

Salmonella*-Ausbrüche – Aufklärungsarbeiten am NRL für *Salmonella

20.04.2023, Berlin

Dr. Jennie Fischer

Nationales Referenzlabor für *Salmonella*

FG42 – Lebensmittelmikrobiologie, Erreger-Wirt-Interaktion

Biologische Sicherheit

Nationales Referenzlabor für *Salmonella*

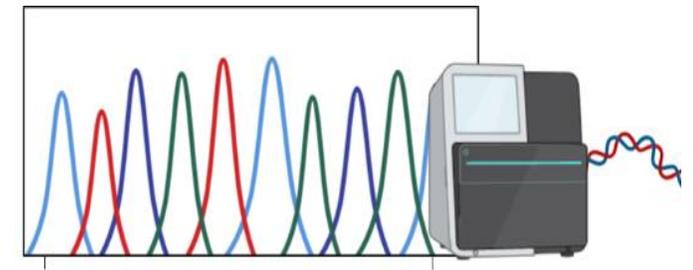
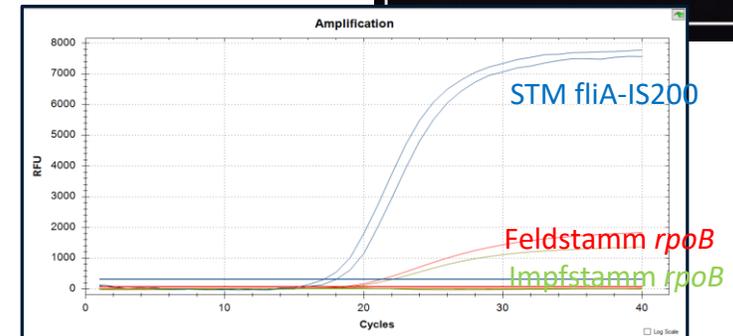
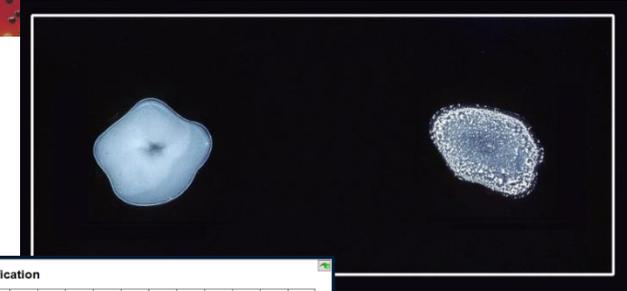
4000 Isolat-Einsendungen pro Jahr

- Veterinäruntersuchungsämter
- Lebensmitteluntersuchungsämter
- Tiergesundheitsdienste
- Universitäten, private Laboratorien

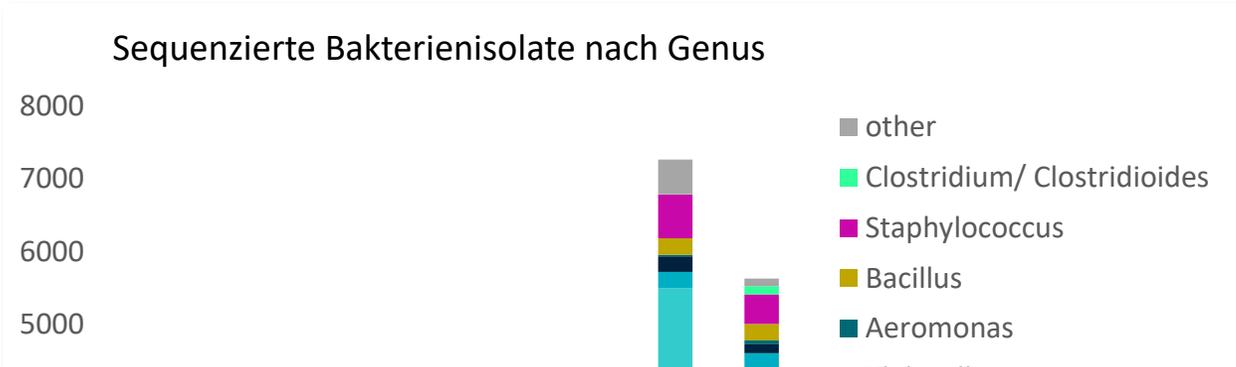
Aufgaben:

- Ringversuche, Methodenentwicklung und Validierung, ...
- Serotypie, Impfstammdiagnostik, ...
- molekularbiologische Stammvergleichsuntersuchungen, ...

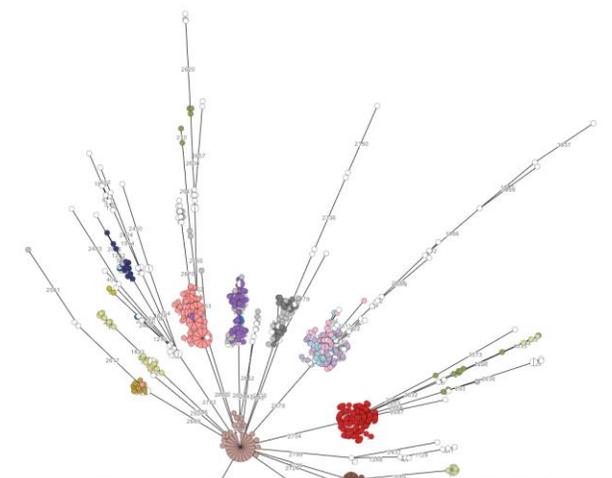
→ **Seit 2018: Verwendung von NGS-Technologien für die Gesamtgenomsequenzierung (WGS)**



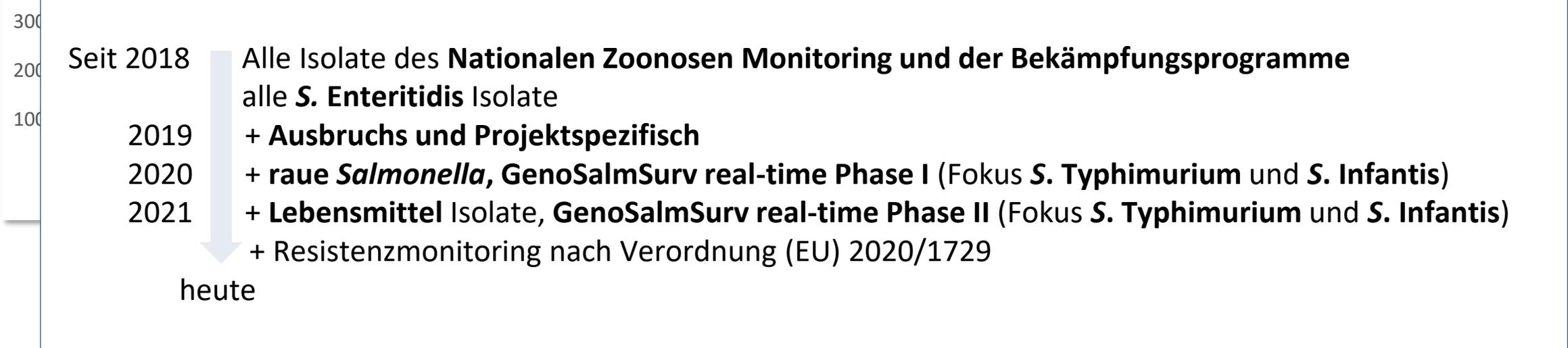
WGS im NRL für *Salmonella*



- Species detail/serovar
- Enteritidis [629]
 - Typhimurium [386]
 - Infantis [339]
 - Typhimurium monophasisch
 - Subspec. I Rauform [184]
 - Paratyphi B [183]
 - Mbandaka [127]
 - Agona [88]
 - Derby [80]
 - Subspec. IIb 61:--1,5,7 ...
 - Indiana [43]
 - Corvallis [37]
 - Dublin [33]
 - Subspec. IIIb 61:k:1,5,7 ...
 - Choleraesuis [32]
 - Subspec. I [31]
 - Ball [27]
 - Senftenberg [26]
 - Newport [23]
 - Salmonella enterica [23]
 - Brandenburg [19]
 - Typhimurium [18]
 - Bovismorbificans [16]
 - Saintpaul [16]
 - Coeln [15]



→ Isolatauswahl für die WGS:

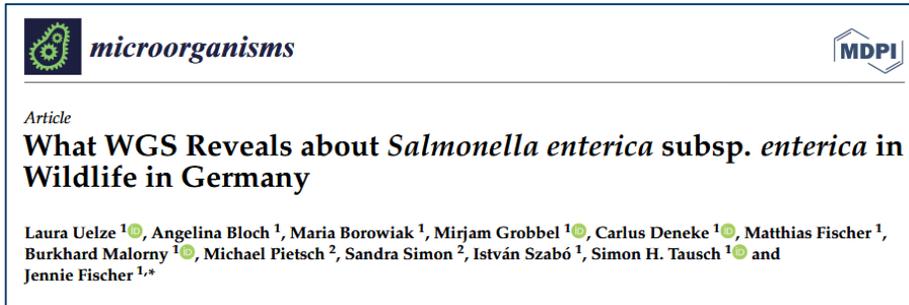


Neue Möglichkeiten durch die WGS

- Optimierte Methodenentwicklung:

→ Impfstammdifferenzierung: Targetidentifizierung & *in silico* Validierung einer rtPCR

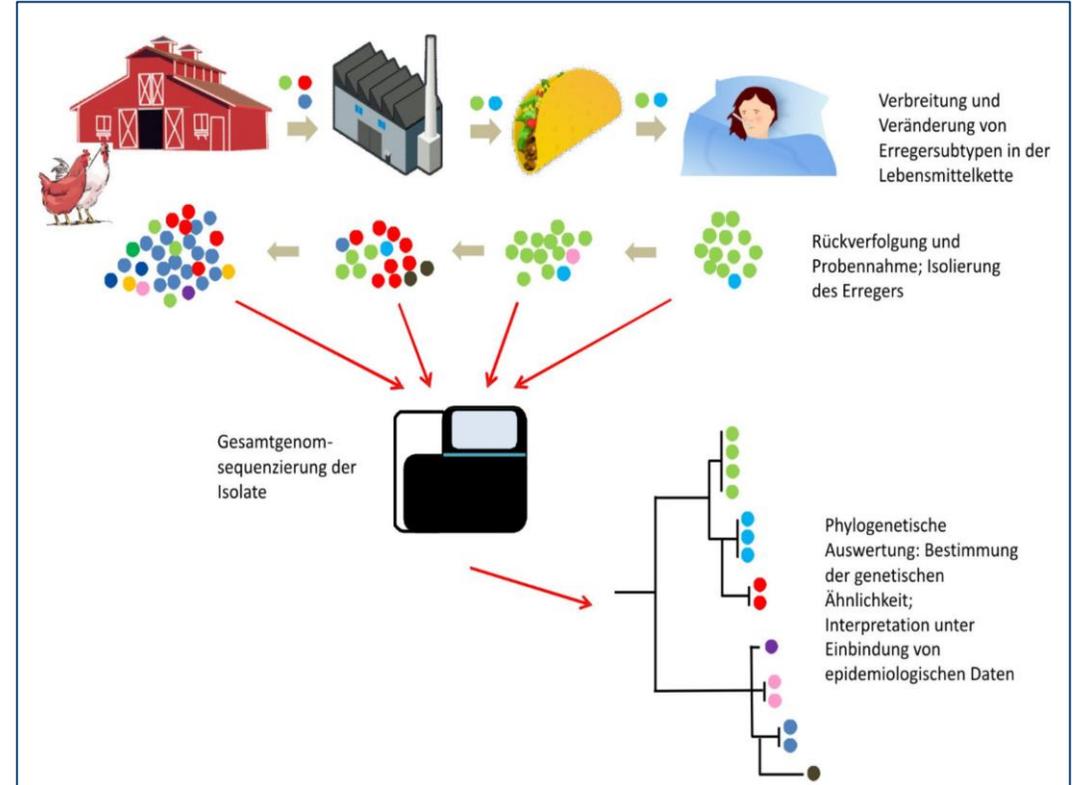
- **Isolatcharakterisierung im Hochdurchsatz - BakCharak:**
Resistenzgene, Plasmide, Virulenzgene, MLST, Serovarvorhersage, ...



microorganisms MDPI

Article
What WGS Reveals about *Salmonella enterica* subsp. *enterica* in Wildlife in Germany

Laura Uelze ¹, Angelina Bloch ¹, Maria Borowiak ¹, Mirjam Grobbel ¹, Carlus Deneke ¹, Matthias Fischer ¹, Burkhard Malorny ¹, Michael Pietsch ², Sandra Simon ², István Szabó ¹, Simon H. Tausch ¹ and Jennie Fischer ^{1,*}

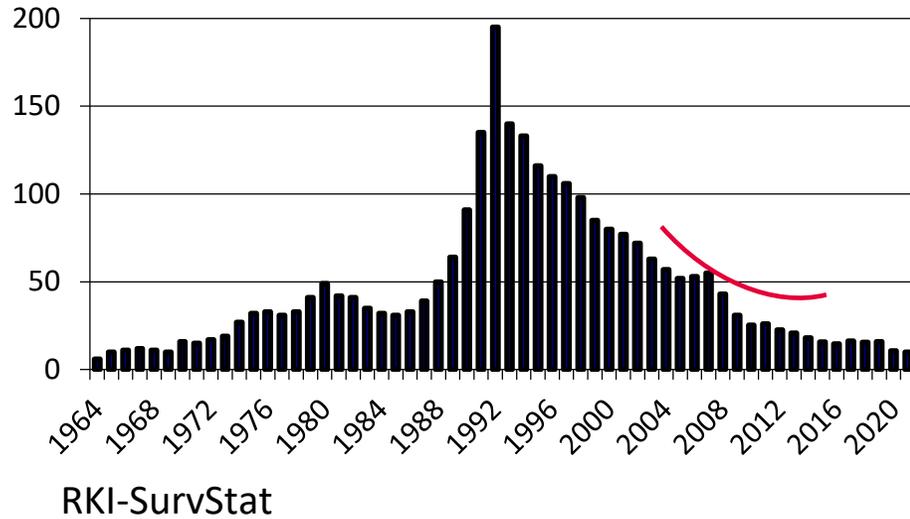


Application of Whole Genome Sequencing for the Detection of Foodborne Disease Outbreaks, (BfR-Wissenschaft 1/2020)

- **Hochauflösende Stammvergleichsuntersuchungen (SNP- und cgMLST)**

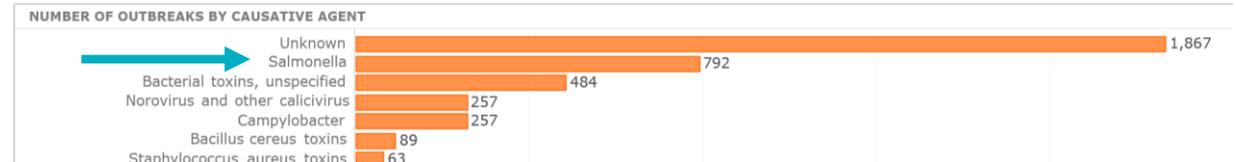
→ **Unterstützende Ausbruchsanalysen!**

Salmonella - Ausbrüche



Salmonellose in Deutschland zweithäufigste gemeldete bakterielle Durchfallerkrankung beim Menschen (nach der Campylobakteriose)

Lebensmittelbedingten Ausbrüchen in der EU: *Salmonella* immer noch Top 1



- WGS-basierte Analysen neuer Goldstandard
- etliche Aktivitäten auf nationaler und internationaler Ebene!

EFSA Dashboard: <https://www.efsa.europa.eu/en/microstrategy/FBO-dashboard>

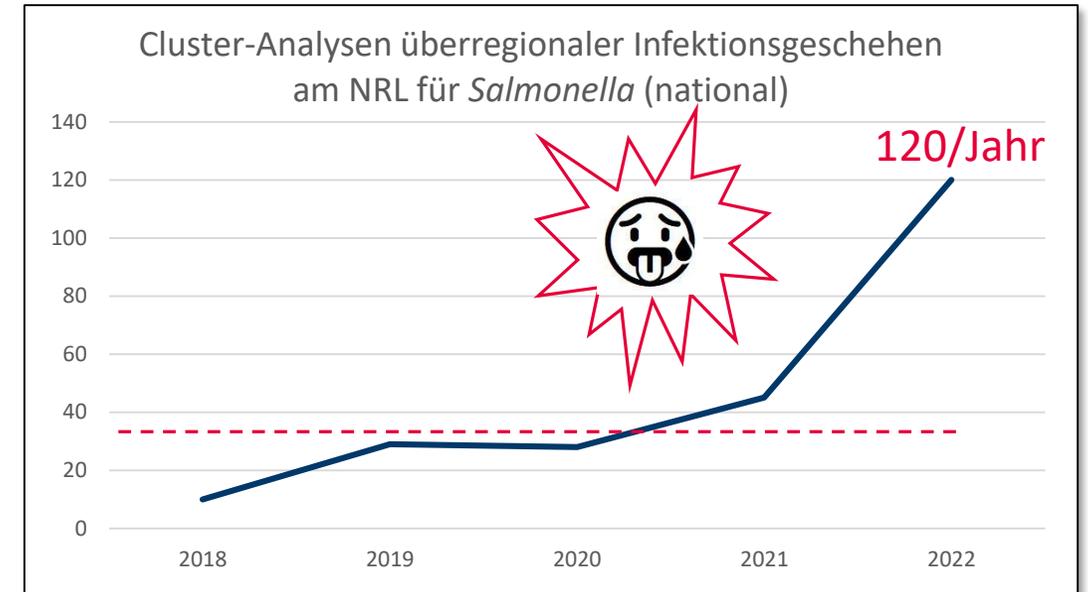
Ausbruchsanalysen im NRL für *Salmonella* - Die Fragen nach dem Match

LUAs

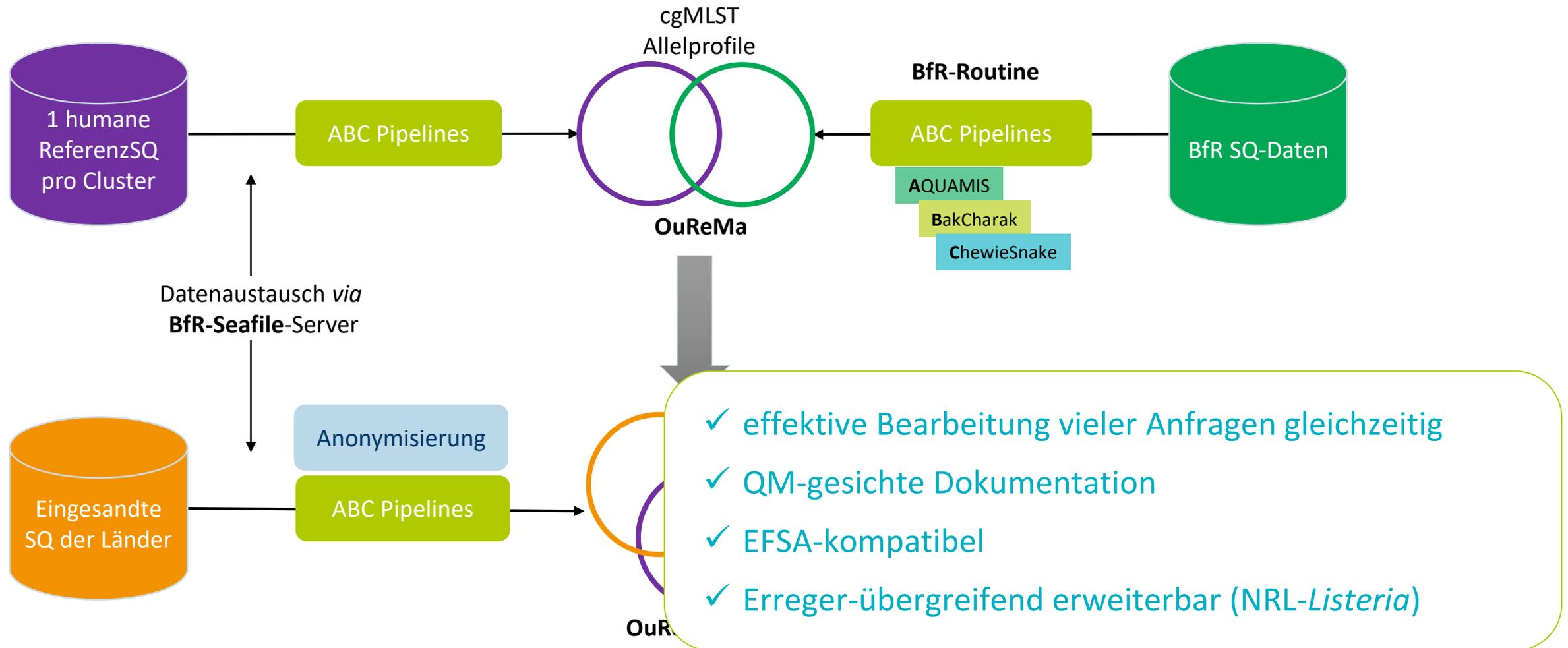
EFSA/ECDC

RKI (FG35/ NRZ für *Salmonella*)

- Kapazitäten im NRL für *Salmonella* (und *Listeria*) regelmäßig erschöpft
- Eigentliche NRL-Tätigkeiten eingeschränkt
- Optimierung und Anpassung der Arbeitsabläufe wo möglich



Automatisierte Match-Detektion durch die OuReMa-Pipeline („Outbreak Reference Matcher“)



OuReMa zur Genomvergleichsanalyse im Hochdurchsatz

Case	chewiesnake status	chewiesnake last update	chewiesnake report	Samples extern	Related BfR Samples	Related BfR Samples 10 alleles	minimum cgMLST distance to BfR data	snippy status	snippy last update	snippy report
2019_Havana	success	Sat Jan 15 03:24:04 CET 2022	cgMLST report	5	3	3	3	success	2022-01-15	SNP report
2020_SInfantis_Phlegon	success	Sat Jan 15 03:24:04 CET 2022	cgMLST report	3	69	20	1	success	2022-01-15	SNP report
2021_Annelie	success	Sat Jan 15 03:25:32 CET 2022	cgMLST report	1	483	1	9	success	2022-01-15	SNP report
NO_2021_Tobias_GEM_G1	success	Sat Jan 15 03:26:00 CET 2022	cgMLST report	1	1	1	0	success	2022-01-15	SNP report



All comparisonDB distances to all query samples below threshold
All distances above 500 have been omitted.

Copy Print Download Column visibility Show 10 entries

Sample_query	Sample_comparisonDB	Distance
All	All	All
SA20-04805	20-SA02496-0	0
SA20-04805	20-SA02757-0	0
SA20-04805	20-SA02852-0	1
SA20-04805	21-SA00037-0	1
SA20-04805	18-SA02808-0	50
SA20-04805	20-SA02397-0	128

Match ! →

Aber was kommt nach dem Match...?

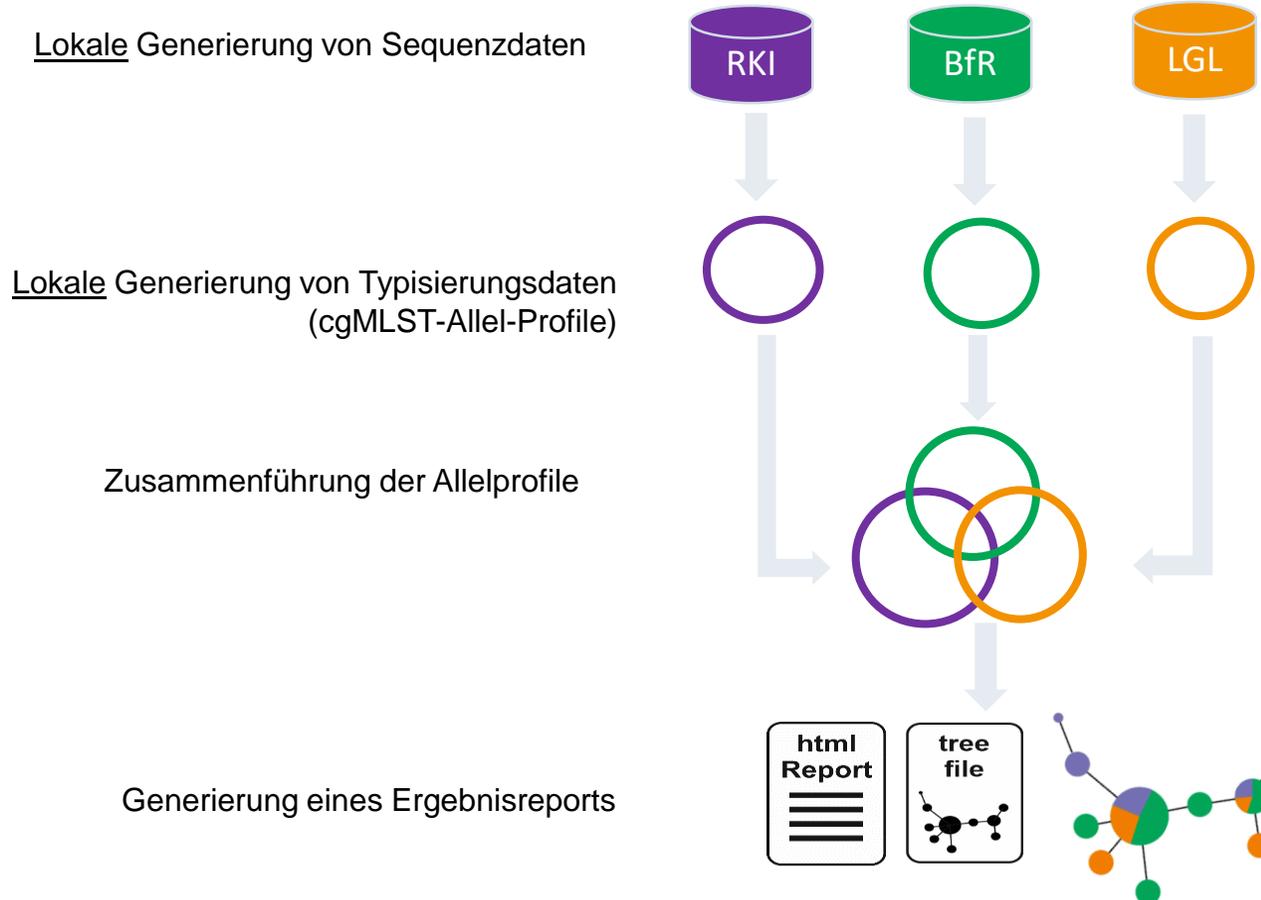
Die nächste Herausforderung!



- Bedürfnisse/Ansprüche verschiedener beteiligter Behörden werden berücksichtigt
- „maximal beschleunigtes“ Vorgehen harmonisiert und qualitätsgesichert durch BfR-Verfahrensweisung (NRL-Salm&List)
- Niemand sieht das ganze Bild des Infektionsgeschehens !?
- Kommunikationswege und Datentransfer aufwändig und Ressourcen-schluckend (3-4 verschiedene Meldewege alleine am BfR)

Das GenoSalmSurv-Projekt

Ziel: Aufbau einer integrierten genombasierten Surveillance für Salmonellen für den ‚offenen‘ Genomvergleich



GenoSalmSurv - Cluster, Cluster, Cluster!

Cluster:

mindestens zwei Isolate
mit enger genetischer
Verwandtschaft
(Alleldistanzen = AD)

Datenbank ~3.800 SE und STM Isolate:

→ davon 80 % in Cluster (AD ≤10, ~3.100 Isolate)

10 AD Threshold >2 Isolate: **403 Cluster**

3 AD Threshold >2 Isolate: **498 Subcluster**

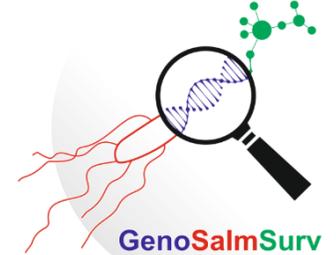
3 AD Threshold >4 Isolate: **116 Subcluster**

Clusterwachstum
von SE und
STM über die Zeit



- Bearbeitung von 120 Cluster überschreiten Kapazitäten manueller Bearbeitungsmöglichkeiten
- Aufwändige Meldewege von Ergebnissen erschweren effektives Handeln
- Prospektive Clusteranalysen nicht durchführbar

GenoSalmSurv – Clusterdiversität und „Fokuscluster“



Beispiel „Fokuscluster“ vs „non-Fokus-Cluster“:

Cluster 1:

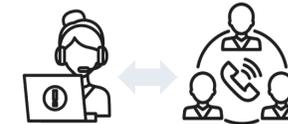
- > 3 humane SQs < 5 AD
- 1 non-human-Match < 3 AD
- Clusterwachstum in den letzten 12 Monaten

Cluster 2:

- > 8 humane SQ > 7 AD
- plus 2 non-human-Matches < 6 AD
- Kein Clusterwachstum in den letzten 12 Monaten



→ **Metadaten** unerlässlich für sinnvolle Bewertung!



Designed by studlogstock / Freepik

→ Regelmäßige „**Clustercalls**“ zwischen RKI, LGL, BfR, BVL



→ **Automatisierte Priorisierung**



✓ Kriterien anpassbar, nach Bedürfnissen (Serovar, Erreger)

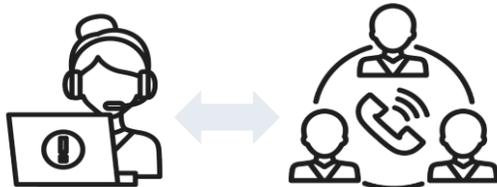
✓ **Beschleunigt Bearbeitung, schützt Ressourcen!!**

→ Viele weitere Details abfragbar durch Filterfunktionen

GenoSalmSurv – Die Bedeutung von Metadaten

→ ODER QM sichere Doku *via* pdf oder Excel

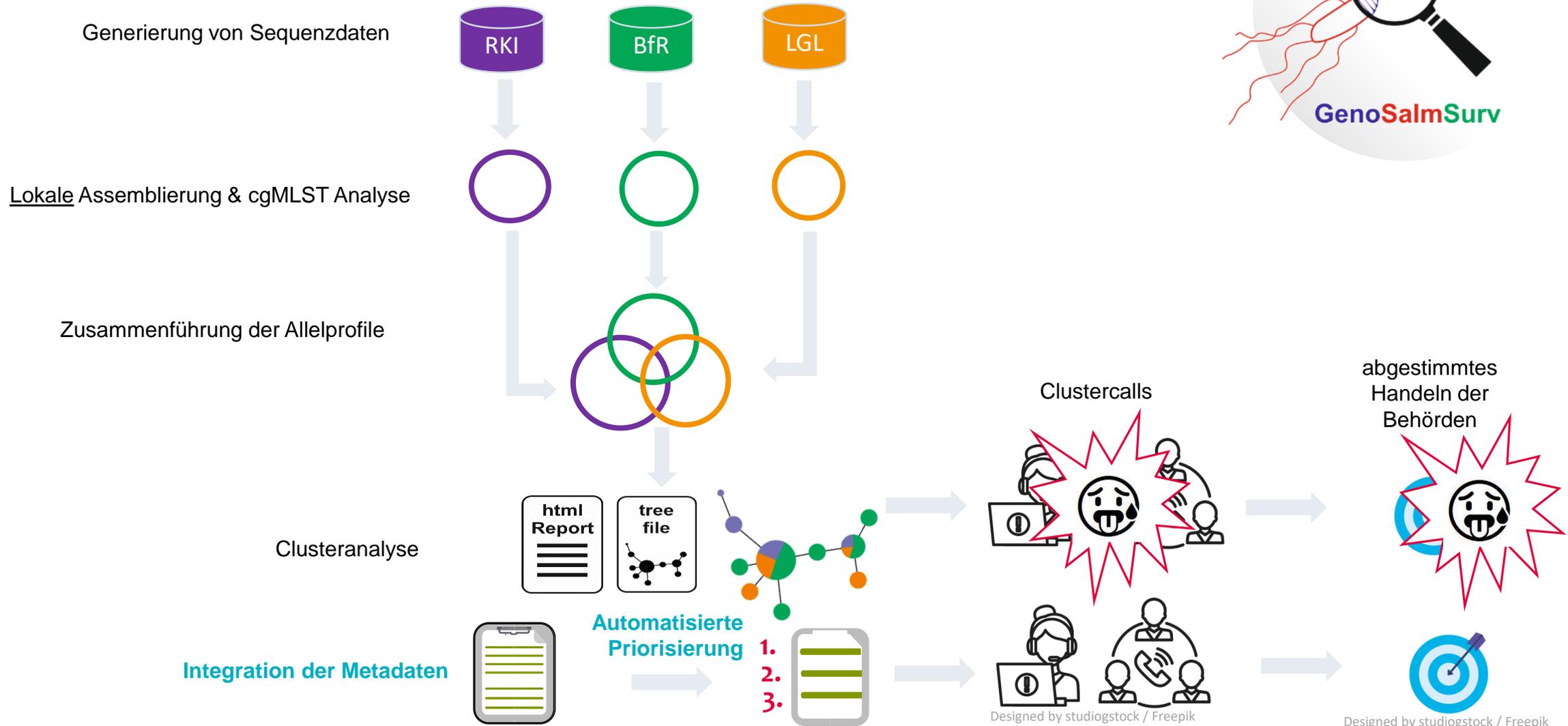
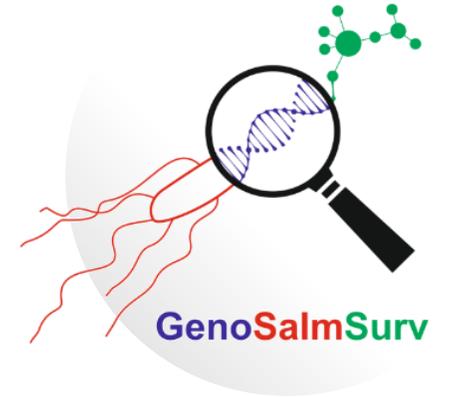
- Beispiel → Einzelne Isolate werden zu Clustern!
- Praxis → Jeder kann seine Isolate im Gesamtbild bewerten
- Details über Cluster-Sub-Reports abrufbar
- Gezielte, intersektorale, BL-übergreifende Kommunikation



Designed by studiogstock / Freepik

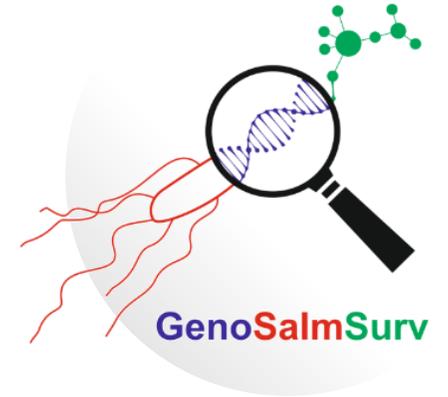
Anzahl Isolate	Serovar	sender_code	sample_id	oldest_sample_date	Cluster-wachstum < 90days	min_dist_inter-human	min_dist_non-human	samples_human	samples_non-human	source_nonhuman_compact	cross_sector	is_multi_state	focus_cluster	cluster_activity	cluster_priority	
29	Enteritidis	BfR:10;RKI:19		2022-12-28	2019-12-18	1	0	1	19	10	Lebensmittel:1;Tier:9	true	true	true	watching	normal
60	Enteritidis	BfR:10;LGL: 2;RKI:48		2023-01-06	2019-12-15	2	0	1	49	8	Lebensmittel:1;Tier:7	true	true	true	watching	normal
15	Enteritidis	BfR:6;LGL:1;RKI:8		2023-01-12	2020-03-19	1	0	2	9	5	Lebensmittel:4;Tier:1	true	true	true	watching	normal
28	Enteritidis	BfR: 6;RKI:22		2023-01-31	2020-01-14	1	0	3	22	5	Lebensmittel:5	true	true	true	watching	normal
13	Enteritidis	BfR: 1;RKI:12		2023-01-01	2021-08-09	1	0		11	1	Lebensmittel:1	true	true	true	watching	normal

GenoSalmSurv- Anpassung des Workflows



GenoSalmSurv - Screencasts

Detaillierte Beschreibung der GenoSalmSurv-Projekts und verwendeter Pipelines,
Demovideo zur Ausbruchsanalyse
per Videoauszeichnung:



GenoSalmSurv
screencasts

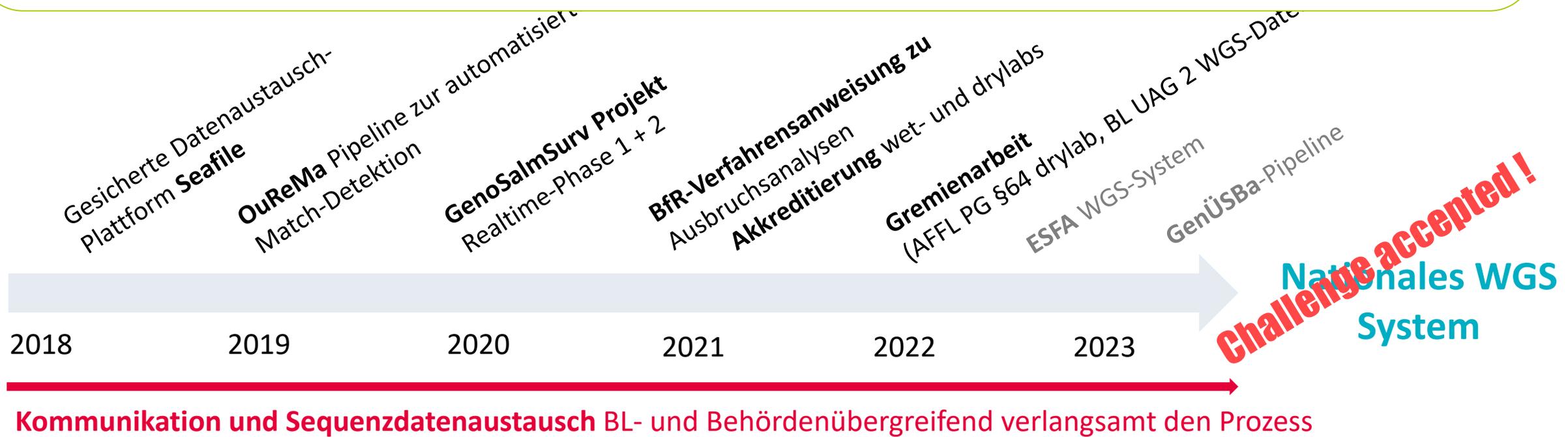
Abrufbar über die BfR Homepage:
https://www.bfr.bund.de/de/integrierte_genombasierte_surveillance_von_salmonellen__genosalmsurv_243249.html

- das Projekt
- die Pipelines
- AQUAMIS und die QC Entscheidung
- Allele calling mit chewieSnake
- Gemeinsame GenoSalmSurv Datenbank
- Metachewiereport + Interpretation
- Demo einer Ausbruchsanalyse
- Installationshilfe

BfR-Homepage
RKI-Homepage
LGL-Homepage

Zusammenfassung - Herausforderungen und Lösungswege

- ✓ Nationales WGS Datenmanagement und kluge Kommunikationswege sind Voraussetzung die neue WGS-Power voll ausschöpfen zu können
- ✓ Verteilung der Kapazitäten auf 16 BLs mit direkten Handlungsmöglichkeiten
- ✓ Hoffnung nicht nur Ausbrüche aufzuklären sondern auch prospektiv zu verhindern



Danke !!

Carlus Deneke

Laura Uelze

Maria Borowiak

Holger Brendebach

Burkhard Malorny

4NSZ des BfR

Sylvia Kleta

Stefanie Lüth

NRL des BfR

Natalie Becker

Thomas Schewe

Birgit Vossenkuhl

BVL

Sandra Simon

Michael Pietsch

Anika Meinen

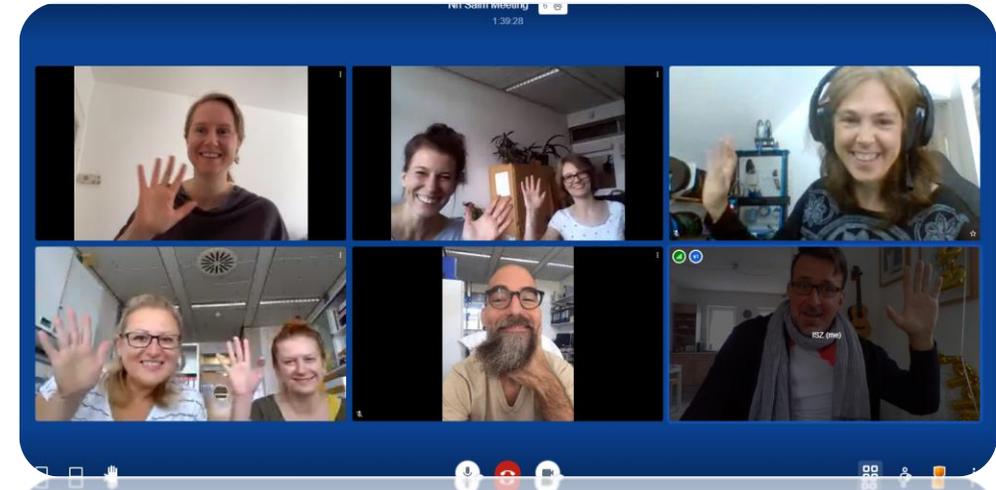
Robert Koch-Institut

Sabrina Heppner (LGL)

Alexandra Dangel (LGL)

Ekkehard Hiller (CVUA-Stuttgart)

LGL, CVUA-S



Und Danke an mein tolles Team im *NRL-Salmonella!*



**Danke an ein tolles motiviertes
GenoSalmSurv Team!**

Jennie Fischer

T +49 30 18412-24222

Jennie.fischer@bfr.bund.de

Bundesinstitut für Risikobewertung

bfr.bund.de

BfR | Risiken erkennen –
Gesundheit schützen

Verbraucherschutz zum Mitnehmen

BfR2GO – das Wissenschaftsmagazin des BfR

bfr.bund.de/de/wissenschaftsmagazin_bfr2go.html

Folgen Sie uns

 @bfrde | @bfren | @Bf3R_centre

 @bfrde

 youtube.com/@bfr_bund

 social.bund.de/@bfr

 linkedin.com/company/bundesinstitut-f-r-risikobewertung