

U+H Universität Hamburg
DER FORSCHUNG | DER LEHRE | DER BILDUNG



LEBENSMITTELCHEMIE HAMBURG | FESTVERANSTALTUNG
14. Juni 2013

COMPETENCE FOR FOOD AWARDS 2012

Hamburg
14. Juni 2013

www.hsfs.org

Seite 1

U+H Universität Hamburg
DER FORSCHUNG | DER LEHRE | DER BILDUNG



Washington DC



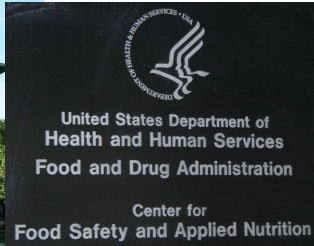
Hamburg
14. Juni 2013

www.hsfs.org

Seite 2




U.S. Food and Drug Administration



U.S. Food and Drug Administration



U+H
Universität Hamburg
DER FORSCHUNG | DER LEHRE | DER BILDUNG




**DEVELOPMENT OF A MOLECULAR SUBTYPING METHOD
&
PHYLOGENETIC AND GENETIC ANALYSIS OF *VIBRIO*
ISOLATES ASSOCIATED WITH MARINE SPONGE**

Hamburg
14. Juni 2013

www.hsfs.org

Seite 5

U+H
Universität Hamburg
DER FORSCHUNG | DER LEHRE | DER BILDUNG



Gattung *Vibrio*

- *Vibrionaceae* → 91 Spezies
- Gram-negativ
- Fakultativ anaerob
- Stäbchenförmig
- Polar begeißelte Bakterien
- Halophil (salzliebend)
- Natürlicher Bewohner der Meeresumwelt
- Gelangen über Muscheln, Krebse und Fische in die Nahrungskette des Menschen

Hamburg
14. Juni 2013

www.hsfs.org

Page 6



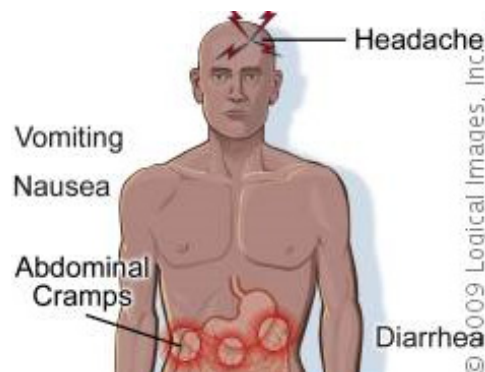
Gattung *Vibrio*

- Pathogen für Menschen, Fische, Korallen und Krusten- und Schalentiere
- USA: jährlich 8028 *Vibrio*-Infektionen (davon 5218 Lebensmittelinfektionen)
- In Europa treten *Vibrio*-Infektionen seltener auf
 - Erkrankungen an Vibrionen bedingten Wundinfektionen in Mecklenburg-Vorpommern, Schleswig Holstein, Dänemark, Südschweden und den Niederlanden



Gattung *Vibrio*

- Gastroenteritische Infektionen
- Wundinfektionen
- Sepsis



Gattung *Vibrio*

- Verzehr von rohem oder unzureichend gegarten Meeresfrüchten oder kontaminiertem rohem Fisch



Sushi



Garnelen



Austern

Vibrio cholerae

- Weltgesundheitsorganisation schätzt 3-5 Millionen Cholera-Infektionen mit 100.000-120.000 Toten jährlich
- Haiti: Oktober 2010 - Oktober 2011 464.000 Infektionen und 6.500 Tote



Vibrio cholerae Ausbruch Hamburg 1892



16.956 Infektionen und 8.605 Tote

Vibrio vulnificus

- 50% Gesamtmortalität
- USA 237 von 459 erkrankten Personen sterben jährlich





Vibrio parahaemolyticus

- Weltweit bedeutendster Krankheitserreger im Zusammenhang mit Meeresfrüchten
- USA: 4.500 Infektionen, davon 2.800 verursacht durch den Verzehr von rohen Austern
- 2005: erstmalig Infektionen durch ursprünglich aus Alaska stammende Austern
- 500-800 Ausbrüche pro Jahr in Japan; ca. 10.000 Menschen/a betroffen



Gattung *Vibrio*

- Gefahr von *Vibrio*-Infektionen nimmt durch die Erhöhung der Wassertemperaturen zu (→ Klimaveränderung?)
- Zunahme des Verzehrs und des Handels mit Fischereiprodukten und Meeresfrüchten erhöhen das Risiko für *Vibrio*-Infektionen
- Entdeckung neuer *Vibrio* Spezies
- Ausgeprägte Homologien: 16S rRNA Gen Sequenzierung kann eine Unterscheidung aller *Vibrio* Spezies nicht mehr gewährleisten



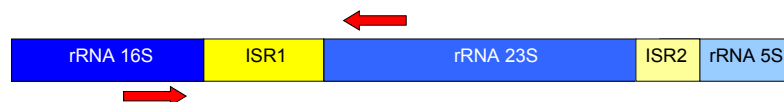
Zielsetzung

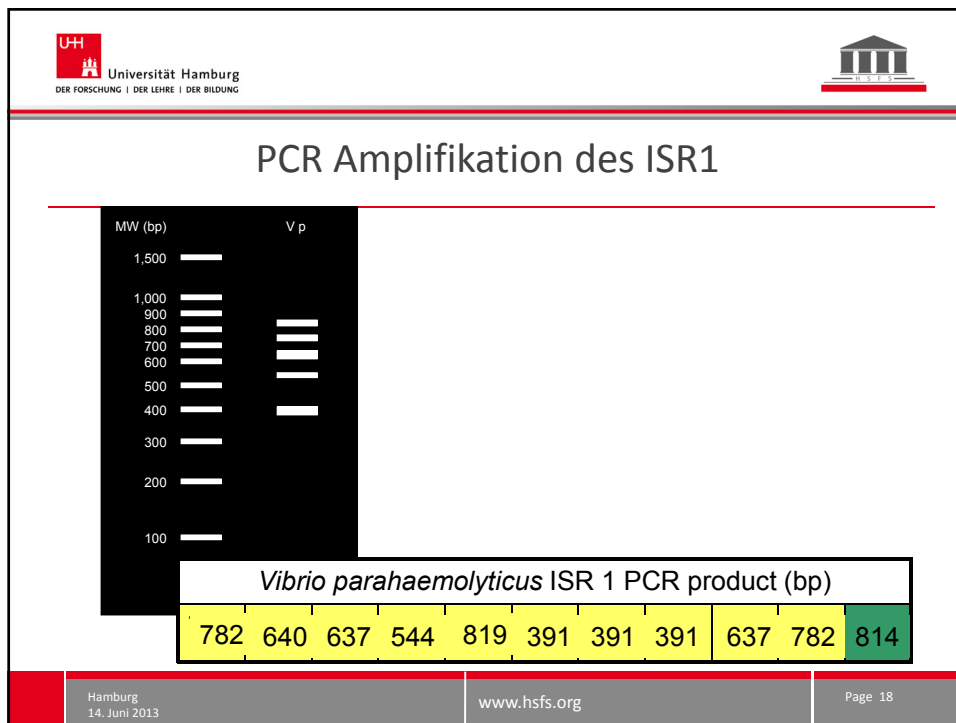
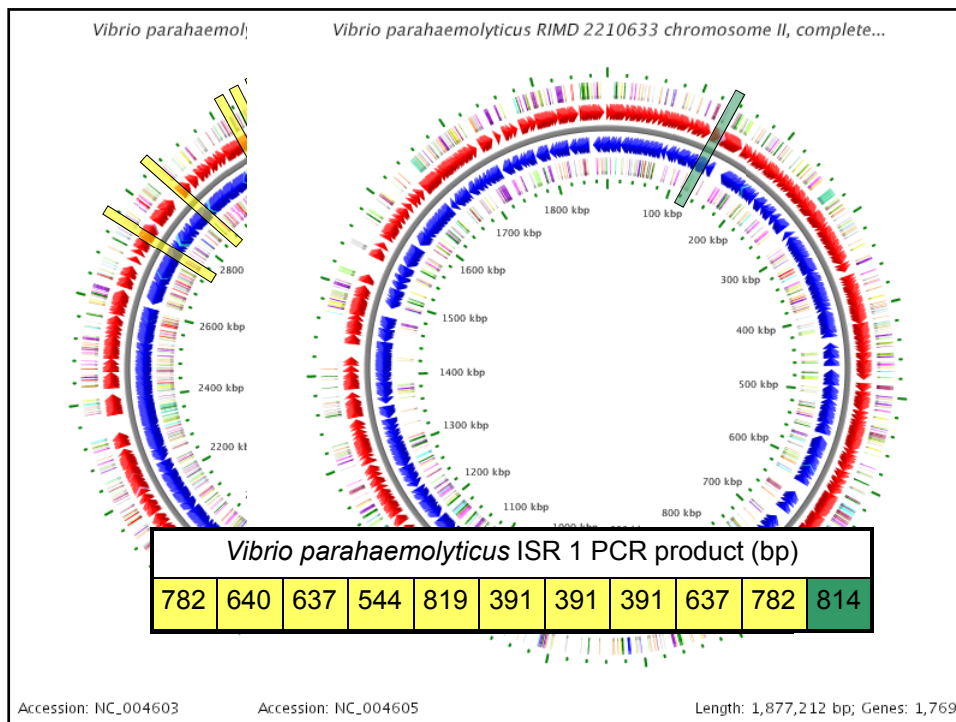
- Entwicklung eines Nachweisverfahrens
 - Zuverlässig
 - Schnell
 - Einfach
- Verfahren muss allerdings in der Lage sein, alle *Vibrio* Spezies zu differenzieren




Intergenic Spacer Region (ISR1)


- 16S, 23S und 5S rRNA Gene sind aufgebaut als ein Operon
- ISR1 trennt 16S und 23S rRNA, ISR2 trennt 23S und 5S rRNA
- rRNA ist hochkonserviert während ISR variabel ist
- Vibrionen besitzen mehrere Kopien dieses Operons
- Variable Länge der ISR kann für Identifizierungs- und Evolutions-Studien genutzt werden

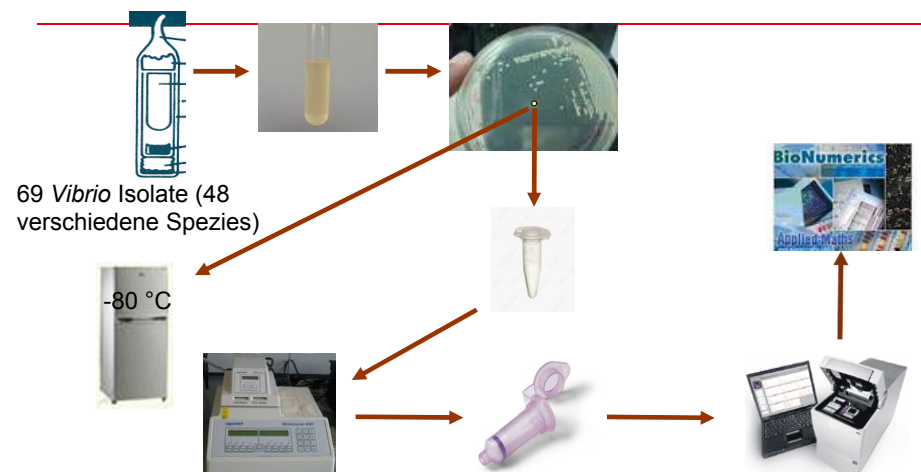






Universität Hamburg
DER FORSCHUNG | DER LEHRE | DER BILDUNG






69 *Vibrio* Isolate (48 verschiedene Spezies)

-80 °C


Hamburg
14. Juni 2013

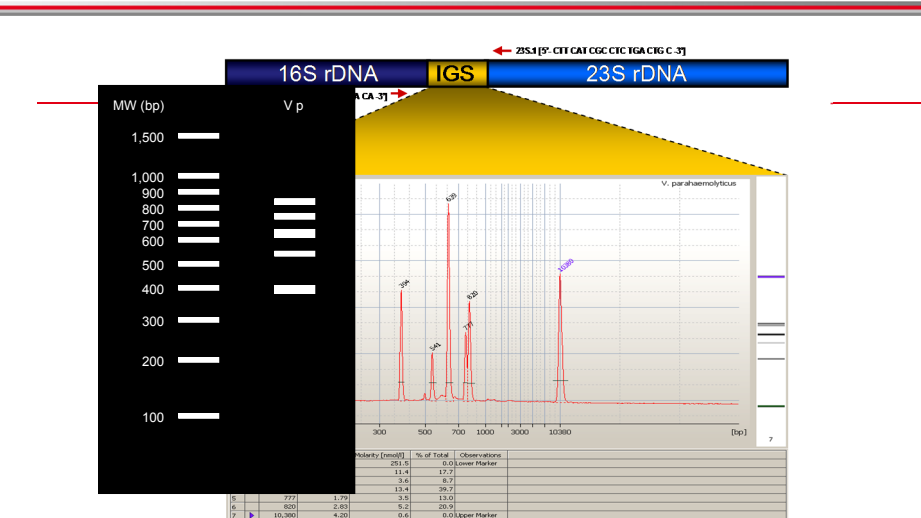
www.hsfs.org

Page 19



Universität Hamburg
DER FORSCHUNG | DER LEHRE | DER BILDUNG





16S rDNA IGS 23S rDNA

← 25S1 [5'-CTT CAT CGC CTC TGA CIG C-3']

MW (bp)

V p

Band	MW (bp)	% of Total	Observations
1	293.51	6.0	Lower Marker
2	11.4	17.7	
3	3.6	5.7	
4	13.4	35.7	
5	1.79	13.0	
6	600	2.83	5.2
7	10,360	4.20	0.0 Upper Marker

V. parahaemolyticus

Hamburg
14. Juni 2013

www.hsfs.org

Page 20

Gattung *Vibrio*

- In aquatischer Umgebung
- Eukaryotischer Wirt: Korallen, Schalentiere, Zooplankton und Schwämme

→ Schwämme

Submarine

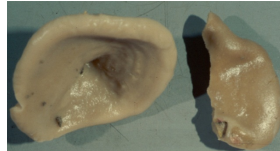




Schwämme (*Porifera*)



Axinella



Corallistes



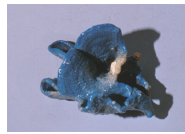
Higginsia



Halichondrida



Bubaris



Scleritoderma



Erylus





Zielsetzung

- Identität der Vibrionen aus Schwämmen bestimmen
- Vergleich von phylogenetischen und genetischen Beziehungen von den schwamm-assoziierten *Vibrio*-Isolaten zu ihren entsprechenden Spezies von Küstengewässern

Methoden

- 16S rRNA Gen Sequenzierung
- ISR-Typisierung
- Multilocus-Sequence-Analysis (MLSA) → 6 Housekeeping-Gene



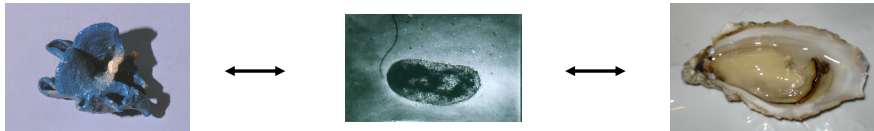
Sequenzierung

- Alignment: Untereinanderstellen homologer Positionen von Nukleotidsequenzen verschiedener Sequenzstränge



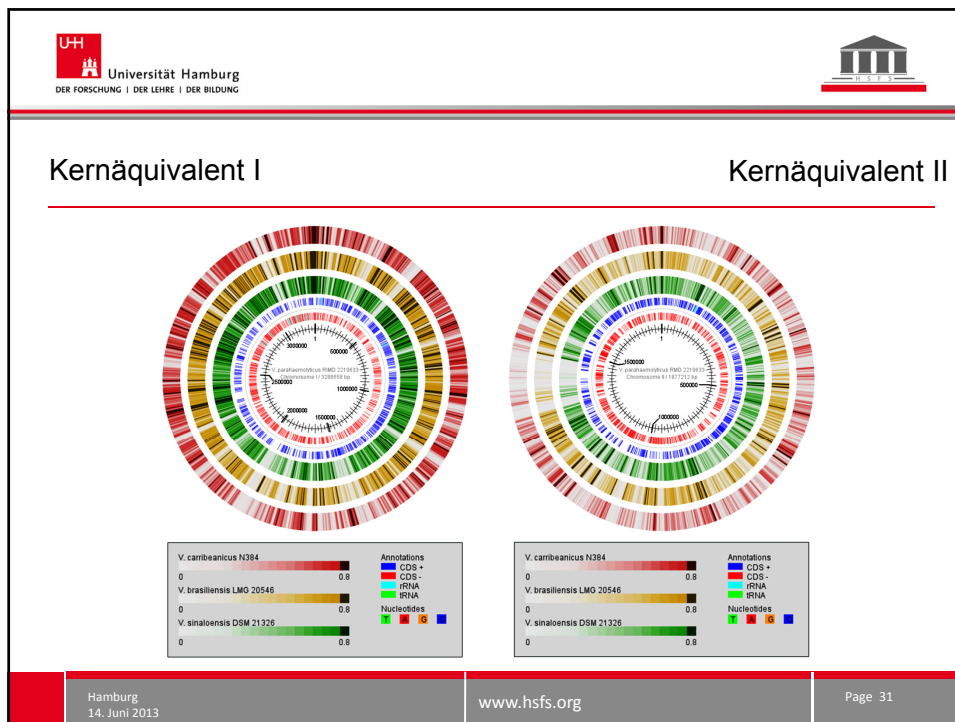
Ergebnisse

- Referenzstämme entsprachen nicht ihrer Deklaration
- *V. communis* und *V. owensii* konnten der gleichen Art zugeordnet werden
- Enthaltene Daten-Matrizen weisen auf horizontalen Gentransfer (HGT) hin
- Austausch von DNA → Panmiktische Populationsstruktur



Ergebnisse

- Das Ökosystem Schwamm fördert die Artenselektion
 → Neue Spezies



U+H Universität Hamburg
DER FORSCHUNG | DER LEHRE | DER BILDUNG

Neue *Vibrio* Spezies

→ Neue Spezies: *Vibrio caribbeanus*

Hamburg
14. Juni 2013

www.hsfs.org

Page 32



Publikationen

- **Hoffmann, M.**, Monday, S. R., McCarthy, P. J., Lopez, J. V., Fischer, M. & Brown, E. W. (2013). Genetic and phylo-genetic evidence for horizontal gene transfer among ecologically groups of marine *Vibrio*. *Cladistics* 29(1), 46-64.
- **Hoffmann, M.**, Monday, S. R., Fischer, M. & Brown, E. W. (2012). Genetic and phylogenetic evidence for misidentification of *Vibrio* species within the Harveyi clade. *Lett Appl Microbiol* 54, 160-165.
- **Hoffmann, M.**, Monday, S. R., McCarthy, P. J., Lopez, J. V., Whittaker P., Naum M., Fischer, M. and Brown, E. W., (2012). *Vibrio caribbeanicus* sp. nov., isolated from marine sponge *Scleritoderma cyanea*. *Int J Syst Evol Micr* 62, 1736-1743.
- **Hoffmann, M.**, Fischer, M., Ottesen, A., McCarthy, P. J., Lopez, J. V., Brown, E. W. and Monday, S. R. (2010). Population dynamics of *Vibrio* spp. associated with marine sponge microcosms. *ISME J* 4, 1608-1612.
- **Hoffmann, M.**, Fischer, M. and Whittaker, P. (2010). Evaluating the use of fatty acid profiles identify deep-sea *Vibrio* isolates. *Food Chem* 122, 943-950.
- **Hoffmann, M.**, Brown, E. W., Feng, P. C. H., Keys, C. E., Fischer, M. and Monday, S. R. (2010). PCR-Based method for targeting 16S-23S rRNA intergenic spacer regions among *Vibrio* species. *BMC Microbiol* 10:90.



Prof. Dr. Markus Fischer



Dr. Eric Brown



Dr. Steven Monday



Dr. Paul Whittaker


 Prof. Dr. Jose V. Lopez
 Nova Southeastern University

 Dr. Peter J. McCarthy
 Harbor Branch
 Oceanographic Institute

Dankeschön

