

Aeromonas oder Deefgea?

Sichere Identifizierung durch MALDI-TOF MS und FTIR

Nardy, E., Contzen, M., Rau, J.

Elisabeth.Nardy@cvuas.bwl.de
Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart, Schaflandstraße 3/3, 70736 Fellbach

Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart

EINLEITUNG

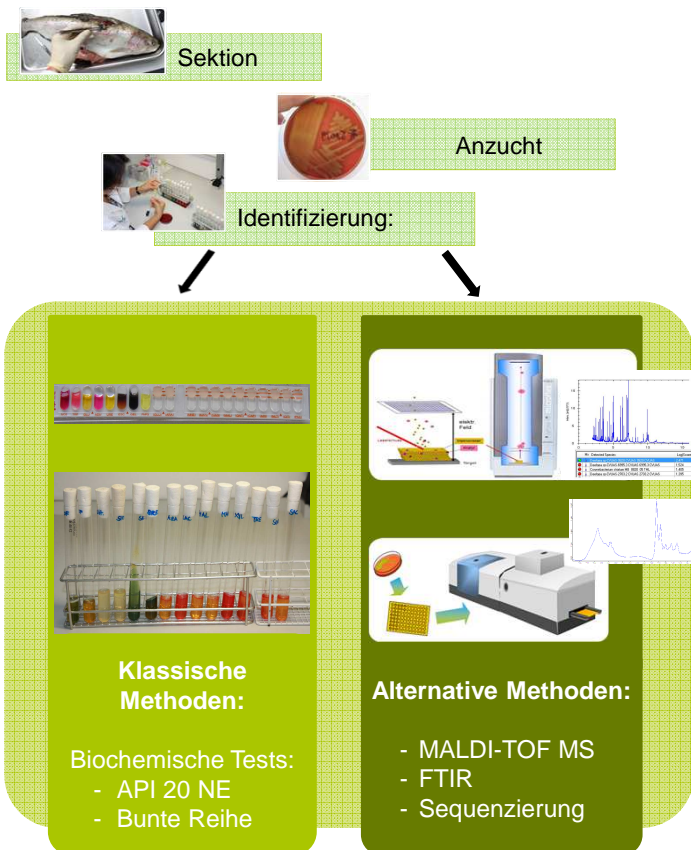
Aeromonas spp. und die erst seit kurzem beschriebenen *Deefgea spp.* [1] sind bei Salmoniden häufig vorkommende Bakterien. Während bei *Aeromonas* pathogene Spezies beschrieben sind [4], ist die pathogene Bedeutung von *Deefgea* noch unklar [5]. Deshalb ist eine Abgrenzung der beiden Gattungen wichtig.

Deefgea spp. gehören zu den *Neisseriales* der β -Proteobacteria. Sie wurden im Darm von Regenbogenforellen [2], bei Zierfischen [5] und in Gewässern [1] nachgewiesen.

Bei klinisch erkrankten Salmoniden wurden Keime isoliert, die mittels Morphologie und biochemischer Tests zunächst als *Aeromonas (A. salmonicida)* identifiziert wurden. Die Auswertung von 16S rDNA-Sequenzen ergab jedoch eine Zuordnung zum Genus *Deefgea (D.)*.

Ziel der Untersuchungen ist es, mit Hilfe von MALDI-TOF Massenspektrometrie (MS) und Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie (FTIR) weitere rasche und zuverlässige Methoden für die Differenzierung zwischen *Deefgea spp.* und *Aeromonas spp.* zu etablieren.

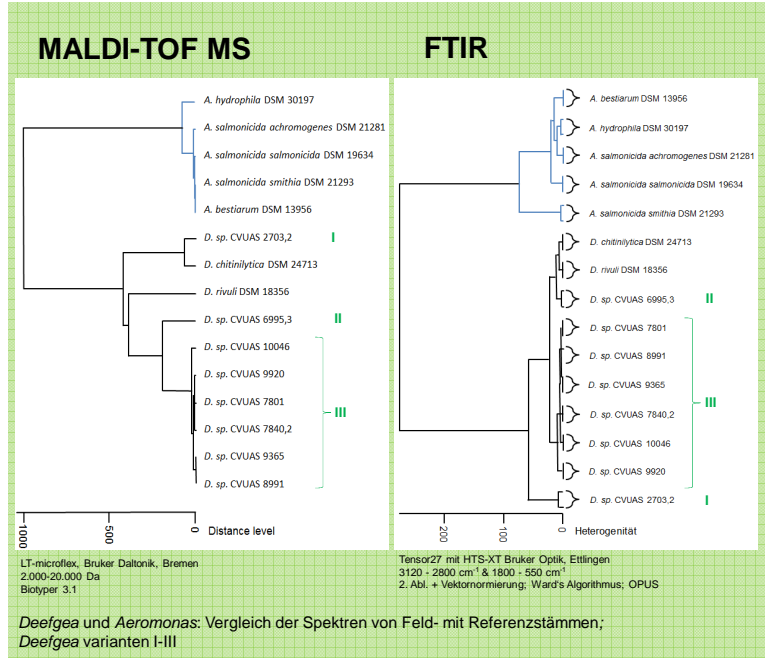
METHODEN



LITERATUR

- [1] Stackebrandt et al. (2007), IJSEM, 57: 639-645
- [2] Etyemez et al. (2015), Res Vet Sci, 100: 8-11
- [3] Buller ed. (2004), CABI Publishing
- [4] Menanteau-Ledouble et al. (2016), Dis Aquat Organ, 120: 49-68
- [5] Jung et al. (2011), Lett Appl Microbiol, 52: 497-500
- [6] Rau et al. (2016), MALDI-TOF MS User Plattform <http://maldi-up.ua-bw.de>

ERGEBNISSE



- Die Auswertung der biochemischen Reaktionen der *Deefgea*-Isolate und der Feldisolate ergibt eine (falsche) Zuordnung als *Aeromonas salmonicida* (s.Tab.).
- Auf der Grundlage der 16S rDNA-Sequenzen lassen sich von den Typstämmen der Spezies *D. rivuli* und *D. chitinilytica* 3 bisher unbeschriebene *Deefgea*-Varianten (*D. sp. I-III*) abgrenzen.
- Die MALDI-TOF MS- und FTIR-Datenbanken wurden mit Einträgen von 5 *Deefgea spp.* ergänzt [6]. Dadurch können *Deefgea*-Isolate eindeutig von verschiedenen *Aeromonas spp.* abgegrenzt werden (s. Dendrogramm).
- Die Untersuchungsdauer mit MALDI-TOF MS und FTIR ist deutlich schneller als mittels Biochemie (0,5 – 1h vs. 24h ab Reinkultur).

Isolat	Biochemie API 20 NE (% ID)	Biochemie Röhren, Auswertung n. [3] (% ID)	MALDI-TOF MS Bruker Biotyper 3.1, DB 5993 + UA-BW	Sequenzierung Zuordnung der 16S Teillesequenz
<i>A. hydrophila</i> DSM 30187 ¹	<i>A. hydrophila/caviae</i> 99,3	<i>A. hydrophila</i> 98	<i>A. hydrophila</i>	n.d.
<i>A. bestiarum</i> DSM 13956 ¹	<i>A. hydrophila/caviae</i> 99,9	<i>A. asaccharolytica</i> 100	<i>A. bestiarum</i>	n.d.
<i>A. salmonicida salmonicida</i> DSM 19634 ¹	<i>A. hydrophila/caviae</i> 86,6	<i>A. salmonicida salmonicida</i> 95	<i>A. salmonicida</i>	n.d.
<i>A. salmonicida achromogenes</i> DSM 21281 ¹	<i>Vibrio alginolyticus</i> 94,5	<i>A. salmonicida nova</i> 94	<i>A. salmonicida</i>	n.d.
<i>A. salmonicida smithia</i> DSM 21293 ³	kein Treffer	<i>A. salmonicida smithia</i> 96	<i>A. salmonicida</i>	n.d.
<i>D. chitinilytica</i> DSM 24713 ³	<i>A. salmonicida masoucida/achromogenes</i> 68,9	<i>A. salmonicida smithia</i> 80	<i>D. chitinilytica</i>	n.d.
<i>D. rivuli</i> DSM 18356 ¹	<i>A. salmonicida masoucida/achromogenes</i> 55	<i>A. salmonicida smithia</i> 82	<i>D. rivuli</i>	n.d.
CVUAS 7801 2011, Rf, Darm	<i>A. salmonicida masoucida/achromogenes</i> 68,9	<i>A. salmonicida smithia</i> 75	<i>D. sp. III</i>	98,7% similarity <i>D. rivuli</i> ¹
CVUAS 7840,2 2014, Rf, Darm	<i>A. salmonicida masoucida/achromogenes</i> 68,9	<i>A. salmonicida smithia</i> 82	<i>D. sp. III</i>	98,0% similarity <i>D. rivuli</i> ¹
CVUAS 8991 2012, Rf, Darm	<i>A. salmonicida masoucida/achromogenes</i> 68,9	<i>A. salmonicida smithia</i> 88	<i>D. sp. III</i>	98,2% similarity <i>D. rivuli</i> ¹
CVUAS 9920 2012, Rf, Haut	<i>A. salmonicida masoucida/achromogenes</i> 65,4	<i>A. salmonicida smithia</i> 88	<i>D. sp. III</i>	98,2% similarity <i>D. rivuli</i> ¹ KX889843
CVUAS 9365 2012, Rf, Darm	<i>A. salmonicida masoucida/achromogenes</i> 68,9	<i>A. salmonicida smithia</i> 80	<i>D. sp. III</i>	98,4% similarity <i>D. rivuli</i> ¹
CVUAS 10046 2013, Bf, Darm	<i>A. salmonicida masoucida/achromogenes</i> 68,9	<i>A. salmonicida smithia</i> 87	<i>D. sp. III</i>	98,5% similarity <i>D. rivuli</i> ¹
CVUAS 2703,2 2013, Rf, Darm	<i>A. salmonicida masoucida/achromogenes</i> 68,9	<i>Aeromonas group 501</i> 90,5	<i>D. sp. I</i>	98,3% similarity <i>D. chitinilytica</i> ¹ KX889841
CVUAS 6995,3 2015, Rf, Darm	<i>Plesiomonas shigelloides</i> 98,9	<i>A. salmonicida smithia</i> 80	<i>D. sp. II</i>	98,4% similarity <i>D. rivuli</i> ¹ KX889842

Ergebnisse der Untersuchungsmethoden für die Feldisolate im Vergleich zu Typstämmen der bisher beschriebenen zwei *Deefgea spp.* und einigen *Aeromonas spp.*
(R = Regenbogenforellen, Bf = Bachforellen, n.d. = nicht durchgeführt, Genbanknummer: **rot** = **Schin**)

FAZIT / AUSBLICK

- Eine Abgrenzung von *Deefgea spp.* zu *Aeromonas spp.* ist mit MALDI-TOF MS und FTIR sicher möglich.
- Keines der getesteten biochemischen Systeme berücksichtigt ausreichend *Deefgea spp.*.
- Die mittels MALDI-TOF MS und FTIR erstellten Dendrogramme geben Hinweise auf weitere *Deefgea spp.*.

