

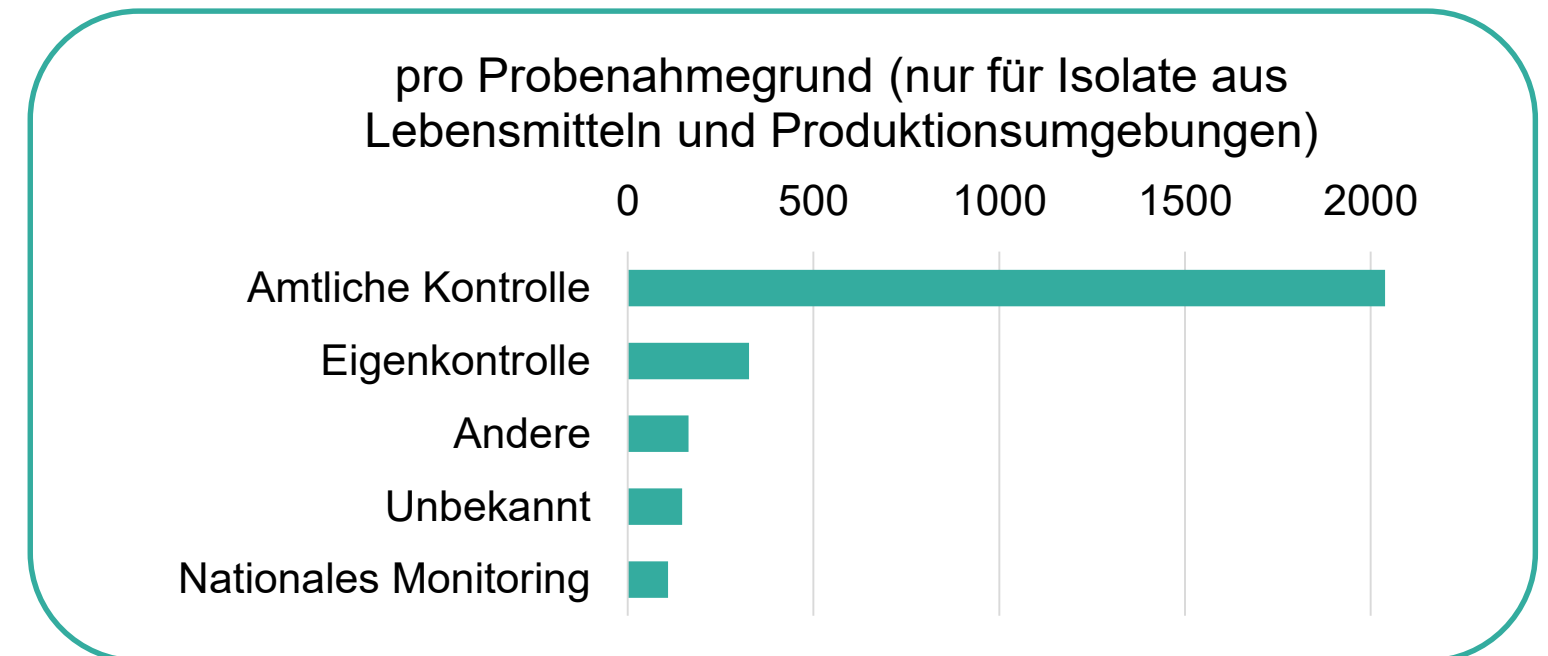
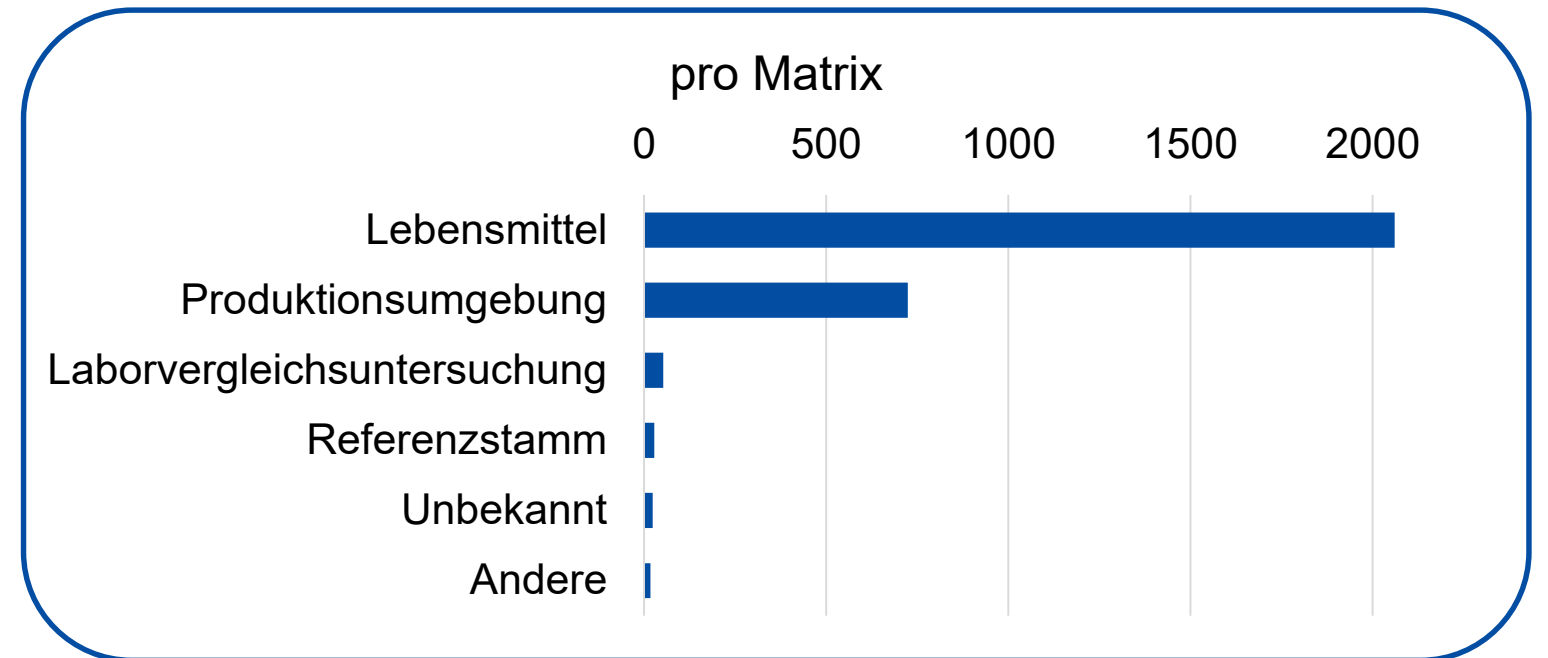
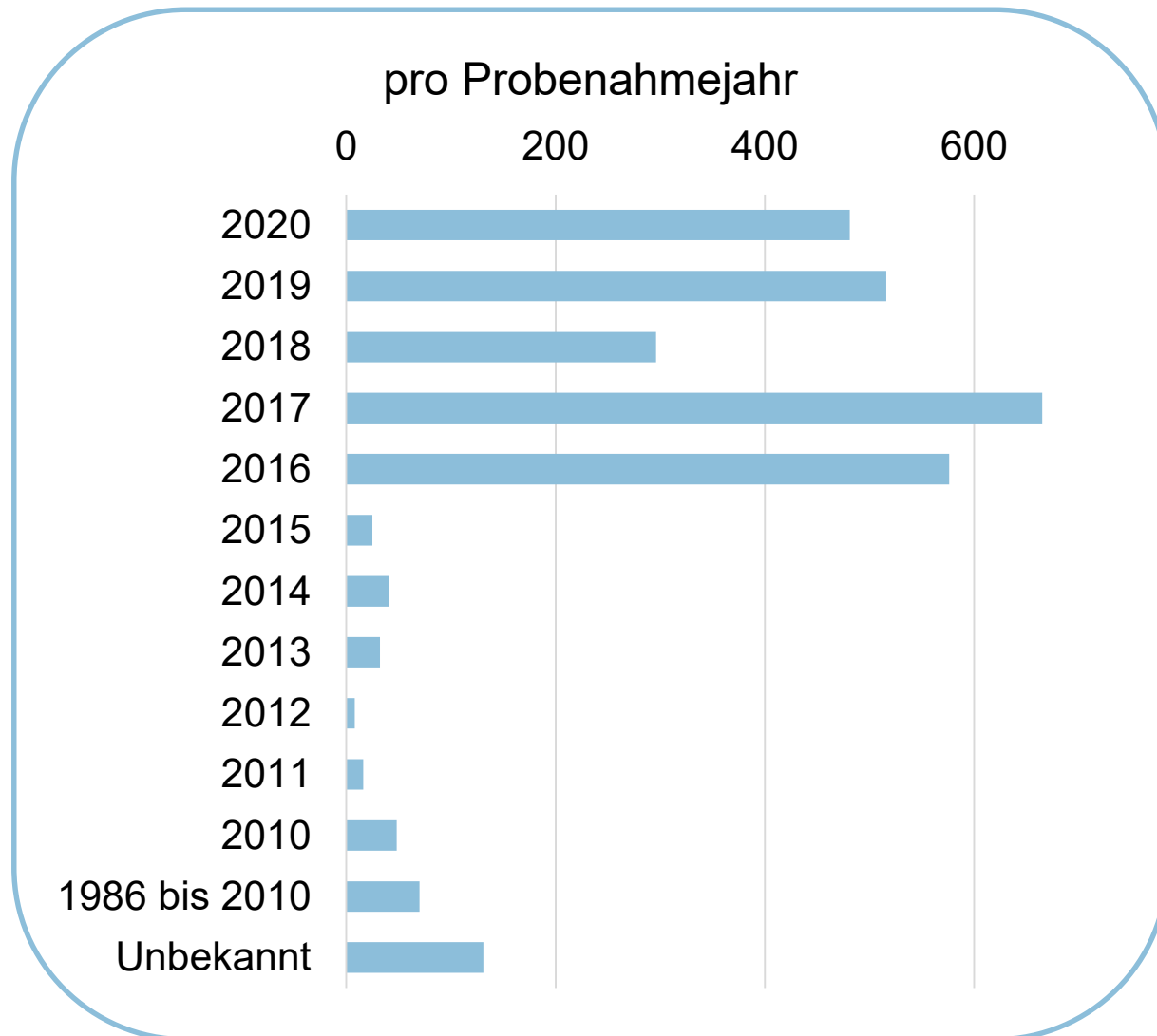
WGS-basierte Typisierung von Listerien am BfR

Stefanie Lüth

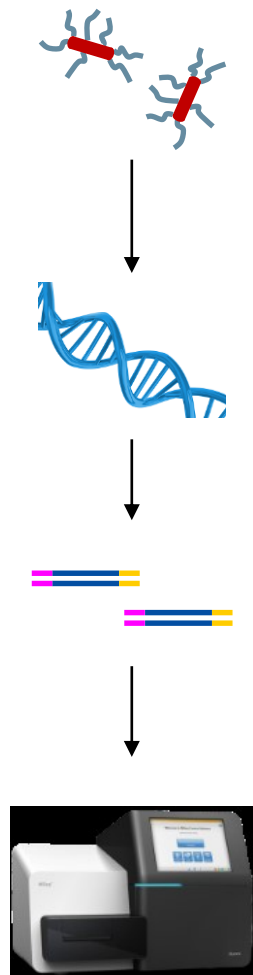
Sequenzierte *Listeria monocytogenes*-Isolate

n = 2905

Stand November 2020



WGS-Typisierung im Detail



Schritt	Details	Qualitätskontrolle
1. Anzucht	<ul style="list-style-type: none">• Reinkultur auf Schafblutagar	<ul style="list-style-type: none">• Kolonie-Morphologie• Hämolyse
2. DNA Isolation	<ul style="list-style-type: none">• Lyse nach PulseNet SOP PNL32• Extraktion mit QIAamp DNA Mini Kit	<ul style="list-style-type: none">• NanoDrop• Qubit
3. Vorbereitung der DNA-Bibliothek	<ul style="list-style-type: none">• Illumina DNA Prep Kit	<ul style="list-style-type: none">• Fragment Analyser• Qubit
4. Sequenzierung	<ul style="list-style-type: none">• MiSeq• NextSeq• iSeq	<ul style="list-style-type: none">• AQUAMIS

Assembly-based Quality Assessment for Microbial Isolate Sequencing



Assembly report for run fastq_dataset

Overview

[Short summary table](#)

[Detailed assembly table](#)

[Detailed trimming table](#)

[Kraken2 results](#)

[Contamination results](#)

[Plots per run](#)

[Plots per sample](#)

[Program versions/ log](#)

[Help](#)

- Run name: PT_EURL_WGS_2020
- Number of completed samples: 6
- Number of fails: 0
- Run directory: /cephfs/abteilung4/NRL_Listeria/PT_EURL_WGS_2020/fastq_dataset/aquamis_results
- Location of trimmed fastq files: /cephfs/abteilung4/NRL_Listeria/PT_EURL_WGS_2020/fastq_dataset/aquamis_results/trimmed
- Location of fasta files: /cephfs/abteilung4/NRL_Listeria/PT_EURL_WGS_2020/fastq_dataset/aquamis_results/Assembly/assembly

Automatische Qualitätskontrolle (Testphase)

Parameter	Wert
Coverage	> 30-fach
Q30-Wert	> 0,8
Gesamtlänge Assembly	> 2.500.000 bp und < 3.500.000 bp
Anteil der hauptsächlich gefundenen Spezies	0,9
Anzahl Contigs	< 100.000

In der Diskussion: Schwellenwert für Kontamination

Infos über: MLST, Resistenzgene, Plasmide, Virulenzgene

Database for species Listeria

Summary table [Overview of resistance genes](#) [Overview of plasmidfinder markers](#) [Overview of virulence genes](#)
[List of resistance genes](#) [List of plasmid markers](#) [List of virulence genes](#) [Extra reports for species Listeria](#) [Data files](#) [Version info](#)

The database table is searchable and sortable.

[Copy](#) [Print](#) [Download](#) [Column visibility](#) Show **10** entries

Sample	Details	MLST ST	MLST Formula short	MLST CC	amr genecount	amr genecount aquired	amr genecount points	amr genes	a col class
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	All	<input type="checkbox"/>	All	All	All	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
16-LI00126	Details	8	5;6;2;9;5;3;1	CC8	2	2	0	fosX;lin	

Anwendung und Nutzen WGS *Listeria*

- Ausbruchsuntersuchungen
 - Rück- und Vorwärtsverfolgung von Infektionsquellen
- Betriebshygiene
 - Eintrag und Verbreitung von Genotypen in Betrieben
 - Identifikation von Nischen und Hotspots für *Listeria*
 - Kontrolle Korrekturmaßnahmen
- Wissenschaftliche Fragestellungen – MolTypList
 - Methodenvergleich
 - Auftreten und Verbreitung von Genotypen
 - Source Attribution

Erfolgsgeschichte der WGS für die Ausbruchsaufklärung in Deutschland

- 38 Listeriose-Cluster gematched mit Isolaten aus Lebensmitteln und Produktionsumgebungen
- 19 Cluster Fischerzeugnisse, 15 Cluster Fleischerzeugnisse
- Beispiele für große Ausbrüche:

Dauer	Erkrankungsfälle	Todesfälle	Infektionsquelle	Publikation
2012 – 2016	78	8	Bauchspeck, versch. Wurstsorten	Ruppitsch et al. (2017), Euro Surveill Kleta et al. (2017), Emerg Infect Dis
2013 – 2018	83	5	Frikadellen, versch. verzehrfertige Fleischprodukte	Lüth et al. (2020), Emerg Microbes Infect
2018 – 2019	112	7	Blutwurst	Halbedel et al. (2020), Emerg Infect Dis
2014 – 2019	39	3	versch. Wurstsorten	Lachmann et al. (2020) Clin Microbiol Infect

Forschungsprojekt MolTypList

Listeria monocytogenes-Isolate aus 2016 und 2017

aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

ROBERT KOCH INSTITUT

Klinische Isolate

zufällig ausgewählt

102 Isolate

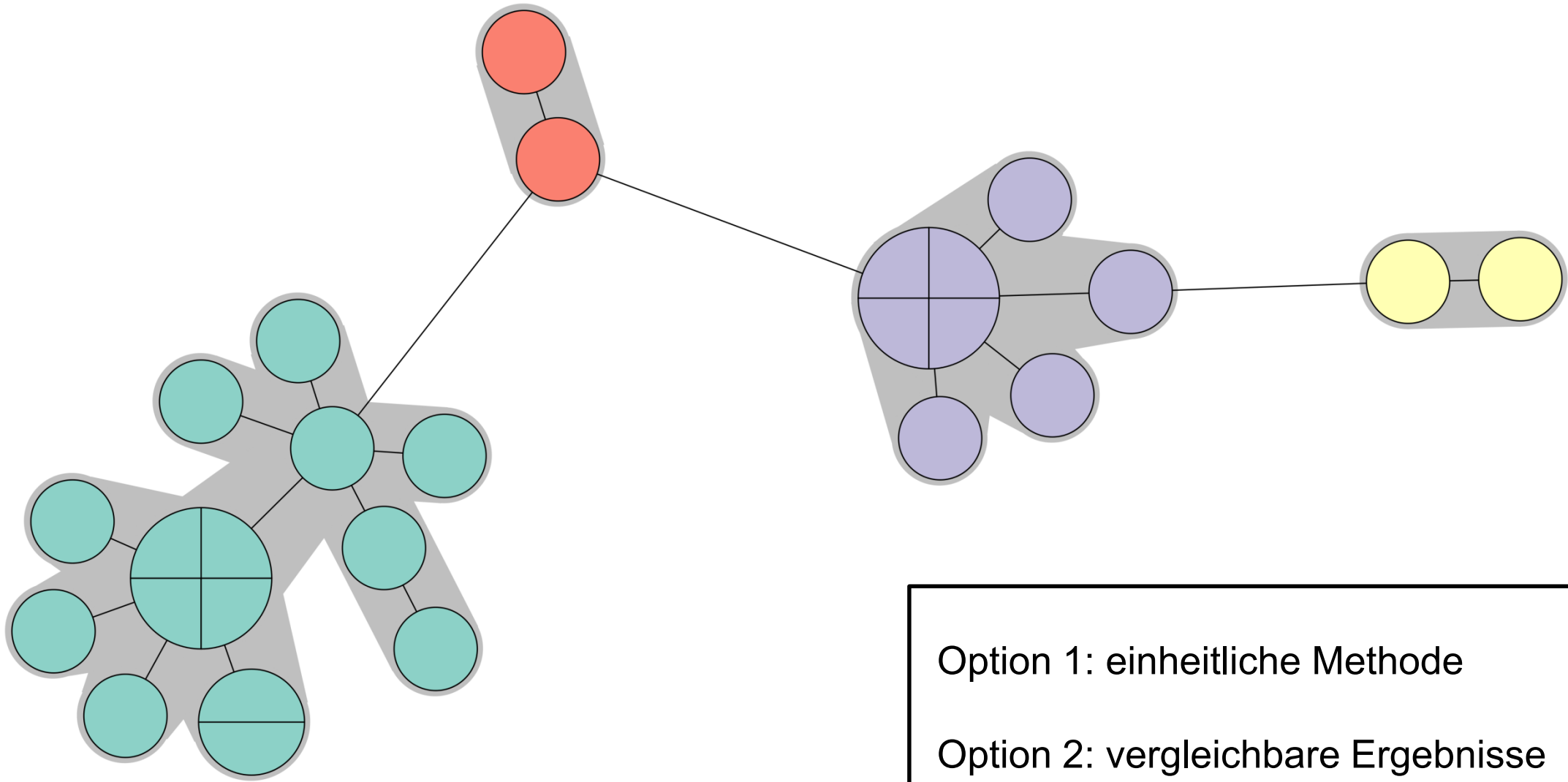

Bundesinstitut für Risikobewertung
Lebensmittelisolate
Isolate aus Produktionsumgebungen

amtliche Proben,
Lebensmittel verzehrfertig

1006 Isolate

Freie Universität  Berlin
Source Attribution

Clustering als Grundlage für die genomische Epidemiologie



Vergleich WGS-basierter Typisierungsmethoden

cgMLST

- Software
- cgMLST Schema

Ridom
SeqSphere+

Ruppitsch et al.

BioNumerics
WGS tools plugin

Moura et al.

chewBBACA

Ruppitsch et al.

SNP Analyse

- Software
- Referenzgenom

BioNumerics

EGDe

Geschl. MLST CC-spezifisch

Draft MLST CC-spezifisch

Snippy

EGDe

Geschl. MLST CC-spezifisch

Draft MLST CC-spezifisch

Lüth und Deneke et al., Microbial Genomics, akzeptiert

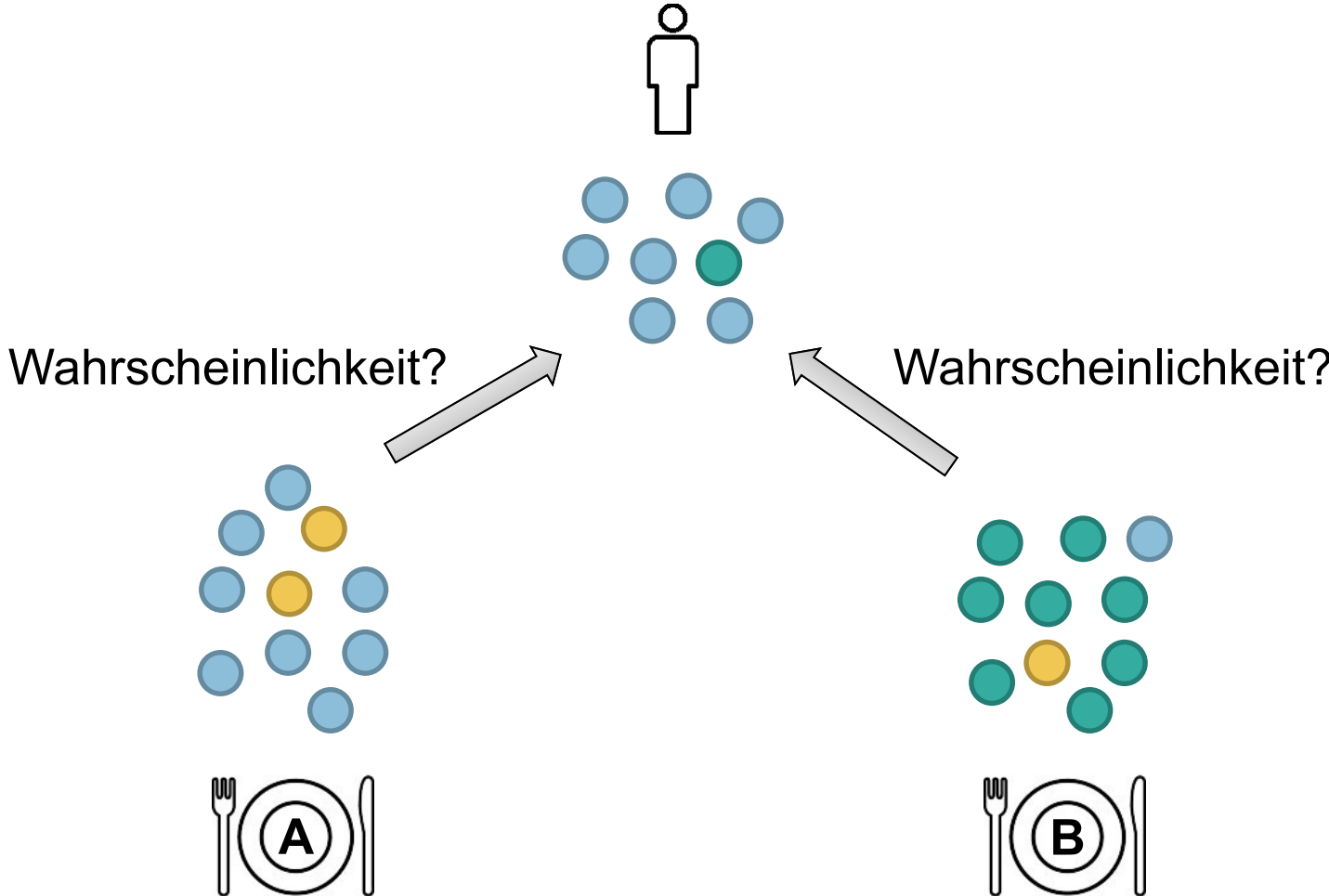
Übersetzungscode zwischen Clustern aus unterschiedlichen Methoden

Akzeptiertes Manuskript im Journal “Microbial Genomics”:

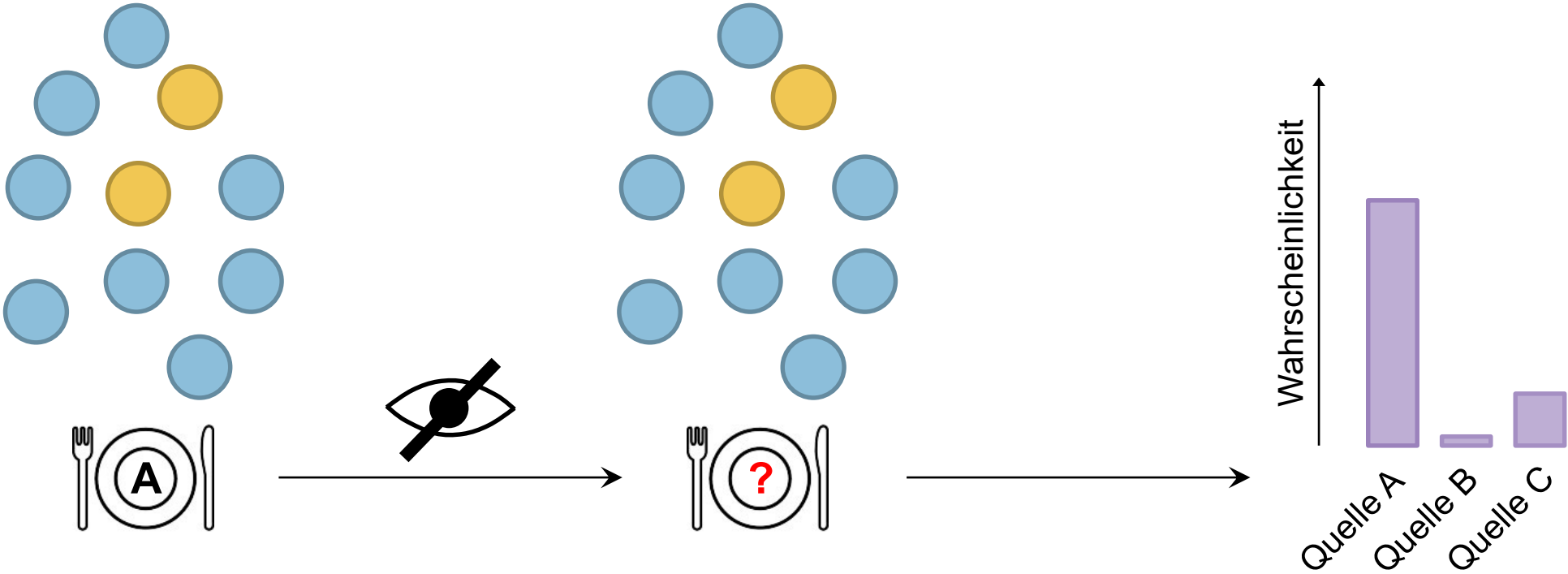
Translatability of WGS typing results can simplify data exchange for surveillance and control of *Listeria monocytogenes*

Lüth S, Deneke C, Kleta S, Al Dahouk S

Source Attribution im MoTypList-Projekt



Qualitätskontrolle: *Self Attribution*



Wunschliste für die *Listeria* Bekämpfung

Was haben wir?

- Erfolgreiche Ausbruchsauflärung
- Nationales Verteilungsmuster, Persistenz in Betrieben
- Übersetzungscode für die Vergleichbarkeit verschiedener WGS-Methoden

Was wollen wir?

- (Inter)nationale Strategie
- Fokus auf Betriebshygiene
- Surveillancedaten für vorausschauende Risikobewertung und Risikomanagement

Danksagung

BfR: FG 47: Produkthygiene und Desinfektionsstrategien und NRL Listeria
4 SZ: Studienzentrum für Genomsequenzierung und -analyse

RKI: FG 11: Bakterielle darmpathogene Erreger und Legionellen
FG 35: Gastrointestinale Infektionen, Zoonosen und tropische Infektionen

FU Berlin: Institut für Veterinär-Epidemiologie und Biometrie

Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit

Lebensmittelkontroll- und Veterinärämter der Länder

Landesgesundheitsämter

MolTypList Projekt



Bundesministerium
für Gesundheit

Nationale
Forschungsplattform
für Zoonosen



BMG-FKZ: GE 2016 03 26

Danke für Ihre Aufmerksamkeit

Stefanie Lüth

Bundesinstitut für Risikobewertung

Max-Dohrn-Straße 8-10 • 10589 Berlin

Telefon 030 - 184 12 - 0 • Fax 030 - 184 12 – 99 0 99

bfr@bfr.bund.de • www.bfr.bund.de