



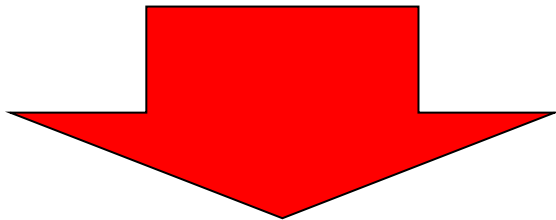
# Vorkommen Shiga-Toxin bildender *Escherichia coli* in Getreidemehlen

Dietrich Mäde  
Anne-Catrin Geuthner  
Rainer Imming  
Amal Wicke

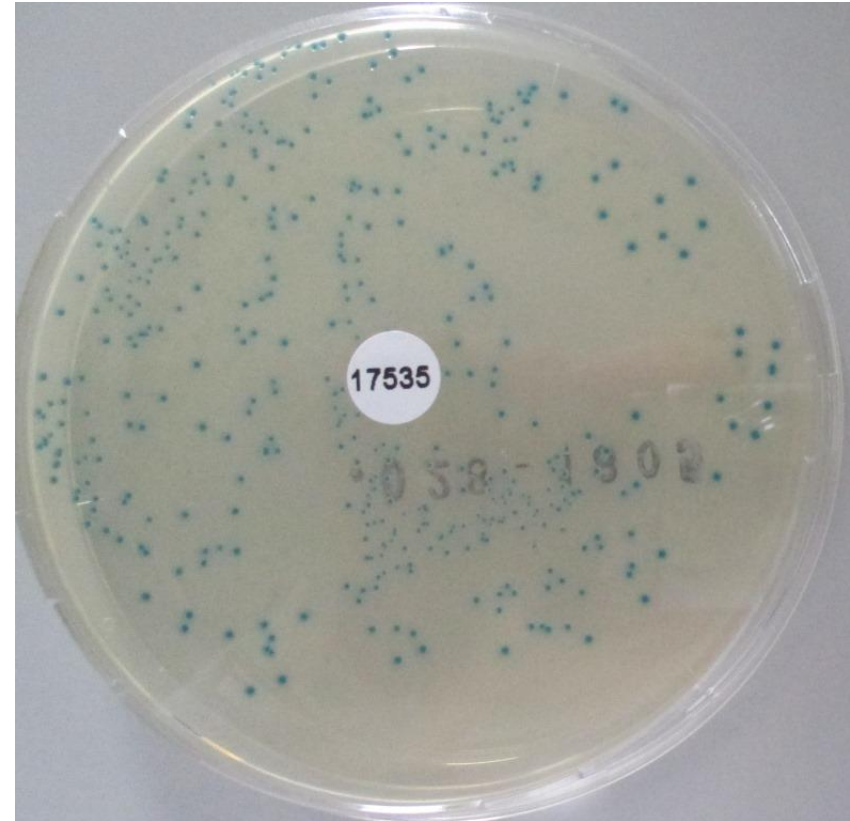


## Zufallsfund 2014

- Mikrobiologische Untersuchung von Getreidemehlen:
  - 1 Kolonie E. coli im Direktausstrich
- Molekularbiologische Abklärung:
  - Es war ein STEC.



Landesprogramm 2015-17



# Shiga-Toxin bildende *E. coli* in Mehl

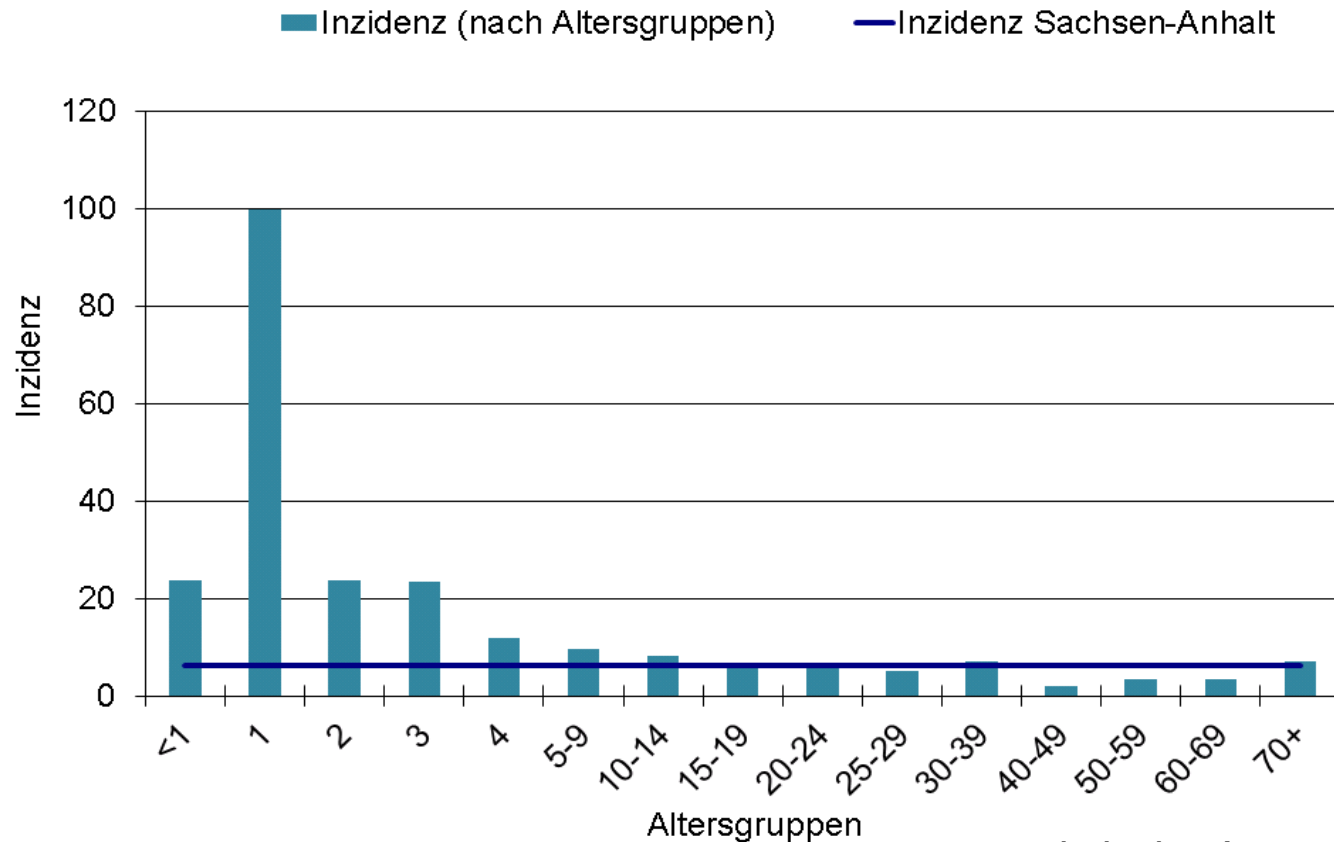
## Risiken

- Naschen von Teig (Kinder!)
- Speiseeis mit Keksteig
- Kreuzkontaminationen

- USA: Rückruf von 65 Mio. Mehlpackungen (Sommer 2016)
- STEC in Cookie Dough
  - Neil et al.: Outbreak of *E. coli* O157:H7 Infections. CID 2012;54 p. 511



# Altersverteilung von EHEC bei Patienten in ST



statistische Auswertung  
durch Dr. Carina Helmeke,  
LAV LSA

# Nachweis Shiga-Toxin bildender *E. coli* in Mehl

- Voranreicherung in BPW
  - 18 h bei 37 °C → Revitalisierung subletal geschädigter Zellen
- Spezifische Anreicherung auf TBX-Agar
  - 24 h bei 44 °C → Reduktion der Hintergrundflora



39 % aller (Teil-) Proben molekularbiologisch positiv

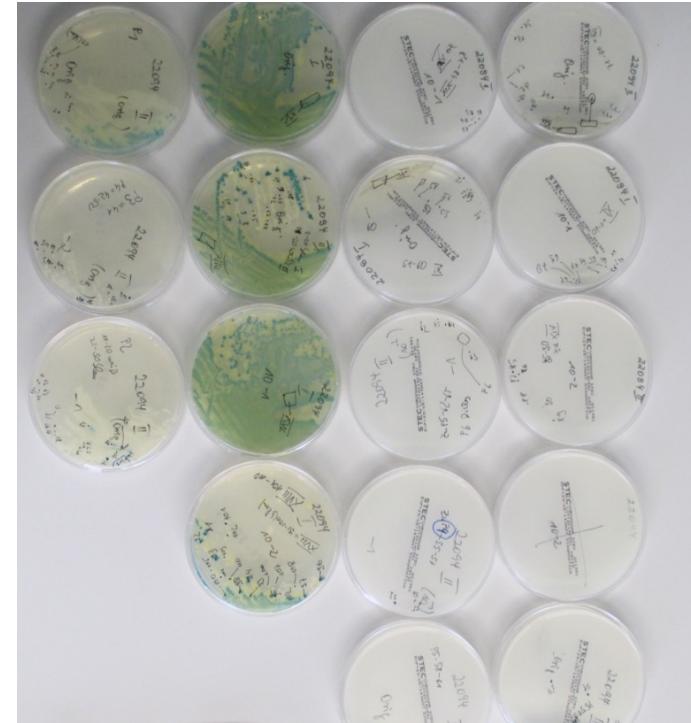
Oktober 2017

Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB		
L	Untersuchung von Lebensmitteln Qualitativer Nachweis von Shiga-Toxin bildenden <i>Escherichia coli</i> (STEC) in frischen pflanzlichen Lebensmitteln Multiplex real-time PCR-Verfahren	25.00
		6



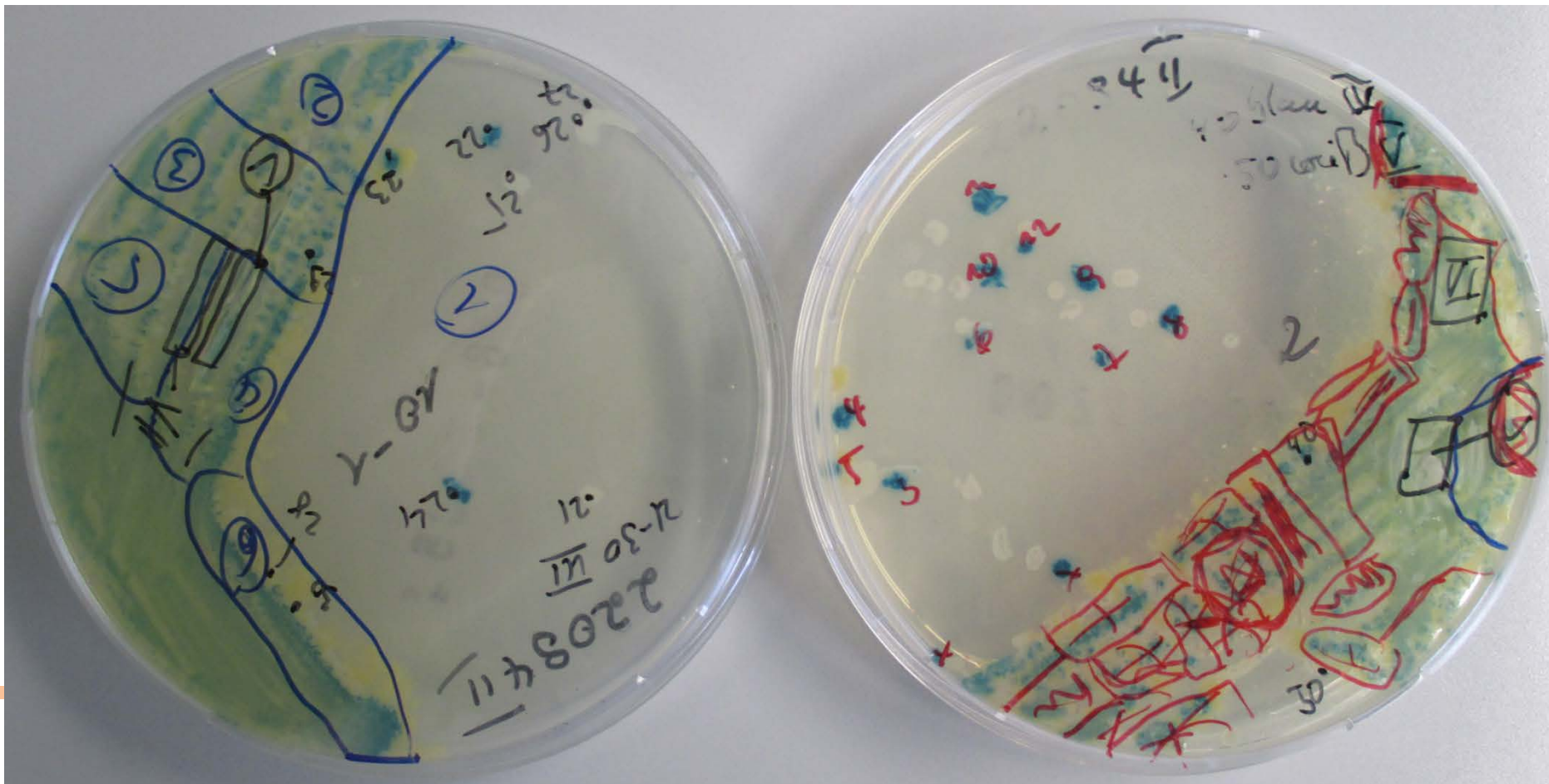
# Isolierung Shiga-Toxin bildender *E. coli* aus Mehl

- Ausstreichen von Abschwemmungen von beiden TBX-Nährböden sowie einer Rückstellprobe BPW auf TBX-Agar und Chromagar STEC in drei Verdünnungsstufen (unverdünnt,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ )
  1. Stufe: Poolen von ca. 100 verdächtigen Kolonien
    - Molekularbiologische Analyse in Pools á 10 Kolonien + Analyse vom „dicken“ Teil des Ausstriches
  2. Stufe: „500 Kolonien“ – Methode
    - Abnehmen und Subkultivieren alle Kolonien der positiven Platten



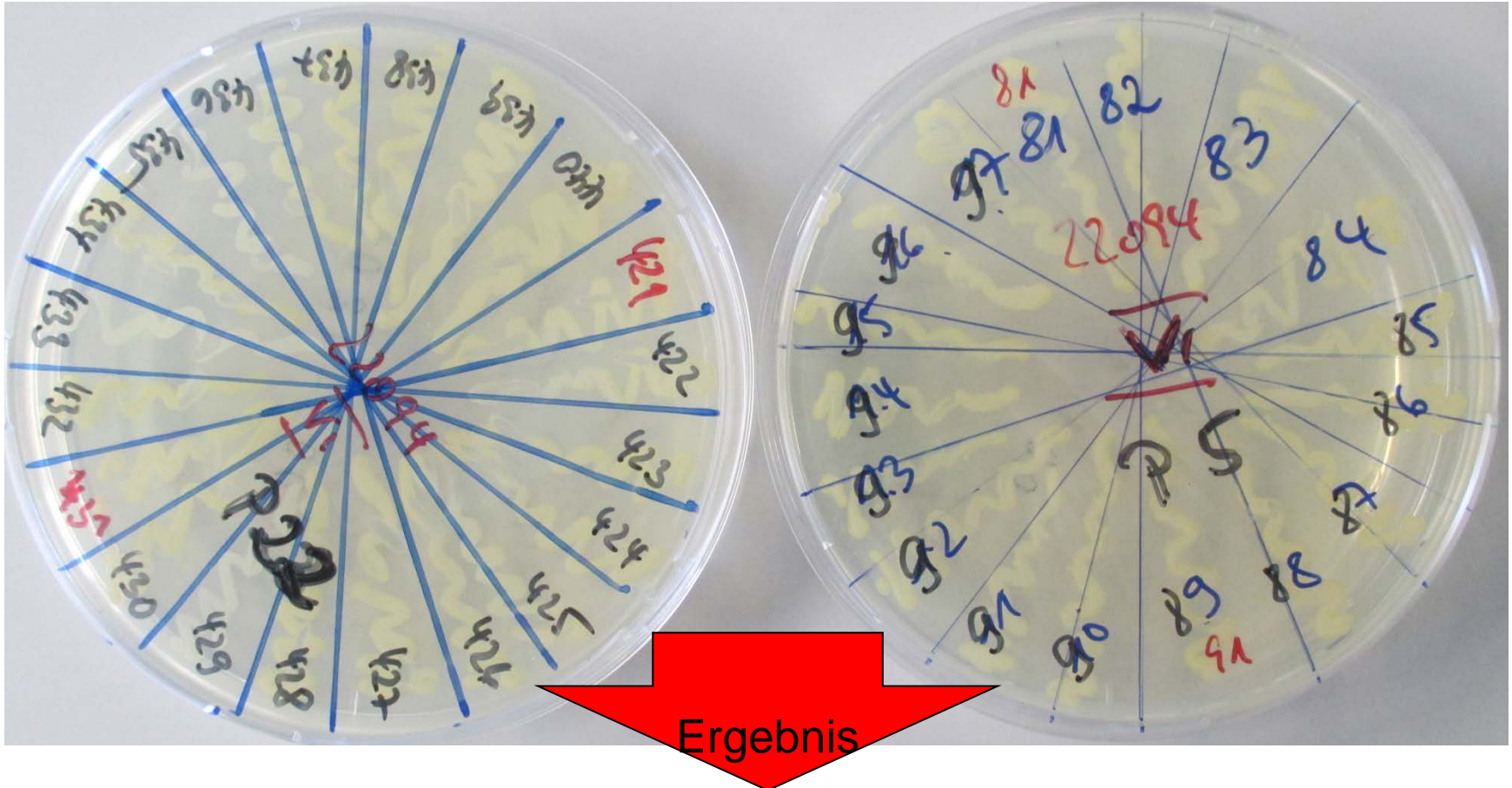
# 500 Kolonien - Methode

- Picken mit Zahnstocher
- Subkultur auf einfachen Nähragar – 20 Kolonien pro Platte



# 500 Kolonien Methode

- Mol. Analyse in Pools á 20 Kolonien = 1 Platte



Erregerisolierung in 19 % aller Einsendungen

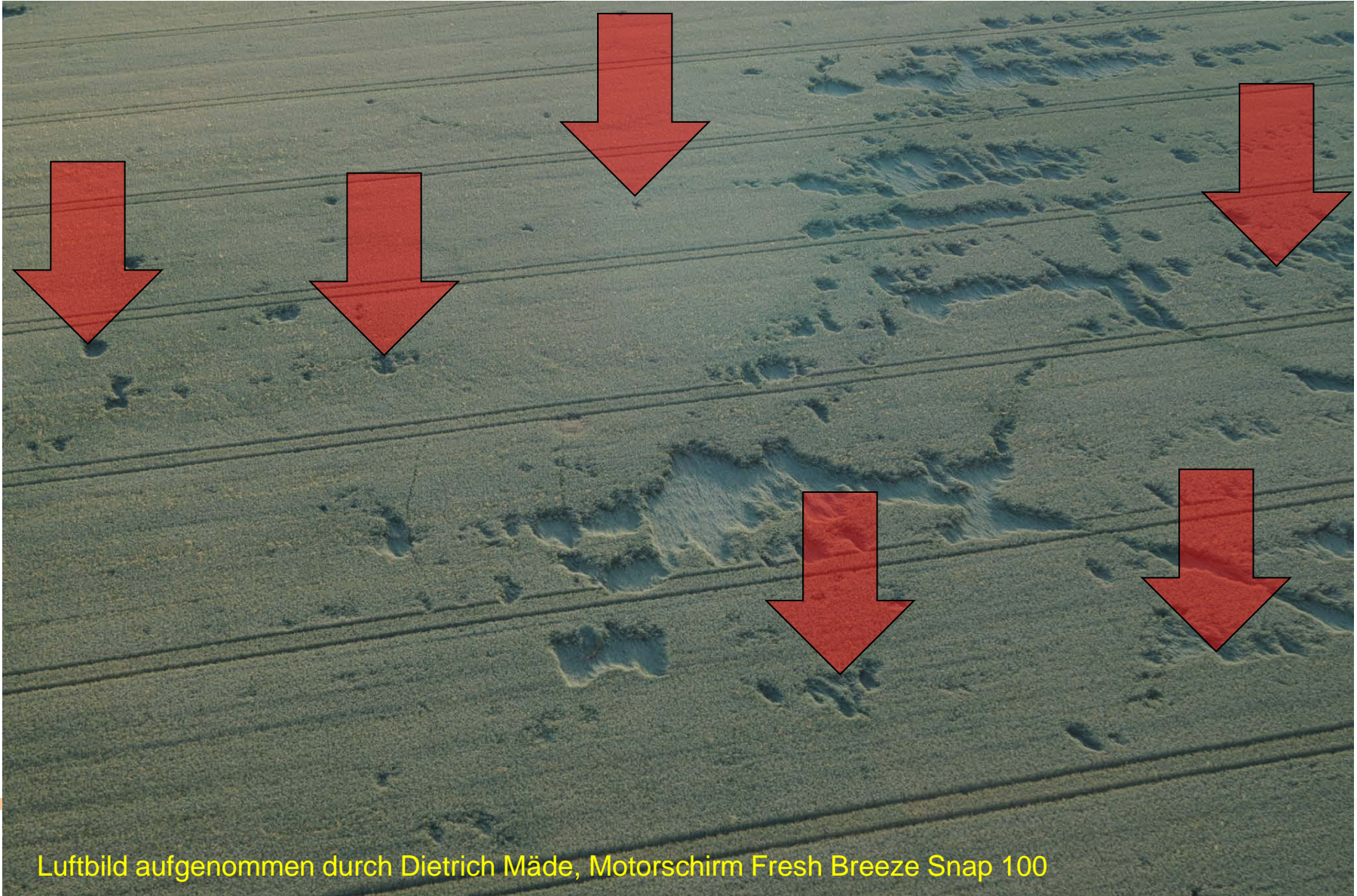




SACHSEN-ANHALT

Landesamt für  
Verbraucherschutz

# Getreide ist nicht keimfrei: Lagerstellen von Schalenwild in einem Getreideschlag



Luftbild aufgenommen durch Dietrich Mäde, Motorschirm Fresh Breeze Snap 100

# Einflussfaktoren auf Nachweis und Isolierung von STEC in Mehl

## 1. Präsenz von *E. coli* in Mehl

<i>E. coli</i>	n	mol. pos.	mol. neg.	mol. Nachweisrate	Statistik
< 10 KbE/g (n.n.)	61	18	43	0.30	X <sup>2</sup> = 7.1018 df = 1 p-value = 0.0077
> 10 KbE/g	35	20	15	0.57	
	n	Isolier. pos.	Isolier. neg.	STEC Isolierungsrate	
< 10 KbE/g (n.n.)	51	12	39	0.24	X <sup>2</sup> = 1.1182 df = 1 p-value = 0.2903
> 10 KbE/g	35	5	30	0.14	

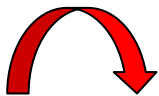


*E. coli* (quantifizierbar) korreliert mit STEC, stört jedoch die Isolierung

# Einflussfaktoren auf Nachweis und Isolierung von STEC in Mehl

## 2. Pflanzenart

Spezies	n	mol. pos.	mol. neg.	mol. Nachweisrate	Statistik
Roggen	15	6	9	0.40	$X^2 = 0.0112$ df = 1 p-value = 0.9158
Weizen	83	32	51	0.39	
	n	Isolier. pos.	Isolier. neg.	STEC Isolierungsrate	
Roggen	15	4	11	0.27	$X^2 = 0.62648$ df = NA p-value = 0.4923
Weizen	73	13	60	0.18	



Pflanzenart hat keinen Einfluss auf STEC in Mehl



# Einflussfaktoren auf Nachweis und Isolierung von STEC in Mehl

## 3. Methodik der Probenahme

Sub-samples	n	mol. pos.	mol. neg.	mol. Nachweisrate	Statistik
1	42	8	34	0.19	$X^2 = 12.314$ df = NA p-value = 0.0015
2 od. 9	9	7	2	0.78	
	n	Isolier. pos.	Isolier. neg.	STEC Isolierungsrate	
1	42	7	35	0.17	$X^2 = 7.4239$ df = NA p-value = 0.0205
2 od. 9	8	4	4	0.50	



Probenahme mit mehreren Subsamples erhöht Nachweisrate





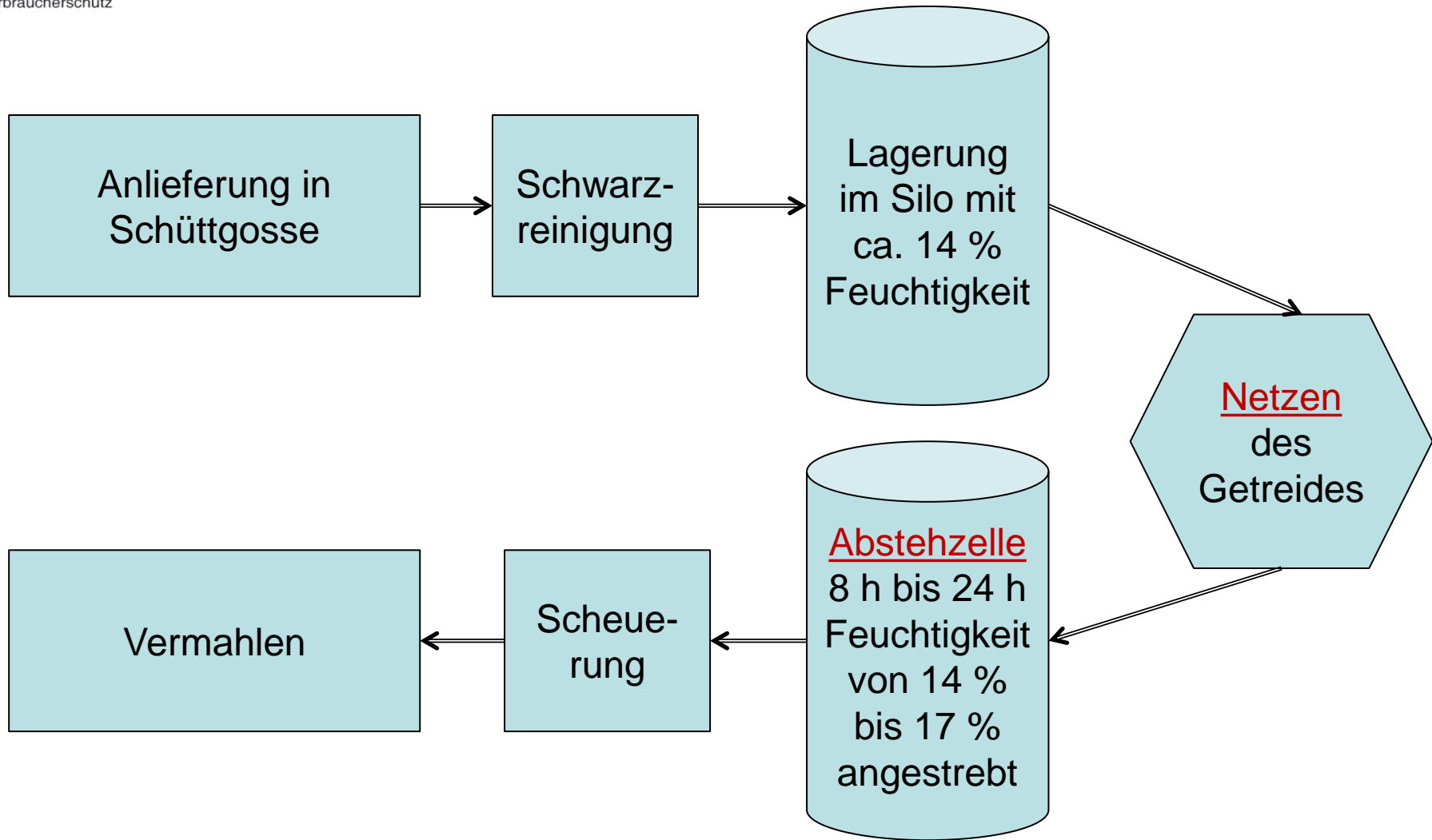
# Einfluss des Mühlenbetriebes

Code	n	mol. pos.	mol. in %	isoliert	ioliert in %	Statistik
Mühle A	1	0	0	0	0	mol. Nachweis $X^2 = 78,46$ $df = 12$ $p\text{-value} = < 0,05$ $(8,054 \cdot 10^{-12})$
Mühle B	4	1	25	0	0	
Mühle C	5	2	40	1	20	
Mühle D	12	8	67	5	42	
Mühle E	12	9	80	6	50	
Mühle F	2	1	50	1	50	isoliert $X^2 = 94,15$ $df = 12$ $p\text{-value} = < 0,05$ $(7,736 \cdot 10^{-12})$
Mühle G	9	3	33	3	33	
Mühle H	10	3	30	1	10	
Mühle I	1	0	0	0	0	
Mühle J	2	0	0	0	0	
Mühle K	6	5	83	5	83	
Mühle L	6	0	0	0	0	
Mühle M	6	4	67	3	50	



Korrelation des Nachweis von STEC zu den Betrieben → Hygiene (?)

# Mühlentechnologie



# Hygieneleitlinie für Getreidemühlen des Verbandes Deutscher Mühlen e.V. 2016

## Punkt 3.2.3.2:

Um minimale mikrobiologische Werte zu erreichen, müssen Netzung und Konditionierung überwacht werden.

- Innenreinigung der Netzgeräte und der Abstehezellen in regelmäßigen Abständen als Bestandteil des Reinigungsplanes (→ wöchentlich)

## Punkt 3.2.4:

Um eine Beeinträchtigung des Mahlgutes zu vermeiden, ist im Vermahlungsprozess Folgendes zu beachten:

- eine saubere, regelmäßig gereinigte Netzschncke
- eine hygienisch einwandfreie Abstehezelle

# Ablagerung aus einer Getreidemühle

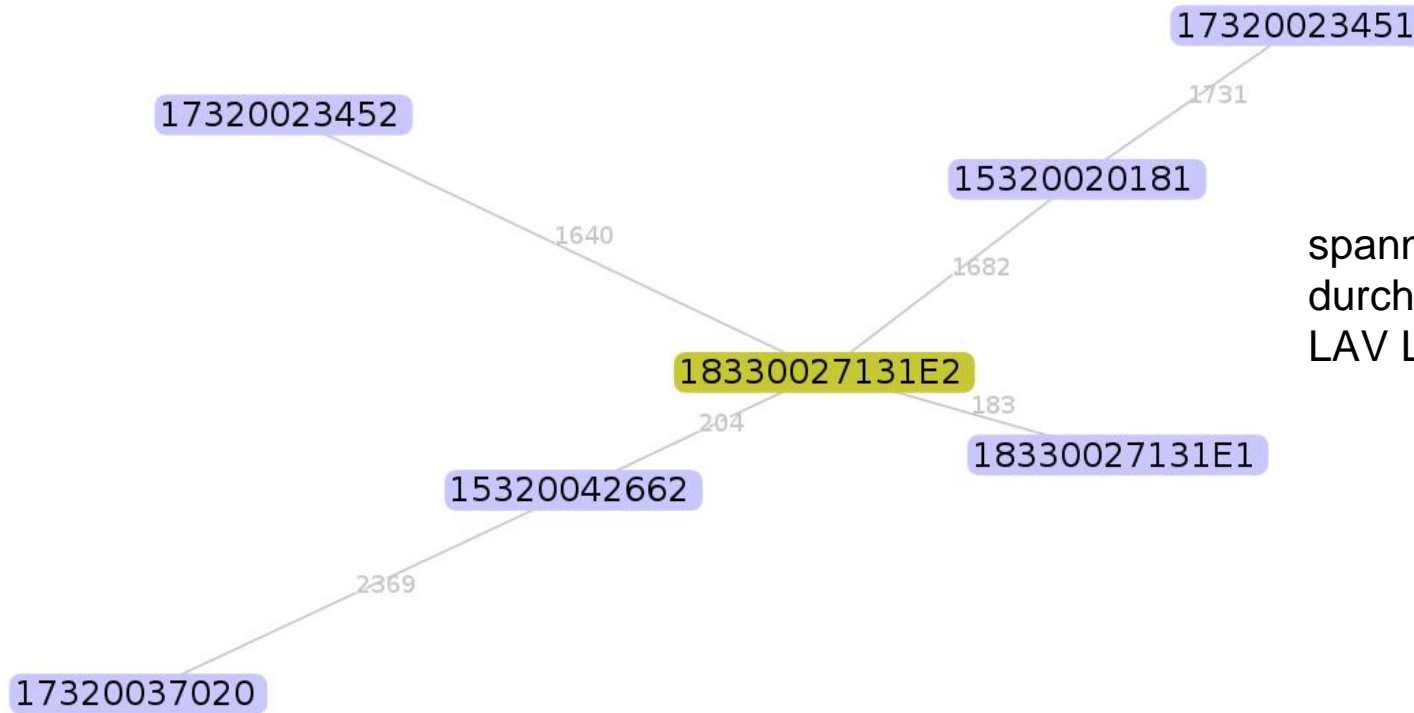


- Einbringen von Wasser in Produktion bei Netzung
- Bildung von Staubablagerungen in Abstehtzellen
- Inkubation
- **Nachweis von STEC in Ablagerungen**
- Vermahlung und Kontamination von Mehl



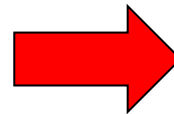


# Stammvergleich aus einer Mühle durch cgMLST



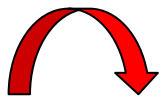
spanning tree erstellt  
durch Markus Bönn,  
LAV LSA

STEC-Isolate aus einer  
Großmühle mit 7 Abstehezellen  
differieren erheblich im Verlauf  
der Jahre



zyklische Besiedlung der  
kritischen Bereiche und  
Dekontamination durch R+D

# Fazit



Das Risiko einer Kontamination kann durch  
Reinigung und Desinfektion vermindert werden