

# Salmonella Bovismorbificans in Sprossen

## Grenzüberschreitender Ausbruch Sommer 2014

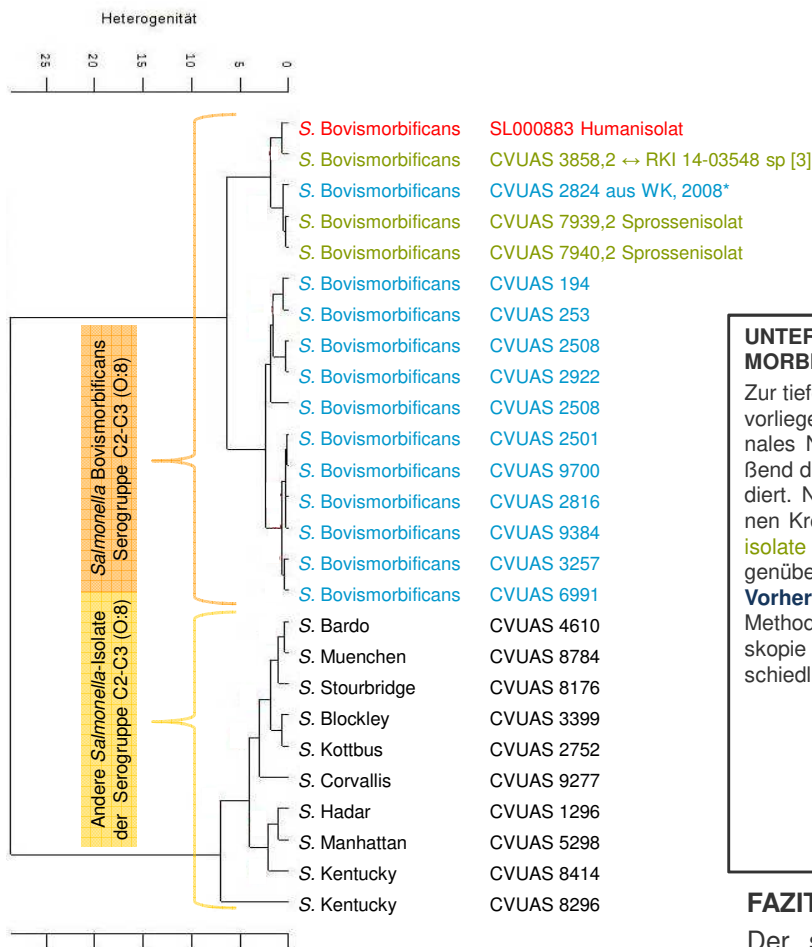
### – Analyse von Isolaten per FTIR-Spektroskopie –

Oberreuter, H.<sup>1</sup>, Aichinger, E.<sup>2</sup>, Adam, M.<sup>2</sup>, Rau, J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart, Schaflandstraße 3/2, 70736 Fellbach; Helene.Oberreuter@cvuas.bwl.de  
<sup>2</sup> Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg im Regierungspräsidium Stuttgart (LGA), Nordbahnhofstraße 135, 70191 Stuttgart

#### EINLEITUNG

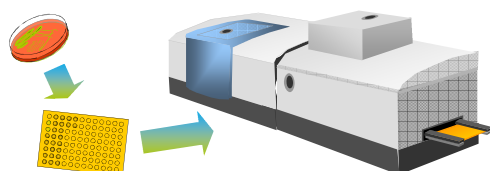
Ende Juli 2014 wurde durch süddeutsche Überwachungsämter ein Salmonellose-Ausbruch, verursacht durch *Salmonella enterica ssp. enterica* Serovar Bovismorbificans [6,8:r:1,5], mit ≥ 63 Erkrankten beobachtet. Auch in der Schweiz kam es in den Folgewochen zu ≥ 23 Erkrankungen. Durch die Zusammenarbeit der jeweiligen Gesundheitsämter, dem LGA und den Lebensmittelüberwachungsbehörden konnten als gemeinsame Ausbruchsursache kontaminierte Sprossen identifiziert werden, die von einem Großhändler vertrieben und in mehreren Restaurants vor allem in den Landkreisen Konstanz und Friedrichshafen zur Dekoration von frischen Salaten verwendet worden waren. Die Isolate wurden hier per Fourier-Transform Infrarot (FTIR) - Spektroskopie im Umfeld anderer Isolate inkl. solchen desselben Serotyps evaluiert.



**Abb 1** Clusteranalyse von *S. Bovismorbificans* im Zusammenhang mit anderen Isolaten der Serogruppe C2-C3. Prozedere: Aufnahme der Infrarotspektren am FTIR-Spektrometer Tensor 27 mit HTS-XT im Wellenzahlbereich 400-4000 cm<sup>-1</sup> (Bruker, Ettlingen). Erstellung von ≥ 26 Absorptionsspektren pro Isolat > Bildung von Mittelwertspektren > Clusteranalyse (2. Ableitung > Wellenzahlfenster 600-1800 cm<sup>-1</sup> > auf 1. Bereich skalieren > Ward's Algorithmus).  
<sup>1</sup> *S. Bovismorbificans* CVUAS 2824 isoliert aus einem Wiederkäuer, 2008.  
Alle Einzelspektren wurden mit Hilfe eines etablierten KNN (NeuroDeveloper Software, Synthon, Heidelberg) zur Differenzierung von *Salmonella* O-Serogruppen [1] der Serogruppe C2-C3 (O:8) zugeordnet.

#### FTIR-CLUSTERANALYSE

Die Clusteranalyse (**Abb 1**) zeigte mehrere Untergruppen innerhalb der *S. Bovismorbificans*-Isolate. Andere Serovare (n=9) derselben Serogruppe C2-C3 wurden abgetrennt. Das humane Referenzisolat wurde demselben Ast wie die drei Sprossenisolate zugeordnet, wodurch die PFGE-Analyse [3] bestätigt wurde.



#### S. BOVISMORBIFICANS AUS SPROSSEN

Die Salmonellenisolate wurden am CVUA Stuttgart aus den kontaminierten Lebensmitteln nach §64 LFGB ASU isoliert, serotypisiert und im Genus auch per MALDI-TOF MS bestätigt. Aus drei Sprossenmischungen wurde jeweils ein Isolat gewonnen. Als Referenz diente ein Humanisolat aus dem Erkrankungsgeschehen vom LGA. Zum Vergleich standen darüber hinaus weitere zwölf *S. Bovismorbificans*-Isolate mit überwiegender Herkunft aus Lebensmitteln und veterinärmedizinischen Proben aus der CVUAS-Isolatesammlung zur Verfügung (**Abb 1**).

#### UNTERSCHIEDUNG AUSBRUCHSISOLATE VS. ANDERE S. BOVISMORBIFICANS - ISOLATE

Zur tiefergehenden Differenzierung der Ausbruchs isolate von den anderen vorliegenden *S. Bovismorbificans*-Isolaten wurde ein Künstliches Neuronales Netz (KNN) mithilfe eines Spektrensubsets trainiert und anschließend die Diskriminierungsgüte mithilfe eines weiteren Subsets extern validiert. Nachfolgend wurden beide Subsets zur Durchführung einer externen Kreuzvalidierung vertauscht [1]. Im Ergebnis wurden die Ausbruchs isolate mit einer Sensitivität von 100% und einer Spezifität von 98% gegenüber den anderen Isolaten erkannt (Konfusionsmatrix **Tab 1**). Die Vorhersagegenauigkeit der Nicht-Ausbruchs isolate betrug 100%. Da zur Methodenerstellung nur wenig Aufwand nötig ist, bietet die FTIR-Spektroskopie damit eine schnelle Möglichkeit zur Feindifferenzierung unterschiedlicher Isolate.

Tatsächlich	Vorhersage		
	Ausbruchs isolate	andere <i>S. Bov.</i> -Isolate	unsicher
Ausbruchs isolate	100% (n=24)	—	—
andere <i>S. Bov.</i> -Isolate	2% (n=2)	98% (n=94)	—
Vorhersage-Genauigkeit	92%	100%	n/a

**Tab 1** Diskriminierungsgüte des KNN in der Darstellung per Konfusionsmatrix: Sensitivität (Richtig-Positiv-Rate) und Spezifität (Richtig-Negativ-Rate) bezogen auf die im Ausbruch involvierten Isolate, sowie Genauigkeit (positiver Vorhersagewert) (Mittelwerte der Kreuzvalidierungen; n=Anzahl der Einzelspektren; Zellenwerte addieren zu 100%).

#### FAZIT

Der spektroskopische Abgleich zwischen Human- und Sprossenisolaten bestätigte sowohl die anhand der Verzehranamnesen bereits vermuteten Sprossen als Infektionsquelle [2] als auch die PFGE-Typisierung [3]. Wie in der Vergangenheit bereits demonstriert (u.a. [4]), eignet sich die FTIR - Spektroskopie gut für einen schnellen Abgleich unterschiedlicher Isolate im Fall eines lebensmittelbedingten Erkrankungsausbruchs. Wiederholte mit Sprossen in Verbindung gebrachte Erkrankungsausbrüche weisen darauf hin, dass Sämlinge häufiger mit pathogenen Keimen kontaminiert sind (z.B. [5,6]).

#### LITERATUR

- [1] Oberreuter H & Rau J, 2015. Dt Lebensmittel-Rundschau 111(12):498-502
- [2] Aichinger, E, 2014. Infektionsbericht BW 34:3-4
- [3] Knoblauch AM *et al.*, 2015. Swiss Med Wkly 145:w14182
- [4] Fetsch, A *et al.*, 2014. Int J Food Microbiol 187:1-6
- [5] Rimhanen-Finne R *et al.*, 2011. Zoonoses Public Hlth 58(8):589-96
- [6] Buchholz U *et al.*, 2011. N Engl J Med 365(19):1763-70

