



# Shigatoksin-produserende *Escherichia coli* i hvetemel 2021



## Shigatoksin-produserende *Escherichia coli* i hvetemel 2021

### Forfattere

Gro S. Johannessen, Camilla Sekse, Basma Asal, Tone M. Fagereng, Marianne Økland, Veterinærinstituttet  
Laila Jensvoll, Mattilsynet

### Forslag til sitering

Johannessen, Gro S., Sekse, C, Asal, Basma, Fagereng, Tone M., Økland, M, Jensvoll, L. Shigatoksin-produserende *Escherichia coli* i hvetemel 2021. Veterinærinstituttet 2023.  
© Veterinærinstituttet, kopiering tillatt når kilde gjengis

### Kvalitetssikret av

Merete Hofshagen, Avdelingsdirektør - Dyrehelse, dyrevelferd og mattrygghet, Veterinærinstituttet

### Publisert

2023 på [www.vetinst.no](http://www.vetinst.no)  
ISSN 1890-3290 (elektronisk utgave)  
© Veterinærinstituttet 2023

### Oppdragsgiver eller Samarbeidspartner



Mattilsynet

### Kolofon

Design omslag: Reine Linjer  
Foto forside: Colourbox  
[www.vetinst.no](http://www.vetinst.no)

# Innhold

<b>Sammendrag</b> .....	<b>3</b>
<b>Summary</b> .....	<b>3</b>
<b>Bakgrunn</b> .....	<b>4</b>
<b>Materiale og metoder</b> .....	<b>5</b>
Utvalg og prøveinnsendelse .....	5
Bakteriologiske undersøkelser .....	5
<b>Resultater og vurderinger</b> .....	<b>7</b>
Undersøkelse for genetiske markører .....	7
Forekomst og vurdering .....	8
<b>Takk</b> .....	<b>9</b>
<b>Referanser</b> .....	<b>9</b>

## Sammendrag

*Escherichia coli* finnes i tarmen hos mennesker og varmblodige dyr. De fleste er ufarlige, men noen grupper av *E. coli* kan gi sykdom hos mennesker. Shigatoksin-produserende *E. coli* (STEC) er en av gruppene av sykdomsframkallende *E. coli*. Drøvtyggere, og særlig storfe, regnes som det viktigste reservoaret for STEC. Mennesker kan bli syke av å spise mat som er forurenset med STEC. Det har vært utbrudd av sykdom knyttet til mel og ferdiglaget rå kakedeig. Mattilsynet initierte derfor en undersøkelse av STEC i hvetemel med innsamling av prøvematerialet i 2021 og påfølgende analyser i 2022.

Det ble samlet inn og analysert 151 prøver av ulike typer hvetemel. Oppformerte prøver ble undersøkt for utvalgte genetiske markører. Det ble forsøkt å isolere STEC fra prøver som var positive for *stx*<sub>1</sub> og/eller *stx*<sub>2</sub>. Isolater som ble identifisert som STEC ble karakterisert videre med helgenomsekvensering.

Det ble isolert STEC fra tre av til sammen 151 prøver. Disse ble identifisert som STEC O187:H28 (*stx*<sub>2g</sub>), O155:H21 (*stx*<sub>2g</sub>) og O154:H31 (*stx*<sub>1d</sub>), og ingen av isolatene inneholdt *eae*-genet. Resultatene fra denne undersøkelsen tyder på at forekomsten av STEC i hvetemel er lav. Selv om STEC kan forekomme, ble det i denne studien ikke isolert STEC som inneholdt virulensfaktorer assosiert med mest alvorlig sykdom eller STEC av serogruppene som er vanligst rapportert i forbindelse med sykdom. Det må bemerkes at det er analysert et relativt lite antall prøver. Siden denne typen produkter ikke er undersøkt tidligere i Norge, gir kartleggingen kunnskap til nytte for næring, myndigheter og kunnskapsinstitusjoner.

## Summary

*Escherichia coli* is present in the gastrointestinal tract of humans and warm-blooded animals, and are usually harmless. However, some groups of *E. coli* may cause infections in humans. Shiga toxin-producing *E. coli* is one of the groups of pathogenic *E. coli*. Ruminants, in particular cattle, are assumed to be the main reservoir of STEC. Humans can be infected by ingestion of food contaminated with STEC. Outbreaks associated with flour and raw cookie dough have been reported. The Norwegian Food Safety Authority commissioned a survey of STEC in wheat flour. The samples were collected in 2021 with subsequent analysis in 2022.

A total of 151 samples of wheat flour were collected and analysed. Enriched samples were examined for the presence of selected genetic markers. Attempts of isolation of STEC were carried out from samples that were positive for *stx*<sub>1</sub> and/or *stx*<sub>2</sub>. Isolates identified as STEC were further characterized using whole genome sequencing.

STEC was isolated from three of the 151 samples. These were identified as STEC O187:H28 (*stx*<sub>2g</sub>), O155:H21 (*stx*<sub>2g</sub>) and O154:H31 (*stx*<sub>1d</sub>) and none of the isolates harboured the *eae* gene. The results from the present study indicates that the occurrence of STEC in wheat flour

on the Norwegian market is low. Although STEC was isolated, neither of the STECs harboured virulence genes associated with serious infection nor belonged to the serogroups most often associated with disease. It must be taken into account that a low number of samples were analysed. Since this product has not been analysed in Norway previously, the present survey provides knowledge for the industry, authorities and knowledge institutions.

## Bakgrunn

*Escherichia coli* finnes i tarmen hos mennesker og varmblodige dyr og er som oftest ufarlige. Imidlertid finnes det noen grupper av *E. coli* som kan gi sykdom hos mennesker. Shigatoksin-produserende *E. coli* (STEC) er en av gruppene av sykdomsframkallende *E. coli*. STEC kan forårsake tarminfeksjon hos mennesker som kan variere fra ukomplisert diaré til mer alvorlig sykdom, særlig hos barn. Alvorlig sykdom kan være i form av blodig diaré med risiko for påfølgende nyresvikt (hemolytisk uremisk syndrom; HUS) og eventuelt død [1, 2].

Fram til og med 2019 ble det rapportert en økning av antallet tilfeller av STEC hos mennesker i Norge, med 511 tilfeller i 2019. I 2020 ble det observert en nedgang til 331 tilfeller, mens det i 2021 ble rapportert 438 tilfeller [3]. Sammenliknet med antallet tilfeller rapportert før covid-19 pandemien er det færre tilfeller, men pandemien gjør det vanskelig å tolke trender [3]. De vanligst meldte serogrupperne er O26, O103 og O157 som utgjør til sammen ca. 20 % av tilfellene, mens «Andre» serogrupper utgjør den største gruppen [3].

Shigatoksin-gener (*stx*) er den viktigste virulensfaktoren hos STEC. Shigatoksinene (Stx) deles inn i to hovedgrupper; Stx1 og Stx 2, som videre er inndelt i subtyper. Selv om alle STEC regnes som patogener, er det noen subtyper som er mer assosiert med alvorlig sykdom hos mennesker enn andre [1, 2]. Blant annet er tilstedeværelse av genet *stx<sub>2a</sub>* oftere assosiert med HUS enn andre subtyper [2]. STEC kan inneholde flere virulensfaktorer, og gener som koder for tilhefting til epitelceller i tarmen, f.eks. *eae*, er viktig.

Drøvtyggere, og spesielt storfe, regnes som det viktigste reservoaret for STEC. Mennesker kan bli syke av å spise mat som er forurenset med STEC. Det er generelt lite litteratur om hvordan mel kontamineres, men det er rimelig å anta at mel kan forurennes gjennom hele prosessen [4]. Ville dyr og fugler har vært nevnt som mulig smittekilde for korn på åkeren [5, 6]. Det er også lite kunnskap om mikrobiologisk kvalitet av mel. Resultater fra en studie fra Australia fra 2003 [7] indikerte at indikator *E. coli* kun sporadisk var tilstede i sluttprodukter etter melproduksjon. I en undersøkelse av rå hvete fra USA ble det isolert *eae*-positive STEC fra 0,44 % av prøvene [8]. Ingen videre karakterisering av isolatene ble rapportert med unntak av at det ikke var STEC O157 [8]. Undersøkelser for STEC i mel har vist varierende forekomst i prøvene og stor variasjon i hvilke STEC som påvises. I en studie fra Canada ble STEC isolert fra 1,7 % av de undersøkte prøvene [9], mens det i studier fra Sveits og Tyskland har blitt isolert STEC fra rundt 10 % til 19 % av prøvene [4, 5, 10]. I de senere årene har det vært utbrudd knyttet til mel og ferdiglaget rå kakedeig både i USA og Canada. Disse utbruddene har vært forårsaket av STEC O157:H7 [11, 12], O26 [13], O121 [14, 15], og under ett utbrudd ble det påvist både STEC O121 og O26 [16]. Med bakgrunn i dette bestilte Mattilsynet i 2020 en

kartlegging av patogene *E. coli* i hvetemel. Innsamling av prøvematerialet skulle foregå i 2021 med påfølgende analyser i 2022.

## Materiale og metoder

### Utvalg og prøveinnsendelse

Alle prøver ble tatt ut hos detaljist av Mattilsynet i 2021 i henhold til en uttaksplan basert på kriterier som sikret tilfeldig utvalg av prøver gjennom et helt år [17]. Prøvene skulle bestå av mel av hvete. Prøvene ble oppbevart tørt i romtemperatur fram til analysestart, og analyse av prøvene ble startet innenfor holdbarhetsdato.

### Bakteriologiske undersøkelser

#### Undersøkelse for genetiske markører i oppformert materiale

Prøvene ble analysert med en modifisert versjon av ISO TS 13136:2012 [18] og delvis som beskrevet av Gill et al. [6]. Fra hver pakke/prøve ble 100 g hvetemel blandet med 300 ml temperert bufret peptonvann (BPV-ISO, OXOID, ThermoFisher Scientific). Prøvene ble blandet godt og inkubert ved 37 °C i 18-24 timer. Etter inkubering ble innholdet i posene blandet godt, og fra hver pose ble det overført 40 ml materiale til et 50 ml sentrifugerør. Rørene ble sentrifugert i 5 min ved 500 x g (Multifuge X Pro Series Centrifuge, Thermoscientific). Det ble tatt ut 1 ml fra supernatanten til DNA ekstraksjon. I tillegg ble det frosset ned to rør med oppformeringsbuljong og 85 % glyserol (3,3 ml buljong og 1,7 ml glyserol) ved -80 °C for videre isolering av bakterier. Figur 1 viser analyseflyt for prøvene.

DNA ble ekstrahert ved bruk av DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen) i henhold til produsentens anvisninger. Prøvene ble analysert for tilstedeværelse av *stx*<sub>1</sub>, *stx*<sub>2</sub> og *eae* som beskrevet i ISO TS 13136:2012 [18]. Primere og prober som benyttet i kartleggingen er angitt i Tabell 1.

Tabell 1: Oversikt over primere og prober benyttet i kartleggingen

Genetisk markør	Primere/Prober	Sekvens (5' - 3')	Referanser
<i>stx</i> <sub>1</sub> <i>stx</i> <sub>2</sub>	<i>stx</i> - F	TTT GTY ACT GTS ACA GCW GAA GCY TTA CG	[18, 19]
	<i>stx</i> - R	CCC CAG TTC ARW GTR AGR TCM ACR TC	
	<i>stx</i> <sub>1</sub> -P	FAM-CTG GAT GAT CTC AGT GGG CGT TCT TAT GTA A-BHQ1	
	<i>stx</i> <sub>2</sub> -P	HEX-TCG TCA GGC ACT GTC TGA AAC TGC TCC-BHQ1	
<i>eae</i>	<i>eae</i> - F	CAT TGA TCA GGA TTT TTC TGG TGA A	[18, 20]
	<i>eae</i> - R	CTC ATG CGG AAA TAG CCG TTA	
	<i>eae</i> - P	FAM-ATA GTC TCG CCA GTA TTC GCC ACC AAT ACC-TAMRA	

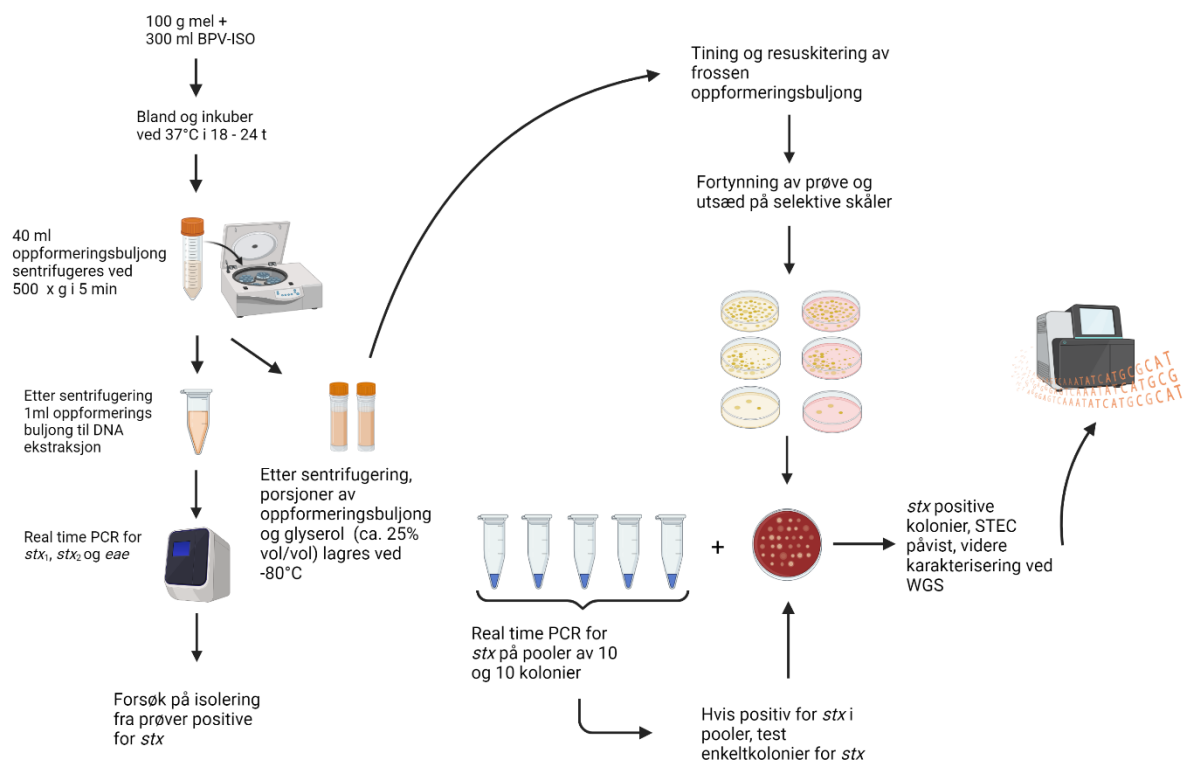
#### Isolering av bakterier

På bakgrunn av resultatene fra de innledende analysene for genetiske markører, ble prøver positive for *stx*<sub>1</sub> og/eller *stx*<sub>2</sub> med Cq-verdi <35 tatt videre for isolering av STEC.

Det ble tatt opp ett rør med frossen oppformeringsbuljong (supernatant etter sentrifugering, frosset ved  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) per prøve som skulle undersøkes videre. Rørene ble tint raskt i vannbad ved  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  til all is var borte (ca. 2 min) [21]. Deretter stod rørene ca. 1 time i romtemperatur før 1 ml tint materiale ble overført til 9 ml fersk BPV-ISO og inkubert ved  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  i 2-3 timer. Prøvene ble fortynnet og deretter ble det sådd ut fra tre fortynninger fra hver prøve på TBX og SMAC (begge OXOID, ThermoFisher Scientific), til sammen seks skåler per prøve.

Etter inkubering ( $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  i 18-24 timer) ble skålene undersøkt for typiske og mistenkelige kolonier. Til sammen 50 kolonier ble plukket og punktinkulert på blodagar, og 10 og 10 kolonier ble slått sammen i pooler. Disse poolene ble testet for *stx* gener. Kolonier fra *stx* positive pooler ble deretter testet enkeltvis for de samme genene.

Et utvalg av kolonier som var positive for de ulike genene det ble testet for, ble rendyrket og tatt vare på for videre identifisering og karakterisering. Isolatene som ble tatt vare på ble verifisert som *E. coli* ved bruk av Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation - Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS, Bruker Daltonics GmbH).



**Figur 1:** Oversikt over analyseflyt i kartleggingen av patogene *E. coli* i hvetemel. Figuren er laget i BioRender.com.

## Helgenomsekvensering og bioinformatisk analyse

*E. coli* isolater positive for *stx*<sub>1</sub> og/eller *stx*<sub>2</sub> ble karakterisert ved helgenomsekvensering (WGS). DNA fra renkultur av hvert isolat ble ekstrahert med QIAamp DNA Mini kit (Qiagen). Kvaliteten på det ekstraherte DNA ble sjekket, etterfulgt av bibliotekspreparering med Nextera DNA Flex (Illumina). Sekvensering ble deretter utført på et Illumina MiSeq instrument (Illumina) som resulterte i 300 bp paired-end reads som rådata.

WGS-data ble analysert i Veterinærinstituttets in-house plattform, VIGAS-P, med kvalitetskontroll av rådata, assembly (sammensetting av sekvensene), og Multi-Locus-Sequence Typing av syv gener (7-gene MLST). VIGAS-P er en Galaxy-plattform basert på IRIDA-plattformen fra Canada. WGS-dataene ble i tillegg analysert for serotype og tilstedeværelse av virulensgener ved hjelp av de web-baserte versjonene av SerotypeFinder 2.0 og VirulenceFinder 2.0 (<https://www.genomicepidemiology.org/services/>, brukt 18.10.2022).

## Resultater og vurderinger

I perioden 22. januar til 20. desember 2021 ble det samlet inn og undersøkt 151 prøver av mel fra detaljist. For en mer detaljert oversikt over hvilke meltyper som er analysert, se tabell 2.

Tabell 2: Oversikt over hvilke meltyper som er analysert

Typer mel	Antall prøver undersøkt
Siktet eller finmalt hvetemel	78
Sammalt hvetemel	41
Hvetemel m/fullkorn eller hele korn	6
Hvetemel*	27
<b>Til sammen</b>	<b>151</b>

\* Av disse var det 19 prøver hvor det kun var oppgitt «hvetemel», mens de resterende åtte prøvene var ulike typer spesialmel som f.eks. pizzamel og tortillamel

## Undersøkelse for genetiske markører

Tabell 3 viser oversikt over tilstedeværelse av de genetiske markørene *stx*<sub>1</sub> og *stx*<sub>2</sub> med Cq <35 (resultater for *stx*<sub>1</sub> og *stx*<sub>2</sub> med Cq >35, og *eae* er ikke vist). Resultatene benyttes som en indikator på om det kan være bakterier til stede i prøvematerialet som inneholder de ulike markørene. Som tabell 3 viser, ble de genetiske markørene påvist i 15 av de 151 (10 %) analyserte prøvene. Ingen av prøvene var positive for både *stx*<sub>1</sub> og *stx*<sub>2</sub>. Påviste *stx* gener kan ha ulike årsaker, som tilstedeværelse av STEC, frie bakteriofager eller rester av genetisk materiale (for eksempel døde bakterier). Siden PCR påviser genetisk materiale generelt i prøvene og ikke nødvendigvis i bakteriene, er det nødvendig å undersøke om de genetiske markørene er tilstede i levende *E. coli* for å kunne si noe om forekomst av potensielt sykdomsframkallende *E. coli*.



Tabell 3: Resultater av screening for *stx1* og *stx2* fra prøver av hvetemel i 2021

Genetisk markør	Antall prøver undersøkt	Antall positive prøver	% positive prøver
<i>stx1</i>	151	5	3,3
<i>stx2</i>	151	10	6,6
<b>Til sammen</b>		<b>15</b>	<b>10</b>

## Forekomst og vurdering

De 15 prøvene som var positive for *stx*-gener med Cq-verdi <35 ble tatt videre for isolering av STEC. Det ble isolert STEC fra tre prøver (2 % av alle prøvene), to av sammalt hvete og en av hvetemel. Fra de tre positive prøvene ble to isolater fra hver prøve karakterisert ved WGS. Basert på WGS ble STEC isolatene identifisert som hhv. STEC O187:H28 (*stx2g*) sekvenstype (ST) 200, STEC O155:H21 (*stx2g*) ST 949 og STEC O154:H31 (*stx1d*) ST 1892 (tabell 4). Isolatene som kom fra samme prøve hadde lik serotype, ST- og *stx*-subtype. Ingen av isolatene hadde *stx*-subtyper som er assosiert med alvorlig sykdom. Subtype *stx1d* er ofte funnet i eae-negative STEC isolater og er ikke ofte assosiert med alvorlig sykdom, mens *stx2g* sjelden er assosiert med sykdom hos mennesker og ei heller med alvorlig sykdom [2]. Ingen av isolatene hadde genet som koder for tilheftningsfaktoren intimin (*eae*). Tre av isolatene, hvorav to fra samme prøve hadde *sta1*, varmestabilt enterotoksin, som er en virulensmarkør hos enterotoksiske *E. coli* (ETEC).

Tabell 4: Resultater fra karakterisering av STEC isolert fra hvetemel

Isolatnummer	Prøvemateriale	Serotype	Sekvenstype (ST)	<i>stx</i> -subtype	Andre virulensgener
2021-22-32-k2	Sammalt hvete, finmalt	O154:H31	1892	<i>stx1d</i>	
2021-22-32-k29	Sammalt hvete, finmalt	O154:H31	1892	<i>stx1d</i>	
2021-22-167-k1	Hvetemel	O155:H21	949	<i>stx2g</i>	
2021-22-167-k37	Hvetemel	O155:H21	949	<i>stx2g</i>	<i>ehxA</i> , <i>sta1</i>
2021-22-888-k9	Sammalt hvete	O187:H28	200	<i>stx2g</i>	<i>ehxA</i> , <i>sta1</i>
2021-22-888-k20	Sammalt hvete	O187:H28	200	<i>stx2g</i>	<i>ehxA</i> , <i>sta1</i>

Det rapporteres årlig om et fåtall sykdomstilfeller knyttet til STEC O154, O155 og O187 fra EU og Norge til European Centre for Disease Control and Prevention (ECDC), og det er ikke rapportert alvorlig sykdom, som HUS eller dødsfall, assosiert med disse serogruppene til ECDC [22].

I denne kartleggingen ble STEC isolert fra tre av 151 prøver (2 % av prøvene). Tidligere studier av mel har vist varierende forekomst av STEC i prøver av mel; fra 19 % i en studie fra Tyskland, til rundt 10 % i to studier fra Sveits og 1,7 % i en studie fra Canada [4, 5, 9, 10], men det er vanskelig å sammenlikne studiene direkte siden det er brukt ulike tilnærminger, f.eks. hvilke meltyper og hvor mye prøvemateriale som har blitt undersøkt. I den foreliggende

studien er det analysert hvetemel, inkludert to prøver av speltmel, samt at det er undersøkt 100 g prøve. I studien fra Canada ble det analysert hvetemel og 125 g prøve [9], mens det i de nevnte europeiske studiene er undersøkt flere ulike typer mel, samt at det er undersøkt 25 g, 5 x 10 g eller 25 g med en eller flere testporsjoner [4, 5, 10].

Det er også stor variasjon i hvilke serotyper, ST-er og *stx*-subtyper som isoleres. I den norske undersøkelsen er det ikke påvist STEC av de klassiske serogruppene som er kjent for å gi alvorlig sykdom, som O26, O103, O145 og O157, men disse har blitt påvist i andre studier [5, 9, 10, 23]. Projahn et al. [23] karakteriserte STEC isolater fra mel i Tyskland, og fant at de hyppigst påviste STEC var STEC O187:H28 og STEC O154:H31. Begge disse serotypene fant vi også i denne studien. I den samme studien fra Tyskland var også *stx*<sub>2g</sub> og *stx*<sub>1d</sub> subtypene som oftest ble påvist. STEC O187:H28, *stx*<sub>2g</sub>, ST 200 ble også isolert fra melprøver fra Sveits [5].

Resultatene fra denne studien tyder på at det er lav forekomst av STEC i hvetemel på det norske markedet. Selv om STEC kan forekomme, ble det i denne studien ikke isolert STEC som inneholdt virulensfaktorer assosiert med mest alvorlig sykdom eller STEC av serogruppene som er vanligst rapportert i forbindelse med sykdom. Det må bemerkes at det er analysert et relativt lite antall prøver. Siden denne typen produkter ikke er undersøkt tidligere i Norge, gir kartleggingen kunnskap til nytte for næring, myndigheter og kunnskapsinstitusjoner.

## Takk

Forfatterne retter en stor takk til Mattilsynets inspektører som har tatt ut prøvene, og til Mumtaz Begum og Lonny M. Kløvfjell ved Veterinærinstituttet som begge har bistått på laboratoriet.

## Referanser

1. FAO/WHO, *Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) and food: attribution, characterization, and monitoring in Microbiological risk assessment series*. No. 32, 2018, Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization. Rome, 2018. <https://www.fao.org/publications/card/en/c/CA0032EN>
2. EFSA BIOHAZ Panel, Koutsoumanis K, Allende A, Alvaerz-Ordóñez A, Bover-Cid S, Chemaly M, Davies R, De Cesare A, Herman L, Hilbert F, Lindqvist R, Nauta M, Peixe L, Ru, G, Simmons M, Skandamis P, Suffredini E, Jenkins C, Monteiro Pires S, Morabito S, Niskanen T, Scheutz F, da Silva Felício MT, Messens W and Bolton D. *Scientific Opinion on the pathogenicity assessment of Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) and the public health risk posed by contamination of food with STEC*. EFSA Journal, 2020. 18(1): p. 5967, 105 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.5967>
3. Lyngstad TM, L.H., Brandal LT, Astrup E, Eide HN, Johansen TB, Lund H, Naseer U, Amato E, Grenersen MP, Lavoll SB, Jore S, Soleng A, Steinert M, Grøneng GM, Salamanca BV, MacDonald E, Nygård K, Feruglio SL. Årsrapport 2021 - *Overvåkning av infeksjonssykdommer som smitter fra mat, vann og dyr, inkludert vektorbårne sykdommer*. Rapport 2021. Oslo; Folkehelseinstituttet, 2022.

- [https://www.fhi.no/globalassets/dokumenterfiler/rapporter/2022/2021\\_arsrapp\\_mat\\_vann\\_dyr.pdf](https://www.fhi.no/globalassets/dokumenterfiler/rapporter/2022/2021_arsrapp_mat_vann_dyr.pdf)
4. Mäde D, Geuthner AC, Imming R, Wicke A. *Detection and isolation of Shiga-Toxin producing Escherichia coli in flour in Germany between 2014 and 2017*. Journal of Consumer Protection and Food Safety, 2017. 12(3): p. 245-253. <https://doi.org/10.1007/s00003-017-1113-1>
  5. Boss R. and J Hummerjohann. *Whole Genome Sequencing Characterization of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli Isolated from Flour from Swiss Retail Markets*. J Food Prot, 2019. 82(8): p. 1398-1404. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-18-593.
  6. Gill A, Carrillo C, HADley M, Kenwel R, Chui L. *Bacteriological analysis of wheat flour associated with an outbreak of Shiga toxin-producing Escherichia coli O121*. Food Microbiol, 2019. 82: p. 474-481. doi: 10.1016/j.fm.2019.03.023.
  7. Berghofer LK, Hocking AD, Miskelly D, Jansson E. *Microbiology of wheat and flour milling in Australia*. Int J Food Microbiol, 2003. 85(1-2): p. 137-49. doi: 10.1016/s0168-1605(02)00507-x
  8. Myoda SP, Gilbreth S, Akins-Leventhal D, Davidson SK, Samadpour M. *Occurrence and Levels of Salmonella, Enterohemorrhagic Escherichia coli, and Listeria in Raw Wheat*. J Food Prot, 2019. 82(6): p. 1022-1027. doi: 10.1016/s0043-1354(01)00142-7.
  9. Zhang, H, Yamamoto E, Murphy J, Carillo C, Hardie K, Locas A. *Microbiological Survey of Wheat Flour Sold at Retail in Canada, 2018 to 2019*. J Food Prot, 2021. 84(4): p. 647-654. doi: 10.4315/JFP-20-297.
  10. Kindle P, Nüesch-Inderbilen M, Cernela N, Stephan R. *Detection, Isolation, and Characterization of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli in Flour*. J Food Prot, 2019. 82(1): p. 164-167. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-18-256
  11. Neil KP, Biggerstaff G, MacDonald JK, Trees E, Medus C, Musser KA, Stroika SG, Zink D, Sotir MJ. *A novel vehicle for transmission of Escherichia coli O157:H7 to humans: multistate outbreak of E. coli O157:H7 infections associated with consumption of ready-to-bake commercial prepackaged cookie dough--United States, 2009*. Clin Infect Dis, 2012. 54(4): p. 511-8. doi: 10.1093/cid/cir831.
  12. Gieraltowski L, Schwenshon C, Meyer S, Eikmeyer D, Medus C, Sorenson A, Forstner M, Madad A, Blankenship J, Feng P, Williams I. *Multistate outbreak of Escherichia coli O157:H7 infections linked to dough mix - United States, 2016*. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2017. 66: p. 88-89. doi: 10.15585/mmwr.mm6603a6.
  13. Vasser M, Barkley J, Miller A, Gee E, Purcell K, Schroeder MN, Basler C, Neil KP. *Notes from the Field: Multistate Outbreak of Escherichia coli O26 Infections Linked to Raw Flour - United States, 2019*. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2021. 70(16): p. 600-601. doi: 10.15585/mmwr.mm7016a4.
  14. Morton V, Cheng JM, Sharma D, Kearney A. *An outbreak of Shiga toxin-producing Escherichia coli O121 infections associated with flour-Canada, 2016-2017*. Can Commun Dis Rep, 2017. 43(7/8): p. 154-155. doi: 10.14745/ccdr.v43i78a03
  15. Gill A, McMahon T, Dussault F, Petronella N. *Shiga toxin-producing Escherichia coli survives storage in wheat flour for two years*. Food Microbiol, 2020. 87: p. 103380. doi: 10.1016/j.fm.2019.103380.
  16. Crowe SJ, Bottichio L, Shade LN, Whitney BM, Corral N, Melius B, Arends KD, Donovan D, Stone J, Allen K, Rosner J, Beal J, Whitlock L, Blackstock A, Wetherington J, Newberry LA, Schroeder MN, Wagner D, Trees E, Viazis S, Wise ME, Neil KP. *Shiga Toxin-Producing E. coli Infections Associated with Flour*. N Engl J Med, 2017. 377(21): p. 2036-2043. doi: 10.1056/NEJMoa1615910.
  17. EFSA (European Food Safety Authority), Aerts M, Battisti A, Hendriksen R, Kempf I, Teale C, Tenhagen B-A, Veldman K, Wasyl D, Guerra B, Liébana W, Thomas-López D and Beloeil P-A. *Scientific report on the technical specifications on harmonised monitoring of antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from food-producing animals and food*. EFSA Journal, 2019. 17(6): p. 5709. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5709>
  18. International Organization for Standardization (ISO). *Microbiology of food and animal feed - Real-time polymerase chain reaction (PCR)-based method for the detection of food-borne pathogens - Horizontal method for the detection of Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) and the determination of O157, O111, O26, O103 and O145 serogroups*. ISO TS 13136:2012. Geneva: International Organization for Standardization; 2012
  19. Perelle S, Dilasser F, Grout J, Fach P. *Detection by 5'-nuclease PCR of Shiga-toxin producing Escherichia coli O26, O55, O91, O103, O111, O113, O145 and O157:H7, associated with the world's*

- most frequent clinical cases. *Mol. Cell Probes*, 2004. 18(3): p. 185-192. doi: 10.1016/j.mcp.2003.12.004.
20. Nielsen EM and Andersen MT. *Detection and characterization of verocytotoxin-producing Escherichia coli by automated 5' nuclease PCR assay*. *J Clin Microbiol*, 2003. 41(7): p. 2884-93. doi: 10.1128/JCM.41.7.2884-2893.2003.
  21. Ternent HE, Innocent GT, Filshie LM, Taylor DJ, Steele WB, McEwen SA, Reilly WJ, Gunn GJ, Reid SWJ, Mellor DJ. *Frozen storage of Escherichia coli O157 in buffered peptone water and its detection on bovine carcasses*. *J Food Prot*, 2004. 67(1): p. 40-5. doi: 10.4315/0362-028x-67.1.40.
  22. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). *Surveillance Atlas of Infectious Diseases [accessed 02.09.2023]*; Available from <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx>.
  23. Projahn M, Lamparter MC, Ganas P, Goehler A, Lorenz-Wright SC, Maede D, Fruth A, Lang C, Schuh E. *Genetic diversity and pathogenic potential of Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) derived from German flour*. *Int J Food Microbiol*, 2021. 347: p. 109197. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109197.

Frisk fisk



Sunne dyr



Trygg mat



*Faglig ambisiøs, fremtidsrettet og samspillende - for én helse!*



**Veterinærinstituttet**  
— Norwegian Veterinary Institute

Ås

Trondheim

Sandnes

Bergen

Harstad

Tromsø

postmottak@vetinst.no  
www.vetinst.no