

Nachweis von Shigatoxin-bildenden *E. coli* in Getreide-Proben der Besonderen Ernte- und Qualitätsermittlung (BEE)

Kabisch, J.; Begemann, J.; Fiedler, G.; Böhnlein, C. und Franz, C.M.A.P

Agenda

Motivation

Durchführung

Ergebnisse

Ausblick

Motivation

- Erste Befunde 2015 in Getreidemehl (Mäde et al., 2017)
- 2016 Ausbruchsgeschehen in Mehl in Nordamerika mit direktem Bezug zum Mehl (Crowe et al., 2017)
- Aufnahme in den bundesweiten Überwachungsplans 2018 – STEC in 10 bis 30 % der Mehle nachweisbar (BfR – Stellungnahme 004/2020)
- isolierte STEC-Stämme weisen ein breites Spektrum von Serotypen auf, u.a. auch humanpathogene Serovare mit verschiedenen Kombinationen von Virulenzfaktoren (Projahn et al., 2021)
- jedoch konnte für Deutschland ein Zusammenhang zwischen Krankheitsausbrüchen und STEC-Kontaminationen in Mehl bisher nicht nachgewiesen werden, auch wenn sich genetische Ähnlichkeiten zwischen Isolaten zeigen lassen
- als Eintragsquellen von STEC in Mehl sind mehrere Stufen der Mehlproduktion denkbar



Quelle: MRI-Institut GE



Quelle: MRI-Institut MBT



Quelle: MRI-Institut GE

Ziele des Projekts

Repräsentative Untersuchung von Getreideproben (Weizen und Roggen) der besonderen Ernteterminierung (BEE) aus den Anbaujahren 2020 und 2021 auf das Vorhandensein von Shigatoxin-bildenden *E. coli*

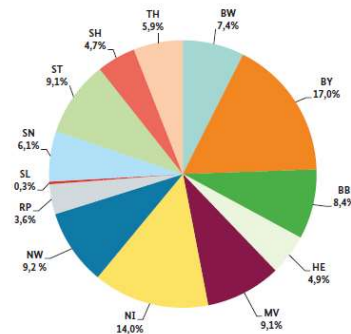
- Isolation von STEC aus Getreidekörner
- Charakterisierung der gewonnenen Isolate
- Rückschlüsse auf mögliche Eintragswege?

Was ist die BEE?

Die Besondere Erntermittlung (BEE) ist ein wesentlicher Bestandteil des landwirtschaftlichen Informationssystems. In Verbindung mit der Bodennutzungshaupterhebung werden dadurch zu einem möglichst frühen Zeitpunkt exakte Angaben über die Menge und die Qualität der Ernte für ausgewählte Fruchtarten bereitgestellt.

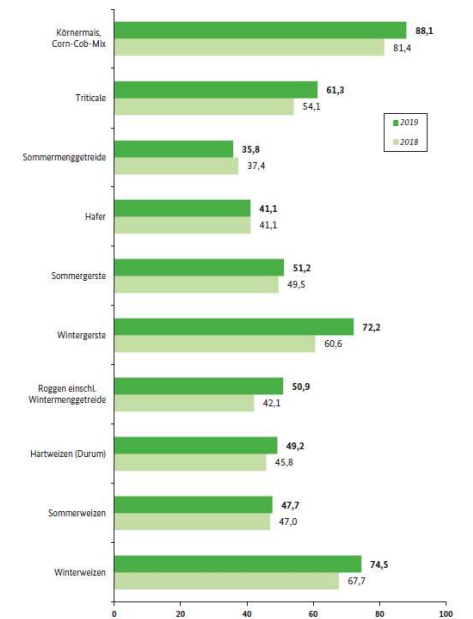
- Erstellung von Versorgungsbilanzen
- wichtige Grundlage für das BMEL für die Beurteilung der Marktentwicklung und die Ableitung zielgenauer agrarpolitischer Maßnahmen

Flächenanteil der Länder an der Getreideanbaufläche Deutschlands 2019 (Getreide einschl. Körnermais und Corn-Cob-Mix)



Quelle: BLE auf Basis des statistischen Bundesamtes

Hektarerträge nach Getreidearten 2019 im Vergleich zum Vorjahr



Quelle: BLE auf Basis des statistischen Bundesamtes

Probenmaterial - Weizen

Bundesland	Anzahl 2020	Anzahl 2021
BW	37	32
BY	39	44
BB	39	39
HE	40	39
MV	37	31
NI	38	39
NW	40	39
RP	38	39
SL	10	15
SN	40	40
ST	40	40
SH	40	34
TH	39	39
Summe	<u>477</u>	<u>470</u>



Quelle: MRI-Institut GE

Probenmaterial - Roggen

Bundesland	Anzahl 2020	Anzahl 2021
BY	19	18
BB	35	38
HE	20	19
MV	20	13
NI	39	36
NW	20	19
RP	20	18
SL	10	20
SN	20	10
ST	20	20
SH	19	20
TH	19	18
Summe	<u>261</u>	<u>249</u>



Quelle: MRI-Institut GE

Durchführung

Quantitativ *E. coli*



Quelle: MRI-Institut MBT

Qualitativ STEC

Voranreicherung in BPW
30 min bei 37 ° C

*Revitalisierung subletal
geschädigter Zellen*

Voranreicherung in BPW 4 h
bei 37 ° C

DOI: 10.1089/fpd.2009.0457 • Corpus ID: 35196532

Development of a multiplex real-time polymerase chain reaction for simultaneous detection of enterohemorrhagic *Escherichia coli* and enteropathogenic *Escherichia coli* strains.

M. Pavlovic, L. Huber, +4 authors U. Busch • Published 4 July 2010 • Biology • Foodborne pathogens and disease



Ausspateln von 1 ml auf 3 TBX-Platten

Reduktion der Hintergrundmikrobiota



Spezifische Anreicherung: 1 ml Probe
BRILA Bouillon 18 h bei 41,5 ° C



Spateln von 100 µl der Bouillon auf
TBX-Platten

Weitergehende Charakterisierung der Isolate



Quelle: MRI-Institut MBT



Quelle: MRI-Institut MBT



Genomische Differenzierung

- molekularer Serotyp
- MLST, cgMLST
- Virulenzfaktoren, Antibiotika-resistenzen usw.
- Phylogenetische Einordnung (Kerngenom, SNP-Analysen)

Serotypisierung am NRL *E. coli* (BfR)

Ergebnisse (vorläufig)

Anzahl Proben (n)	<i>stx1/stx2</i> positiv (n) nach Voranreicherung	Isolate (n)	Getreide
1038	64 (6,17 %)	9 (0,87 %)	Weizen

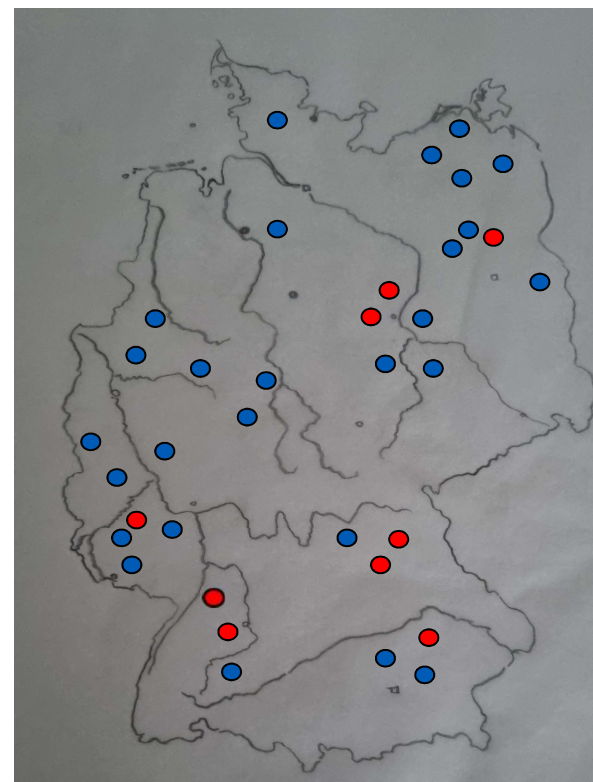


Quelle: MRI-Institut MBT

Ursprung der Isolate



Quelle: MRI-Institut GE



● STEC

Charakteristika der Weizenisolate (vorläufig)

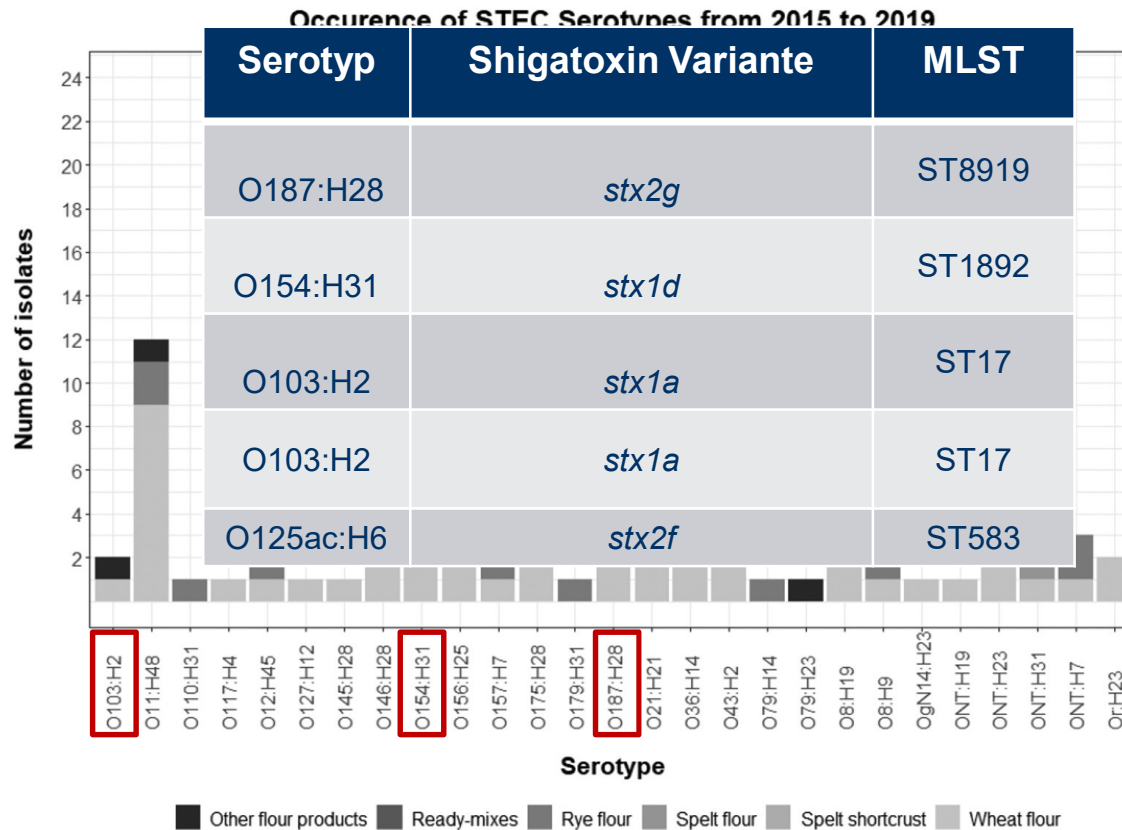
Serotyp	Virulenzfaktoren	MLST/ cgMLST	Bundesland	Mehlbezug	Wildbezug
O187:H28	<i>stx2g (eae, lpfA, sta1, terC, traT)</i>	ST8919/ cgST86481	BB	Ja ^{1,2}	Ja ³
O154:H31	<i>stx1d (chuA, eilA, gad, hra, mchB//C/F, mcmA, terC, traT)</i>	ST1892/ cgST65028	BY	Ja ^{1,2}	-
O103:H2	<i>stx1a (eae, nleA/B, cba, cia, cif, cma, efa1, espA/B/F/J, iss, ompT, terC, tir, traT)</i>	ST17/ cgST106634	BY	Ja ^{1,2}	-
O103:H2	<i>stx1a (nleA/B, cba, cia, cif, cma, efa1, espJ, ompT, terC, traT)</i>	ST17/ cgST106634	ST	Ja ^{1,2}	-
O125ac:H6	<i>stx2f (eae, chuA, espA/C/F, ibeA, nleB, ompT, terC, tir, yfcV)</i>	ST583	NW	Nein	-

¹ - Projahn *et al.*, 2021

² - Boss and Hummerjohann, 2019

³ - Lauzi *et al.*, 2021

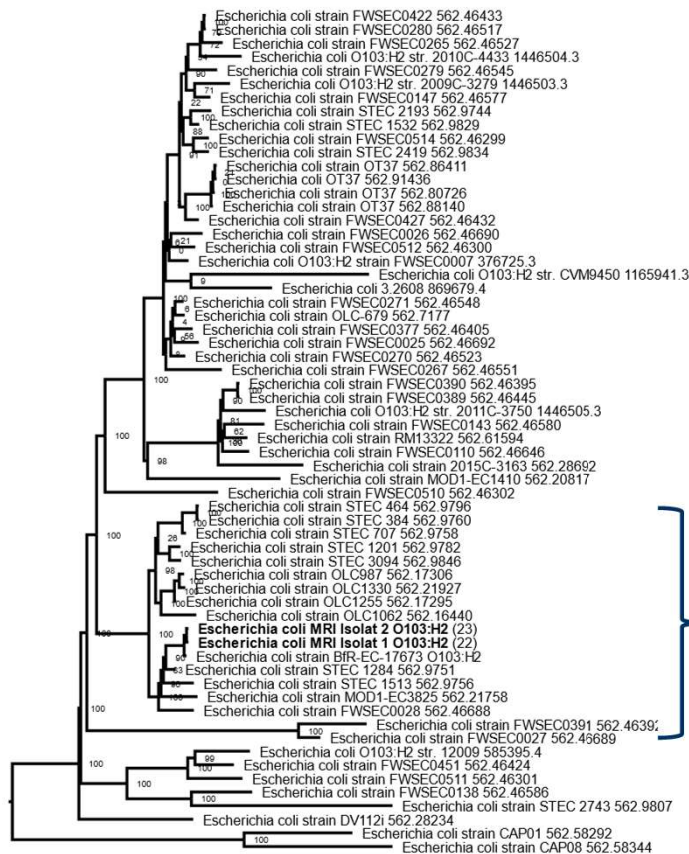
Mehlisolate



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 Jun 2;347:109197.

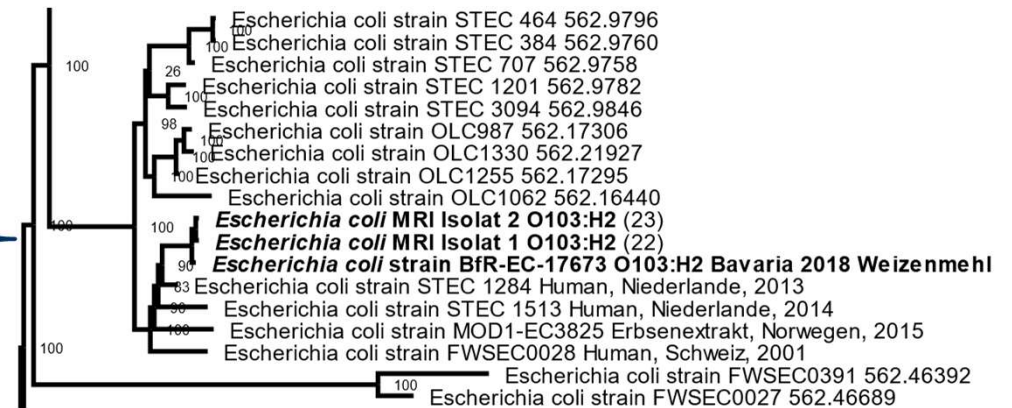
„Serotypes **O187:H28 (ST200, stx2g)** and **O154:H31 (ST1892, stx1d)** were most prevalent,..”

Phylogenie (1000 Kerngene via RAxML)

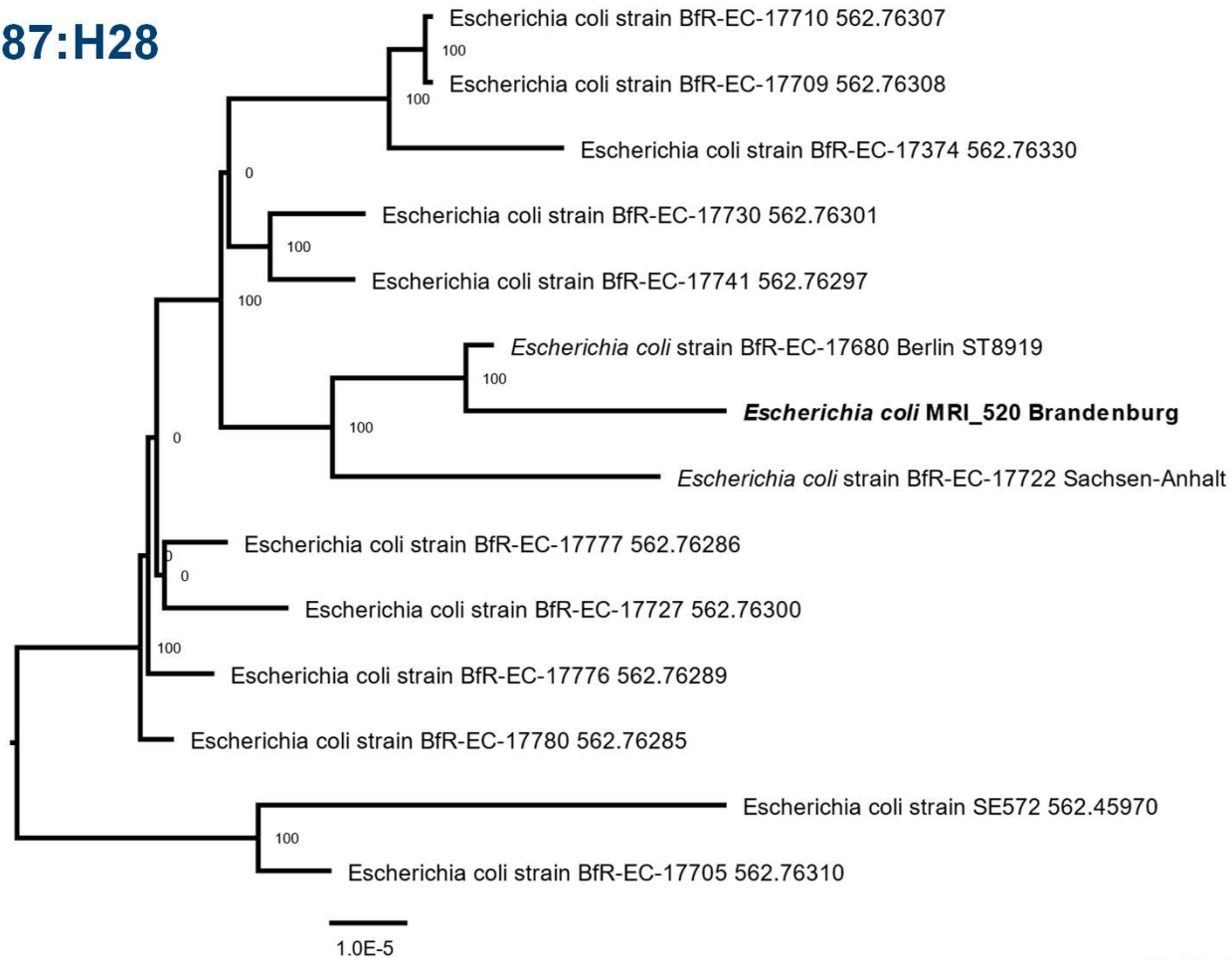


Beispiel STEC O103:H2

- humanmedizinische Relevanz -> viele Genome
- -> höchste genetische Verwandtschaft von Getreideisolat (MRI) zu Mehlisolat (BfR)



STEC O187:H28



Charakteristika der EPEC-Isolate (Beispiele)

Serotyp	Eigenschaften	Bundesland
O71:H19	<i>eae</i> positiv, ST517	RP
O103:H2	<i>eae</i> positiv, ST376	HE
O121:H19	<i>eae</i> positiv, ST800	BB, BW
O145:H34	<i>eae</i> positiv, ST35	BY

Fazit

- Shigatoxin-bildende *E. coli* sind auf Getreidekörnern nachweisbar
- Aufgrund der hohen genetischen Übereinstimmung einzelner Isolate zu Stämmen, die bisher aus Mehl isoliert wurden, ist ein direkter Eintrag über den Rohstoff sehr wahrscheinlich
- in einigen Fällen scheint ein Wildbezug als ursächliche Quelle möglich
- EPEC sollten bei der Betrachtung nicht ganz außer Acht gelassen werden

Ausblick

- Weitere Charakterisierung der gewonnenen STEC-Isolate (Serotypisierung/Gesamt-Genomsequenzierung)
- Weitere Charakterisierung der isolierten EPEC-Isolate (Serotypisierung/Gesamt-Genomsequenzierung)
- Vergleich der beiden Erntejahre 2020 und 2021
- Das Projekt wurde seitens des BMEL auch auf 2022 verlängert

Vielen Dank für die Unterstützung



- Sachverständigenausschuss der BEE



- Bundesinstitut für Risikobewertung – NRL E. coli
→ Frau Dr. Elisabeth Schuh
→ Herr Dr. Andre Göhler

