

Humanpathogene in pflanzlichen Erzeugnissen

Melanie Huch

Max Rubner-Institut
Institut für Sicherheit und Qualität bei Obst und Gemüse



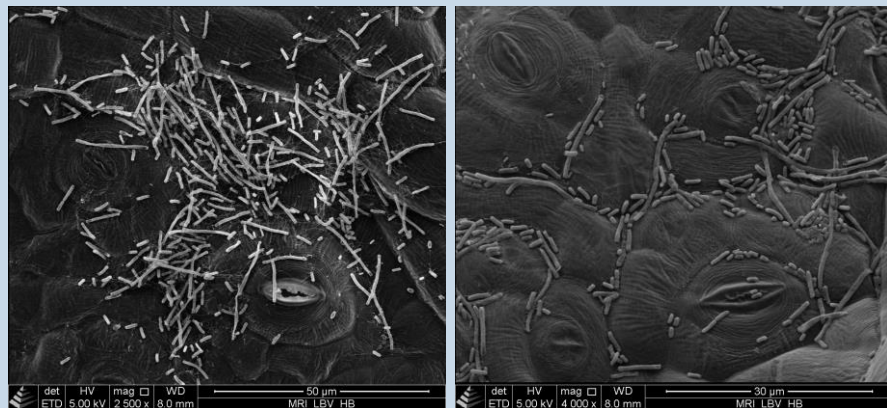
- Projektvorstellung
- Bedeutung von *Salmonella*, *L. monocytogenes* und präsumtiven *B. cereus* in pflanzlichen Erzeugnissen
- Methoden
- Ergebnisse
 - Mikrobieller Status der einzelnen Produktgruppen
 - Vorkommen von *Salmonella*, *L. monocytogenes* und präsumtiven *B. cereus* in pflanzlichen Erzeugnissen
 - Charakterisierung der Mikrobiota von verzehrfertigen Salaten
 - Änderungen in der Zusammensetzung der Mikrobiota bei Lagerung von verzehrfertigen Salaten
- Zusammenfassung

Humanpathogene in der pflanzlichen Erzeugung: Status quo, Dekontamination, Eintragswege und Einfluss der Lagerungsbedingungen



- Mikrobieller Status
bio & konventionell
Vergleich Nord & Süd
- Einfluss der Lagerungsbedingungen
- Isolierung & Charakterisierung
Listeria, *Salmonella*, *Bacillus cereus*

- *S. enterica enterica*
- Enterobakterium
- Zoonoseerreger
- Erkrankungen:
Gastroenteritis
Typhus/Paratyphus
- Meldepflicht (IfSG)
- 12 962 Erkrankungen in 2016



Salmonella Enteritidis
MS 501 auf einer
Mungbohnenprosse

TECHNICAL REPORT

APPROVED: 20 July 2018

doi:10.2903/sp.efsa.2018.EN-1465

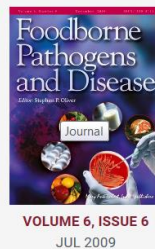
Multi-country outbreak of *Salmonella* Agona infections possibly linked to ready-to-eat food

European Food Safety Authority
European Centre for Disease Prevention and Control



Salmonellosis Outbreaks in the United States Due to Fresh Produce: Sources and Potential Intervention Measures

Irene B. Hanning, J.D. Nutt, and Steven C. Ricke



2008 Outbreak of Salmonella Saintpaul Infections Associated with Raw Produce

Casey Barton Behravesh, D.V.M., Dr.P.H., Rajal K. Mody, M.D., M.P.H., Jessica Jungk, M.P.H., Linda Gaul, Ph.D., M.P.H., John T. Redd, M.D., M.P.H., Sanny Chen, Ph.D., M.H.S., Shaun Cosgrove, B.A., Erin Hedican, M.P.H., David Sweat, M.P.H., Lina Chávez-Hauser, M.A., Sandra L. Snow, M.D., Heather Hanson, M.P.H., et al., for the Salmonella Saintpaul Outbreak Investigation Team*



The NEW ENGLAND
JOURNAL of MEDICINE

- *L. monocytogenes*
- Ubiquitär vorhanden
- Zoonoseerreger
- Erkrankungen:
Listeriose
- Meldepflicht (IfSG)
- 771 Erkrankungen in 2017
- Letalität Ø 16,2 %

[J Clin Microbiol](#). 2017 Mar;55(3):931-941. doi: 10.1128/JCM.02140-16. Epub 2017 Jan 4.

Singleton Sequence Type 382, an Emerging Clonal Group of *Listeria monocytogenes* Associated with Three Multistate Outbreaks Linked to Contaminated Stone Fruit, Caramel Apples, and Leafy Green Salad.

[Chen Y¹](#), [Luo Y²](#), [Pettengill J²](#), [Timme R²](#), [Melka D²](#), [Doyle M²](#), [Jackson A²](#), [Parish M²](#), [Hammack TS²](#), [Allard MW²](#), [Brown EW²](#), [Strain EA²](#).

[MMWR Morb Mortal Wkly Rep](#). 2016 Aug 26;65(33):879-81. doi: 10.15585/mmwr.mm6533a6.

Notes from the Field: Outbreak of Listeriosis Associated with Consumption of Packaged Salad - United States and Canada, 2015-2016.

[Self JL](#), [Conrad A](#), [Stroika S](#), [Jackson A](#), [Burnworth L](#), [Beal J](#), [Wellman A](#), [Jackson KA](#), [Bidol S](#), [Gerhardt T](#), [Hamel M](#), [Franklin K](#), [Kopko C](#), [Kirsch P](#), [Wise ME](#), [Basler C](#).

TECHNICAL REPORT



APPROVED: 2 July 2018

doi:10.2903/sp.efsa.2018.EN-1448

Multi-country outbreak of *Listeria monocytogenes* serogroup IVb, multi-locus sequence type 6, infections linked to frozen corn and possibly to other frozen vegetables – first update

European Food Safety Authority
European Centre for Disease Prevention and Control

Seit 2015 in 5 EU-Ländern: 47 Listeriose- und 9 Todesfälle

Listerien: Tiefkühl-Gemüse wird zurückgerufen

Stand: 16.07.2018 | [f](#) [G+](#) [v](#) [t](#)

 drucken

Gesundheitsschädliche Bakterien in tiefgekühltem Gemüse: Weil *Listeria monocytogenes* (Listerien) in einer Produktionsstätte in Ungarn nachgewiesen wurden, müssen zahlreiche Produkte zurückgerufen werden. In Deutschland sind bislang Waren von Lidl, Kaufland und Globus betroffen.



VON CLEANKIDS-MAGAZIN · 19/07/2018

Rückruf: Listerien – Fresh Fruit Express ruft „Veggie Express“ Gemüsesmoothie Mischungen zurück

[Lebensmittel](#) [Listerien](#) [Rückruf](#) [Tiefkühlartikel](#) [Verbraucherschutz](#)

Fresh Fruit Express International BV informiert über den Rückruf von Veggie Express Smoothie Mix Beuteln. Wie das Unternehmen mitteilt, können die betroffenen Veggie Smoothie Mix über die Zutat Pastinake des Lieferanten GREENYARD mit Listerien (*Listeria monocytogenes*) kontaminiert sein.

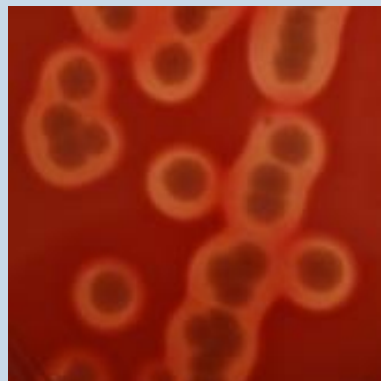
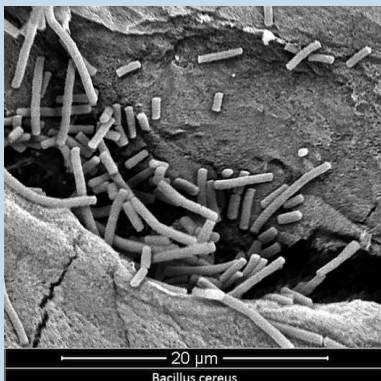


171440 Veggie Express Red Smoothie mix




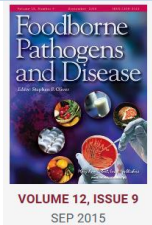
171439 Veggie Express Green Smoothie mix

- *B. cereus* Gruppe
- Vorkommen bes. im Erdboden
- Sporenbildner
- Toxinbildner
 - Cereulid in Lebensmitteln
 - Diarrhö-Toxin im Darm
- Erkrankungen
 - Lokale, invasive Infektionen
 - Gastroenteritis
- Meldepflicht für *B. anthracis*



Quantitative Prevalence and Toxin Gene Profile of *Bacillus cereus* from Ready-to-Eat Vegetables in South Korea

Jung-Whan Chon, Jin-Hyeok Yim, Hong-Seok Kim, Dong-Hyeon Kim, Hyunsook Kim, Deog-Hwan Oh, Soo-Ki Kim, and Kun-Ho Seo 



J Food Prot. 2014 Dec;77(12):2144-7. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-13-479.

Detection of toxigenic *Bacillus cereus* strains isolated from vegetables in Mexico City.

Flores-Urbán KA¹, Natividad-Bonifacio J¹, Vázquez-Quifones CR², Vázquez-Salinas C², Quifones-Ramírez EI³.



Euro Surveill. 2016 Dec 1; 21(48): 30413.

PMCID: PMC5388111

doi: [10.2807/1560-7917.ES.2016.21.48.30413](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.48.30413)

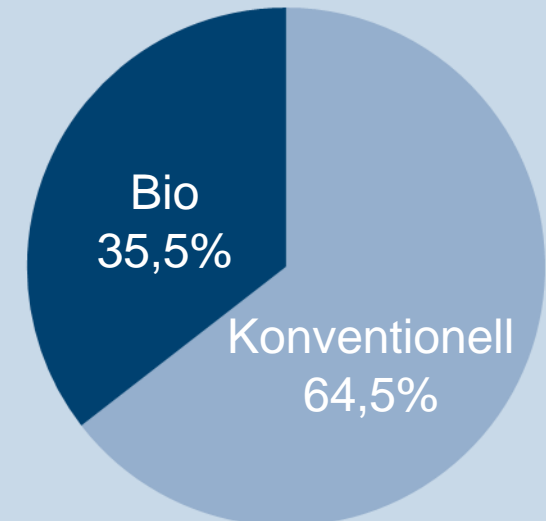
PMID: [27934583](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27934583/)

Bacillus cereus-induced food-borne outbreaks in France, 2007 to 2014: epidemiology and genetic characterisation

Benjamin Glasset,^{1, 2} Sabine Herbin,^{1, 4} Laurent Guillier,¹ Sabrina Cadel-Six,¹ Marie-Léone Vignaud,¹ Joel Grout,¹ Sylvie Pairaud,¹ Valérie Michel,³ Jacques-Antoine Hennekinne,¹ Nalini Ramarao,^{2, 4} and Anne Brisabois^{1, 4}

Art & Anzahl der Produkte

Produkte	Produktionsweise	Proben
Kräuter	konventionell	78
	bio	37
Kopf-/Blatt-/Pflücksalate	konventionell	50
	bio	30
Verzehrfertige Mischsalate	konventionell	87
	bio	29
Sprossen	konventionell	52
	bio	37
Karotten	konventionell	47
	bio	32
Speisepilze	konventionell	48
	bio	33
Gurken	konventionell	25
	bio	15
Insgesamt	konventionell	387
	bio	213



Bestimmung der mikrobiellen KZ (§64 LFGB)

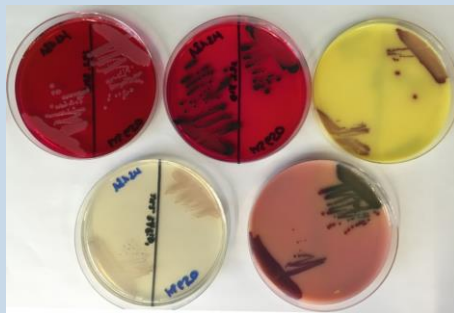
- Aerobe, mesophile GKZ
- Enterobakterien & Pseudomonaden
- Hefen & Schimmelpilze
- Präsumtive *B. cereus*

Nachweis von

- *Salmonella* ssp.
- Präsumtive *B. cereus*
- *Listeria monocytogenes*

Identifizierung/Charakterisierung von Isolaten

Anreicherung & Selektivmedien



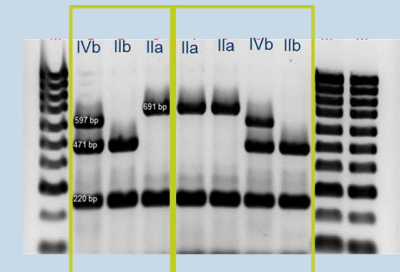
Biochemische Charakterisierung



Sequenzierung

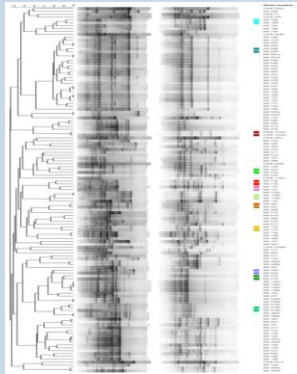


Serotypisierung

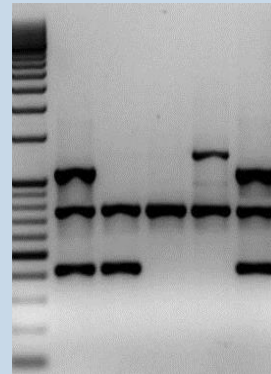


Charakterisierung von Isolaten

Stamm-typisierung



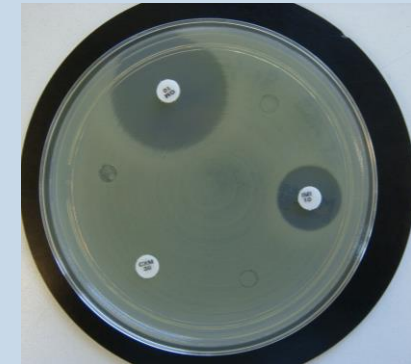
Detektion der Toxine/Gene



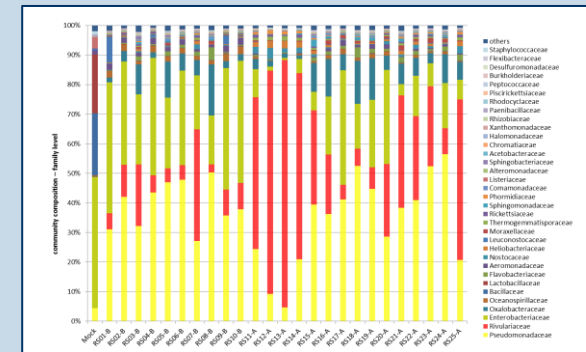
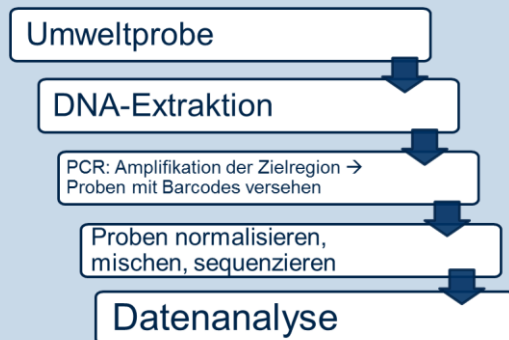
Hämolyse

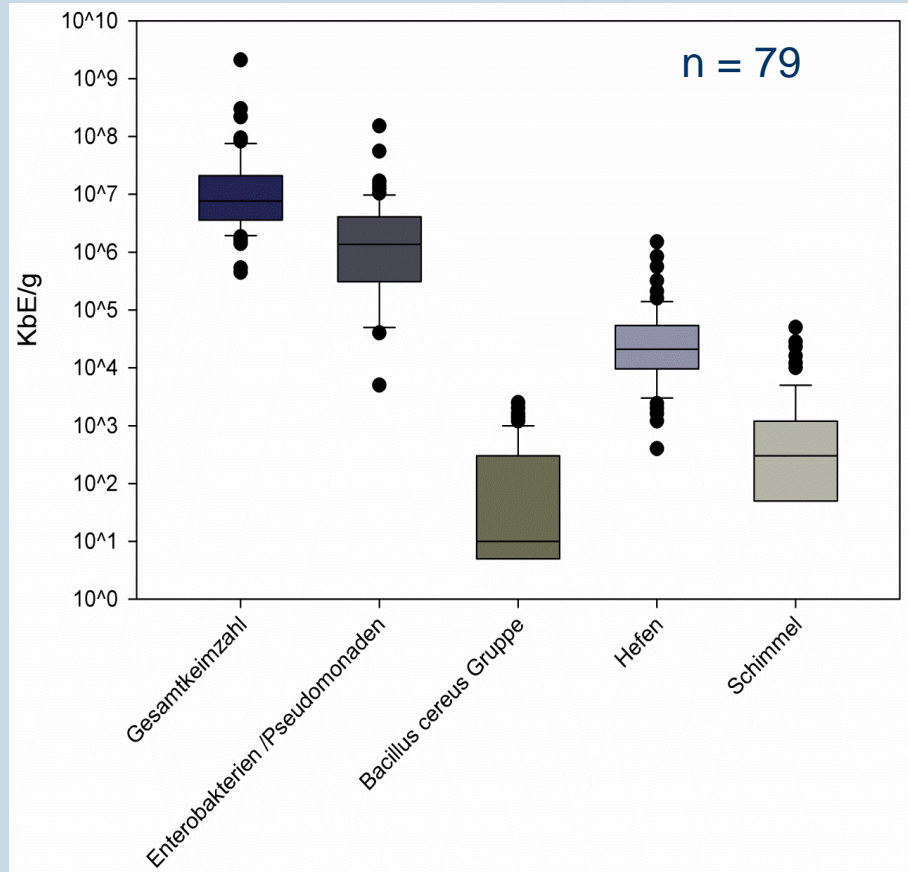


Antibiotika-Resistenzen



Charakterisierung der Gesamtmikrobiota

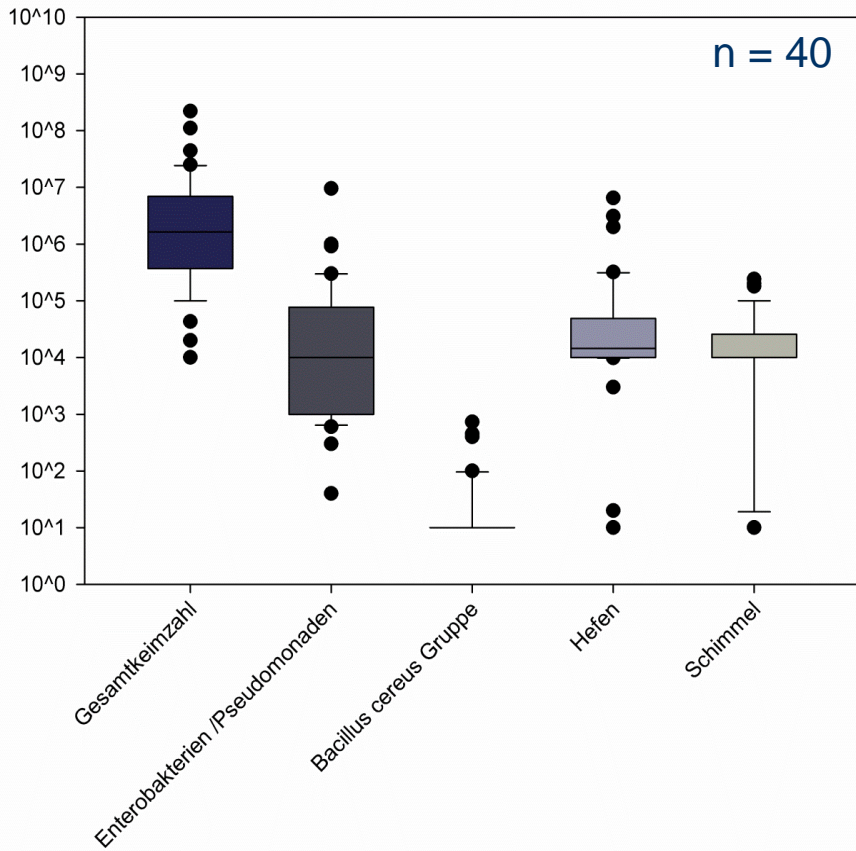




- Kein Nachweis von *Salmonella* & *L. monocytogenes*

Vergleich bio & konventionell:
nicht signifikant

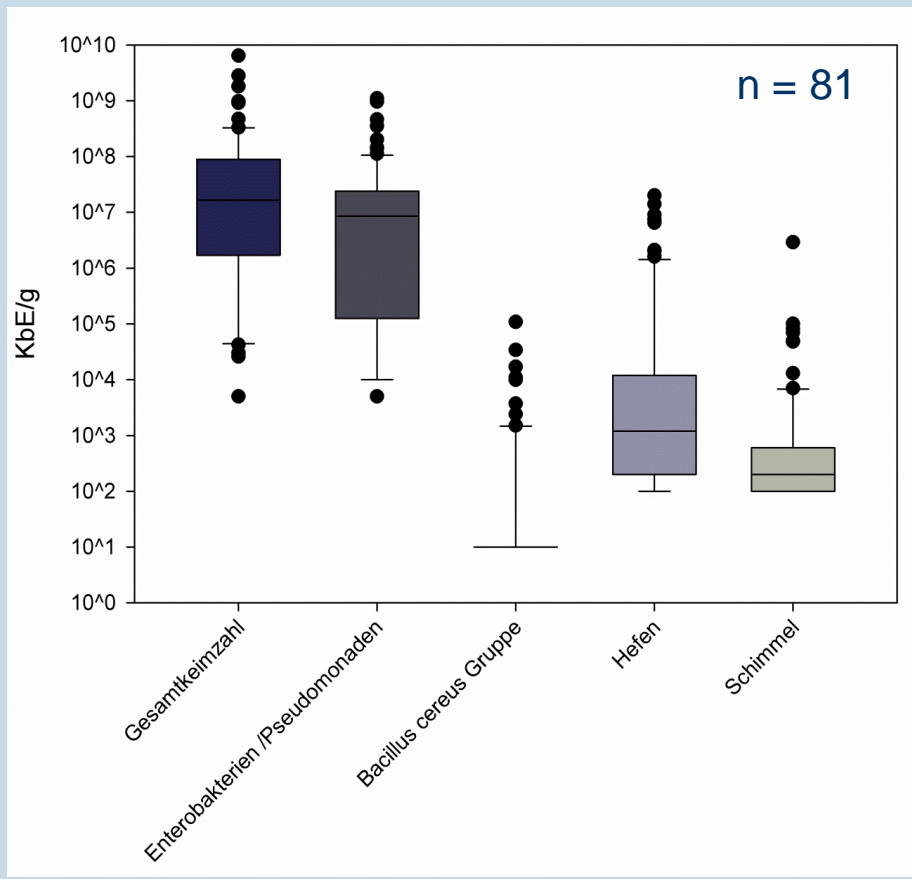
Die Qualität von Karotten war gut.



- Kein Nachweis von *Salmonella* & *L. monocytogenes*

Hefen
 Median_{biologischer Anbau} = 3,0x10⁴ KbE/g
 Median_{konventioneller Anbau} = 1,0x10⁴ KbE/g $p=0,02$

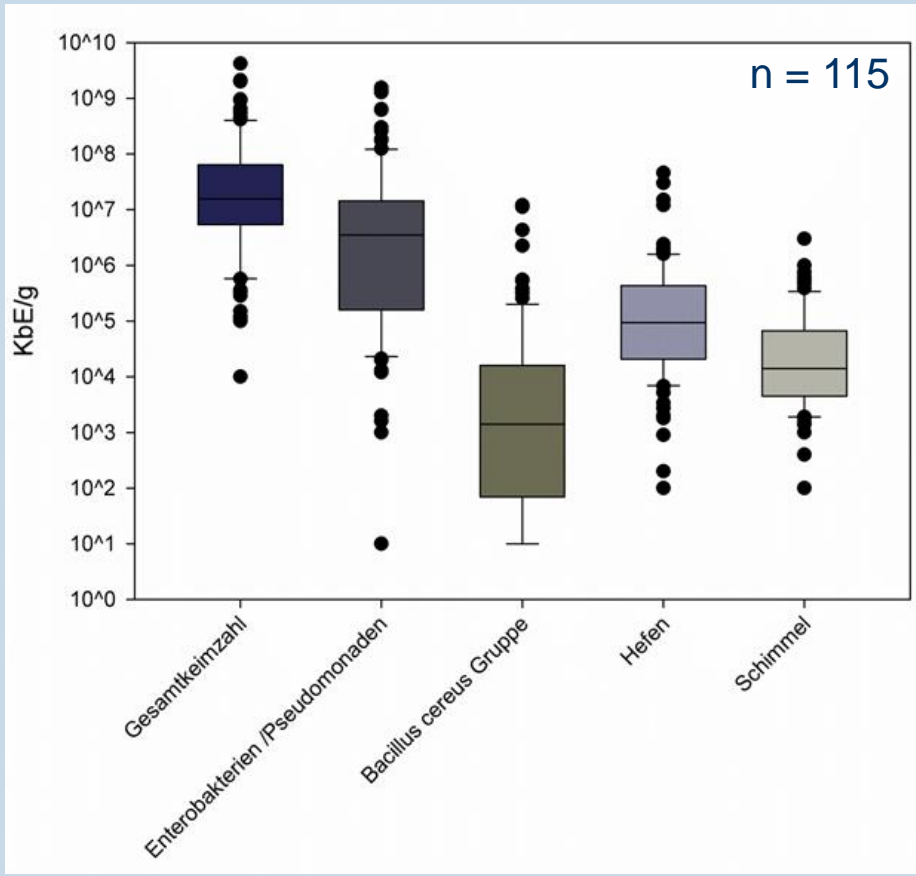
Die Qualität von frischen Gurken war gut.



- 1 Probe: *L. monocytogenes*

Vergleich bio & konventionell:
nicht signifikant

Die Qualität von frischen
Speisepilzen war gut.

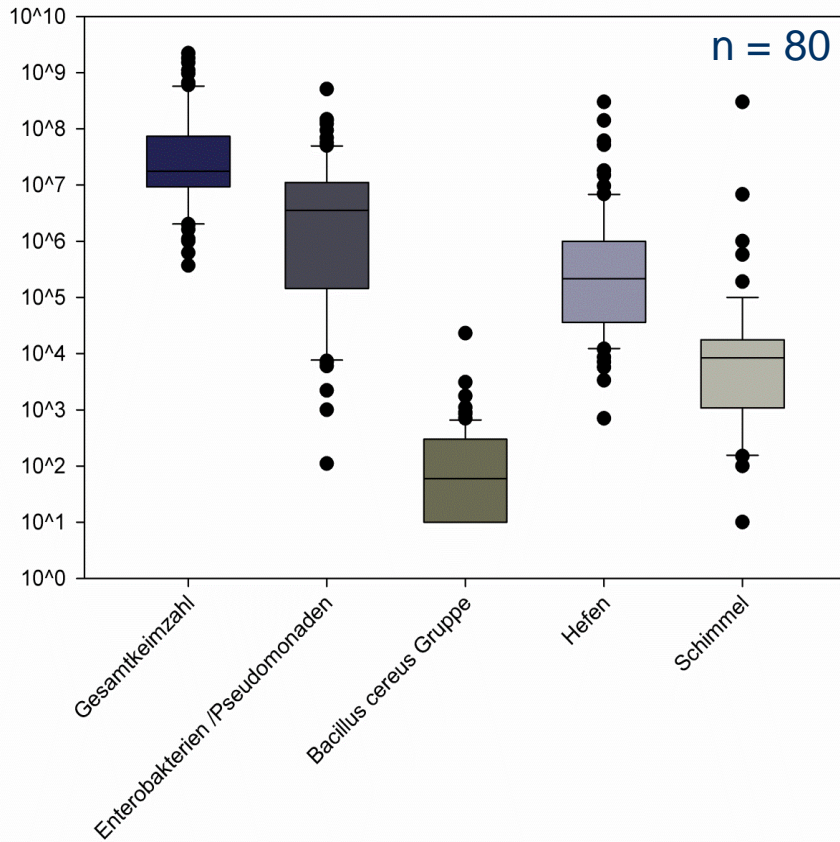


- Kein Nachweis von *Salmonella* & *L. monocytogenes*

Schimmelpilze

Median_{biologischer Anbau} = 3,6x10⁴ KbE/g
 Median_{konventioneller Anbau} = 1,0x10⁴ KbE/g $p=0,01$

Die Qualität von Kräutern war akzeptabel.

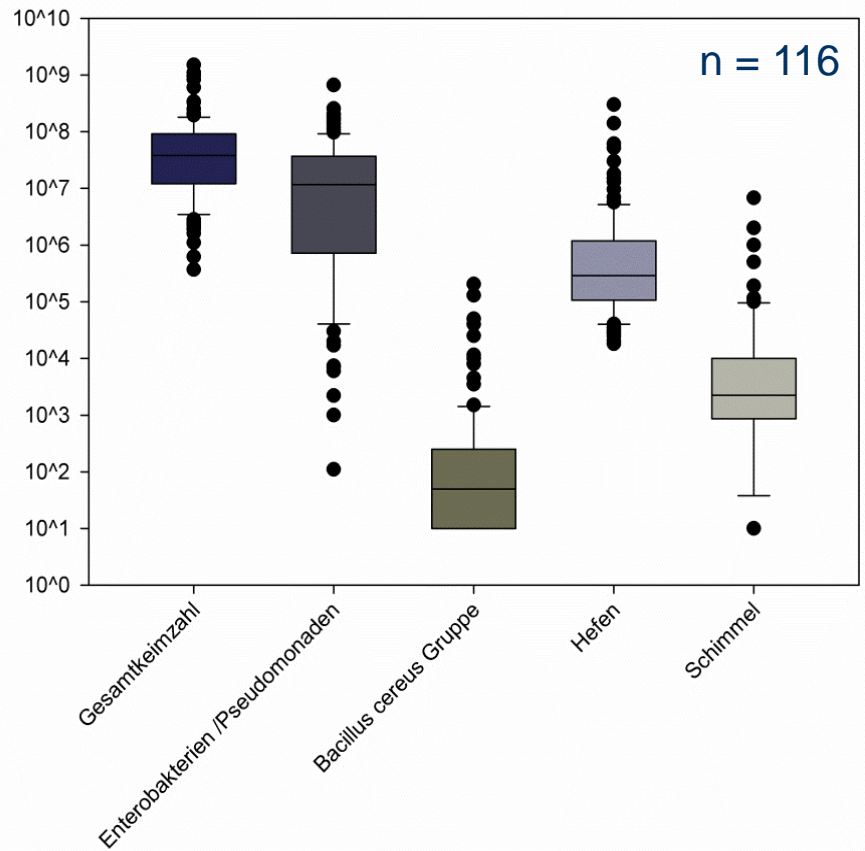


- Je 1 Probe: *Salmonella* Enteritidis & *L. monocytogenes*

GKZ

Median_{biologischer Anbau} = 3,0 × 10⁷ KbE/g
 Median_{konventioneller Anbau} = 1,5 × 10⁷ KbE/g $p=0,04$

Die Qualität von Kopf-/Blatt-/Pflücksalaten war gut bis mittel.



- In je 3 Proben: *Salmonella* Enteritidis & *L. monocytogenes*

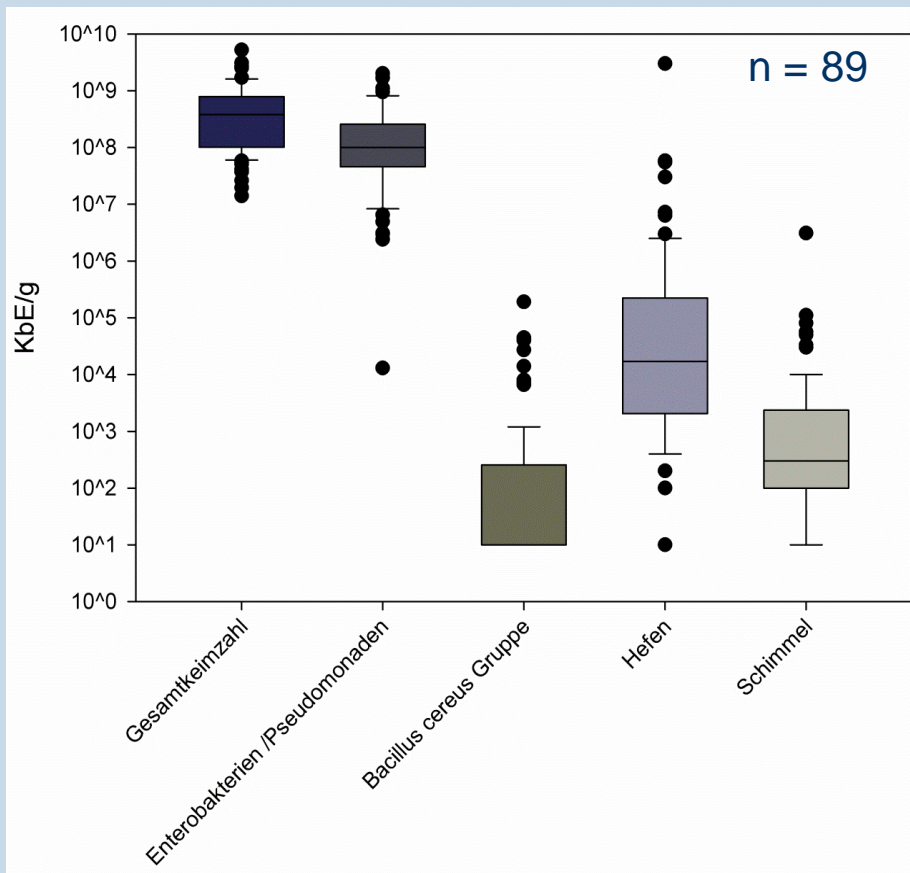
Schimmelpilze

Median_{biologischer Anbau} = 5,2x10³ KbE/g
 Median_{konventioneller Anbau} = 1,6x10³ KbE/g p=0,03

DGHM Richt- und Warnwerte:

- Richtwert:
42% GKZ, 16% *B. cereus*, 76% Hefen
- Warnwert:
9% *B. cereus*, 22% Schimmelpilze

Die Qualität von verzehrfertigen Mischsalaten war ungenügend.



- 1 Probe: *L. monocytogenes*

Vergleich bio & konventionell:
nicht signifikant

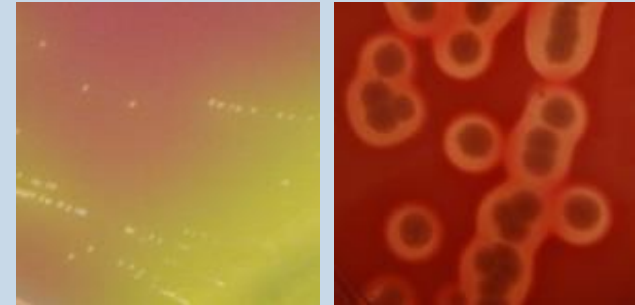
DGHM Richt- und Warnwerte:

- Richtwert:
29% *B. cereus*
- Warnwert:
11% *B. cereus*

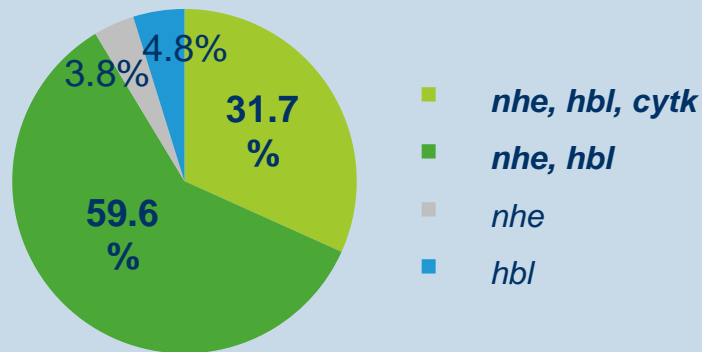
Die Qualität von Sprossen war ungenügend.

- Wurden aus allen Produkten isoliert
- Charakterisierung von 104 Isolaten aus Salatproben
- Amplifikation des *groEL*-Gens

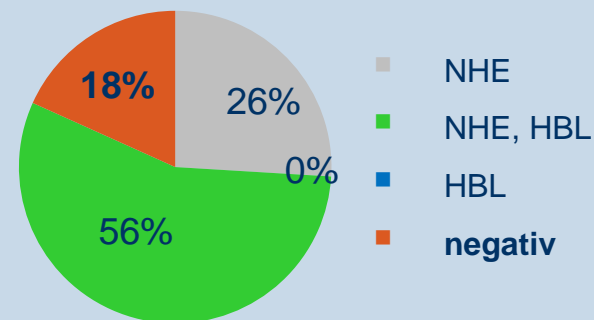
Lecithinase	Anteil [%]	β-Hämolyse	Anteil [%]
Stark	2,9	Stark	18,3
Mittelstark	66,3	Mittelstark	39,4
Schwach	17,3	Schwach	40,4
Keine	13,5	Keine	1,9



Toxingene (PCR)

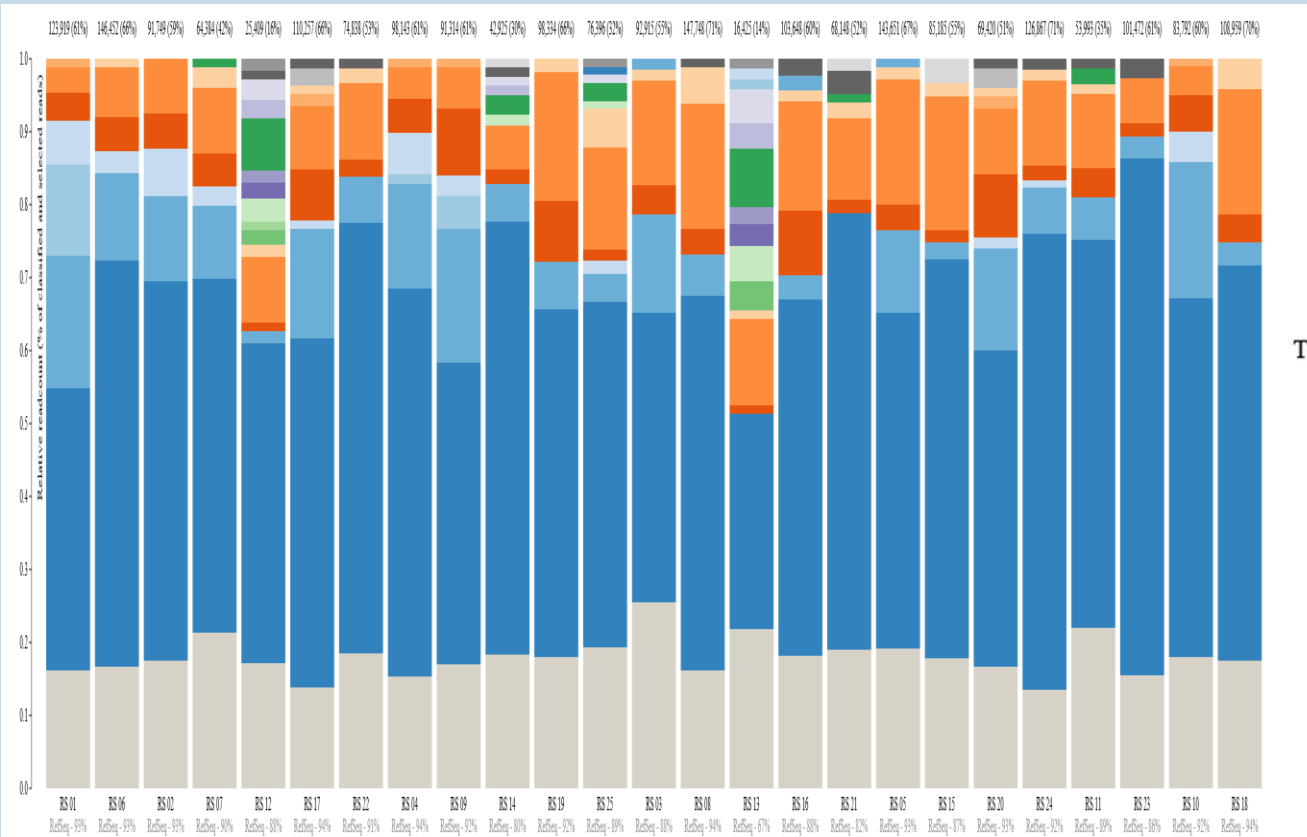


Toxinbildung (Duopath®)



- Profile ‚nhe + hbl‘ und ‚nhe, hbl + cytk‘ dominierten
- Kein Nachweis von Cereulid

Hochdurchsatz-Sequenzierung von RTE-Salatproben MRI



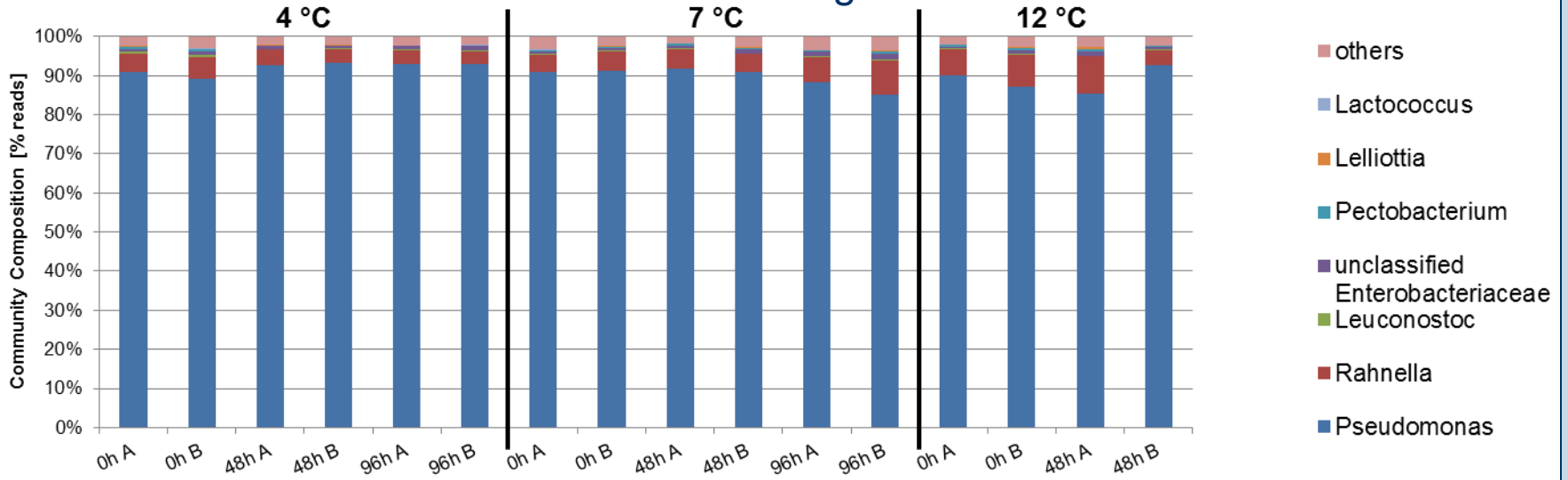
- Coxiella
- Anaeroglobus
- Yersinia
- Collimonas
- Sphingomonas
- Tatumella
- Mycoplasma
- Acinetobacter
- Facklamia
- Halobacteroides
- Thermodesulfobium
- Planktothrix
- Arthrospira
- Nodosilinea
- Rubidibacter
- Heliobacterium
- Flavobacterium
- Lonsdalea
- Janthinobacterium
- Serratia
- Citrobacter
- Leuconostoc
- Rahnella
- Pseudomonas
- Other



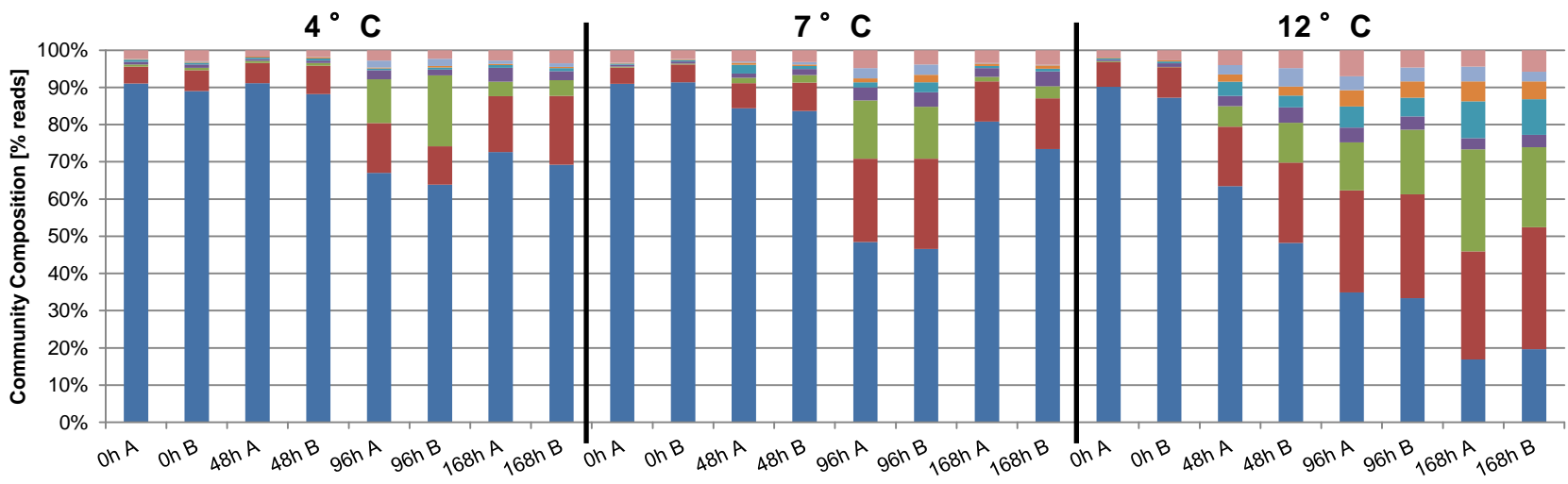
Betrachtungen auf Gattungsebene:

- Mikrobiologische Untersuchungen bestätigt
- Pseudomonaden am abundantesten
- Auftreten von *Rahnella (aquatilis)* bestätigt

Geöffnete Packungen



Geschlossene Packungen



- Untersuchte Produkte sind stark keimbelastet (Pseudomonaden/Enterobakterien)
- Vorkommen von *Salmonella* und *L. monocytogenes* in pflanzlichen Produkten ist sehr gering
 - Kopf-/Blatt-/Pflücksalate: 1,3 % *Salmonella* & *L. monocytogenes*
 - Verzehrfertige Salate: 2,6 % *Salmonella* & *L. monocytogenes*
 - Sprossen: 1 % *L. monocytogenes*
 - Pilze: 1,2% *L. monocytogenes*
- Präsumtive *B. cereus* konnten in allen Produkten nachgewiesen werden
- Geringer Unterschied in der mikrobiellen Belastung von ‚bio und konventionell‘
- Korrekte Lagerung ist wichtig zur Vermeidung von mikrobiellen Risiken
- Polyphasischer Ansatz zur Charakterisierung der Isolate ist empfehlenswert
- Hochdurchsatz-Sequenzierung ist eine wesentliche Ergänzung zur Charakterisierung der Mikrobiota

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!



Institut für Sicherheit und
Qualität bei Obst und Gemüse

- Biserka Becker
- Dr. Dominic Stoll
- Luisa Martinez-Postigo
- Lilia Rudolf
- Carmen Schneider
- Karin Schavitz



Institut für Mikrobiologie
und Biotechnologie

- PD Dr. Charles Franz
- Dr. Jan Kabisch
- Gregor Fiedler