 | 0,7-18,3 |
| Kokku | 370 | 42 / 11,4 | 8,5-15,0 |

Tabelis 13 toodud *L. monocytogenes* arvukused RTE liha- ja kalatoodetes aastatel 2012-2013, näitavad, et uuritud 370 RTE tootest jäid *L. monocytogenes* negatiivseks 328 (88,6%) ning *L. monocytogenes* positiivseks osutus 42 (11,4%) proovi. Positiivsetest proovidest 35 (9,5%) arvukused jäid vahemikku 1...<10 pmü/g ja 6 (1,6%) proovi arvukused olid vahemikus 10...≤100 pmü/g. Vaid ühe (0,3%) RTE toote puhul, milleks oli madala soolasisaldusega lõhefilee viilud oli arvukus 140 cfu/g, mis ületas EL-is kehtestatud 100 pmü/g piirnормi. Varasemas uuringus (Kramarenko et al., 2013), mis teostati aastatel 2008-2010, sisaldasid 0,5% uuritud toodetest *L. monocytogenes*'t arvukuses 100-1000 pmü/g, ning 0,3% >1000 pmü/g. Eestis müüdavates RTE liha- ja kalatoodetes ületati *L. monocytogenes* arvukused vastavalt 0,0% ja 0,5% toodetes, mis on madalam, kui aastatel 2010-2011 EL-i alusuuringutes (EFSA, 2013) saadud piirnормi ületavate toodete protsendid, vastavalt 0,4% RTE lihatoodetes ning 1,7% RTE kalatoodetes. 2012-2013 aasta uurimisperiodi tulemused kinnitavad varasemalt Eestis teostatud uuringute (Kramarenko et al., 2013) tulemusi, et Eesti RTE toitude *L. monocytogenes*'e arvukused ei ületa reeglina EL seadusandluses kehtestatud piirmäära.

Tabel 13. *L. monocytogenes* arvukus RTE liha- ja kalatoodetes aastatel 2012-2013

| Tooted | <i>L. monocytogenes</i> 'e arvukus (pmü/g) | | | |
|------------------|--|------------------|-----------------|-----------------|
| | <1 | 1...<10 | 10...≤100 | >100 |
| RTE lihatooted | 174 | 9 | 2 | 0 |
| RTE kalatooted | 154 | 26 | 4 | 1 |
| Kokku (%) | 328 (88,6%) | 35 (9,5%) | 6 (1,6%) | 1 (0,3%) |

Kuupõhiselt kogutud 370 söömiseks valmis kala- ja lihatoode jagati töötlemisprotsessi põhiselt FAO soovitusi arvesse võttes vastavalt 5-de ja 4-ja kategooriasse. RTE kalatooted jagati järgmistesse kategooriatesse: külmsuitsu, graavikala, kuumsuitsu, preservid ja soolatud kalatooted. RTE lihatooted jagati järgmistesse kategooriatesse: külmsuitsu, kuumtöödeldud, fermenteeritud ja kuumsuitsu lihatoode.

Tabelis 14 esitatud andmetest selgub, et RTE kalatoodetest esines enim *L. monocytogenes* saastumist soolatud kalatoodete kategoorias, kus analüüsitud 69 proovist osutus positiivseks 22 (31,9%), järgnesid preservative ja külmsuitsu tootegrupid vastavalt 4 (9,5%) ning 4 (6,1%) positiivse prooviga. Kõige kõrgemate *L. monocytogenes* arvukustega toodete saastumist esines soolatud kalatoodete tootegrupis, kus üks proov ületas ka Euroopa Liidu seadusandluses kehtestatud piirmäära. Teistes tootegruppides, kus esines *L. monocytogenes* saastumist vähem jäid positiivsete proovide *L. monocytogenes* arvukused alla kehtestatud (≤ 100 pmü/d) piirmäära.

Tabel 14. *L. monocytogenes* arvukused RTE kalatoodetes kategooriate lõikes uurimisperioodil 2012-2013.

| RTE kalatooted | <i>L. monocytogenes</i> 'e arvukus (pmü/g) | | | |
|------------------|--|-------------------|------------------|-----------------|
| | <1 | 1...<10 | 10... \leq 100 | >100 |
| Külmsuitsu | 62 | 4 | 0 | 0 |
| Graavikala | 5 | 0 | 0 | 0 |
| Kuumsuitsu | 2 | 1 | 0 | 0 |
| Preservid | 38 | 4 | 0 | 0 |
| Soolatud | 47 | 17 | 4 | 1 |
| Kokku (%) | 154 (83,2%) | 26 (14,1%) | 4 (2,2%) | 1 (0,5%) |

RTE lihatoodes tuvastatud *L. monocytogenes* positiivsete proovide arvukused erinevate kategooriate lõikes on esitatud tabelis 15. Analüüsitud 185 RTE lihaproovi osutusid *L. monocytogenes* poolt saastunuks järgnevalt: 73-st külmsuitsu lihatoote proovist osutus positiivseks 7 (9,6%); 21-st fermenteeritud tootest tuvastati *L. monocytogenes* vaid ühel (4,8%) juhul; 73-st kuumsuitsu lihatootest tuvastati nimetatud patogeeni kolmel (4,1%) korral ning kuumtöödeldud tootegruppi kuuluvast 18-st proovist *L. monocytogenes* positiivseid tulemusi ei leitud. Analüüsitud söömiseks valmis lihatoodes jäid *L. monocytogenes* arvukused kõigis tootekategooriates alla Euroopas Liidus kehtestatud piirmäära.

Tabel 15. *L. monocytogenes* arvukused RTE lihatoodes kategooriate lõikes uurimisperioodil 2012-2013.

| RTE lihatooted | <i>L. monocytogenes</i> 'e arvukus (pmü/g) | | | |
|------------------|--|-----------------|-----------------|-----------------|
| | <1 | 1...<10 | 10...≤100 | >100 |
| Külmsuitsu | 66 | 6 | 1 | 0 |
| Kuumtöödeldud | 18 | 0 | 0 | 0 |
| Fermenteeritud | 20 | 0 | 1 | 0 |
| Kuumsuitsu | 70 | 3 | 0 | 0 |
| Kokku (%) | 174 (94,0%) | 9 (4,9%) | 2 (1,1%) | 0 (0,0%) |

Analüüside tulemuste põhjal saab järeldada, et võrreldes RTE lihatoodetega 6,0% (CI 95% 3,4%-10,3%) on *L. monocytogenes* levimus suurem RTE kalatoodetes 16,8% (CI 95% 12,1%-22,8%). Sellegipoolest olid positiivsete proovide *L. monocytogenes* arvukused väikesed, vaid ühes RTE kalaproovis ostus arvukus EL-s kehtestatud kriteeriumist suuremaks.

Võttes arvesse fakti, et toidu analüüsid teostati "kõlblik kuni" viimase päeval ning teadmist, et kõrge risk rahvatervisele on juhtudel, kus tooted sisaldavad *L. monocytogenes*'t tunduvalt üle 100 pmü/g/ml kohta võib järeldada, et risk haigestuda listerioosi tarbides Eesti päritolu RTE kala- ja lihatooteid on väga madal kuni madal.

Suhteliselt headest tulemustest hoolimata tuleb Eesti tootjatel toidu käitlemise tasandil järjepidevalt efektiivselt rakendada HACCP põhimõtteid, eeltingimusprogramme ning tagada kehtestatud protsesside/süsteemide kasutuskohasus (valideerimine) ja nõuetekohasus (verifitseerimine).

Tuleb meeles pidada, et *L. monocytogenes* on väga vastupidav erinevatele keskkonnatingimustele; on looduskeskkonnas laialdaselt levinud ning ettevõtete üld- ning tootmishügieeni probleemidest tingituna võib kergesti sattuda toidu töötlemise ning tarbimise ahelasse.

7.3. Uurimisperiood 2011-2014, toorpiim

Nelja aasta (aastatel 2011-2014) vältel uuriti eraldi ka Eestis toodetud toorpiima, mis on mõeldud tarbijatele otsemüügiks või toorpiimast valmistatud toodete valmistamiseks. *L. monocytogenes*'e leidumist uuriti ühtekokku 200 toorpiimaproovist (tabel 16) ja *L. monocytogenes*'e arvukust määrati kokku 142 toorpiimaproovist (tabel 17). Aastatel 2011-2014 osutus *L. monocytogenes*'e suhtes positiivseks 26 proovi (13% kõigist proovidest). Kõige enam tuvastati *L. monocytogenes*'t 2013. aastal, kui ühtekokku 27,7% proovidest olid kontamineerunud. Sellele järgnes aasta 2012, kui 11,7% proovidest olid saastunud *L. monocytogenes*'ega. Aastatel 2011 ja 2014 leidis *L. monocytogenes*'t vastavalt 2,6% ja 9,1% proovidest.

Tabel 16. *L. monocytogenes*'e leidumine ametliku kontrolli ja PÕM-i toorpiimauuringu käigus võetud toorpiimaproovides aastatel 2011-2014

| Aasta | Uuringuliik | Kokku | Positiivseid | Pos % | CI95 |
|---------------|-------------------|------------|--------------|-------------|-------------------|
| 2011 | Tuvastamine 25 ml | 38 | 1 | 2,6 | 0,2 – 16,2 |
| 2012 | Tuvastamine 25 ml | 60 | 7 | 11,7 | 5,2 – 23,2 |
| 2013 | Tuvastamine 25 ml | 47 | 13 | 27,7 | 16,1 – 42,9 |
| 2014 9 kuud | Tuvastamine 25 ml | 55 | 5 | 9,1 | 3,4 – 20,7 |
| Kokku: | | 200 | 26 | 13,0 | 8,8 – 18,7 |

Aastatel 2011-2014 uuritud toorpiimaproovides jäid *L. monocytogenes*'e arvukused madalateks. Uuritud toorpiimaproovides jäi arvukus alla 1 pmü/ml kokku 71 (50,4%) proovis, alla 10 pmü/ml oli see näitaja 70 (49,6%) proovis. *L. monocytogenes*'e arvukust vahemikus 10 kuni < 100 pmü/ml ei detekteeritud üheski proovis. Küll aga loendati 2012. aastal *L. monocytogenes*'t arvukuses > 100 pmü/ml ühes toorpiimaproovis.

Tabel 17. *L.monocytogenes*'e arvukus (pmü/ml) ametliku kontrolli ja PÕM-i toorpiima-uuringu käigus võetud toorpiimaproovides aastatel 2011-2014

| Aasta | Uuringuliik | Kokku | < 1 pmü | < 10 pmü | < 100 pmü | > 100 pmü |
|---------------|-------------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 2011 | loendamine | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2012 | loendamine | 42 | 9 | 32 | 0 | 1 |
| 2013 | loendamine | 56 | 26 | 30 | 0 | 0 |
| 2014 9 kuud | loendamine | 44 | 36 | 8 | 0 | 0 |
| Kokku: | | 142 | 71 | 70 | 0 | 1 |

Kokkuvõtteks võib öelda, et aastatel 2011-2014 teostatud toorpiima uuringutulemused näitavad, et *L. monocytogenes*'e arvukus toorpiimas on madal ning nelja-aastase perioodi jooksul tuvastati vaid üks ülenormatiivne proov, milles oli *L. monocytogenes*'e arvukus 170 pmü/ml.

Kokkuvõte ja järeldused

Erinevad riskihindamised on näidanud, et enamik listerioosipuhanguid on seostud toodetega, mis on sisaldanud *L. monocytogenes*'t üle 100 pmü/g/ml kohta. Riskikategooriasse kuuluvad eelkõige RTE (*ready to eat*) tooted, mis mõeldud tarbimiseks ilma eelneva kuumtöötlemiseta (valmistooted). Liha- ja kalatooteid, piimatoodetest eeskätt juustu, ning puu- ja/või köögiviljade baasil valmistatud salateid peetakse tähtsaimaks *L. monocytogenes*'e allikaks, mis võib esile kutsuda listerioosi.

Eestis aastatel 2008-2010 teostatud uuringud näitavad, et *L. monocytogenes*'e esinemine RTE toodetes on madal, vaid 2,6% toiduproovidest osutusid *L. monocytogenes*'e suhtes positiivseks. Aastatel 2012-2013 läbi viidud uuring näitas, et *L. monocytogenes*'e levimus Eestis müüdavates RTE liha- ja kalatoodetes, mis on vastavalt 6,0% ja 16,8%, on kõrgem kui meie varasemate aastate uuringu ning EFSA poolt aastatel 2010-2011 teostatud alusuuringute tulemused. Eelnevale vaatamata võib tõdeda, et patogeeni arvukused toidu kõrgendatud riski kategooriasse kuuluvates toodetes jäid üldjuhul alla seaduses lubatud piirnormi. Üldiselt *L. monocytogenes*'e arvukused on RTE toodetes madalad, jäädes üldjuhul alla 10 pmü/g kohta.

On selge, et *L. monocytogenes*'e esinemine erinevates toiduproovides on risk tarbijate tervisele. Arvestada tuleb sellega, et *L. monocytogenes* on võimeline paljunema külmpakitemperatuuridel ning seega toodete kontaminatsiooni esinemise korral kutsuma esile ka tarbijate haigestumise. *L. monocytogenes* on potentsiaalseks ohuks eelkõige riskirühmadele (lapsed, rasedad, vanurid, haiged). Seepärast on võimalikult madal *L. monocytogenes*'e levimus või kontaminatsiooni puudumine RTE toodetes oluline.

Kasutades kvaliteetset toorainet, järgides toiduainetööstuse tasandil rakendatud enesekontrolli ning hügieeni meetmeid ja vältides ristsaastumist on võimalik toota kehtestatud toiduohutuse kriteeriumitele vastavaid tooteid ning hoida *L. monocytogenes*'st tingitud rahvatervise risk väga madalal.

Lõpphinnanguga seonduvad küsimused ja vastused

Kui tõsist haigust *Listeria monocytogenes* inimestel põhjustab ning millised on haigustekitajate ülekandeteed?

Vastus: *L. monocytogenes*'e poolt esile kutsutud haigust nimetatakse listerioosiks, mis ohustab eelkõige immuunpuudulikkusega inimesi ning avaldub palaviku, seedetrakti häiretena või raskematel juhtudel meningiidi, septitseemia või bakterieemiana. Riskigruppi kuuluvad rasedad, vastsündinud, vanurid ja immuunpuudulikkusega inimesed. Listerioosi raskemasse vormi haigestumist esineb harva, kuid suremus on kõrge. Aastatel 2004-2012 oli listerioosi registreeritud haigusjuhte Eestis kokku 30, keskmine haigestumus Terviseameti andmetel 0,27 juhtu 100 000 elaniku kohta. Maailmas tervikuna esinenud haiguspuhangute põhjuseks on peamiselt olnud *L. monocytogenes*'ega kontamineerunud (sh värskete, toorete või ebapiisavalt kuumtöödeldud) ja ristasaastunud loomsete toiduainete tarvitamine. Kõrge riskikategooriaga toitude hulka kuuluvad eelkõige RTE (*ready-to-eat*) tooted (valmistooted), mis on mõeldud tarbimiseks ilma eelneva kuumtöötlemiseta.

Millised toidud on *Listeria monocytogenes*'est enim saastunud ning kas on võimalik eristada toidu kõrge riski kategooriaga tooteid?

Vastus: tuginedes riskiprofiilis esitatud teaduskirjanduse, erinevate andmebaaside ning käesoleva uuringu käigus teostatud laboratoorsete analüüside andmetele võib väita, et *L. monocytogenes*'ega on enim saastunud RTE liha- ja kalatooted, piimatooted ning puu- ja köögiviljade baasil valmistatud salatid. Teistes riikides teostatud riski hindamine on näidanud, et enamik listerioosi haigestumisi on seotud toodetega, mis on sisaldanud *L. monocytogenes*'t üle 100 pmü/g/ml kohta.

Milliseid toite on Eestis uuritud *Listeria monocytogenes*'e esinemuse suhtes ning kas olemasolevate andmete põhjal saab eristada kõrge riskikategooriaga toite?

Vastus: Põhjalik ülevaade *L. monocytogenes* esinemisest erinevates toidugruppides on esitatud antud riskiprofiilis. Kuna saastunud tooraine ei kujuta enamasti otsest ohtu rahvatervisele, siis võib kõrge riskikategooriasse liigituvate toitudena käsitleda RTE pika säilivusajaga kala- ja lihatooteid, samuti toorpiima, mis on mõeldud otsetarbimiseks või toorpiimast valmistatud toodete valmistamiseks.

Kuidas hinnata *Listeria monocytogenes*'e levimust ja arvukust toiduainetes?

Vastus: Rahvatervise seisukohast on olukord parim juhtudel kui listeriaid toidus üldse ei esine või *L. monocytogene*'e levimus ja arvukus RTE toodetes on madal. Kõrge risk rahvatervisele on juhtudel, kus tooted sisaldavad *L. monocytogenes*'t tunduvalt üle 100 pmü/g/ml kohta.

Kas tavapärased toidu kuumtöötlemise ning säilitamise praktikad/viisid välistavad *Listeria monocytogenes*'est tingitud toiduohu?

Vastus: Jah, sest *L. monocytogenes* on termolabiilne bakter, mida on võimalik inaktiveerida toidu kuumutamise/küpsetamise/keetmisega sisemise temperatuurini vähemalt + 72 °C. Samas tuleb teada, et antud toidupatogeen on võimeline kasvama madalate temperatuuride juures ning nii vaakumpakendatud (VP) kui modifitseeritud atmosfääris (MAP) tingimustes, mis annab mõningatel juhtudel (pikad säilivusajad) võimaluse (sõltumata esialgsest väga madalast kontsentratsioonist), et "kõlblik kuni" päeval saab kehtestatud kriteerium ületatud.

Kas toidu kodusel ettevalmistamisel tuleb arvestada mõnede muude hügieeninõuete järgimisega, et vältida *Listeria monocytogenes*'est tekkivaid võimalikke tervisehäireid?

Vastus: Jah, väga oluline on koduköörides elementaarsete hügieenireeglitest kinnipidamine ning toidu ristsaastumise vältimine.

Kas toidu külmutamine hävitab *L. monocytogenes*'e?

Vastus: Ei, sest liha külmutamine üksnes vähendab *L. monocytogenes*'e arvukust, kuid ei hävita kõiki toidus esinevaid baktereid k.a. patogeene. Seetõttu kehtivad külmutatud liha toiduks ettevalmistamisel kõik tavapärased toiduhügieeni reeglid.

Milliseid meetmeid on rakendatud *Listeria monocytogenes*'ega seonduvate rahvaterviseriskide vähendamiseks?

Vastus: *L. monocytogenes* on väga vastupidav erinevatele keskkonnatingimustele, samuti on ta laialdaselt levinud looduskeskkonnas ning sellest tulenevalt võib teda leida kogu toidu tootmise ahelas. Seetõttu ei ole võimalik *L. monocytogenes*'t täiel määral tootmiskeskonnast elimineerida. Toiduainetööstuse tasandil tuleb rakendada HACCP põhimõtteid ning eeltingimusprogramme ehk enesekontrollisüsteem tervikuna peab olema tõestatud (verifitseerimine ning valideerimine) efektiivne.

Milline on tarbijate haigestumise tõenäosus tarbides Eestis müüdavat RTE kala- ja lihatooteid?

Vastus: Antud projekti raames teostatud uuringute tulemusena saame väita, et RTE kalatoodetes oli *L. monocytogenes* levimus suurem kui RTE lihatoodetes. Mõlemas toidugrupis oli *L. monocytogenes* arvukus madal. Tuginedes kvalitatiivse riskihinnangu põhimõtetele on risk haigestuda listerioosi tarbides Eesti päritolu RTE kala- ja lihatooteid väga madal kuni madal.

Millised ohud seonduvad toorpiimaga, mis on mõeldud otsetarbimiseks?

Vastus: kui pidada kinni toorpiima säilitamistingimustest ning toorpiim tarbida kõlblik kuni jooksul, siis listerioosi haigestumise risk on väga madal kuni madal. Juhul, kui nõuetest ei peeta kinni ning ületatakse kõlblik kuni kuupäeva, siis risk on madal kuni keskmine.

Milliste uuringutega tuleb jätkata, et toiduohutuse riskijuhtimise tasandil vastu võtta adekvaatseid otsuseid vähendamaks *Listeria monocytogenes*´st tingitud riski rahvatervisele?

Vastus: tulevased toiduohutuse riskihinnangud tuleb suunata eelkõige toorpiima ning toorpiimast valmistatud toodete uuringutele. Samuti tuleb eraldi riskihinnang koos täiendavate laboranalüüsidesega läbiviia pika säilivusajaga salatite ja õrnsoolakala osas.

Milline on uurimisrühma kokkuvõtlik soovitus Eesti riigile?

Vastus: infektsioonide algallikate ning kulgemisteede ja haiguspuhangute põhjuste kindlaks tegemiseks on möödapääsmatult oluline molekulaartüüpiseerimise võimekuse tõstmine riiklikul tasandil. Eelnimetatud riskihinnangute läbiviimine.

Kasutatud kirjandus

- Allerberger, F., Guggenbichler, J.P. 1989. Listeriosis in Austria - report of an outbreak in 1986. *Acta Microbiol. Hung.* 36:149–152.
- Andre, P., Roose, H., van Noyen, R., Dejaegher, L., Uyttendaele, I., De Schrijver, K. 1990. Neuromeningeal listeriosis associated with consumption of an ice cream. *Médecine et maladies infectieuses*, 20, 570-572.
- Angelidis, A. S., Koutsoumanis, K. 2006. Prevalence and concentration of *Listeria monocytogenes* in sliced ready-to-eat meat products in the Hellenic retail market. *J Food Prot.*, 69, 938-942.
- Arumugaswamy RK, Ali GRR, Hamid SNBA. 1994. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in foods in Malaysia. *Int J Food Microbiol* 23, 117–21.
- Aureli, P., Fiorucci, G.C., Caroli, D., Marchiaro, G., Novara, O., Leone, L., Salmaso, S. 2000. An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by *Listeria monocytogenes*. *N Eng J Med.*, 342 (17), 1236-1241.
- Aury, K., Le Bouquin, S., Toquin, M.T., Huneau-Salaün, A., Le Nôtre, Y., Allain, V., Petetin, I., Fravallo, P., Chemaly, M. 2011. Risk factors for *Listeria monocytogenes* contamination in French laying hens and broiler flocks. *Prev Vet Med.*, 1, 98(4), 271-278.
- Autio, T., Hielm, S., Miettinen, M., Sjöberg, A.-M., Aarnisalo, K., Björkroth, J., Mattila-Sandholm, T., Korkeala, H. 1999. Sources of *Listeria monocytogenes* contamination in a cold-smoked rainbow trout processing plant detected by pulsed-field gel electrophoresis typing. *Appl Environ Microbiol.*, 65, 150-155.
- Awaisheh, S.S. 2010. Incidence and contamination level of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in ready-to-eat meat products in Jordan. *Journal of Food Protection*, 73, 3, 535-540.
- Azadian, B.S., Finnerty, G.T. and Pearson, A.D. 1989. Cheese-borne listeria meningitis in immunocompetent patient. *Lancet* 1(8633), 322-323.
- Barnes, R., P. Archer, J. Strack, G. R. Istre, and Centers for Disease Control and Prevention. 1989. Epidemiologic notes and reports listeriosis associated with consumption of turkey franks. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 38, 267-268.

- Beaufort, A., Rudelle, S., Gnanou-Besse, N., Toquin, M. T., Kerouanton, A., Bergis, H., Salvat, G., Cornu, M. 2007. Prevalence and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated cold-smoked salmon. *Lett Appl Microbiol.*, 44, 406-411.
- Beckers, H. J., P. S. S. Soentoro, and E. H. M. Delfgou-van Asch. 1987. The occurrence of *Listeria monocytogenes* in soft cheeses and raw milk and its resistance to heat. *Int. J. Food Microbiol.* 4:249-256.
- Berzinš, A., Hörman, A., Lunden, J., Korkeala, H. 2007. Factors associated with *Listeria monocytogenes* contamination of coldsmoked pork products produced in Latvia and Lithuania. *International Journal of Food Microbiology*, 115, 173-179.
- Berzinš, A., Terentjeva, M., Korkeala, H. 2009. Prevalence and genetic diversity of *Listeria monocytogenes* in vacuum-packaged ready-to-eat meat products at retail markets in Latvia. *J Food Prot.*, 7, 1283-1287.
- Berzinš, A., Hellström, S., Silins, I., Korkeala, H. 2010. Contamination patterns of *Listeria monocytogenes* in cold-smoked pork processing. *J Food Prot* 73, 2103-2109.
- Bille J, Blanc DS, Schmid H, Boubaker K, Baumgartner A, Siegrist HH, et al. Outbreak of human listeriosis associated with Tomme cheese in northwest Switzerland, 2005. *EuroSurveill.* 2006; 11(6), 1-5
- Birk-Urovitz, E. 2008. Commentary. The 2008 Canadian listeriosis outbreak: a result of knowledge ignored,65-68. http://www.mumj.org/Issues/v8_2011/articles/v8_65.pdf
- Brett, M. S. Y., P. Short, and J. McLaughlin. 1998. A small outbreak of listeriosis associated with smoked mussels. *International Journal of Food Microbiology*, 43, 223-229.
- Büla, C.J., Bille, J., Glauser, M.P. 1995. An epidemic of foodborne listeriosis in Western Switzerland: Description of 57 cases involving adults. *Clin. Infect. Dis.* 20:66–72.
- Cabedo, L., Picart i Barrot, L., Teixidó i Canelles, A. 2008. Prevalence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* in ready-to-eat food in Catalonia, Spain. *J Food Prot.*, 71, 855-859.
- Cantoni, C., Balzaretto, C., Valenti, M. 1989. Episodio di listeriosi da consumo di insaccato (A case of *Listeria monocytogenes* human infection associated with consumption of "testa in cascetta" (cooked meat pork product)). *Archivio Veterinario Italiano*, 40, 141-142
- Cartwright, E.J., Jackson, K.A., Johnson, S.D., Graves, L.M., Silk, B.J., Mahon, B.E. 2013. Listeriosis outbreaks and associated food vehicles, United States, 1998-2008. *Emerging Infectious Diseases CME.* 19(12), 1-9.

- Carrasco, E., Pérez-Rodríguez, F., Valero, A., Garcia-Gimeno, R.M., Zurera, G. 2010. Risk Assessment and Management of *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Lettuce Salads. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 498-512.
- Carrique-Mas, J. J., Hökeberg, I., Andersson, Y., Arneborn, M., Tham, W., Danielsson-Tham, M.-L., Osterman, B., Leffler, M., Steen, M., Eriksson, E., Giesecke, J. 2003. Febrile gastroenteritis after eating on-farm manufactured fresh cheese—an outbreak of listeriosis? *Epidemiol. Infect.* 130:79–86.
- Carpentier, B., Cerf, O. 2011. Review – Persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises. *International Journal of Food Microbiology* 145, 1-8.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2014. Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Crave Brothers Farmstead Cheeses. <http://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cheese-07-13/advice-consumers.html> (Kättesaadaval: 11.02.2014)
- Centers for Disease Control and Prevention. 2008. Outbreak of *Listeria monocytogenes* infections associated with pasteurized milk from a local dairy--Massachusetts, 2007. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.*, 10;57(40), 1097-1100.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2000. FoodNet. Foodborne Diseases Active Surveillance Network. CDC's Emerging Infections Program. 1999 Surveillance Results. Preliminary Report.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2002–2003. Foodnet population survey. <http://www.cdc.gov/foodnet/surveys/pop/2002/2002Atlas.pdf> (Kättesaadav: 13.01.14)
- Coetzee, N., Laza-Stanca, V., Orendi, J.M., Harvey, S., Elviss, N.C., Grant, K.A. 2011. A cluster of *Listeria monocytogenes* infections in hospitalised adults, Midlands, England, February 2011. *Euro Surveill.*, 16 (20), 1-3.
- Gombas, D.E., Chen, Y., Clavero, R.S., Scott, V.N. 2003. Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. *J. Food Prot.* 66, 559-569.
- Cornelius, A.J., Hudson, J.A., Wong, T.L. 2008. Enumeration and growth of naturally occurring *Listeria* spp. in unpackaged ham. *Food Microbiology*, 25(2), 407-412.
- Cortesi, M.L., Sarli, T., Santoro, A., Murru, N. and Pepe, T. 1997. Distribution and behavior of *Listeria monocytogenes* in three lots of naturally-contaminated vacuum-packed smoked salmon stored at 2 and 10 °C. *Int. J. Food Microbiol.* 37, 209-214.
- Dalton, C.B., Austin, C.C., Sobel, J., Hayes, P.S., Bibb, W.F., Graves, L.M., Swaminathan, B., Proctor, M.E., Griffin, P.M. 1997. An outbreak of gastroenteritis and fever due to *Listeria monocytogenes* in milk. *N Engl J Med.*, 9, 336(2), 100-105.

- Dawson, S.J., Evans, M.R.W., Willby, D., Bardwell, J., Chamberlain, N., Lewis, D.A. 2006. *Listeria* outbreak associated with sandwich consumption from a hospital detail shop, United Kingdom. *Eurosurveillance*, 11 (4-6), 89-90.
- Dauphin, G., Ragimbeau, C., Malle, P. 2001. Use of PFGE typing for tracing contamination with *Listeria monocytogenes* in three cold-smoked salmon processing plants. *Int J Food Microbiol.*, 64, 51-61.
- De Buyser, M.-L., Dufor, B., Maire M., Lafarge, V. 2001. Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries.- *International Journal of Food Microbiology* 67:1-17.
- De Castro, V., Escudero, J.M., Rodriguez, J.L., Muniozguren, N., Uribarri, J., Saez, D., Vazquez, J. 2012. Listeriosis outbreak caused by Latin-style fresh cheese, Bizkaia, Spain, August 2012. *Eurosurveillance*, 17(42), 1-5.
- De Reu K, Grijspeerdt K, Herman L. 2004. A Belgian survey of hygiene indicator bacteria and pathogenic bacteria in raw milk and direct marketing of raw milk farm products. *Journal of Food Safety* 24, 17-36.
- Deutz, A; Pless, P and Koefer, J. 1999. Examination of raw cows and ewes milk for human pathogens. *Ernaehrung*. 23: 359-362.
- Desmaures, N, Bazin F, Guéguen M. 1997. Microbiological composition of raw milk from selected farms in the Camembert region of Normandy. *J Appl Microbiol*; 83, 53-58.
- De Valk, H., Jacquet, C., Goulet, V., Vaillant, V., Perra, A., Simon, F., Desenclos, J.C., Martin, P. 2005. Surveillance of listeria infections in Europe. *Euro Surveill*. 10(10), 251-255.
- De Valk, H, Vaillant, V, Jacquet, C, Rocourt, J, Le Querrec, F, Stainer, F, Quelquejeu, N, Pierre, O, Pierre, V, Desenclos, JC, Goulet, V. 2001. Two consecutive nationwide outbreaks of Listeriosis in France, October 1999-February 2000. *Am J Epidemiol*. Nov 15;154(10):944-50.
- Di Pinto, A., Novello, L., Montemurro, F., Bonerba, E., & Tantillo, G. 2010. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods from supermarkets in Southern Italy. *New Microbiologica*, 33, 249-252.
- Dorozynski, A. 2000. Seven die in French listeria outbreak. *British Medical Journal*, 320, 601.
- Dominguez, C., Gomez, I., Zumalacarregui, J. 2001. Prevalence and contamination levels of *Listeria monocytogenes* in smoked fish and pate sold in Spain. *J Food Prot.*, 64, 2075-2077.

- EFSA. 2013. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Listeria monocytogenes* in certain ready-to-eat foods in the EU, 2010-2011 Part A: *Listeria monocytogenes* prevalence estimates. EFSA Jopurnal, 11(6), lk. 75.
- Ericsson, H., A. Eklöw, M.-L. Danielson-Tham, S. Loncarevic, L.-O. Mentzing, I. Persson, H. Unnerstad, and W. Tham. 1997. An outbreak of listeriosis suspected to have been caused by rainbow trout. *Journal of Clinical Microbiology*, 35, 2904-2907.
- Farber, J. M., G. W. Sanders, S. Dunfield, and R. Prescott. 1989. The effect of various acidulants on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Lett. Appl. Microbiol.* 9:181-183.
- Farber, J. M. 1997. A small outbreak of listeriosis linked to consumption of imitation crab meat. *Journal of Food Protection* 60, Supplement B:38.
- Food Safety. 2005. Authority of Ireland. The control and management of *Listeria monocytogenes* contamination of food. Published by Food Safety Authority of Ireland, Abbey Court, Lower Abbey Street, Dublin 1, lk. 104.
- Foodborne Outbreak Online Database. Centers for Disease Control and Prevention. <http://wwwn.cdc.gov/foodborneoutbreaks/Default.aspx> (Kättesaadav: 20.01.2014)
- Fonnesbech Vogel, B., Huss, H. H., Ojeniyi, B., Ahrens, P., Gram, L. 2001. Elucidation of *Listeria monocytogenes* contamination routes in cold-smoked salmon processing plants detected by DNA-based typing methods. *Appl Environ Microbiol.*, 67, 2586-2595.
- Fleming, D. W., S. L. Cochi, K. L. MacDonald, J. Brondum, P. S. Hayes, B. D. Plikaytis, M. B. Holmes, A. Audurier, C. V. Broome, and A. L. Reingold. 1985. Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. *New England Journal of Medicine*, 312:404-407.
- Francis, G. A., O'Beirne, D. 2006. Isolation and pulsed-field gel electrophoresis typing of *Listeria monocytogenes* from modified atmosphere packaged fresh-cut vegetables collected in Ireland. *J Food Prot.*, 69, 2524-2528.
- Fretz, R., Pichler, J., Sagel, U., Much, P., Ruppitsch, W., Stöger, A., Huhulescu, S., Heuberger, S., Appl, G., Werber, D., Stark, K., Prager, R., Flieger, A., Karpíšková, R., Pfaff, G., Allerberger, F. 2010. Update: multinational listeriosis outbreak due to „Quargel“, a sour milk curd cheese, caused by two different *L. monocytogenes* serotype 1/2a strains, 2009-2010. *Eurosurveillance*, 15(16), 1-2.
- Gaya, P; Sanchez, J; Medina, M and Nunez, M. 1998. Incidence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in raw milk produced in Spain. *Food Microbiol.*, 15: 551-555.

- Garrido, V., Vitas, A. I., García-Jalón, I. 2009. Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat products: prevalence by brands and retail establishments for exposure assessment of listeriosis in Northern Spain. *Food Control*, 20, 986-991.
- Giacometti, F., Serraino, A., Finazzi, G., Daminelli, P., Losio, M.N., Arrigoni, N., Piva, S., Florio, D., Riu, R., Zanoni, R.G. 2012. Sale of Raw Milk in Northern Italy: Food Safety Implications and Comparison of Different Analytical Methodologies for Detection of Foodborne Pathogens. *Foodborne Pathogens and Disease*. April, 9(4): 293-297.
- Goulet, V., Jacquet, C., Vaillant, V., Rebiere, I., Mouret, E., Lorente, C., Maillot, E., Stainer, F., Rocourt, J. 1995. Listeriosis from consumption of raw-milk cheese. *Lancet* 345:1581–1582.
- Goulet, V, Rocourt, J., Rebiere, I., Jacquet, C., Moyse, C., Dehaumont, P., Salvat, G., Veit, P. 1998. Listeriosis outbreak associated with the consumption of rillettes in France in 1993. *J. Infect. Dis.*, 177(1), 155-160.
- Goulet, V, Martin, P., Jacquet, CH. 2002. Cluster of listeriosis cases in France. *Eurosurveillance Weekly*. 6:27.
- Graham, JC, Lanser, S, Bignardi, G, Pedler, S, Hollyoak, V. 2002. Hospital-acquired listeriosis. *J Hosp Infect*. Jun;51(2):136-9.
- Gudbjörnsdóttir, B., Suihko, M.-L., Gustavsson, P., Thorkelsson, G., Salo, S., Sjöberg, A.-M., et al. 2004. The incidence of *Listeria monocytogenes* in meat, poultry and seafood plants in the Nordic countries. *Food Microbiology*, 21, 217-225.
- Hatakka, M., Rantala, L., Oivanen, L., Johansson, T. 2002. *Listeria monocytogenes* in vacuum-packed cold-smoked fish products in Finland in 2001. How safe is it to eat Nordic fish? An NMKL seminar. Mariehamn, Finland, August 23.2002.
- Heir, E., Lindstedt, B.-A., Røtterud, O.-J., Vardund, T., Kapperud, G., Nesbakken, T., 2004. Molecular epidemiology and disinfectant susceptibility of *Listeria monocytogenes* from meat processing plants and human infections. *International Journal of Food Microbiology* 96, 85–96.
- Hellström, S., Laukkanen, R., Siekkinen, K.M., Ranta, J., Majjala, R., Korkeala, H. 2010. *Listeria monocytogenes* contamination in pork can originate from farms. *J Food Prot.*, 73(4), 641-8.
- Hellström, S. 2011. Contamination routes and control of *Listeria monocytogenes* in food production. Academic dissertation, pp. 67.
<https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/27420/contamin.pdf?sequence=1>

- Lin CM, Fernando SY, Wei CI. 1996. Occurrence of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp*, *Escherichia coli* and *E. coli O157:H7* in vegetable salads. *Food Control* 7, 135–40.
- Ho, J. L., Shands, K. N., Friedland, G., Eckind, P., Fraser, D. W. 1986. An outbreak of type 4b *Listeria monocytogenes* infection involving patients from eight Boston hospitals. *Archives of Internal Medicine*, 146, 520-524.
- Hudson, J. A., S. J. Mott, and N. Penney. 1994. Growth of *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila*, and *Yersinia enterocolitica* on vacuum and saturated carbon dioxide controlled atmosphere packaged sliced roast beef. *J. Food Prot.* 57:204–208.
- Hächler, H., Marti, G., Giannini, P., Lehner, A., Jost, M., Beck, J., Weiss, F., Bally, B., Jermini, M., Stephan, R., Baumgartner, A. 2013. Outbreak of listeriosis due to imported cooked ham, Switzerland 2011. *Eurosurveillance*, 18(18), 1-5.
- Jacquet, C., B. Catimel, R. Brosch, C. Buchrieser, P. Dehaumont, V. Goulet, A. Lepoutre, P. Veit, and J. Rocourt. 1995. Investigations related to the epidemic strain involved in the French listeriosis outbreak in 1992. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 2242-2246.
- Jadhav, S., Bhave, M., Palombo, E. A. 2013. Methods used for the detection and subtyping of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Microbiological Methods* 88(3), 327-341.
- Jakobsen, R.A., Heqqebø, R., Sunde, E.B., Skjervheim, M. 2011. *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in Norwegian raw milk cheese production. *Food Microbiol.*, 28(3), 492-496.
- Jamali, H., Radmehr, B., Thong, K. L. 2013. Prevalence, characterisation, and antimicrobial resistance of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* isolates from raw milk in farm bulk tanks. *Food Control* 34: 121-125.
- Jay, M.J., Lessner, J.M., Golden, A.D. 2005. *Modern Food Microbiology*. Seventh edition. Food Science Text Series. Springer Science, Business Media, Inc., USA.
- Jensen, A., Frederiksen, W., Gerner-Smidt, P. 1994. Risk factors for listeriosis in Denmark, 1989–1990. *Scand. J. Infect. Dis.* 26:171–178.
- Jemmi, T., Pak, S. I., Salman, M. D. 2002. Prevalence and risk factors for contamination with *Listeria monocytogenes* of imported and exported meat and fish products in Switzerland, 1992-2000. *Prev Vet Med.*, 54, 25-36.
- Johansson, T., Rantala, L., Palmu, L., Honkanen-Buzalski, T. 1999. Occurrence and typing of *Listeria monocytogenes* strains in detail vacuum-packed fish products and in a production plant. *Int J Food Microbiol.*, 47, 111-119.

- Johannessen, G.S., Loncarevic, S., Kruse, H. 2002. Bacteriological analysis of fresh produce in Norway. *Int. J. Food Microbiol.*, 77, 199-204.
- Jørgensen, L.V., Huss, H.H. 1998. Prevalence and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated seafood. *Int. J. Food Microbiol.* 42, 127-131.
- Juntilla, J. and M. Brander. 1989. *Listeria monocytogenes* septicemia associated with consumption of salted mushrooms. *Scandinavian Journal of Infectious Disease*, 21, 339-342.
- Yde, M., Naranjo, M., Mattheus, W., Stragier, P., Pochet, B., Beulens, K., De Schrijver, K., Van den Branden, D., Laisnez, V., Flipse, W., Leclercq, A., Lecuit, M., Dierick, K., Bertrand, S. 2012. Usefulness of the European epidemic intelligence information system in the management of an outbreak of listeriosis, Belgium, 2011. *Eurosurveillance*, 17 (38), 1-5.
- Kadam, S. R., den Besten, H. M. W., van der Veen, S., Zwietering, M. H., Moezelaar, R., Abee, T. 2013. Diversity assessment of *Listeria monocytogenes* biofilm formation: Impact of growth condition, serotype and strain origin. *International Journal of Food Microbiology*, 165, 259-264.
- Kanarat, S., Jitnupong, W., Sukhapesna, J. 2011. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in chicken production chain in Thailand. *Thai J Vet Med.*, 41(2), 155-161.
- Karakolev, R. 2009. Incidence of *Listeria monocytogenes* in beef, pork, raw-dried and raw-smoked sausages in Bulgaria. *Food Control*, 20, 953-955.
- Kasalica, A., Vuković, V., Vranješ, A., Memiši, N. 2011. *Listeria monocytogenes* in milk and dairy products. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 27(3), 1067-1082.
- Keto-Timonen, R., Tolvanen, R., Lundén, J., Korkeala, H. 2007. An 8-year surveillance of the diversity and persistence of *Listeria monocytogenes* in a chilled food processing plant analyzed by amplified fragment length polymorphism. *J Food Prot* 70, 1866-1873.
- Konosonoka, I.H., A. Jemeljanovs, B. Osmane, D. Ikauniece, and G. Gulbe. 2012. Incidence of *Listeria* spp. in Dairy Cows Feed and Raw Milk in Latvia. *International Scholarly Research Network, ISRN Veterinary Science, Volume 2012, Article ID 435187, 5 pages.*
- Kramarenko, T., Roasto, M., Meremäe, K., Kuningas, M., Põltsama, P., Elias, T. 2013. *Listeria monocytogenes* prevalence and serotype diversity in various foods. *Food Control*, 24-29.
- Kwiatk, K. 2004. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in selected food of animal origin. *The Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 48, 269-272.

- Lambertz, S. T., Nilsson, C., Bradenmark, A., Sylven, S., Johansson, A., Jansson, L. M., Lindblad, M. 2012. Prevalence and level of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods in Sweden 2010. *Int J Food Microbiol.*, 160: 24-31.
- Langer, A. J., Ayers, T., Grass, J., Lynch, M., Angulo, F. J., Mahon, B. E. 2012. Nonpasteurized dairy products, disease outbreaks, and state laws - United States, 1993-2006. *Emerging Infectious Diseases*, 18, 385-391.
- Latorre, AA, Van Kessel JS, Karns JS, Zurakowski MJ, Pradhan AK, Boor KJ, Jayarao BM, Houser BA, Daugherty CS, Schukken YH. 2010. Biofilm in milking equipment on a dairy farm as a potential source of bulk tank milk contamination with *Listeria monocytogenes*. *J Dairy Sci*; 93:2792-2802.
- Lennon, D., B. Lewis, C. Mantell, D. Becroft, B. Dove, K. Farmer, S. Tonkin, N. Yates, R. Stamp, and K. Mickleson. 1984. Epidemic perinatal listeriosis. *Pediatric Infectious Disease*, 3, 30-34.
- Legnani P, Leoni E, Berveglieri M, Mirolo G, Alvaro N. 2004. Hygienic control of mass catering establishments, microbiological monitoring of food and equipment. *Food Control* 15:205–11.
- Lewis, H.C., Little, C.L., Elson, R., Greenwood, M., Grant, K.A., McLauchlin, J. 2006. Prevalence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in butter from United Kingdom production, retail, and catering premises. *J. Food Prot.* 69, 1518-1526.
- Little, C., Roberts, D., Youngs, E., de Louvois, J. 1999. Microbiological quality of detail imported unprepared whole lettuces: a PHLS Food Working Group Study. *Public Health Laboratory Service. J. Food Prot.*, 62, 325-328.
- Little, C.L., Taylor, F.C., Sagoo, S.K., Gillespie, I.A., Grant, K., McLauchlin, J. 2007. Prevalence and level of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in retail pre-packaged mixed vegetable salads in the UK. *Food Microbiol.*, 24, 711-717.
- Loncarevic S, Johannessen GS, Rorvik LM. 2005. Bacteriological quality of organically grown leaf lettuce in Norway. *Lett Appl Microbiol* 41, 186–9.
- Loncarevic, S., Tham, W., Danielsson-Tham, M.-L. 1996. Prevalence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in smoked and "gravad" fish. *Acta Vet. Scand.*, 37, 13 18.
- Lyytikäinen, O, Autio, T, Maijala, R, Ruutu, P, Honkanen-Buzalski, T, Miettinen, M, Hatakka, M, Mikkola, J, Anttila, VJ, Johansson, T, Rantala, L, Aalto, T, Korkeala, H, Siitonen, A. 2000. An outbreak of *Listeria monocytogenes* serotype 3a infections from butter in Finland. *J Infect Dis*, 181:1838-1841.

- Lyytikäinen, O, Siitonen, A, Johansson, T, Hatakka, M. 2000. Listeriosis cases suspected to have been caused by vacuum-packed fish products in Finland. *Eurosurveillance weekly*, April 13.
- Linnan, M. J., L. Mascola, X. D. Lou, V. Goulet, S. May, C. Salminen, D. W. Hird, M. L. Yonekura, P. Hayes, R. Weaver, and et al. 1988. Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese. *New England Journal of Medicine*, 319, 823-828.
- Le Souëf, P. N. and B. N. EWalters. 1981. Neonatal listeriosis. A summer outbreak. *Medical Journal of Australia*, 2, 188-191.
- Lejeune, J.T., Rajala-Schultz, P.J. 2009. Unpasteurized milk: a continued publik health threat. *Clinical Infectious Diseases*, 48 (1), 93-100.
- Low, J.C., Donachie, W. 1997. Review. A review of *Listeria monocytogenes* and listeriosis. *The Veterinary Journal*, 153, 9-29.
- Lundén, J., Tolvanen, R., Korkeala, H. 2004. Human listeriosis outbreaks linked to dairy products in Europe. *J. Dairy Sci.* 87: E6-E11.
- Martin, S.E., Fisher, C.W. 2000. *Listeria monocytogenes*. In: Robinson, R.K., Batt, C.A., Patel, P.D. (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology*. Academic Press, lk. 1228 1237.
- Markkula, A. 2013. Epidemiology and stress responses of *Listeria monocytogenes*. Academic dissertation. The Faculty of Veterinary Medicine of the University of Helsinki, pp. 78.
- Meremäe, K., Roasto, M., Elias, T. 2011. *Listeria monocytogenes* piimas ja piimatoodetes. *Eesti Loomaarstlik Ringvaade*, 1, 13-17.
- Meldrum, R. J., Ellis, P. W., Mannion, P. T., Halstead, D., Garside, J., Welsh Food Microbiological Forum. 2010. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in ready to eat foods sampled from the point of sale in Wales, United Kingdom. *Journal of Food Protection*, 73, 1515-1518.
- Mena, C., Almeida, G., Carneiro, L., Teixeira, P., Hogg, T., Gibbs, P.A. 2004. Incidence of *Listeria monocytogenes* in different food products commercialized in Portugal. *Food Microbiology*, 21(2), 213-216.
- Meyer, C., Fredriksson-Ahomaa, M., Sperner, B., Martlbauer, E. 2011. Detection of *Listeria monocytogenes* in pork and beef using the VIDAS(R) LMO2 automated enzyme linked immunoassay method. *Meat Sci.*, 88, 594-596.
- Meyer-Broseta, S., Diot, A., Bastian, S., Riviere, J, Cerf, O. 2002. Estimation of low bacterial concentration: *Listeria monocytogenes* in raw milk. *International Journal of Food Microbiology*, 80, 1-15.

- Miettinen MK, Björkroth KJ, Korkeala HJ. 1999. Characterization of *Listeria monocytogenes* from an ice cream plant by serotyping and pulsed-field gel electrophoresis. *Int J Food Microbiol* 1999; 46:187-192.
- Miettinen, H., Wirtanen, G. 2005. Prevalence and location of *Listeria monocytogenes* in farmed rainbow trout. *Int J Food Microbiol.*, 104, 135-143.
- Mitchell, D. L. 1991. A case cluster of listeriosis in Tasmania. *Communicable Disease Intelligence*, 15, 427.
- Miettinen, M.K., Siitonen, A., Heiskanen, P., Haajanen, H., Björkroth, K.J., Korkeala, H.J. 1999. Molecular epidemiology of an outbreak of febrile gastroenteritis caused by *Listeria monocytogenes* in cold-smoked rainbow trout. *J Clin Microbiol*, 37:2358-2360.
- Miettinen, M. K., Palmu, L., Björkroth, K. J., Korkeala, H. 2001. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in broilers at the abattoir, processing plant, and retail level. *J Food Prot.*, 64, 994-999.
- McLauchlin, J., S. M. Hall, S. K. Velani, and R. J. Gilbert. 1991. Human listeriosis and pâté: A possible association. *British Medical Journal*, 303, 773-775.
- Mead, P. S., L. Slutsker, V. Dietz, L. F. McCraig, S. Bresee, C. Shapiro, P. M. Griffin, and R. V. Tauxe. 1999. Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases*, 5, 607-625.
- Mørk, T., Bergsjø, B., Sviland, S. and Kvitle, B. Humanpatogene bakterier i tankmelk fra ku og geit. (2003). Oslo, Veterinærinstituttet. Ref Type: Report.
- Møretro, T., Langsrud, S. 2004. *Listeria monocytogenes*: biofilm formation and persistence in food-processing environments. *Biofilms*, 1(2), 107-121.
- Mäesaar, M., Roasto, M., Kramarenko, T. 2014. *Listeria monocytogenes* toidupatogeenina, seonduvad riskifaktorid ning Eestis teostatud uuringud. Kogumik „Terve loom ja tervislik toit 2014“.
- Nakamura, H., Hatanaka, M., Ochi, K., Nagao, M., Ogasawara, J., Hase, A., et al. 2004. *Listeria monocytogenes* isolated from cold-smoked fish products in Osaka city, Japan. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 323-328.
- Navratilova, P., Schlegelova, J., Sustackova, A., Napravnikova, E., Lukasova, J., Klimova, E. 2004. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in milk, meat and foodstuffs of animal origin and the phenotype of antibiotic resistance of isolated strains. *Vet. Med. – Czech*, 49(7), 243-252.
- Newkirk R, Hedberg C, Bender J. Establishing a milkborne disease outbreak profile: potential food defense implications. *Foodborne Pathog Dis* 2011; 8:433-437.

- Nichols, G., McLauchlin, J., de Louvois, J. 1998. The contamination of pâté with *Listeria monocytogenes* - results from the 1994 European Community - Coordinated Food Control Program for England and Wales. *J Food Prot.*, 61, 1299-1304.
- Nørrung, B., Andersen, J. K., Schlundt, J. 1999. Incidence and control of *Listeria monocytogenes* in foods in Denmark. *Int J Food Microbiol* 53, 195-203.
- Norton, D. M., Braden, C. R. 2007. Foodborne listeriosis. In E. T. Ryser, & E. H. Marth (Eds.), *Listeria, listeriosis, and food safety* (pp. 305e356). New York: CRC Press.
- Ojeniyi, B., Christensen, J., Bisgaard, M. 2000. Comparative investigations of *Listeria monocytogenes* isolated from a turkey processing plant, turkey products, and from human cases of listeriosis in Denmark. *Epidemiol Infect*, 125, 303-308.
- Oliver SP, Boor KJ, Murphy SC, Murinda SE. Food safety hazards associated with consumption of raw milk. *Foodborne Pathog Dis* 2009; 6:793-806.
- Oliveira, M., Usall, J., Viñas, I., Anguera, M., Gatiús, F., Abadías, M. 2010. Microbiological quality of fresh lettuce from organic and conventional production. *Food Microbiol.*, 27, 679-684.
- OzFoodNet quarterly report, 1 July to 30 September 2009, 33(4), 426-432. [http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/cda-cdi3304-pdf-cnt.htm/\\$FILE/cdi3304f.pdf](http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/cda-cdi3304-pdf-cnt.htm/$FILE/cdi3304f.pdf)
- Pal, A., Labuza, T.P., Diez-Gonzalez, F. 2008. Evaluating the growth of *Listeria monocytogenes* in refrigerated ready-to-eat frankfurters: influence of strain, temperature, packaging, lactate and diacetate, and background microflora. *J Food Prot.*, 71(9):1806-16.
- Pourshaban, M., Gianfranceschi, M., Gattuso, A., Menconi, F., Aureli, P. 2000. Identification of *Listeria monocytogenes* contamination sources in two fresh sauce production plants by pulsed-field gel electrophoresis. *Food Microbiol* 17, 393-400.
- Pichler J, Much P, Kasper S, Fretz R, Auer B, Kathan J, Mann M, Huhulescu S, Ruppitsch W, Pietzka A, Silberbauer K, Neumann C, Gschiel E, de Martin A, Schuetz A, Gindl J, Neugschwandtner E, Allerberger F. 2009. An outbreak of febrile gastroenteritis associated with jellied pork contaminated with *Listeria monocytogenes*. *Wiener klinische Wochenschrift*, 121:149-157.
- Praakle-Amin, K., Hänninen, M. L., Korkeala, H. 2006. Prevalence and genetic characterization of *Listeria monocytogenes* in retail broiler meat in Estonia. *J Food Prot.*, 69, 436-440.

- Prencipe, V., Migliorati, G., Matteucci, O., Calistri, P., Di Giannatale, E. 2010. Assessment of hygienic quality of some types of cheese sampled from retail outlets. *Vet Ital.*, 46, 221-231.
- Rapport. 2008. Forekomst og forebygging av uønska mikroorganismer og fremmedstoffer i småskala mjølkeforedning i Norge. Ressursenteret, Sogn Jord og Hagebruksskule, pp. 13.
- Rorvik, L.M., Aase, B., Alvestad, T., Caugant, A.D. 2000. Molecular epidemiological survey of *Listeria monocytogenes* in seafoods and seafood-processing plants. *Applied Environmental Microbiology*, 66, 4779-4784.
- Ryser, E.T. 2002. *Listeria monocytogenes*. In: Roginski, H., Fuquay, J.W., Fox, P.F. (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Academic Press, lk. 1650-1655.
- Ryser, E. T. 1999. Foodborne listeriosis, Pages 299-358 in E. T. Ryser and E. H. Marth, eds. *Listeria, Listeriosis, and Food Safety*. Food Science and Technology. New York, Marcell Dekker, Inc.
- Ruusunen, M., Salonen, M., Pulkkinen, H., Huuskonen, M., Hellström, S., Revez, J., Hänninen, M.-L., Fredriksson-Ahomaa, M., Lindström, M. 2013. Pathogenic bacteria in Finnish bulk tank milk. *Foodborne Pathog Dis.*, 10(2), 99-106.
- Rørvik, L. M., Aase, B., Alvestad, T., Caugant, D. A. 2003. Molecular epidemiological survey of *Listeria monocytogenes* in broilers and poultry products. *J Appl Microbiol.*, 94, 633-640.
- Ryser, E.T., Marth, E.H. 1999. *Listeria, Listeriosis, and Food Safety*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Sagoo, S. K., Little, C. L., Ward, L., Gillespie, I. A., Mitchell, R. T. 2003. Microbiological study of ready-to-eat salad vegetables from detail establishments uncovers a national outbreak of salmonellosis. *J Food Prot.*, 66, 403-409.
- Salamina G, Donne ED, Niccolini A, Poda G, Cesaroni D, Bucci M, Fini R, Maldini M, Schuchat A, Swaminathan B, Bibb W, Rocourt J, Binkin N, Salmaso S. 1996. A foodborne outbreak of gastroenteritis involving *Listeria monocytogenes*. *Epidemiol Infect.*, 117, 429-36.
- Samelis, J. 1999. Incidence and Principal sources of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* contamination in processed meats and a meat processing plant. *Food Microbiol.*, 16, 465-477.

- Sim, J., Hood, D., Finnie, L., Wilson, M., Graham, C., Brett, M., Hudson, J.A. 2002. Series of incidents of *Listeria monocytogenes* non-invasive febrile gastroenteritis involving ready-to-eat meats. *Letters in Applied Microbiology*, 35(5), 409-413.
- Schwartz, B., D. Hexter, C. V. Broome, A. W. Hightower, R.B. Hirschhorn, J. D. Porter, P.S. Hayes, W. F. Bibb, B. Lorber, and D. G. Faris. 1989. Investigation of an outbreak of listeriosis: New hypotheses for the etiology of epidemic *Listeria monocytogenes* infections. *Journal of Infectious Diseases*, 159, 680-685.
- Smith, B., Larsson, J.T., Müller, L., Madsen, S.B., Engberg, J., Bangsberg, S., Ethelberg, S., Kemp, M. 2010. Outbreak of listeriosis caused by infected beef meat from a meals-on-wheels delivery in Denmark 2009. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(1), 50-52.
- Stephan, R., Bühler, K. 2002. Prävalenz von *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. und *Listeria monocytogenes* in Bestandesmilchproben aus der Nordostschweiz. *Arch. Lebensmittelhyg.*, 53, 62-65.
- Tham, W, Ericsson, H, Loncarevic, S, Unnerstad, H, Danielsson-Tham, ML. 2000. Lessons from an outbreak of listeriosis related to vacuum-packed gravad and cold-smoked fish. *Int J Food Microbiol.* Dec 20;62(3):173-5.
- Seeliger, H. P. R. 1961. *Listeriosis*. Hafner, New York.
- Schlech, W. F., III, P. M. Lavigne, R. A. Bortolussi, A. C. Allen, E. V. Haldane, A. J. Wort, A. W. Hightower, S. E. Johnson, S.H. King, E. S. Nicholls, and C. V. Broome. 1983. Epidemic listeriosis: Evidence for transmission by food. *Medical Intelligence*, 308, 203-206.
- Schvartzman MS, Maffre A, Tenenhaus-Aziza F, Sanaa M, Butler F, Jordan K. Modelling the fate of *Listeria monocytogenes* during manufacture and ripening of smeared cheese made with pasteurised or raw milk. *Int J Food Microbiol* 2011; 145:S31-38.
- Soultos, N., Koidis, P., Madden, R. H. 2003. Presence of *Listeria* and *Salmonella* spp. in retail chicken in Northern Ireland. *Lett Appl Microbiol.*, 37, 421-423.
- Terviseamet. 2014a. Nakkushaigused. Listerioos.
<http://www.terviseamet.ee/fileadmin/dok/Nakkushaigused/nakkused/Listerioos.pdf>
 Kättesaadav: 31.01.2014
- Terviseamet. 2014b. Nakkushaigused Eestis 1999-2005 / 2006-2009 / 2011-2012.
<http://www.terviseamet.ee/nakkushaigused/nakkushaigustesse-haigestumine.htm>
 Kättesaadav: 31.01.2014

- Terviseamet. 2012. Toimetajad: Epstein, J., Kutsar, K., Kerbo, N., Aro, T. Nakkushaiguste esinemine Eestis (statistikaandmed). 15. osa, lk. 60-62. http://www.terviseamet.ee/fileadmin/dok/Kasulikku/Nakkushaigused/stat_15.pdf
Kättesaadav: 31.01.2014
- Tompkin, R. B. 2002. Control of *Listeria monocytogenes* in the food-processing environment. *Journal of Food Protection* 65(4): 709-725.
- Tompkin, R. B., Scott, V.N., Bernard, D.T., Sevum, W.H., Gombas, K.S. 1999. Guidelines to prevent post-processing contamination from *Listeria monocytogenes*. *Dairt, Food and Environmental Sanitation*, 19(8), 551-562.
- Uyttendaele, M., Busschaert, P., Valero, A., Geeraerd, A.H., Vermeulen, A., Jacxsens, L., Goh, K.K., De Loy, A., Van Impe, J.F., Devlieghere, F. 2009. Prevalence and challenge tests of *Listeria monocytogenes* in Belgian produced and retailed mayonnaise-based deli-salads, cooked meat products and smoked fish between 2005 and 2007. *Int. J. Food Microbiol.*, 133, 94-104.
- Uyttendaele, M., De Troy, P., Debevere, J. 1999. Incidence of *Listeria monocytogenes* in different types of meat products on the Belgian retail market. *Int. J. Food Microbiol.*, 53, 75-80.
- Van Coillie, E., Werbrouck, H., Heyndrickx, M., Herman, L., & Rijepens, N. 2004. Prevalence and typing of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat food products on the Belgian market. *Journal of Food Protection*, 67, 2480-2487.
- van den Elzen, A. M., Snijders, J. M. 1993. Critical points in meat production lines regarding the introduction of *Listeria monocytogenes*. *Vet Q.*, 15, 143-145.
- Vilar, M.J., Yus E., Sanjuán, M.L., Diéguez, F.J., Rodríguez-Otero, J.L. 2007. Prevalence and risk factors for *Listeria* species on dairy farms. *J Dairy Sci*; 90:5083-5088.
- Vit, M, Olejnik, R, Dlhy, J, Karpiskova, R, Castkova, J, Prikazsky, V, Prikazska, M, Benes, C, Petras, P. 2007. Outbreak of listeriosis in the Czech Republic, late 2006-preliminary report. *EuroSurveillance*, 12(6), 1-2.
- Vitas, A.I., Garcia-Jalon, V.A. 2004. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in fresh and processed foods in Navarra (Spain). *Int J Food Microbiol.*, 90, 349-356.
- Vogel, B. F., Huss, H. H., Ojeniyi, B., Ahrens, P., Gram, L. 2001. Elucidation of *Listeria monocytogenes* contamination routes in cold-smoked salmon processing plants detected by DNA-based typing methods. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 2586-2595.

- Waak, E., Tham, W., Danielsson-Tham, M.-L. 2002. Prevalence and fingerprinting of *Listeria monocytogenes* strains isolated from raw whole milk in farm bulk tanks and in dairy plant receiving tanks. *Appl Environ Microbiol*, 68:3366-3370.
- Wagner, M., Auer, B., Trittmittel, C., Hein, I., Schoder, D. 2007. Survey on the *Listeria contamination* of ready-to-eat food products and household environments in Vienna, Austria. *Zoonoses Public Health*, 54, 16-22.
- Whiting, R., Carrington, C., Hicks, J., Dennis, S., Buchanan, R. 2003. Quantitative assessment of relative risk to public health from foodborne *Listeria monocytogenes* among selected categories of ready-to-eat foods, pp. 272. <http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodScienceResearch/UCM197330.pdf>
- Whyte, R. 2000. ESR's foodborne illness case study. *Food Technology in New Zealand*, 35, 32.
- Winter CH, Brockmann SO, Sonnentag SR, Schaupp T, Prager R, Hof H, Becker B, Stegmanns T, Roloff HU, Vollrath G, Kuhm AE, Mezger BB, Schmolz GK, Klittich GB, Pfaff G, Piechotowski I. 2009. Prolonged hospital and community-based listeriosis outbreak caused by ready-to-eat scalded sausages. *The Journal of Hospital Infection*, 73:121-128.
- Wong, T.L., Carey-Smith, G.V., Hollis, L., Hudson, J.A. 2005. Microbiological survey of prepackaged pâté and ham in New Zealand. *Letters in Applied Microbiology*, 41, 106-111.

OSA 3

SHIGA-TOKSIINE TOOTEV *ESCHERICHIA COLI*

RISKIPROFIIL

Sisukord

| | |
|---|-----|
| Sissejuhatus | 131 |
| 1. <i>Escherichia coli</i> üldiseloomustus..... | 132 |
| 2. STEC eluvõimet ja kasvu mõjutavad tegurid..... | 136 |
| 3. Laboratoorsed meetodid STEC tuvastamiseks..... | 137 |
| 4. STEC nakkusallikad, peamised levikuteed ja nakatumisannus | 139 |
| 5. STEC/EHEC poolt põhjustatud sooleinfektsioonid | 141 |
| 6. STEC'iga seonduvad haiguspuhangud..... | 143 |
| 7. Eesti tulemused | 150 |
| 7.1. <i>E. coli</i> O157-ga seotud uuringud veisekarja, tapamaja ja ettevõtte tasandil..... | 150 |
| 7.2. STEC O157, O103, O145, O26 ja O111 uuringud aastatel 2013-2014 | 155 |
| 7.2.1. Uuringud tapamaja tasandil..... | 155 |
| 7.2.2. Uuringud lihalõikuse tasandil..... | 158 |
| 7.2.3. Uuringud kütitud suurulukite kogumiskeskustes | 159 |
| 7.2.4. Uuringud piimatootmisettevõtetes | 160 |
| Kokkuvõtte ja järeldused..... | 162 |
| Seonduvad küsimused ja vastused | 163 |
| Kasutatud kirjandus..... | 167 |

Sissejuhatus

Shiga-toksiine tootva *Escherichia coli* (STEC) näol on tegemist zoonoosse haigustekitajaga, mille esinemisest teavitamine on direktiivi 2003/99/EÜ alusel kõikidele liikmesriikidele kohustuslik. Euroopa Toiduohutusameti (EFSA) ning Euroopa Nakkushaiguste Tõrje ja Kontrolli Keskuse (ECDC) soovitude kohaselt tuleks epidemioloogilist olukorda silmas pidades kindlaks määrata enimlevinud serogruppide O157, O26, O103, O111, O145 esinemissagedus toidutootmisahelas ning inimpopulatsioonis ning seejärel läbi viia riskianalüüs. Eeltoodud soovitus on tingitud sellest, et laboriuuringud mitmetes riikides on senini keskendunud vaid serogrupile O157, mistõttu jäävad paljude teiste oluliste STEC bakteritüvede poolt põhjustatud haigusjuhtumid sageli tähelepanuta ning registreerimata. Eeltoodu kehtib ka STEC seireprogrammide kohta nii loomadel kui toidus. Eestis on senised riiklikud STEC uuringud samuti keskendunud vaid O157 serogrupi määramisele, kusjuures erinevatel aastatel on seireplaanidesse hõlmatud nii farmi-, tapamaja- kui lihalõikustasand. Teiste potentsiaalselt ohtlike *E. coli* serogruppide osas riiklikke uuringuid senini läbi viidud ei ole.

1. *Escherichia coli* üldiseloostus

Escherichia coli (*E. coli*) näol on tegemist *Enterobacteriaceae* sugukonda kuuluva bakteriga, mis kuulub loomade ning inimese sooletrakti normaalse mikrofloora hulka. Seetõttu on teda käsitletud toidu- ja veehügieeni seisukohast olulise indikaatorbakterina nüüdseks enam kui sajand. Bakteri leidumine toidus või vees viitab otseselt fekaalsele saastusele ning potentsiaalsete haigustekitajate leidumisele. *E. coli* bakterit peetakse üldiselt ohutuks, kuid nõrga tervise ning puuduliku immuunsüsteemiga isikutel võib ka muidu ohutuks peetav mikroob nakkust põhjustada. Seepärast rühmitatakse ta tinglike ehk oportunistlike patogeenide hulka.

Siiski on mõned *E. coli* bakterid omandanud evolutsiooni käigus virulentsusfaktorid, tänu millele nad on võimelised põhjustama infektsioone ka tervetel inimestel ja loomadel (Labbe ja Garcia, 1913, Kaper *et al.*, 2004, Nataro & Kaper, 1998). Need patogeense *E. coli* nime all olevad bakterid liigitatakse kahte suurde gruppi sõltuvalt sellest, millise organismiosa haigestumisega nad seotud on. Ekstraintestinaalse patogeense *E. coli* (ExPEC) patogruppi kuuluvad uropatogeenne *E. coli* (*uropatogenic E. coli*, UPEC) ning vastsündinu meningiidiga seotud *E. coli* (*neonatal meningitis-associated E. coli*, NMEC). Erinevaid sooleinfektsioone põhjustavad *E. coli* bakterid liigitatakse kõhulahtistust esilekutsuva *E. coli* (*diarrhoegenic E. coli*, DEC) patogruppi. Sõltuvalt haigustekitaja virulentsusfaktoritest (adhesioon, koloniseerimise mehhanismid, toksiinid), fenotüübilistest omadustest ning haigusnähtudest jagatakse DEC omakorda kuude suuremasse alagruppi: enteropatogeenne *E. coli* (EPEC), enterotoksigeenne *E. coli* (ETEC), enteroinvasiivne *E. coli* (EIEC), enteroagregatiivne *E. coli* (EAEC), difuusselt adherentne *E. coli* (DAEC) ja Shiga-toksiini tootev *E. coli* (STEC). Viimast tuntakse ka verotsütotoksilise *E. coli* (VTEC) nime all. DEC patogruppi liigituvad bakterid põhjustavad inimestel ja loomadel kõhulahtisusega kulgevaid gastroenteriite, mis mõningail juhtudel võivad viia tõsiste sündroomide väljakujunemiseni (Morabito, 2014).

E. coli tüvede eristamiseks on seniajani laialdaselt kasutusel serotüpeerimine, mis põhineb somaatiliste ehk pinnantigeenide (O), viburiantigeenide (H) ning kapsli- (kihnu) antigeenide (K) määramisel. See võimaldab uuringute suhteliselt varases faasis eristada potentsiaalselt patogeensed serotüübid teistest ehk rahvatervise seisukohast vähem olulistest serotüüpidest.

Mõistete „serogrupp“ ja „serotüüp“ kasutamine sõltub sellest, kas konkreetset bakteritüve on iseloomustatud vaid O-antigeeni või mõlema, O- ja H-antigeeni alusel (nt serogrupp O157 *versus* serotüüp O157:H7). Samas ei võimalda serotüpeerimine kindlaks teha bakteritüve patogeensust. Konkreetsete virulentsusmarkerite määramine ning haigustekitajate molekulaarne iseloomustamine on juba edasiste uuringute ülesanne.

Shiga-toksiine tootva *E. coli* (STEC) rühma liigitatakse *E. coli* bakterid, kel on võime toota tsütotoksiine (allikast sõltuvalt nimetatud Shiga-toksiinideks või verotsütotoksiinideks). Tsütotoksiinide mõjul peatub rakus valgusüntees ning rakk hukkub. Tänapäeval on teada üle 300 STEC serotüübi, samas pole mitte kõik sellese gruppi liigituvad tüved, kaasaja teadmisi arvestades, inimesele patogeensed. Nimetatud baktereid leidub pinnases, vees, toidus ning neid on isoleeritud ka tervete inimeste sooletraktist. Bakteri võime toota Shiga-toksiini ei muuda teda veel iseenesest patogeenseks, inimese nakatamiseks on vajalik täiendavate virulentsusfaktorite olemasolu ning nende avaldumine (Wickham *et al.*, 2006). STEC tüvede väga erinevad patogeensed omadused on eelkõige tingitud virulentsusfaktorite kombinatsioonist mikroorganismi geneetilises materjalis ja nende koostoimes (Reid *et al.*, 2000). Eristamaks patogeenseid STEC tüvesid erakordselt raskeid haigestumisi põhjustavatest STEC tüvedest, on kasutusele võetud EHEC (enterohemorraagiline *E. coli*) patogrupi mõiste. Siia alla koondatakse haigustekitajad, kelle puhul on nende roll inimeste raskes haigestumises (verine kõhulahtisus, hemorraagilis-ureemiline sündroom) tõendamist leidnud.

Kitsamalt EHEC patogruppi liigituvate *E. coli* de prototüübiks on *E. coli* O157:H7. Serotüüp O157:H7 identifitseeriti algselt 1975. aastal, kuid seda ei käsitletud toidutekkelise haigustekitajana aastani 1982, mil Ameerika Ühendriikides leidis saastunud hamburgerite tõttu aset laialdane haiguspuhang. Samas lisandub tänapäeval üha enam infot nakatumiste kohta, mille põhjustajaks on nn mitte-O157 serogruppi kuuluvad EHEC tüved. Nii on Ameerika Ühendriikides EHEC nakkustega seostatavad *E. coli* serogrupid O26, O111, O121, O145, O103 ja O45 (nn suur kuuk), Euroopas on senini keskendunud serogruppidele O157, O26, O111, O103 ja O145 (nn top 5). Tihti on nende mitte-O157 EHEC poolt põhjustatud infektsioonide taga olnud saastunud toit ja vesi, samuti otsene kontakt haigustekitajat kandva looma või inimesega (Labbe & Garcia, 2013).

Karmali *et al.* (2003) leidsid, et sõltumata sellest, et inimestel on haigusjuhtumeid põhjustanud väga erinevad *E. coli* serogrupid, on põhiosa infektsioonidest põhjustatud ikkagi väikse *E. coli* serogruppide kogumiku poolt, mille näiteid sai ülalpool juba esitatud.

Karmali ja tema teaduspartnerid jaotasid STEC serogrupid erinevatesse seropaatotüüpidesse alates A-st kuni E-ni põhinedes nende seostele toidupõhiste haiguspuhangutega ning haiguse kliiniliste tunnuste tõsidusele (Karmali *et al.*, 2003). *E. coli* O157:H7, mis koos O157:H-moodustab seropaatotüüp A on kõige sagedamini isoleeritud EHEC HUS sündroomiga patsientidel USA-s (Banatvala *et al.*, 2001), Briti saartel (Lynn *et al.*, 2005), Prantsusmaal (Espie *et al.*, 2008), Saksamaal (Gerber *et al.*, 2002) ning Jaapanis (Takeda, 1999). Uuringute käigus teistes maailma piirkondades on aga HUS sündroomiga patsientidelt isoleeritud murettekitavalt sageli mitte-O157 STEC baktereid, mis kuuluvad patotüüpidesse B ja C. Näiteks Saksamaal ja Austrias perioodil 1997 kuni 2000 oli koguni 43% pediatrilistest HUS juhtumitest tingitud mitte-O157:H7 STEC poolt (Gerber *et al.*, 2002). Taanis isoleeriti enamikelt kõhulahtisusega patsientidelt ning ligikaudu pooltelt HUS sündroomiga patsientidel mitte-O157 STEC (Ethelberg *et al.*, 2004). Sarnaseid andmeid, kus STEC infektsioonide peamiseks põhjustajaks on olnud mitte-O157 STEC on saadud Itaaliast (Tozzi *et al.*, 2003), Austraaliast (Elliot *et al.*, 2001) ja Brasiiliast (Vaz *et al.*, 2004). On selge, et alles paremate diagnostiliste meetodite kasutuselevõttuga ning järelevalve suurendamisega on võimalik saada tõepärasem ettekujutus mitte-O157 STEC mõjust rahvatervisele, mis suure tõenäosusega osutub vähemalt samaväärseks *E. coli* O157:H7 poolt põhjustatud rahvatervise ohule (Brooks *et al.*, 2005).

Shiga-toksiini kodeerivad geenid (*stx*) jaotatakse kahte suurde perekonda – *stx1* ja *stx2*, mis mõlemad sisaldavad erinevaid genotüüpe (alatüüpe). Scheutz *et al.* (2012) on välja pakkunud *stx1* ning *stx2* standardse nomenklatuuri ja tüpiseerimise meetodi, kus toksiini geenide järjestuse alusel klassifitseeritakse *stx1* kolmeks alatüübiks (a, c ja d) ning *stx2* alatüüpideks a, b, c, d, e, f ja g. Mitmed autorid on näidanud seoseid raskete haigusnähtude ning haigustekitajate poolt ekspresseeritavate toksiini alatüüpide vahel. Nii on erinevates töodes viidatud statistiliselt olulisele korrelatsioonile bakteri poolt ekspresseeritava toksiini alatüüpide *stx2a*, *stx2c* ning verise kõhulahtisuse ja HUS väljakujunemise vahel (Ethelberg *et al.*, 2004, Zhang *et al.*, 2007, Persson *et al.*, 2007). Toksiini alatüüpe *stx2d*, *stx2e* ja *stx2f* omavaid bakteritüvesid on sagedamini isoleeritud kergema sümptomaatikaga patsientidelt (Friesema, 2014, Persson *et al.*, 2007). *Stx* struktuurgeene kannavad bakteriofaagid ja need on inkorporeeritud peremeesraku kromosoomi. Samas võib bakteriofaag erinevatel põhjustel peremeesraku hüljata, mistõttu võib algne STEC isolaat *stx* geenid kaotada (Herold *et al.*, 2004, Schmidt, 2001).

See võib juhtuda bakteri isoleerimise või edasiste ümberkõlvamiste käigus ka laboris, nagu seda näitasid Schmidt *et al.* (1999). Samas ei ole tänapäevani päris selge, millise sagedusega selline geneetilise informatsiooni kadumine aset leiab.

Ligi 100% haigestunud inimestelt pärinevates *E. coli* O157:H7 isolaatides on tuvastatud plasmidi pO157 olemasolu. Plasmidi sekveneerimisel selgus, et see kodeerib kokku 35 valku, millest vähemalt osad on seostatavad bakteri virulentsusega: hemolüsiini operon (*hly*), tüüp II sekretsioonisüsteem, (*etpC* kuni *etpO*), rakuväline proteaas (*espP*) ning klostriididele iseloomulike toksinigeenide homoloogid (*toxA* ja *toxB*) (Johnson & Nolan, 2009, Burland *et al.*, 1998). Hemolüsiini operoni käsitletakse tõestusmarkerina pO157 olemasolust ning seda võib leida ka teistes EHEC tüvedes (Brunner *et al.*, 1999). Sarnaselt bakteriofaagidele, võivad bakterid plasmiidset geneetilist informatsiooni kas omandada või kaotada. Samas pole mitte kõik virulentsusfaktorid kodeeritud mobiilsete elementide poolt. Khaitan *et al.* (2007) ja Wolfson *et al.* (2009) on näidanud, et selliste virulentsusfaktorite nagu subtilaasi tsütotoksiin (sub), CDT (*cytolethal distending toxin*) toksiin (*cdt*) ning hemolüsiin (*hly*), geenid võivad olla ka bakteri kromosomaalse DNA osaks.

Patogeensusaarekesed (*Patogenicity Islands*, PAI) koondavad ja kodeerivad mitmeid bakteri virulentsust määravate faktorite geene. PAI nimetusega LEE (*Locus of Enterocyte Effacement*) kodeerib geene, mis võimaldab STEC seonduda ning kinnituda soole enterotsüütidele. See samm, nimetatud kui A/E (*Attachment and Effacement*), võimaldab bakteril püsida soolestikus ja samal ajal toksiinidel tungida süsteemsesse vereringesse. LEE PAI poolt on kodeeritavad adhesiini, intimiini (*eae*), intimiini retseptori (*tir*) ning sekretsioonisüsteemi (*esp*) geenid. Sarnaselt *stx* geeniperekonnale, on ka *eae* geenide puhul täheldatud variatsioone DNA nukleotiidses järjestuses, mistõttu on võimalik jagamine alatüüpidesse. Inimestelt pärinevates isolaatides on tuvastatud beeta, gamma ja teeta alatüübid (Frankel *et al.*, 1998, Nataro & Kaper, 1998).

Mõningates patogeensetes STEC tüvedes on tuvastatud LEE puudumine ning A/E funktsioonid on üle võetud alternatiivsete valkude poolt. Nendeks on mitmed adhesioonivalgud, piilid ja fimbriidid (*fimA*, *iha*, *efa1*, *lpfA-O113*) (Galli *et al.*, 2009). Samuti on tuvastatud haiguspuhangute seotud nn mitte-O157 STEC isolaatidel adhesiinigeeni *saa* kandlus (Paton *et al.*, 2001). O-saarekesed (*O-islands*, OI), mida algselt kirjeldati kui unikaalseid, vaid STEC O157:H7 omaseid DNA järjestusi, on leitud nüüdseks ka teistest patogeensetest STEC bakteritest.

Nimetatud O-saarekesed on olulised seetõttu, et neid seostatakse seropaatotüüpidesse A, B ning C kuuluvate EHEC tüvedega, mis on võimelised inimestel põhjustama väga tõsiseid STEC infektsioone ning haiguspuhanguid (Coombes *et al.*, 2008). Puhangute ja HUS väljakujunemisega seotud haigustekitajatest on kõige enam leitud O136, O157, O157 ja O157 (Imamovic *et al.*, 2010).

Mitmed teadusgrupid on näidanud seost *stx2* ja *eae* geene kandvate STEC tüvede ning raskekujuliste haigestumiste vahel (Beutin *et al.*, 2004; Ethelberg *et al.*, 2004). Intimiin (*eae*) ning enterohemolüsiin (*hly*) on tuvastatud enam kui 90% patsientidelt isoleeritud tüvedel (Brooks *et al.*, 2005). Boerlin *et al.* tõestasid lisaks *stx2* ja *eae* sünergeetilist koostoimet haiguse väljakujunemisel.

Seega olgugi, et mõistet „patogeenne STEC“ on virulentsusfaktorite paljususe ja varieeruvuse tõttu võimatu täpselt ja lühidalt määratleda, on haigestumisega seotud tüvedele omane teatav geneetiliste markerite muster, mis võimaldab meil potentsiaalselt tõvestavaid STEC teistest eristada.

2. STEC eluvõimet ja kasvu mõjutavad tegurid

E. coli eluvõimet ja kasvu mõjutavad mitmed keskkonnategurid nagu temperatuur, pH, veeaktiivsus (a_w) ning toidu koostis.

Temperatuurivahemik, mille juures *E. coli* suudab kasvada, varieerub 7-46 °C, kusjuures optimaalne kasvutemperatuur on 35-40 °C (ICMSF, 1996). Kuumataluvus sõltub toidu koostisest, pH-st ning veeaktiivsusest (a_w). *E. coli* kuumataluvus suureneb veeaktiivsuse vähenedes. Samuti on *E. coli* enam kuumusele vastupidav kasvu statsionaarses faasis olles, võrreldes näiteks log-faasis olevate bakterirakkudega (Desmarchelier & Fegan, 1993). Madalad temperatuurid *E. coli* eluvõimet oluliselt ei mõjuta. Strawn & Danyluk (2010) näitasid, et *E. coli* O157:H7 säilitas oma eluvõime mangodes ja papaiades, mida säilitati 180 päeva jooksul -20 °C juures. Katsed, mis viidi läbi *E. coli* O157:H7 nakatatud hakklihaga, tõestasid mikroobi eluvõimet ka pärast 9 kuud säilitamist -20 °C temperatuuri juures (Labbe ja Garcia, 2013).

Samuti suudab *E. coli* kasvada laias pH vahemikus (4,4-10,0), optimaalseks pH väärtuseks pH 6-7 (Desmarchelier & Fegan, 1993). Molina et al. (2003) näitasid oma katsetes, et STEC taluvad hästi happelist keskkonda ning enamik tüvesid säilitavad oma eluvõime pH 2,5-3,0 juures enam kui 4 tunniks. Siinkohal taluvad *E. coli* O157 statsionaarsesse kasvufaasi viidud rakud happelist keskkonda paremini (Arnold ja Kaspar, 1995). Seega on STEC võimeline säilitama oma eluvõime ning kasvama toiduainetes, mida eelnevalt on peetud toidupatogeenide eluvõime säilimise osas liiga happelisteks. Kirjanduses on andmeid haiguspuhangute kohta, mille põhjuseks on olnud sellised happelised tooted nagu õunasiider, jogurt ja majonees (Labbe & Garcia, 2013). Sealjuures on mikroobide pH mõju mikroobide eluvõimele sõltuv happe liigist. Üldiselt taluvad STEC orgaanilisi happeid (nt piimhapet) halvemini kui anorgaanilist soolhapet (ICMSF, 1996).

Minimaalseks veeaktiivsuse väärtuseks, mille juures *E. coli* bakterid suudavad kasvada on 0,95; kuid madalamatel temperatuuridel ja pH väärtustel on vajalikud suuremad a_w väärtused (Desmarchelier & Fegan, 1993). Kui lihatoodes, sh linnulihas, piisab salmonellade ja kampülobakterite kasvu pidurdamiseks 2-4% NaCl sisaldusest, siis *E. coli* O157:H7 talub kuni 8% soolasisaldust ning selle kasv võib mõnede toidulisandite juuresolekul madalatel temperatuuridel isegi hoogustuda (Labbe & Garcia, 2013).

E. coli on fakultatiivne anaeroob ning ei vaja seetõttu kasvuks hapnikku. Toidu pakendamisel modifitseeritud atmosfääriga keskkonda (MAP) ei ole viimasel STEC eluvõimele ega paljunemisele tuvastatud erilist mõju. Värske köögiviljaga tehtud katsed näitasid, et erinevate CO₂, O₂ ja N₂ tasemete juures ei olnud MAP-il mingit mõju ning *E. coli* O157:H7 säilitas oma eluvõime külmkapitemperatuuril 5 °C ning kasvas edukalt nii 10 °C kui 20 °C juures (Labbe & Garcia, 2013).

3. Laboratoorsed meetodid STEC tuvastamiseks

***E. coli* O157 tuvastamine**

E. coli O157 tuvastamiseks toidust, söödast ning keskkonnaproovidest on kasutusel standardmeetod EVS EN ISO 16654:2001. Tegu on kvalitatiivse määramismeetodiga sisaldades selektiivset rikastamist, millele järgneb immunomagnetiline separatsioon (IMS) ning külvid selektiivsetele söötmetele. Eeldatavad *E. coli* O157 kolooniad kinnitatakse biokeemiliste ning seroloogiliste kinnitustestidega.

Näitaja määramiseks roojaproovidest, on ISO meetodit veidi modifitseeritud, ning sel puhul lähtutakse OIE käsiraamatus toodud juhistest. Konventsionaalseks seroloogiliseks kinnitamiseks O ja H antigeenide osas kasutatakse monovalentseid antiseerumeid. Shiga-toksiine (*stx1* ja *stx2*) ning intimiini (*eae*) geenide tuvastamiseks isolaatidel viiakse läbi molekulaarsed PCR uuringud vastavalt ISO/TS 13136:2012 juhistele. Sama meetod võimaldab läbi viia vajadusel ka isolaatide molekulaarset serotüpeerimist.

***E. coli* O157, O111, O26, O103 ja O145 tuvastamine**

Kõigi viie serogrupi tuvastamiseks toidust, söödast ning tootmise esmatasandiproovidest on kasutusel ISO tehniline spetsifikatsioon ISO/TS 13136:2012. Tegu on samuti kvalitatiivse määramismeetodiga, kus selektiivsele rikastamisele järgneb toksiinigeenide määramine. Positiivse tulemuse korral järgnevad molekulaarsed uuringud võimaliku serogrupi ja intimiini geeni olemasolu tuvastamiseks. Potentsiaalse haigustekitaja isoleerimiseks viiakse seejärel läbi immunomagnetiline separatsioon ning külvid selektiivsetele söötmetele. Isoleeritud bakteri puhaskultuuri serogrupp ning virulentsusfaktorid (*stx1*, *stx2*, *eae*) kinnitatakse lõplikult molekulaarse PCR meetodiga.

Vaatamata analüüsimeetodite standardiseeritusele on mõlemal määramismeetodil (EVS EN ISO 16654, ISO/TS 13136) mitmeid kitsaskohti:

- mõlemad meetodid on kvalitatiivsed ning ei anna informatsiooni otsitava bakteri arvukusest ja kontaminatsiooni tasemest;
- meetodite tundlikkus on suhteliselt madal, kuna STEC, sarnaselt teistele patogeenidele, on proovides esindatud väikeses kontsentratsioonis ning ebaühtlaselt jaotunud. Samuti sõltub otsitava bakteri edukas isoleerimine tugevalt konkureerivast kõrvalmikrofloorast;
- meetodi spetsiifilisus serogruppide O111, O26, O103 ja O145 osas on madal, kuna immunomagnetilise separatsiooni käigus esineb sageli mittespetsiifilist seondumist ning otsitavasse serogrupi kuuluvate *E. coli* bakterite eristamine teistest, nn tavalisest *E. coli*'st, on visuaalselt võimatu. See loob olukorra, kus proovides tuvastatakse küll presumptiivse STEC esinemine PCR meetodil, kuid potentsiaalse haigustekitaja edasine isoleerimine pole tulemuslik;

- meetodid on keskendunud kindlate serogruppide tuvastamisele, mistõttu võivad teised serogrupid jääda määramata. Samas on PCR metoodikat kasutades võimalik, isolaadi serogrupist sõltumata, tuvastada virulentsusmarkerite geenide olemasolu uuritavas proovis.

4. STEC nakkusallikad, peamised levikuteed ja nakatumisannus

STEC looduslikuks reservuaariks on mäletsejalised (*Ruminantia*), kes on enamasti nakkustekitaja asümptomaatiliseks kandjateks. Samuti on STEC isoleeritud hobustelt, sigadelt, koertelt, kassidelt, kanadelt, metslindudelt, tuvidelt ja rottidelt. Rahvatervise kontekstis peetakse kõige olulisemaks nakkusallikaks siiski kodus peetavaid mäletsejalisi, eriti veislast (Caprioli *et al.*, 2005, Blanco *et al.*, 2001, Wasteson, 2001). Bakterid asuvad mäletsejaliste soolestikus, kust need siis aegajalt koos roojaga väljutatakse. STEC väljutamine võib farmiti ja looma vanuseti märkimisväärselt erineda. Võõrutusest tingitud stressi, muutusi toitumises ning lõplikult väljakujunemata immuunsüsteemi peetakse põhjusteks, miks võõrutatud vasikate seas, võrrelduna teiste vanuserühmadega, on täheldatav kõrgem STEC esinemine. Samas esineb ka täiskasvanud loomade seas isendeid (nn *supershedders*), kes aegajalt eritavad STEC väga suures koguses (Menrath *et al.*, 2010; Pearce *et al.*, 2004). Bakter võib püsida sõnnikus ning sõnnikuga väetatud pinnases, sõltuvalt temperatuurist ja pinnasetüübist, eluvõimelisena mitmeid kuid ning seeläbi levida farmikeskkonnast kaugemale (Gyles, 2007). Nakatunud inimest saab STEC reservuaarina käsitleda juhul, kui haigustekitaja on kandunud inimeselt inimesele otsese kontakti teel (Gyles, 2007).

STEC-ile on omane fekaal-oraalne ülekandumine. Inimene võib nakkuse saada:

- tarbides nakkustekitajatega saastunud toitu ja joogivett. Meng & Schroeder (2007) ja Gyles (2007) hinnangul on ligikaudu 85% STEC nakkustest toidutekkelised. Kõige enam on nakatumistega seostatud ebapiisavalt kuumtöödeldud veiseliha (eelkõige hakkliha), kuivatatud, fermenteeritud RTE lihatooteid (nt salaami), värsket köögivilja (sh melon, lehtsalat, spinat, kapsa-porgandi salat, idandid, pastöriseerimata õunamahl ja siider) ning toorpiima ja toorpiimatooteid (FDA 2012, Yoon & Hovde 2008);
- tarbides saastunud joogivett;
- ujudes haigustekitajaga saastunud vees.

Hügieeninõudeid, eelkõige piisavat kätepesu, eirates võib nakkuse saada ka:

- puutudes otseselt kokku nakkustekitajat kandva loomaga või tema roojaga näiteks farmis, loomapargis, laataidel;
- puutudes otseselt kokku nakatunud inimesega näiteks perekonnas, lastehoius või hooldekodus;
- puutudes kokku nakatunud inimese poolt saastatud pindade või esemetega.

Laialdaste haiguspuhangute puhul on riski *E. coli* O157 sekundaarseks ülekandumiseks hinnatud 7-11 protsendile, sporaadiliste nakkusjuhtumite puhul kodumajapidamistes 4-15 protsendile (Parry & Palmer, 2000, Parry & Salmon, 1998). Tuginedes erinevate haiguspuhangute andmetele on püütud hinnata bakterite minimaalset arvukust, mis on haigestumise esilekutsumiseks vajalik. Teunis et al (2004) näitasid ühes Jaapani koolis toimunud puhangu andmetele toetudes ning doos-vastus mudelit kasutades, et 31 *E.coli* O157:H7 bakteriraku omastamine oli piisav 25% laste haigestumiseks. Sama haigustekitaja poolt põhjustatud puhangu puhul, mille allikaks osutus viilutatud salaami, piisas haigestumiseks 2 kuni 45 organismist (Tilden *et al.*, 1996). Ka STEC O111 poolt põhjustatud haiguspuhangu esilekutsumiseks Austraalias piisas 1 kuni 10 bakterirakust (Paton *et al.*, 1996). Buvens et al. (2011) hindasid STEC O145 nakatumisannuseks Belgias toimunud saastunud jäätise poolt põhjustatud puhangus 400 haigustekitajat portsjoni kohta. Konkreetse haigustekitaja nakatumisannus sõltub tugevasti bakteril väljakujunenud virulentsusfaktoritest ning peremeesorganismi vastuvõtlikkusest ja immuunsusest, kuid üldlevinud arusaamade kohaselt hinnatakse EHEC alarühma kuuluvate bakterite nakatumisannust väga madalaks.

5. STEC/EHEC poolt põhjustatud sooleinfektsioonid

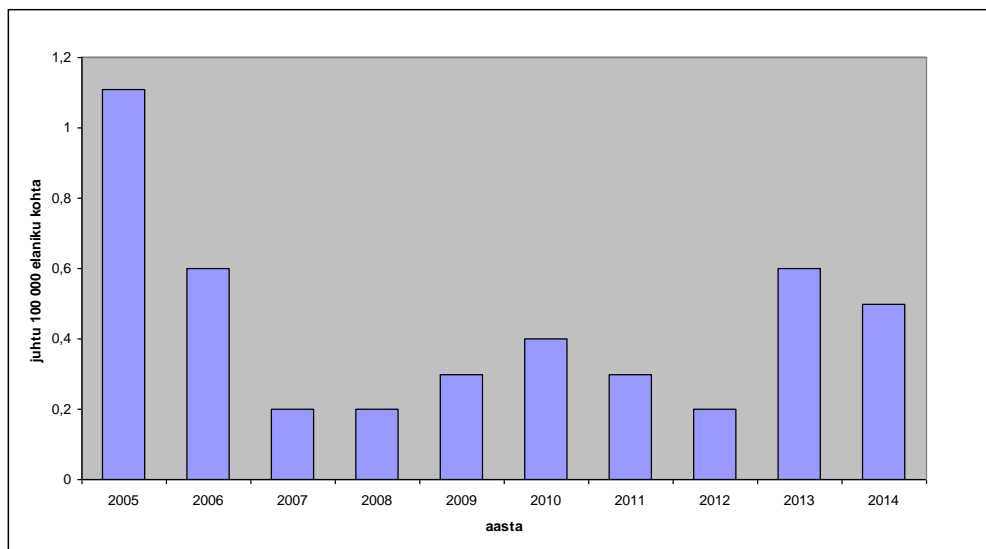
Enamik patogeense *E. coli* poolt põhjustatud sooleinfektsioone saab alguse bakteri koloniseerimisest ja seondumisest soole limaskestale, millele järgneb konkreetsele patogrupile iseloomulike virulentsusfaktorite ekspressioon ning haigussümptomite väljakujunemine. Patogeense *E. coli* poolt põhjustatud nakkuse sümptomid varieeruvad suuresti, alates kergest kõhulahtisusest kuni raskete komplikatsioonideni nagu hemolüütilis-ureemiline sündroom (HUS). Tervetel täiskasvanutel võib nakkus kulgeda ka asümptomaatiliselt, seevastu lastel, vanuritel ning immuunpuudulikkuse all kannatavatel isikutel võib nakkus raskemal juhul lõppeda ka surmaga (ECDC, 2014, Tarr *et al.*, 2005, Karmali, 1989).

EHEC-i poolt põhjustatav haigestumine avaldub reeglina hemorraagilise koliidina (HC), mida iseloomustavad ägedad kõhukrambid ja verine kõhulahtisus. Mõningail juhul kaasneb sellega ka oksendamine. Palaviku teke on harv. Inkubatsiooniaeg alates nakatumisest varieerub 1-9 päevani (tavaliselt 3-4 päeva) ning haigus ise kestab 2-9 päeva. 3-7% HC juhtudest progresseeruvad ning patsientidel kujunevad välja eluohtlikud komplikatsioonid nagu HUS ja trombootilis-trombotsütopeeniline purpur (TTP). HUS, mida valdavalt iseloomustab hemolüütiline aneemia ja äge neerupuudulikkus, lõpeb 3-5% juhtudest patsiendi surmaga. TTP puhul võib lisaks kahjustatud saada ka kesknärvisüsteem, mis viib neuroloogiliste hälvete väljakujunemiseni (ECDC, 2014, Labbe & Garcia, 2013).

EHEC-i nakkuse ravi seisneb veetustumise ärahoidmiseks põhiliselt vedelike ja soolade manustamises, HUS-i raskete vormide korral kasutatakse ka dialüüsi ning vereülekannet. Aktiivseid vastumeetmeid HUS väljakujunemise ärahoidmiseks tänapäevani ei ole. Andmed antibakteriaalse ravi kasutamise osas on vastuolulised. Mõningail juhtudel on näidatud, et antibiootikumide kasutamine võib tõsta HUS-i väljakujunemise riski, kuna bakterite lüüsumise tagajärjel vabaneb peremeesorganismi enam Shiga-toksiine (ECDC, 2014, Labbe & Garcia, 2013). Seetõttu püütakse enamikul juhtudel antibakteriaalsete ainete manustamist vältida.

Eestis on Terviseameti andmeil haigestumine EHEC nakkustesse suhteliselt madal, ulatudes viimastel aastatel 0,2-0,6 juhuni 100 000 elaniku kohta aastas (joonis 1). Pooled nakatunutest on olnud eelkooliealised lapsed ning enamasti on nakatumised aset leidnud suvekuudel ning varasügisel (Terviseamet, 2014). Tegu on olnud sporaadiliste haigestumistega. Terviseameti publitseerimata andmeil pole viimasel kolmel aastal üksi EHEC nakkus progresseerunud HUS-iks, varasematest aastatest andmed puuduvad. Viimase kuue aasta jooksul registreeriti 27 nakkusjuhtu, millest 8 juhul tuvastati haigustekitajana *E. coli* serogrupp O157 ning ühel juhul *E. coli* O128. Ülejäänud juhtudel haigustekitaja serotüübiline kuuluvus on teadmata, kuna diagnoosid kinnitati vaid antigeeni/toksiini määramisega (Terviseamet, publitseerimata andmed).

2012. aastal esines Euroopa Liidus kokku 5671 kinnitatud haigusjuhtu (keskmine haigestumusmäär 1,15 juhtu 100 000 elaniku kohta), millest 12 juhul lõppes nakatumine patsiendi surmaga (EFSA, 2014).



Joonis 1. Haigestumus EHEC sooleinfektsioonidesse Eestis aastatel 2005-2014 (Terviseamet, 2014).

6. STEC'iga seonduvad haiguspuhangud

Nii Euroopas kui mujal maailmas esinenud *E. coli*'ga seonduvatest haiguspuhangutest on võimalik saada ülevaade tabelist 1, kus kirjeldatakse ka põhjust, miks haigestumine esines. Kirjandusest on teada, et *E. coli*'ga seonduvate mitmete haiguspuhangute põhjustajaks olnud toorpiim (Hallanvuoto et al., 2012; Guh et al., 2010; Denny et al., 2008), toorsalatid (Stayton et al., 2013; Friesema et al., 2008; Söderström et al., 2008), kuumtöötlemata õunasiider (Hilborn et al., 2000; Tamblyn et al., 1999), joogivesi (Jones and Roworth, 1996), hakkliha (Centers for Disease Control and Prevention, 2014), lihatooted (Salmon, 2005), piimatooted (De Schrijver et al., 2008) jne. Kokkuvõtlikult võib öelda, et kui haiguspuhang on esinenud, siis on see olnud põhjustatud järgnevalt:

- liiga vähesel määral kuumtöödeldud liha/lihatoote tarbimisest – liha on saastunud veiste väljaheidetega tapamajas või ristsaastumise teel lihakäitlemisettevõttes;
- toorpiima tarbimisest – toorpiim on kontamineerunud farmi tasandil;
- ebapiisavalt pestud puu- ja köögiviljadest ja nendest valmistatud salatitest – puu- ja köögivili võib saastuda kasvuperioodi ajal mulla kaudu;
- joogiveest – joogivesi võib saastuda heitveega vms või kui seda pole piisaval määral puhastatud;
- kokkupuutest loomadega – otsene kontakt loomade väljaheidetega, kui sellele järgnevalt pole kinni peetud hügieenireeglitest;
- inimeselt inimesele ülekande tõttu – kui pole järgitud isiklikke hügieenireegleid.

Lähiminevikust on teada üks kõige laiaulatuslikumaid *E. coli*'ga seonduvaid haiguspuhanguid, mis puudutas tuhandeid inimesi. Nii esines 2011. aasta maist kuni augustini Euroopas laialdane *E. coli* poolt põhjustatud haiguspuhang, mille tulemusena haigestus üle 4000 inimese, neist 17 juhul lõppes haigus surmaga (Rosin et al., 2013). Tegemist oli harva esineva *E. coli* O104:H7 serotüübiga, mis oma põhiomadustelt rühmitub enteroagregatiivse *E. coli* alarühma. Sel ajal puudus laboritel piisav pädevus ja võimekus nimetatud patogeeni tüve uurida. Esialgu ei suudetud ka kindlaks teha, mis põhjustas nii laiaulatusliku haiguspuhangu. Hiljem on selgunud, et haiguspuhangu põhjuseks oli saastunud lambaläätse idandite söömine.

Tabel 1. Ülevaade STEC seonduvatest haiguspuhangutest kirjanduse näitel

| Aeg ja koht | Allikas | Sero-grupp ja/või serotüüp | Haigestunuid (surnud) | Täiendav teadaolev informatsioon | Viide kirjandusallikale |
|-------------------|------------------------------------|----------------------------|-----------------------|--|--|
| 2014 USA | Veisehakkliha | O157:H7 | 11 | Veiseliha ebapiisav kuumtöötlus. 60% haigestunutest hospitaliseeriti. Veisehakkliha saastus suure tõenäosusega tootmisettevõttes. Jaekaubandusest kutsuti ülejäänud toode tagasi. | Centers for Disease Control and Prevention, 2014 |
| 2013 Inglismaa | Ürt-allikkress | O157 | 19 | Haiguspuhangud esinesid ajavahemikul 2013 august-september. Ürt-allikkressi kasvatatakse ja kasutatakse toiduks salatina, suppides ja garneeringuna. Kontaminatsiooni päritolu teadmata, aga tõenäoliselt saastus taim kasvuperioodil. Tuvastatud virulentsusfaktorid: PT 2 ja stx2. | Launders et al., 2013 |
| 2013 USA | Toorpiim | O157 | 9 | Toorpiim pärines 200-pealisest lehmakarjast. | Foodborne Outbreak Online Database, 2014 |
| 2013 USA | Toorpiima baasil valmistatud juust | O103 | 3 | Haiguspuhangu põhjustas toorpiimast valmistatud juust, mis oli 60-päevane. Juust oli valmistatud väikeses piimatööstuses. | Foodborne Outbreak Online Database, 2014 |
| 2012 Soome | Toorpiim | O157 | 8 | Toorpiima tarbimise järel haigestus 6 last ja 2 täiskasvanut. Pärast haiguspuhangut farm suleti. | Rimhanen-Finne et al., 2012 |
| 2012 USA | Toorpiim | O157:H7 | 19 | Toorpiim pärines väikefarmist, kus karja suuruseks oli 4 lehma. | Foodborne Outbreak Online Database, 2014 |

| | | | | | |
|-----------------|--|---------|------------|---|---|
| 2011 Euroopa | Toored idandid, sh lambaläätse idud | O104:H7 | ≈4000 (17) | Laboritel puudus piisav pädevus ja võimekus nimetatud patogeeni tüve uurida. | Rosin et al., 2013 |
| 2011 USA | Lehtsalat | O157:H7 | 58 | Uuring näitas, et haiguspuhangu põhjustas lehtsalati tarbimine. Salat saastus farmis kasvuperioodi ajal. | Stayton et al., 2013 |
| 2011 USA | Toorpiim | O157:H7 | 5 | Toorpiim pärines 400-pealisest piimakarjast. | Foodborne Outbreak Online Database, 2014 |
| 2010 USA | Toorpiim | O157:H7 | 8 | Toorpiima tarbimise tulemusena haigestus 8 inimest, kellest 5 hospitaliseeriti. | Foodborne Outbreak Online Database, 2014 |
| 2010 USA | Toorpiim | O26:H11 | 6 | Toorpiim pärines väikefarmist. | Foodborne Outbreak Online Database, 2014 |
| 2008 USA | Toorpiim | O157:H7 | 6 | Toorpiima tarbimise tulemusena haigestus 6 inimest, kellest 3 hospitaliseeriti. | Foodborne Outbreak Online Database, 2014 |
| 2008 USA | Toorpiim | O157 | 16 | Algul haigestus 2 last. Ühel lapsel tekkisid haigusnähud pärast seda, kui ta oli joonud kauplusest ostetud toorpiima. Teine laps haigestus farmist X ostetud toorpiima joomise järgselt. Mõlemad lapsed haigestusid samast allikast pärineva toorpiima joomise tulemusena. Mõne aja pärast selgus, et haigestumine oli ulatuslikum. Nende juhtumite põhjuste selgitamisel leiti, et farmis X toodetud toorpiima tarbimine põhjustas haigestumise hoolimata sellest, et nõuete rikkumisi ei tuvastatud. | Guh et al., 2010 |

| | | | | | |
|--------------------------|---------------------------------------|----------|-----|--|---|
| 2007 USA | Toorpiima baasil valmistatud juust | O157:H7 | 3 | Värsket juustu (Ingl k. <i>Mexican-style queso fresco cheese</i>) pakuti restoranis. | Foodborne Outbreak Online Database, 2014 |
| 2007 Holland / Island | Lehtsalat | O157 | 50 | Lehtsalat oli tükeldatud ja pakendatud Hollandi ettevõttes. Arvatakse, et lehtsalat oli kontamineerunud kasvuperioodi ajal kas saastunud vee, mulla või sõnniku kaudu, ning ettevõttes esines ka ristsaastumist. Leiti, et töötajad ei olnud nimetatud patogeeni kandjaks. Tuvastatud virulentsusfaktorid: stx1, stx2, eae, e-hly. | Friesema et al., 2008 |
| 2007 Belgia | Jäätis | O145 O26 | 5 | Jäätist toodeti ja müüdi farmis. Jäätise valmistamisel oli kasutatud pastöriseeritud piima. Seepärast kõige tõenäolisemalt esines ristsaastumine pastöriseerimisjärgselt. Ristsaastumise põhjuseks peetakse ühe instrueerimata töötaja, kes töötas samal ajal loomadega farmis, osalemist jäätise tootmises (samad <i>E. coli</i> tüved leiti nii patsientide kui ka lehmade roojaproovist). | De Schrijver et al., 2008 |
| 2005 Rootsi | Lehtsalat | O157 | 135 | Teada on, et lehtsalatit oli niisutatud enne müüki saatmist veega ja veeproovid osutusid positiivseks nimetatud patogeeni suhtes. Tootmisele lähedal asuvast veisefarmist leiti samuti sama patogeen (veised olid patogeeni kandjaks). Tuvastatud virulentsusfaktor: stx2. | Söderström et al., 2008 |

| | | | | | |
|---------------------|--------------------------------|---------|-----------|--|---|
| 2005 Prantsusmaa | Külmutatud veisehakkliha | O157:H7 | 26 | Toode oli ostetud supermarketist. Enne tarbimist oli toodet ebapiisavalt kuumtöödeldud. Haigestusid lapsed. Uuring näitas, et <i>E. coli</i> bakterit leidis veise maos, mis jõudis saastumise teel veiseliha pinnale. | Delignette-Muller et al., 2008 |
| 2005 Inglismaa | Viilutatud RTE liha | O157:H7 | 157 | Lapsed haigestusid koolis pärast lõunasöögi sõõmist. RTE liha saastus tõenäoliselt viilutamise ajal. | Salmon, 2005 |
| 2005 USA | Toorpiim | O157:H7 | 5 | Haigestunud tarbisid ühest ja samast farmist päritenud toorpiima. | Denny et al., 2008 |
| 2004 USA | Õunasiider | O111 | 213 | Täpsemad andmed teadmata. | Vojdani et al., 2008 |
| 2001 USA | Toorpiim | O157:H7 | 202 | Täpsemad andmed puuduvad. | Foodborne Outbreak Online Database, 2014 |
| 2000 Kanada | Joogivesi | O157:H7 | 2 300 (7) | Joogivesi oli saastunud <i>E. coli</i> 'ga. | Hrudey et al., 2003 |
| 1999 Inglismaa | Pastöriseeritud piim | O157:H7 | 114 | Piim, mis haiguspuhangu põhjustas, oli pastöriseeritud. Seega kontaminatsioon leidis aset pastöriseerimisjärgselt. | Goh et al., 2002 |
| 1998 Kanada | Pastöriseerimata õunasiider | O157:H7 | 14 | Õunapuud asusid piimaveiste karjamaal, siidri valmistamiseks kasutati mahakukkunud õunu. Õunad ei olnud pestud. Siider kuumtöötlemata. | Tamblyn et al., 1999 |
| 1998 USA | Riivkapsas ja puuviljasalat | O157:H7 | 80 | Haigestumine toimus pärast restorani külastust. Täpsemad asjaolud teadmata. | Griffin and Tauxe, 1999 |

| | | | | | |
|--------------------|---------------------------------------|---------|-------------|---|--|
| 1998 USA | Toorpiima baasil valmistatud kohupiim | O157:H7 | 63 | Toorpiima baasil valmistatud juustu tarbimise tulemusena haigestus 63 inimest, kellest 24 hospitaliseeriti. | Foodborne Outbreak Online Database, 2014 |
| 1998 USA | Toorsalat | O157:H7 | 2 | Haigestumine toimus pärast restorani külastust. Täpsemad asjaolud teadmata. | Griffin and Tauxe, 1999 |
| 1996 USA | Pastöriseerimata õunasiider | O157:H7 | 70 | Siider valmistati mahakukkunud õuntest. Õunte korjamiskoha vahetus läheduses asus veiste karjamaa. Seadmeid, mida kasutati õunamahla valmistamiseks, ei desinfitseeritud piisavalt. Mahl oli pastöriseerimata. | Cody et al., 1999 |
| 1996 Jaapan | Redise idandid | O157:H7 | 12 680 (12) | Väga suur hulk haigestunuid. Haigestusid koolilapsed. Põhjuseks idude ebapiisav pesemine. | Michino et al., 1999 |
| 1996 USA | Pastöriseerimata õunasiider | O157:H7 | 14 | Siider valmistati mahakukkunud õuntest. Siidrit ei kuumtöeldeldud. | Hilborn et al., 2000 |
| 1996 USA | Pastöriseerimata õunasiider | O157:H7 | 66 (1) | Teadu on, et siidri valmistamiseks kasutatud õunad olid ostetud paljude erinevate tootjate käest. Partii sisaldas ka õunu, mis oli puu otsast maha kukkunud, ja siis kokku korjatud. Õunu oli pestud joogivees enne siidriks pressimist. Siidri valmistamisel oli kasutatud ka 0,1% säilitusainet. Õunasiider oli kuumtöötlemata. | Centers for Disease Control and Prevention, 1997 |
| 1995 Šotimaa | Joogivesi | O157:H7 | 633 | Põhjuseks joogivee saastumine reoveega kanalisatsioonis. | Jones and Roworth, 1996 |
| 1995 Austraalia | Kuumtöötlemata mettwurst (lihatoode) | O111 | 173 (1) | Tänu sellele haiguspuhangule võeti Austraalias kasutusele uued toiduohutuse standardid. | Cameron et al., 1995 |

| | | | | | |
|-------------------|-----------------------------|---------|----------|--|-------------------------------|
| 1994 USA | Kuivsoolatud salaami | O157:H7 | 20 | Uuring näitas, et haiguspuhangu põhjustasid tehnoloogilised vead salaami tootmisel: ebapiisav fermentatsiooniprotsess ja sellele järgnev ristsaastumise esinemine ettevõttes. | Alexander et al., 1995 |
| 1993 USA | Melon | O157:H7 | 9 | Haiguspuhangu põhjuseks peetakse melonit, mis ristsaastus restoranis. Sama toidupatogeen leiti ka toorlihal. | Del Rosario and Beuchat, 1995 |
| 1992-1993 USA | Hamburger | O157:H7 | >700 (3) | Hamburgerid saastusid kiirtoidurestoranis. | Bell et al., 1994 |
| 1991 Inglismaa | Pastöriseerimata õunasiider | O157:H7 | 23 | Haiguspuhangu põhjustas õunasiider, mis oli kuumtöötlemata, samuti ei oldud siidrile lisatud säilitusaineid. Väidetavalt ei oldud ka õunu pestud enne siidri tegemist. Teada on, et <i>E. coli</i> oli eluvõimeline külmikus säilitatud siidris ka 20. päeval. | Besser et al., 1993 |

7. Eesti tulemused

7.1. *E. coli* O157-ga seotud uuringud veisekarja, tapamaja ja ettevõtte tasandil

***E. coli* O157 seire veisekarjades aastatel 2005–2014**

Riikliku loomatauditõrjeprogrammi raames viidi aastatel 2005-2010 Veterinaar- ja Toiduameti koordineerimisel läbi uuringud *E. coli* O157 levimuse kindlakstegemiseks Eesti piimakarjades. Uuringusse kaasati farmid enam kui 100 loomaga ning igast farmist võeti roojaproovid neljalt loomalt. Laboris moodustati neist üks liitproov. Positiivse tulemuse puhul uuriti osaproove eraldi. 2014. aasta uuringud oli keskendunud piimatootmisettevõtetele, kes tegelesid toorpiima otseturustamisega. Proovid võeti farmis viielt loomalt, millest moodustati hiljem liitproov.

Tabel 2. *E. coli* O157 uuringud Eesti piimakarjades aastatel 2005-2014

| Aasta | Uuritud loomade arv | Positiivsete loomade arv | Positiivsete karjade arv |
|-------|---------------------|--------------------------|--------------------------|
| 2014 | 106 (21 karjast) | 1 | 1 positiivne kari |
| 2010 | 192 | 0 | |
| 2009 | 253 | 1 | 1 positiivne kari |
| 2008 | 209 | 1 | 1 positiivne kari |
| 2007 | 162 | 0 | |
| 2006 | 190 | 13 | 1 positiivne kari |
| 2005 | 200 | 0 | |

***E.coli* O157 seire punase liha lõikusettevõtetes aastatel 2009–2010**

Riikliku zoonoossete haigustekitajate seire raames viidi perioodil 2009 - 2010 Veterinaar- ja Toiduameti koordineerimisel läbi uuringud *E. coli* O157 levimuse kindlakstegemiseks Eesti punase liha lõikusettevõtetes. Seiresse olid kaasatud 25 sealiha ning 24 veiseliha lõikusettevõtet üle Eesti ning proovivõtt oli jaotatud sõltuvalt ettevõtete toodangumahtudest ühtlaselt aastate lõikes.

Mõlemal aastal kokku uuritud 144 sea- ning 188 veiselihaproovist STEC O157 ei leitud (CI₉₅ sealiha 0-2,7%; veiseliha 0-2,0%).

Tabel 3. *E. coli* O157 uuringud Eesti punase liha lõikusettevõtetes aastatel 2009 -2010

| Aasta | Loomaliik | Tasand | Uuritud proovide arv | Positiivsete proovide arv |
|-------|-----------|------------|----------------------|---------------------------|
| 2010 | siga | lihalõikus | 64 | 0 |
| | veis | | 113 | 0 |
| 2009 | siga | lihalõikus | 80 | 0 |
| | veis | | 75 | 0 |

***E. coli* O157 seire veiste tapamaja tasandil aastatel 2011-2013**

Riikliku zoonoosete haigustekitajate seire raames viidi perioodil 2011-2013 Veterinaar- ja Toidumeti koordineerimisel läbi uuringud *E. coli* O157 levimuse kindlakstegemiseks Eesti veisetapamajade tasandil. Igaaastaselt oli seiresse kaasatud vähemalt 80% tapamajadest üle kogu Eesti ning proovivõtt oli jaotatud sõltuvalt ettevõtete toodangumahtudest ühtlaselt aasta lõikes. Proovid võeti veiste rinnakupiirkonnast nahapinnalt abrasiivse käsna meetodit kasutades. Seire keskendus loomadele vanuses 4-24 kuud.

Veiste tapamajade tasandil läbiviidud kolmeaastase seire käigus tuvastati *E. coli* O157 esinemine nahapinnaproovides 30 juhul (4,0%, CI₉₅ 2,8% - 5,7%). Kokku uuriti perioodil 2011-2013 veise 746 nahapinnaproovi ning aastate lõikes STEC O157 levimus statistiliselt oluliselt ei erinenud (tabel 4). Samuti ei täheldatud seoseid veise soo, aastaegade ning levimusnäitajate vahel.

Tabel 4. *E. coli* O157 uuringud veisetapamaja tasandil aastatel 2011-2013

| Aasta | Uuritud proovide arv | Positiivsete proovide arv | Usalduspiirid (CI ₉₅) |
|-------|----------------------|---------------------------|-----------------------------------|
| 2013 | 254 | 9 | 1,9% - 6,6% |
| 2012 | 246 | 13 | 3,1% - 8,8% |
| 2011 | 244 | 8 | 3,3% - 6,4% |

Kõik 30 STEC O157 isolaati osutusid positiivseks H7 viburiantigeeni osas (seega on tegu *E. coli* serotüübiga O157:H7), hemolüütilisteks (enterohemolüsiin-positiivsed) ning evisid *eae* geeni (kodeerib intimiini valku). 13 isolaadil tuvastati toksiin 2 ning 17 isolaadil nii toksiin 1 kui toksiin 2 geenide esinemine (geenikombinatsioonid *stx2* ja *stx1 stx2*). Shiga-toksiini geeniperekondade esinemissagedustes tuvastati statistiliselt oluline erinevus ($p < 0,001$). Isolaate, mis oleksid evinud vaid *vtx1* geeni, ei tuvastatud. Toksiini alatüüpide määramisel saadud tulemustele tuginedes saame isolaadid jagada tinglikult 4 klastrisse: *vtx2a* ($n = 1$), *vtx2c* ($n = 12$), *vtx1a vtx2a* ($n = 4$), *vtx1a vtx2c* ($n = 13$) (tabel 6).

Tabel 5. *E.coli* O157 uuringud veisetapamaja tasandil maakonniti aastatel 2011-2013.

| Maakond | Uuritud proovide arv | Positiivsete proovide arv |
|---------------|----------------------|---------------------------|
| Harjumaa | 2 | 0 |
| Ida-Virumaa | 31 | 0 |
| Jõgevamaa | 57 | 1 |
| Järvamaa | 56 | 2 |
| Lääne-Virumaa | 156 | 13 |
| Põlvamaa | 30 | 1 |
| Pärnumaa | 38 | 1 |
| Raplamaa | 84 | 1 |
| Saaremaa | 96 | 4 |
| Tartumaa | 30 | 0 |
| Valgamaa | 109 | 7 |
| Viljandimaa | 54 | 0 |

Tabel 6. STEC O157:H7 isolaatide virulentsusmarkerid

| Maakond | Farmi nr | Virulentsusmarkerid | | |
|---------------|----------|---------------------|-----------------|--|
| | | Enterohemolüsiin | <i>eae</i> geen | <i>stx1</i> ja <i>stx2</i> geenide alatüübid |
| Jõgevamaa | 20 | + | + | <i>stx2c</i> |
| Järvamaa | 25 | + | + | <i>stx1a stx2c</i> |
| | 12 | + | + | <i>stx1a stx2c</i> |
| Lääne-Virumaa | 1 | + | + | <i>stx1a stx2c</i> |
| | | + | + | <i>stx2c</i> |
| | 27 | + | + | <i>stx1a stx2c</i> |
| | 28 | + | + | <i>stx1a stx2c</i> |
| | 29 | + | + | <i>stx1a stx2c</i> |
| | 5 | + | + | <i>stx2c</i> |
| | 4 | + | + | <i>stx2c</i> |
| | 11 | + | + | <i>stx2c</i> |
| | 2 | + | + | <i>stx1a stx2c</i> |
| | 13 | + | + | <i>stx1a stx2c</i> |
| | | + | + | <i>stx1a stx2c</i> |
| | 7 | + | + | <i>stx1a stx2c</i> |
| | 16 | + | + | <i>stx1a stx2c</i> |
| Põlvamaa | 26 | + | + | <i>stx2a</i> |
| Pärnumaa | 9 | + | + | <i>stx2c</i> |
| Raplamaa | 15 | + | + | <i>stx2c</i> |

Tabel 6. STEC O157:H7 isolaatide virulentsusmarkerid (jätk)

| | | | | |
|----------|----|---|---|--------------------|
| Saaremaa | 22 | + | + | <i>stx1a stx2c</i> |
| | 14 | + | + | <i>stx2c</i> |
| | 19 | + | + | <i>stx2c</i> |
| | 6 | + | + | <i>stx2c</i> |
| Valgamaa | 23 | + | + | <i>stx1a stx2c</i> |
| | 8 | + | + | <i>stx1a stx2a</i> |
| | | + | + | <i>stx1a stx2a</i> |
| | | + | + | <i>stx1a stx2a</i> |
| | 17 | + | + | <i>stx1a stx2a</i> |
| | 10 | + | + | <i>stx2c</i> |
| | 18 | + | + | <i>stx2c</i> |

Tundlikkus erinevate antimikroobsete ainete suhtes määrati kvantitatiivselt minimaalse kontsentratsiooni meetodit (MIC) kasutades ning tulemuste tõlgendamisel lähtuti EUCAST'i poolt aprillis 2013 kehtestatud epidemioloogilistest piirarvudest. Kaheksateist (18) isolaati osutusid tundlikuks kõigi 14 uuritud toimeaine suhtes, resistentsus ühe preparaadi suhtes (streptomütsiin või sulfametoksasool) tuvastati 4 isolaadil. Ülejäänud 8 isolaadil oli välja kujunenud multiresistentsus, kusjuures üks neist osutus resistentseks koguni 5 preparaadile: ampitsilliinile, streptomütsiinile, tetratsükliinile, sulfametoksasoolile ja kanamütsiinile. ESBL (laiendatud toimespektriga beeta-laktamaasi tootvaid) tüvesid ei tuvastatud. Enamik multiresistentseid tüvesid pärinesid 2011. ja 2012. aastal võetud proovidest.

***E. coli* O157 seire piimatootmisettevõtetes 2014. aastal**

Veterinaar- ja Toiduameti poolt koordineeritava zoonoosete haigustekitajate seire raames võeti 2014. aastal piimatootmisettevõtetest 43 toorpiimaproovi *E. coli* O157 esinemise kindlakstegemiseks. Haigustekitaja isoleeriti ühest proovist (2,3%, CI₉₅ 0,1% - 13,8%). Isolaadi täiendaval uurimisel osutus see positiivseks mõlema Shiga-toksiini kodeeriva geeni (*stx1 stx2*) kui intimiini kodeeriva geeni (*eae*) osas (publitseerimata andmed).

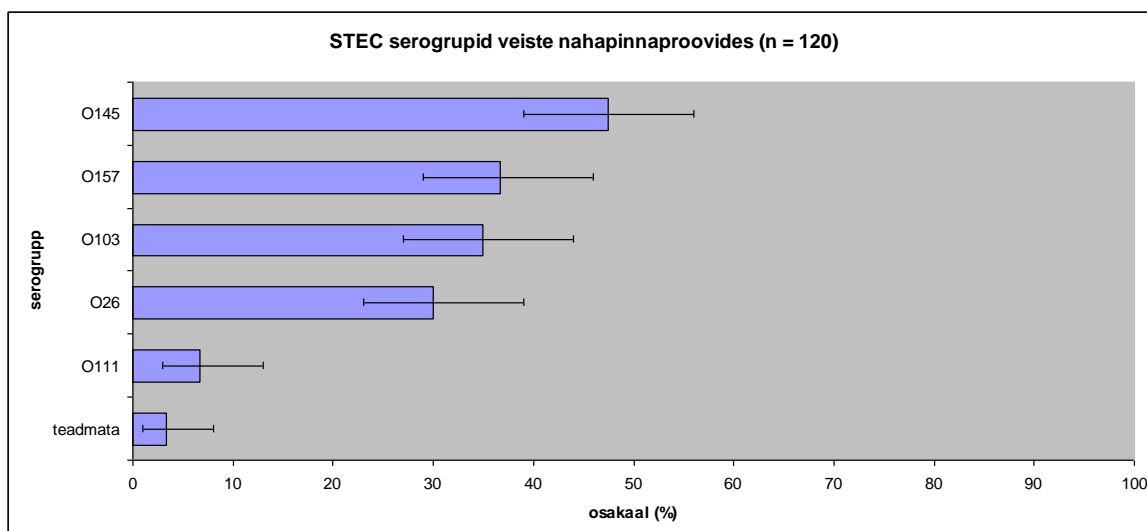
7.2. STEC O157, O103, O145, O26 ja O111 uuringud aastatel 2013-2014

Käesoleva rakendusuuringu raames viidi läbi uuringud inimtervise seisukohast viie olulisema STEC serogrupi - O157, O103, O145, O26 ja O111 - osas. Kuna uuringud hõlmasid enam kui ühte serograppi, kasutati nimetatud uuringute laboratoorseks läbiviimiseks teist määramismeetodit - ISO/TS 13136.

7.2.1. Uuringud tapamaja tasandil

Veiste nahapinnaproovide tulemused

Perioodil aprill – oktoober 2013 STEC O157 seire raames võetud veisenaha pinnaproovidest teostati lisaks molekulaarne sõeluuring 5 enamlevinud STEC serogrupi esinemise suhtes. Kokku analüüsiti 120 proovi, millest 77 (64%, CI₉₅ 55% - 72%) osutusid ühe või mõlema toksiinigeeni osas positiivseks. Geeni *stx2* esinemine tuvastati 77 (63%, CI₉₅ 55% - 72%) ning *stx1* esinemine 40 (30%, CI₉₅ 26% - 42%) proovis. Sellist erinevust saab lugeda statistiliselt oluliseks ($p < 0,05$). 32 juhul olid ühes proovis esindatud mõlemad toksiinigeenid. Edasine molekulaarne serotüpeerimine kinnitas kõigi 5 serograppi kuuluvate *E. coli* presumptiivset esinemist proovides (Joonis 2): O145 48% (CI₉₅ 39% - 56%), O157 37% (CI₉₅ 29% - 46%), O103 35% (CI₉₅ 27% - 44%), O26 30% (CI₉₅ 23% - 39%), O111 7% (CI₉₅ 3% - 13%). Kui serograppide O103, O157, O145 ja O26 esinemisagedustes statistiliselt olulist erinevust märgata ei ole, siis serograppi O111 liigituvat *E. coli* bakterit tuvastati vaid 8 korral.



Joonis 2. STEC serogruppide esinemine veiste nahapinnaproovides. Andmed on esitatud koos 95% usaldusvahemikega.

Veiste rümbapinnaproovide tulemused

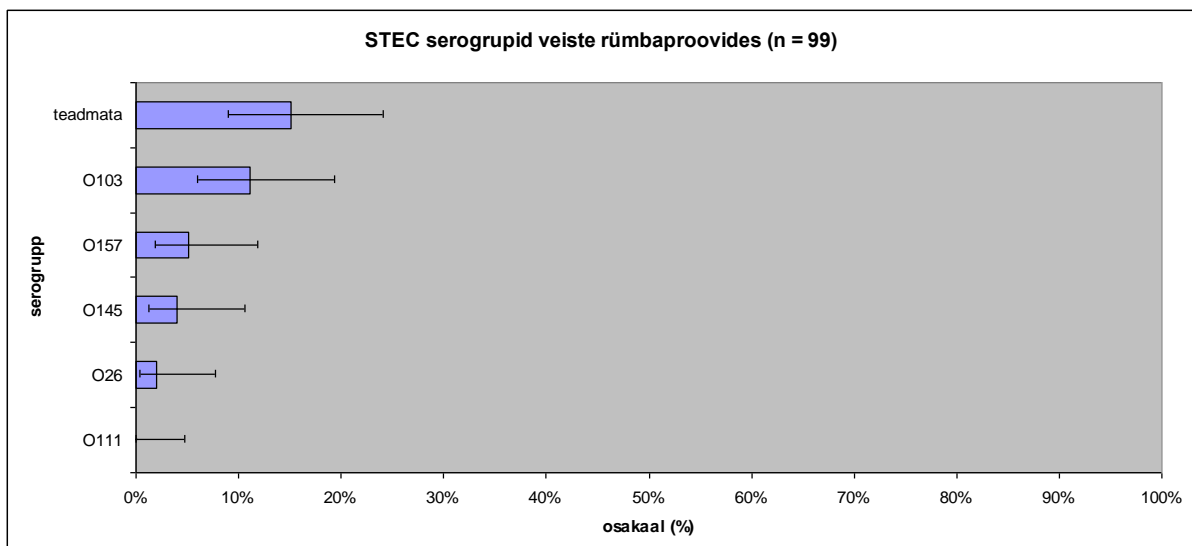
Käesoleva rakendusuuringu raames teostati uuringud viie olulisema STEC serogrupi olemasolu kindlakstegemiseks veiste rümbaproovides. Uuringusse kaasati riikliku zoonoosete haigustekitajate seire raames tapamajades algselt salmonella uuringuteks võetavad veiste rümbaproovid. Proovid võeti tapajärgse kontrolli läbinud rümbalt enne viimase jahutamisele suunamist kahe osaproovina reie sise- ja välisküljelt, kubeme piirkonnast ning rinna- ja kõhuõõnsuse sise- ja välispinnalt. Laboris moodustati kahest osaproovist üks koondproov.

Perioodil jaanuar – oktoober 2014 uuriti kokku 99 veise rümbaproovi, millest 32 (32%, CI₉₅ 24% – 43%) osutusid toksiinigeenide osas positiivseteks. Proovid pärinesid 24 erinevast tapamajast üle Eesti. Toksiinigeenide *stx1* ja *stx2* esinemissageduses täheldati statistilist erinevust: *stx1* tuvastati 17 ning *stx2* 30 proovis ($p < 0,05$), kusjuures 15 juhul oli tegu mõlema geeni koosesinemisega. Olgugi, et toksiinigeenide esinemine oli sagedasem noortelt veistelt võetud proovides (40%), pole kahe vanuserühma võrdluses toksiinigeenide esinemises statistiliselt olulist erinevust. Intimiini kodeeriva geeni *eae* olemasolu tuvastati vähem kui pooltes proovides (15 juhul).

Tabel 7. Veiste rümbaproovide uuringud STEC 5 serogrupi esinemisele 2014. aastal

| | |
|-----------------------------------|----------|
| Uuritud veiste rümbaproovide arv: | |
| kokku | 99 |
| vanuses ≤ 24 kuud | 26 (26%) |
| vanuses > 24 kuud | 73 (74%) |
| Veiste vanuse mediaanväärtus: | |
| kokku | 36 kuud |
| vanuses ≤ 24 kuud | 17 kuud |
| vanuses > 24 kuud | 52 kuud |

STEC 5 serogrupi levimusest annab ülevaate joonis 3. Kui serogruppide O157, O145 ja O26 esinemisagedustes statistilist erinevust märgata ei ole, siis serogrupperi O111 liigituvat *E. coli* bakterit uuritud proovides ei tuvastatud. Seevastu tuvastati serogruppile O103 viitavaid gene 11 proovis. Ligi pooltes toksiinigeene omavates proovides (15%, CI95 9% - 25%) ülalnimetatud serogruppidele viitavaid gene ei tuvastatud.



Joonis 3. STEC serogruppide esinemine veiste rümbapinnaproovides. Andmed on esitatud koos 95% usaldusvahemikega

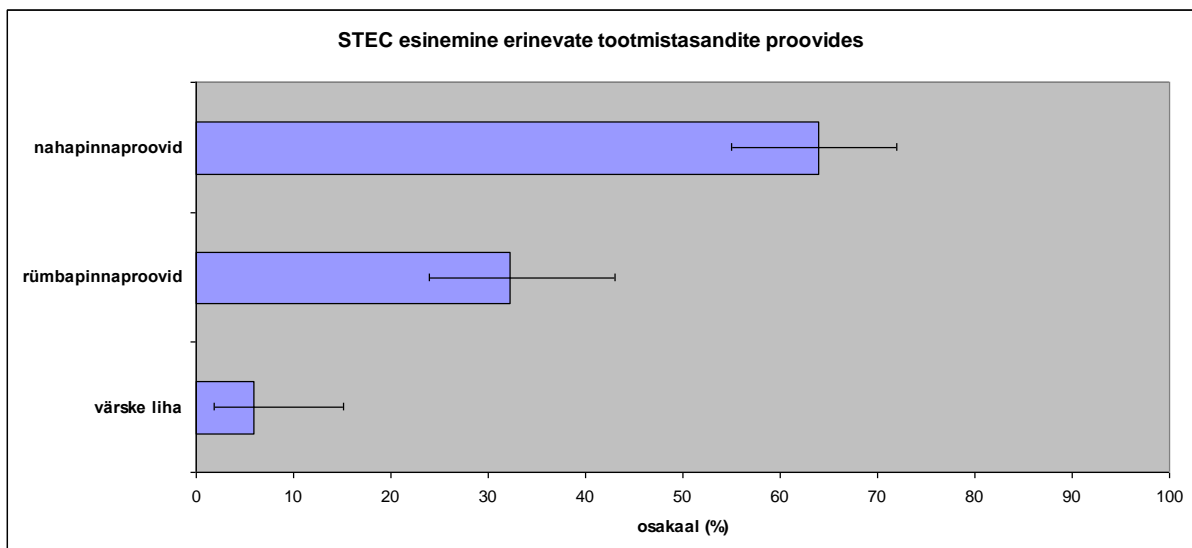
7.2.2. Uuringud lihalõikuse tasandil

Värske veiseliha uuringu tulemused

Käesoleva rakendusuringu raames teostati samuti uuringud viie olulisema STEC serogrupi olemasolu kindlakstegemiseks lihalõikuse etapis. Uuringusse kaasati riikliku zoonossete haigustekitajate seire raames lihalõikusettevõtetes võetavad veiste lihaseproovid. Proovid võeti järelvalveinspektorite poolt lihalõikuse ajal otse konveierilt või lõikuse töökohas.

Perioodil jaanuar – oktoober 2014 uuriti kokku 68 veise lihaseproovi, millest 4 (5,9%, CI₉₅ 1,9% – 15,1%) osutusid toksiinigeenide osas positiivseteks. Proovid pärinesid 22 erinevast lihalõikusettevõttest üle Eesti. Kõigil juhtudel tuvastati proovides *stx2* geeni esinemine. Serogruppidest olid esindatud O103 ja O145. Intimiini kodeeriv *eae* geeni olemasolu tuvastati 2 proovis.

Kokkuvõtvalt on veiseliha erinevatelt tootmistasandidelt võetud proovides Shiga-toksiini tootva *E.coli* esinemisele viitavate toksiinigeenide esinemissagedustes märgatav statistiliselt oluline erinevus ($p < 0,05$). Kõige sagedamini tuvastati proovides geeniperekonna *stx2* esinemine.



Joonis 4. Presumptiivse STEC esinemine veiseliha erinevatelt tootmistasanditelt võetud proovides. Andmed on esitatud koos 95% usaldusvahemikega.

7.2.3. Uuringud kütitud suurulukite kogumiskeskustes

Rümbapinnaproovide tulemused

2014. aastal läbi viidud molekulaarne sõeluuring jahilukite rümpadelt võetud pinnaproovidest näitas STEC toksiinigeenide esinemist 32 (53%, CI₉₅ 41% - 66%) proovis (tabel 8), kusjuures 17 (53%, CI₉₅ 35% - 71%) juhul tuvastati vaid *stx2* esinemine ning 14 (44%, CI₉₅ 27% - 62%) juhul oli tegemist *stx1* ja *stx2* koosinimisega. Intimiinigeen *eae* tuvastati 31-s *stx* suhtes positiivseks osunud proovis. Serogrupp O157, O145, O26, O103 ja O111 esinemine tuvastati positiivsetes proovides vastavalt 15, 19, 1, 16 ning 0 korral.

Andmete statistilise töötamise tulemustele tuginedes saab väita, et STEC levimus metssea ja põdra rümbaproovides oli statistiliselt oluliselt erinev ($p < 0,05$). Statistiliselt oluline erinevus ($p < 0,05$) tuvastati viie STEC serogrupi levimuses ning see oli tingitud eelkõige sellest, et serogrupp O26 tuvastati vaid ühel korral ning serogruppi O111 ei tuvastatud üldse. Serogruppide O157, O145 ja O103 levimuses statistiliselt olulist erinevust ei leitud ($p = 0,70$).

Tabel 8. STEC molekulaarse sõeluuringu tulemused suurulukite rümbapinnaproovides

| Liik | Uuritavate proovide arv | STEC positiivseid | STEC positiivseid % | 95% usalduspiirid |
|--------------|-------------------------|-------------------|---------------------|-------------------|
| Metssiga | 25 | 17 | 68 | 48% - 83% |
| Pöder | 30 | 10 | 33 | 19% - 51% |
| Karu | 3 | 3 | 100 | 31% - 100% |
| Metskits | 2 | 2 | 100 | 20% - 100% |
| Kokku | 60 | 32 | 53 | 41% - 66% |

7.2.4. Uuringud piimatootmisettevõtetes

Piimafiltrite uuringute tulemused

2013. ja 2014. aastal läbiviidud toorpiima ohutuse alaste uuringute käigus määrati lisaks teistele näitajatele ka STEC virulentsusmarkerite ning viiele olulisemale serogrupile spetsiifiliste geenide esinemine piimafiltriproovides. Uuringutesse oli 2013. aastal kaasatud 14 ning 2014. aastal 10 piimatootmisettevõtet, kellele oli välja antud veterinaartõend toorpiima turustamiseks väljaspool farmi (turud, müügiautomaadid, kauplused, jaemüügikohad). Nimetatud geenide esinemisest annab ülevaate tabel 9.

Tabel 9. STEC virulentsusmarkereid ja serogruppe kodeerivate geenide esinemine piimafiltritil 2013. ja 2014. aastal

| Aasta | Farmide arv | Virulentsusmarkerite geenid | | | Serogrupi geenid | | | | | |
|-------|-------------|-----------------------------|-------------|------------|------------------|------|------|------|------|----------|
| | | <i>stx1</i> | <i>stx2</i> | <i>eae</i> | O26 | O103 | O111 | O145 | O157 | teadmata |
| 2014 | 10 | 0 | 5 | 2 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| 2013 | 14 | 1 | 8 | 8 | 1 | 6 | 0 | 6 | 4 | 0 |

Molekulaarse sõeluuringu tulemusel tuvastati 2014. aastal STEC esinemisele viitavaid gene 5 farmi (50%, CI₉₅ 20% - 80%) ning 2013. aastal 9 farmi (64%, CI₉₅ 36% - 86%) piimafiltriproovides. STEC-i esinemissagedustes kahel järjestikusel aastal (2013/2014) võetud piimafiltriproovides statistiliselt olulist erinevust ei esinenud ($p = 0,68$). Samuti ei ole märgata statistiliselt olulist erinevust serogruppide O26, O103, O145 ja O157 esinemissagedustes. Serogrupile O111 viitavaid gene mõlemal aastal võetud proovides ei tuvastatud. Kõige sagedamini tuvastati Shiga-toksiin 2 geeniperekonnale ning serogruppidele O103 ja O145 viitavaid gene.

Tankipiima uuringu tulemused

2014. aastal teostatud toorpiima ohutuse alases uuringus määrati STEC virulentsusmarkerite ja viiele olulisemale serogrupi esinemisele viitavate geenide esinemine ka tankipiimaproovides. Geenide esinemisest annab ülevaate tabel 10.

Tabel 10. STEC virulentsusmarkereid ja serogruppe kodeerivate geenide esinemine tankipiimaproovides 2014. aastal.

| Aasta | Farmide arv | Virulentsusmarkerite geenid | | | Serogrupi geenid | | | | | |
|-------|-------------|-----------------------------|-------------|------------|------------------|------|------|------|------|----------|
| | | <i>stx1</i> | <i>stx2</i> | <i>eae</i> | O26 | O103 | O111 | O145 | O157 | teadmata |
| 2014 | 10 | 0 | 5 | 4 | 3 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 |

Molekulaarse sõeluuringu tulemusel tuvastati 2014. aastal shiga-toksiin 2 geeniperekonna esinemine 5 farmi (50%, CI₉₅ 20% - 80%) tankipiimaproovidest. Sarnaselt piimafiltrite uurimisel saadud tulemustele, serogrupile O111 viitavaid gene proovides ei tuvastatud.

Kokkuvõte ja järeldused

Maailmas läbiviidud erinevate uuringute ja riskihinnangute tulemusel on suur osa Shiga-toksiini tootvate *E. coli* poolt põhjustatud infektsioone toidutekkelised. Kõrgesse riskikategooriasse kuuluvad eelkõige valmistooteid (RTE - *ready to eat*), mis mõeldud tarbimiseks ilma eelneva kuumtöötlemiseta. Veiselihatooted, pastöriseerimata piima ja mahlasid ning köögivilju peetakse tähtsaimaks STEC allikaks. Eestis aastatel 2005-2010 teostatud riikliku seire raames teostatud uuringud näitasid, et STEC O157 levimus suurtes, enam kui 100 pealistes, piimakarjades on madal. Edasised uuringud lihalõikuse tasandil kinnitasid samuti STEC O157 väga madalat levimust. Levimusnäitaja jäi madalaks ka aastatel 2011- 2013 veiste tapamaja tasandil teostatud seires (4%). Seevastu osutusid *E. coli* O157:H7 isolaadid edasistes molekulaarsetes uuringutes väga mitmete oluliste virulentsusmarkerite geenide osas positiivseteks. Käesoleva rakendusuuringu käigus veiseliha tootmise erinevatel tasanditel teostatud molekulaarse sõeluuringu käigus määrati rahvatervise seisukohast viie olulisema STEC serogrupi levimus koos virulentsusmarkerite esinemisega. Kui veiste nahapinnaproovides näitasid uuringud 64% STEC levimust, siis lihalõikuse tasandil oli viimane kahanenud 6%. Enamlevinud serogruppidest olid esindatud O145, O103 ja O157. Toorpiima ohutuse alase pilootprojekti tulemused kinnitasid molekulaarse sõeluuringu baasil STEC kõrget levimust uuringusse kaasatud piimatootmisettevõtete piimafiltrite ning tankipiimaproovides. Proovides olid esindatud STEC neli serogruppi O145, O103, O157, O26. Kinnitavad molekulaarsed uuringud näitasid statistiliselt olulist erinevust kahe toksiini kodeeriva geeniperekonna (*stx1* ja *stx2*) esinemissagedustes. STEC baktereid, mil on tuvastatud geeniperekonna *stx2* esinemine koos intimiini kodeeriva geeniga *eae*, peetakse kaasaja teadmisi arvestades kõrge potentsiaaliga haigustekitajateks. On tõendatud, et teatud olulisi virulentsusmarkereid ekspresseerivate STEC esinemine eelkõige valmistoitudes kujutab selget riski tarbijate tervisele. STEC on potentsiaalseks ohuks eelkõige riskirühmadele (lapsed, vanurid), kuid teatud virulentsusfaktorite olemasolul ning koosmõjul võivad haigestuda ka terved täiskasvanud. Seega on STEC puudumine tarbitavas toidus äärmiselt oluline. Kasutades kvaliteetset toorainet, järgides toiduainetööstuse tasandil rakendatud enesekontrolli ning hügieenimeetmeid ja vältides ristsaastumist on võimalik toota kehtestatud toiduohutuse kriteeriumitele vastavaid tooteid ning hoida STEC tingitud rahvatervise risk väga madalal.

Seonduvad küsimused ja vastused

Kui tõsist haigust *Escherichia coli* inimestel põhjustab ning millised on haigustekitaja nakkusallikad?

Vastus: Enamik patogeense *E. coli* poolt põhjustatud sooleinfektsioone saab alguse bakteri koloniseerimisest ja seondumisest soole limaskestale, millele järgneb konkreetsele patogrupile iseloomulike virulentsusfaktorite ekspressioon ning haigussümptomite väljakujunemine. Shiga-toksiini tootva *E. coli* ning tema alarühma enterohemorraagilise *E. coli* poolt põhjustatud infektsioone registreeritakse suhteliselt harva ning nakkuse sümptomid varieeruvad, sõltuvalt nakkustekitaja poolt ekspresseeritavatest virulentsusfaktoritest ning peremeesorganismi vastuvõtlikkusest, kergest kõhulahtisusest kuni raskete komplikatsioonideni nagu hemolüütilis-ureemiline sündroom (HUS). Tervetel täiskasvanutel võib nakkus kulgeda ka asümptomaatiliselt, seevastu lastel ja vanuritel võib nakkus raskemal juhul lõppeda ka surmaga. Nakkusallikaks on mäletsejalised, kes on nakkustekitaja looduslikuks reservuaariks või haigestunud inimene. Haigustekitaja levib saastunud toidu (hinnangulistelt 85% haigusjuhtudest) ja joogivee kaudu. Hügieeninõuete mittetäitmisel võib inimene nakatuda ka farmiloomadega ning haige inimese poolt saastatud pindadega või esemetega kokkupuutumisel. Nakatumine võib toimuda ka saastunud suplusvees ujumisel.

Millised toidud võivad olla STEC enim saastunud ning kas on võimalik eristada kõrge riskikategooriaga tooteid?

Vastus: tuginedes riskiprofiilis esitatud teaduskirjanduse, erinevate andmebaaside ning käesoleva uuringu käigus teostatud laboratoorsete analüüside andmetele saab väita, et sagedamini levib haigustekitaja mittepastöriseeritud piima, ebapiisavalt kuumtöödeldud liha (eelkõige veiseliha), idandite, värskel salati ja muude köögiviljadega. Kõrgesse riskikategooriasse saab liigitada ennekõike tooted, mida enne tarvitamist ei kuumutata (nt toorpiim, *carpaccio*, idandid) või tooted, mille eelnev töötlemine pole olnud piisav STEC hävitamiseks (nt veisehakklihast tooted).

Milliseid matrikseid/toite on Eestis uuritud STEC esinemuse suhtes ning kas olemasolevate andmete põhjal saab eristada kõrge riskikategooriaga toite?

Vastus: Põhjalik ülevaade STEC esinemisest erinevates uurimismatriksites on esitatud antud riskiprofiilis. Riiklikul tasemel on uuringud senini keskendunud vaid ühele STEC serogrupile – *E. coli* O157. Viimase levimust on seiratud lüpsikarjade (sh toorpiima), veiste tapamaja ning lihalõikuse tasandil. Käesolev rakendusuuring koos toorpiima ohutuse alase pilootprojektiga võimaldas uuringuid laiendada ka teistele rahvatervise seisukohast olulistele serogruppidele (O26, O111, O103, O145). Kuna saastunud tooraine ei kujuta enamasti otsest ohtu rahvatervisele, siis võib kõrgesse riskikategooriasse liigituvate toitudena käsitleda ennekõike pastöriseerimata piima (toorpiima) ja sellest valmistatud tooteid. Uuringuid STEC esinemise kindlakstegemiseks teistes RTE toodetes (värske köögivili, idandid) on läbi viidud väga harva.

Kuidas hinnata STEC levimust toiduainetes?

Vastus: Rahvatervise seisukohast on olukord parim juhtudel kui STEC RTE toidus üldse ei esine ning selle STEC levimus toidutootmise algtasanditel (eelkõige veiseliha tootmisahelas) on madal. Kõrge risk rahvatervisele on juhtudel, kus RTE tooted sisaldavad STEC baktereid, mis lisaks toksiinide produtseerimisele, evivad võimet kinnituda sooleepiteelile tehes seeläbi võimalikuks kolde moodustamise.

Kas tavapärased toidu kuumtöötlemise ning säilitamise praktikad/viisid välistavad STEC tingitud toiduohu?

Vastus: Jah, sest STEC on termolabiilne bakter, mida on võimalik hävitada toidu kuumutamise/küpsetamise/keetmisega sisemise temperatuurini vähemalt + 72 °C. Samas tuleb teada, et antud toidupatogeen ei pruugi hävida toidu säilitamisel külmkapis madalatel temperatuuridel ega sügavkülmutamisel.

Kas toidu kodusel ettevalmistamisel tuleb arvestada mõnede muude hügieeninõuete järgimisega, et vältida STEC tekkivaid võimalikke tervisehäireid?

Vastus: Jah, väga oluline on koduköörides elementaarsete hügieenireeglitest kinnipidamine ning toidu ristsaastumise vältimine.

Milliseid meetmeid on rakendatud STEC seonduvate rahvaterviseriskide vähendamiseks?

Vastus: STEC tõrje algab üldjuhul farmitasandil, mille eesmärgiks on viia haigustekitajaid kandvate loomade arv miinimumini. Kuna mäletsejalised on STEC looduslikuks reservuaariks, siis seetõttu ei ole võimalik STEC täiel määral farmitasandil elimineerida. Kõige olulisemaks ennetavaks meetmeks peetakse väljaheidetega saastumise minimeerimist loomade tapmisel. Puhaste loomade tapmisega peavad kaasnema hügieenilised tööprotseduurid kogu tapamajas ja toidutootmisahela efektiivne kontroll. Reeglitekohane kuumtöötlemine hävitab haigustekitaja. Värske köögivilja tootmise/töötlemise tasandil tuleb samuti rakendada HACCP põhimõtteid ning eeltingimusprogramme ehk enesekontrollisüsteem tervikuna peab olema tõestatult (verifitseerimine ning valideerimine) efektiivne.

Milline on tarbijate haigestumise tõenäosus tarbides Eestis müüdavat veiseliha?

Vastus: antud projekti ning varasemate riikliku seire raames teostatud uuringute tulemusena saab väita, et STEC levimus veiselihas on madal. Tuginedes teadaolevatele levimusnäitajatele, STEC virulentsusmarkerite profiilile, elanikkonna tarbimisharjumustele ning kvalitatiivse riskihinnangu põhimõtetele on risk nakatuda STEC poolt põhjustatud infektsioonidesse tarbides Eesti päritolu veiseliha väga madal.

Millised ohud seonduvad toorpiimaga, mis on mõeldud otsetarbimiseks?

Vastus: toorpiima ohutuse alase pilootprojekti käigus läbiviidud molekulaarse sõeluuringu tulemused tõestasid STEC kõrget levimust nii piimafiltri kui tankipiimaproovides. Tuginedes levimusnäitajatele, virulentsusmarkerite profiilile ning kvalitatiivse riskihinnangu põhimõtetele, saab riski nakatuda STEC poolt põhjustatud infektsioonidesse, tarbides Eesti päritolu toorpiima, hinnata madalaks kuni keskmiseks.

Milliste uuringutega tuleks jätkata, et toiduohutuse riskijuhtimise tasandil vastu võtta adekvaatseid otsuseid vähendamaks STEC tingitud riski rahvatervisele?

Vastus: tulevased riiklikud seireprogrammid STEC levimuse kindlakstegemiseks peaksid hõlmama lisaks *E. coli* O157 uuringutele lisaks ka teiste rahvatervise seisukohast oluliste STEC serogruppide uuringuid. Samuti on oluline seireprogrammi laiendamine toorpiima tootmise ja otsemüügiga tegelevatele ettevõtetele. Uurimist vajab lambaliha tootmise tasand ning veise- ja lambasõnnikuga väetatud põldudel kasvatatud köögiviljade toiduohutus STEC suhtes.

Milline on uurimisrühma kokkuvõtlik soovitus Eesti riigile?

Vastus: infektsioonide algallikate, levikuteede ning võimalike haiguspuhangute põhjuste kindlakstegemiseks on möödapääsmatult oluline laboratoorse võimekuse tõstmine riiklikul tasandil haigustekitajate virulentsusmarkerite kindlakstegemise ja molekulaartüüpiseerimise alal.

Kasutatud kirjandus

- Alexander, E.R., Boase, J., Davis, M., Kirchner, L., Osaki, C., Tanino, T., et al. 1995. *Escherichia coli* O157:H7 outbreak linked to commercially distributed dry-cured salami – Washington and California, 1994. Morbidity and Mortality Weekly Report, 44(9), 157-160.
- Arnold KW, Kaspar CW (1995) Starvation- and stationary-phase-induced acid tolerance in *Escherichia coli* O157:H7. Applied and Environmental Microbiology 61(5):2037–2039
- Bell BP, Goldoft M, Griffin PM, Davis MA, Gordon DC, Tarr PI, Bartleson CA, Lewis JH, Barrett TJ, Wells JG, and et al. 1994. A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 associated bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome from hamburgers. The Washington experience. J Am Med Assoc, 272, 1349–1353.
- Besser, R.E., Lett, S.M., Weber, J.T., Doyle, M.P., Barrett, T.J., Wells, J.G., Griffin, P.M. 1993. An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from *Escherichia coli* O157:H7 in fresh-pressed apple cider. JAMA., 269 (17), 2217-2220.
- Beutin L, Krause G, Zimmermann S, Kaulfuss S, and Gleier K. 2004. Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from human patients in Germany over a 3-year period. J Clin Microbiol. 42(3):1099-108.
- Blanco, J., M. Blanco, J. E. Blanco, A. Mora, M. Alonso, E. A. Gonzales, and M. Bernárdez. 2001. Epidemiology of Verocytotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) in ruminants, p. 113-148. In G. Duffy, P. Garvey, and D. A. McDowell (eds.), Verocytotoxigenic E. coli. Food & Nutrition Press, Inc, Trumbull, Connecticut, USA
- Brooks JT, Sowers EG, Wells JG, Greene KD, Griffin PM, Hoekstra RM, and Strockbine NA. 2005. Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in the United States, 1983-2002. J Infect Dis. 192(8):1422-9.
- Brunder W., Schmidt H., Frosch M., Karch H., The large plasmids of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) are highly variable genetic elements, Microbiology 145 (1999)1005-1014.
- Burland V., Shao Y., Perna N.T., Plunkett G., Sofia H.J., Blattner. F.R., The complete DNA sequence and analysis of the large virulence plasmid of *Escherichia coli* O157:H7, Nucleic Acids Res. 26 (1998) 4196-4204.

- Buvens G, Possé B, De Schrijver K, De Zutter L, Piérard D, Lauwers S, and Pierard D. 2011. Virulence Profiling and Quantification of Verocytotoxin-Producing *Escherichia coli* O145:H28 and O26:H11 Isolated During an Ice Cream-Related Hemolytic Uremic Syndrome Outbreak. *Foodborne Pathog Dis.* 8(3):1-6.
- Calderon VE, Chang Q, McDermott M, Lytle MB, McKee G, Rodriguez K, Rasko DA, Sperandio V, and Torres AG. 2010. Outbreak caused by cad-negative Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O111, Oklahoma. *Foodborne Pathog Dis.* 7(1):107-9.
- Cameron, A.S., Beer, M.Y., Walker, C.C., Rose, N., Aneer, E., Manatakis, Z., et al. 1995. Community outbreak of Hemolytic Uremic Syndrome attributable to *Escherichia coli* O111:NM – South Australia, 1995. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 44(29), 550-551, 557-558.
- Caprioli A, Morabito S, Brugère H, and Oswald E. 2005. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Vet Res.* 36(3):289-311.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2014. Multistate Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 Infections Linked to Ground Beef. <http://www.cdc.gov/ecoli/2014/O157H7-05-14/index.html>
- Centers for Disease Control and Prevention. 1997. Outbreaks of *Escherichia coli* O157:H7 Infection and Cryptosporidiosis Associated with Drinking Unpasteurized Apple Cider -- Connecticut and New York, October 1996. *MMWR, Weekly*, 46 (01), 4-8. <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00045558.htm>
- Cody, S.H., Glynn, K.M., Farrar, J.A., Cairns, L.K., Griffins, P.M., Kobayashi, J., Fyfe, M., Hoffman, R., King, A.S., Lewis, J.H., Swaminathan, B., Bryant, R.G., Vugia, D.J. 1999. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection from unpasteurized commercial apple juice. *Ann. Int. Med.*, 130, 202-209.
- Coombes, B.K., Wickham, M.E., Mascarenhas, M., Gruenheid, S., Finlay, B.B. et al. 2008. Molecular analysis as an aid to assess the public health risk of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains. *Appl Environ Microbiol*, 74, 2153-2160.
- De Schrijver, K., Buvens, G., Possé, B., Van den Branden, D., Oosterlynck, O., De Zutter, L., Eilers, K., Piérard, D., Dierick, K., Van Damme-Lombaerts, R., Lauwers, C., Jacobs, R. 2008. *Eurosurveillance*, Vol. 13, Issues 1–3, pp. 5.
- Del Rosario, B.A., Beuchat, L.R. 1995. Survival and growth of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in cantaloupe and watermelon. *Journal of Food Protection*, v. 58, p. 105-107.

- Delignette-Muller, M.L., Cornu, M., AFSSA STEC study group. 2008. Quantitative risk assessment for *Escherichia coli* O157:H7 in frozen ground beef patties consumed by young children in French households. *Int J Food Microbiol.*, Nov 30; 128(1), 158-64.
- Denny J, Bhat M, Eckmann K. 2008. Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 associated with raw milk consumption in the Pacific Northwest. *Foodborne Pathog Dis.*, 5:321-328.
- Desmarchelier PM, Fegan N (2003) Enteropathogenic *Escherichia coli*. Ch 9 In: Hocking AD (ed) Foodborne microorganisms of public health significance. 6th ed, Australian Institute of Food Science and Technology (NSW Branch), Sydney, p. 267–310
- ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2014. Factsheet. http://www.ecdc.europa.eu/en/healthtopics/escherichia_coli/basic_facts/pages/basic_facts.aspx. Accessed 24 July 2014
- EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2014. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2012. *EFSA Journal* 2014;12(2):3547, 312 pp. doi:10.2903/j.efsa.2014.3547
- Ethelberg S, Olsen KE, Scheutz F, Jensen C, Schiellerup P, Enberg J, Petersen AM, Olesen B, Gerner-Smidt P, and Mølbak K. 2004. Virulence factors for hemolytic uremic syndrome, Denmark. *Emerg Infect Dis.* 10(5):842-7.
- FDA (2012) Bad bug book: Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook, 2nd ed. US Food and Drug Administration, Silver Spring, p. 74–78. <http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/CausesOfIllnessBadBugBook/ucm2006773.htm>. Accessed 30 July 2014
- Frankel G., Phillips A. D., Rosenshine I., Dougan G., Kaper J. B. Knutton S., Enteropathogenic and enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: more subversive elements, *Mol. Microbiol.* 30 (1998) 911-921.
- Friesema, I., Sigmundsdottir, G., van der Zwaluw, K., Heuvelink, A., Schimmer, B., de Jager, C., Rump, B., Briem, H., Hardardottir, H., Atladottir, A., Gudmundsdottir, E., van Pelt, W. 2008. An international outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 infection due to lettuce, September – October 2007. *Eurosurveillance*, Volume 13, Issue 50, pp. 5.
- Goh S, Newman C, Knowles M, Bolton FJ, Hollyoak V, Richards S, Daley P, Counter D, Smith HR, and Keppie N. 2002. *E. coli* O157 phage type 21/28 outbreak in North Cumbria associated with pasteurized milk. *Epidemiol Infect.*, 129, 451–457.

- Griffin, P.M., Tauxe, R.V. 1991. The epidemiology of infection caused by *Escherichia coli* O157 and other enterohaemorrhagic *E. coli* and the associated haemolytic uraemic syndrome. *Epidemiol. Rev.* 13, 60-98.
- Guh, A., Phan, Q., Nelson, R., Purviance, K., Milardo, E., Kinney, S., Mshar, P., Kasacek, W., Cartter, M. 2010. Outbreak of *Escherichia coli* O157 associated with raw milk, Connecticut, 2008. *Clin. Infect. Dis.*, 51(12), 1411-1417.
- Gyles CL (2007) Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: An overview. *Journal of Animal Science* 85(E Suppl.):E45–E62
- Herold, S., H. Karch, and H. Schmidt. 2004. Shiga toxin-encoding bacteriophages-genomes in motion. *Int. J. Med. Microbiol.* 294:115-121.
- Hilborn, E.D., Mshar, P.A., Fiorentino, T.R., Dembek, F.Z., Barrett, T.J., Howard, R.T., Crtter, M.L. 2000. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections and haemolytic uraemic syndrome associated with consumption of unpasteurized apple cider. *Epidemiol. Infect.*, 124 (1), 31.-36.
- Hrudey SE, Payment P, Huck PM, Gillham RW, and Hrudey EJ. 2003. A fatal waterborne disease epidemic in Walkerton, Ontario: comparison with other waterborne outbreaks in the developed world. *Water Sci Technol.*, 47, 7–14.
- ICMSF (1996) Intestinally pathogenic *Escherichia coli*. Ch 7 In: *Microorganisms in food 5: Microbiological specifications of food pathogens*. Blackie Academic and Professional, London, p. 126–140
- Imamovic L, Tozzoli R, Michelacci V, Minelli F, Marziano ML, Caprioli A, Morabito S. 2010. OI-57, a Genomic Island of *Escherichia coli* O157, Is Present in Other Seropathotypes of Shiga Toxin-Producing *E. coli* Associated with Severe Human Disease.
- Jones, I.G. and Roworth M. 1996. An outbreak of *Escherichia coli* O157 and campylobacteriosis associated with contamination of a drinking water supply. *Public Health*, 110, 277–282.
- Johnson TJ, Nolan LK. 2009. Pathogenomics of the Virulence Plasmids of *Escherichia coli*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, p. 750–774 Vol. 73, No. 4
- Kaper, J. B., J. P. Nataro, and H. L. Mobley. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat. Rev. Microbiol.* 2:123-140.
- Karmali, M.A. 2004. Infection by Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *Mol Biotechnol.*, 26, 117-22.

- Khaitan A, Jandhyala DM, Thorpe CM, Ritchie JM, Paton AW, 2007. The Operon Encoding SubAB, a Novel Cytotoxin, Is Present in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* Isolates from the United States. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol 45, No. 4, p. 1374–1375
- Labbe R.G, Garcia S (eds) (2013) *Guide to Foodborne Pathogens*. Wiley Blackwell. Chichester
- Launders, N., Byrne, L., Adams, N., Glen, K., Jenkins, C., Tubin-Delic, D., Locking, M., Williams, C., Morgan, D. 2013. Outbreak of Shiga toxin-producing *E. coli* O157 associated with consumption of watercress, United Kingdom, August to September 2013. *Eurosurveillance*, Volume 18, Issue 44, 1-5. <http://www.eurosurveillance.org/images/dynamic/EE/V18N44/art20624.pdf>
- Meng J, Schroeder CM (2007) *Escherichia coli*. Ch 1 In: Simjee S (ed) *Foodborne Diseases*. Humana Press, Totowa, p. 1–25
- Menrath A, Wieler LH, Heidemanns K, Semmler T, Fruth A, and Kemper N. 2010. Shiga toxin producing *Escherichia coli*: identification of non-O157:H7-Super-Shedding cows and related risk factors. *Gut Pathogens* 2:7.
- Meremäe, K., Roasto, M., Kalmus, P., Viltrop, A., Kramarenko, T. 2013. Toorpiima ohutusest põhjalikumalt. *Eesti Loomaarstlik Ringvaade*, 1, 22-29. http://ringvaade.vet.ee/pdf/OK_Toorpiima%20ohutusest%20pohjalikumalt.pdf
- Michino H, Araki K, Minami S, Takaya S, Sakai N, Miyazaki M, Ono A, and Yanagawa H. 1999. Massive outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in schoolchildren in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts. *Am J Epidemiol.*, 150, 787–796.
- Molina PM, Parma AE, Sanz ME (2003) Survival in acidic medium of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 and non-O157:H7 isolated in Argentina. *BMC Microbiology* 3:17.
- Morabito S (ed) (2014) *Pathogenic Escherichia coli*. Molecular and Cellular Microbiology. Caister Academic Press, Norfolk, UK
- Nataro, J. P. and J. B. Kaper. 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.* 11:142-201.
- Parry SM, Salmon RL. Sporadic STEC O157 infection: secondary household transmission in Wales. *EID*. 1998;4:657-61
- Parry SM, Palmer SR. (2000) The public health significance of VTEC O157. *Symp Ser Soc Appl Microbiol.* 29:1S-9S.

- Paton AW, Ratcliff RM, Doyle RM, Seymour-Murray J, Davos D, Lanser JA, and Paton JC. 1996. Molecular microbiological investigation of an outbreak of hemolytic-uremic syndrome caused by dry fermented sausage contaminated with Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol.* 34(7):1622-7.
- Paton AW, Srimanote P, Woodrow MC, and Paton JC. 2001. Characterization of *Saa*, a novel autoagglutinating adhesin produced by locus of enterocyte effacement-negative Shiga-toxigenic *Escherichia coli* strains that are virulent for humans. *Infect Immun.* 69(11):6999-7009.
- Pearce MC, Jenkins C, Vali L, Smith AW, Knight HI, Cheasty T, Smith HR, Gunn GJ, Woolhouse ME, Amyes SG, Frankel G. 2004. 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.* 70(3):1708-16.
- Persson S, Olsen KE, Ethelberg S, Scheutz F. 2007. Subtyping method for *Escherichia coli* Shiga toxin (verocytotoxin) 2 variants and correlations to clinical manifestations. *J Clin Microbiol.* 45(6):2020-4.
- Rimhanen-Finne, R., Salmenlinna, S., Lundström, H., Jaakkonen, A., Heinikainen, S., Kauremaa, M., Pihlajasaari, A., Hallanvuo, S. 2012. A large outbreak of sorbitol-fermenting VTEC O157 associated with unpasteurized milk and contact with cattle. 7th Annual Workshop of NRLs for E.coli in the EU. 8 – 9 November, Rome. http://www.iss.it/binary/vtec/cont/05_Hallanvuo.pdf
- Rosin, P., Niskanen, T., Palm, D., Struelens, M., Takkinen, J. 2013. Laboratory preparedness for detection and monitoring of Shiga toxin 2-producing *Escherichia coli* O104:H4 in Europe and response to the 2011 outbreak. *Eurosurveillance*, Volume 18, Issue 25, 1-5. <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20508>
- Ruusunen, M., Salonen, M., Pulkkinen, H., Huuskonen, M., Hellström, S., Revez, J., Hänninen, M.L., Fredriksson-Ahomaa, M., Lindström, M. 2013. Pathogenic bacteria in Finnish bulk tank milk. *Foodborne Pathog Dis.*, Feb;10(2), 99-106.
- Salmon R. 2005. Outbreak of verotoxin producing *E. coli* O157 infections involving over forty schools in south Wales, September, 2005. *Euro Surveill.*, 10(10), pp. 5.
- Schmidt, H. 2001. Shiga-toxin-converting bacteriophages. *Res. Microbiol.* 152:687-695.
- Schmidt, H., C. Geitz, P. I. Tarr, M. Frosch, and H. Karch. 1999. Non-O157:H7 pathogenic Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: phenotypic and genetic profiling of virulence traits and evidence for clonality. *J. Infect. Dis.* 179:115-123.

- Slayton, R.B., Turabelidze, G., Bennett, S.D., Schwensohn, C.A., Yaffee, A.Q., Khan, F., Butler, C., Trees, E., Ayers, T.L., Davis, M.L., Laufer, A.S., Gladbach, S., Williams, I., Gieraltowski, L.B. 2013. Outbreak of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) O157:H7 Associated with Romaine Lettuce Consumption, 2011. PLOS ONE, 8 (2), 6. <http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0055300&representation=PDF>
- Strawn LK, Danyluk MD (2010) Fate of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. on fresh and frozen cut mangoes and papayas. International Journal of Food Microbiology 138:78–84
- 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. A Large *Escherichia coli* O157 Outbreak in Sweden Associated with Locally Produced Lettuce. Foodborne pathogens and disease, 5 (3), 339-353.
- Zhang W, Mellmann A, Sonntag AK, Wieler L, Bielaszewska M, Tschäpe H, Karch H, and Friedrich AW. 2007. Structural and functional differences between disease-associated genes of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O111. J Med Microbiol. 297(1):17-26.
- Tamblyn, S., de Grosbois, J., Taylor, D., Stratton, J. 1999. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with unpasteurized non-commercial, custom-pressed apple cider – Ontario, 1998. Can. Commun. Dis. Rep., 25(13), 113.-117.
- Teunis P, Takumi K, Shinagawa K (2004) Dose response for infection by *Escherichia coli* O157:H7 from outbreak data. Risk Analysis 24:401–407
- Tilden J Jr, Young W, McNamara AM, Custer C, Boesel B, Lambert-Fair MA, Majkowski J, Vugia D, Werner SB, Hollingsworth J, and Morris JG Jr. 1996. A new route of transmission for *Escherichia coli*: infection from dry fermented salami. Am J Public Health. 86(8):1142-5.
- Vojdani, J.D., Beuchat, L.R., Tauxe, R.V. 2008. Juice associated outbreaks of human illness in the United States, 1995 through 2005. J. Food Prot., 71(2), 356.-364.
- Wasteson, Y. 2001. Epidemiology of VTEC in non-ruminant animals, p. 149-160. In G. Duffy, P. Garvey, and D. A. McDowell (eds.), Verocytotoxigenic *E. coli*. Food & Nutrition Press, Inc., Trumbull, Connecticut, USA.

- Wickham ME, Lupp C, Mascarenhas M, Vazquez A, Coombes BK, Brown NF, Coburn BA, Deng W, Puente JL, Karmali MA, and Finlay BB. 2006. Bacterial genetic determinants of non-O157 STEC outbreaks and hemolytic-uremic syndrome after infection. *J Infect Dis.* 194(6):819-27.
- Wolfson JJ, Jandhyala DM, Gorczyca LA, Qadeer Z, Manning SD, Hadler J, Rudrik JT, and Thorpe CM. 2009. Prevalence of the operon encoding subtilase cytotoxin in non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from humans in the United States. *J Clin Microbiol.* 47(9):3058-9.
- Yoon JW, Hovde CJ (2008) All blood, no stool: Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 infection. *Journal of Veterinary Science* 9(3):219–231

