

Bericht über den Workshop "Pathogene Vibrionen in der marinen Umwelt" – Bundesanstalt für Gewässerkunde (BfG) am 14./15. April 2010

Nicole Brennholt¹, Edda Bartelt⁵, Gunnar Gerdts², Gerhard Hauk³, Katrin Luden⁴, Sonja Oberbeckmann², Sven Ramdohr⁵, Georg Reifferscheid¹, Eckhard Strauch⁶, Achim Wehrmann⁷ und Simone I. Böer¹

¹Bundesanstalt für Gewässerkunde, Am Mainzer Tor 1, 56068 Koblenz

²Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung, Biologische Anstalt Helgoland, Kurpromenade 201, 27489 Helgoland

³Landesamt für Gesundheit und Soziales Mecklenburg-Vorpommern, Gertrudenstraße 11, 18057 Rostock

⁴Niedersächsisches Landesgesundheitsamt, Lüchtenburger Weg 24, 26603 Aurich

⁵Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Institut für Fische und Fischereierzeugnisse Cuxhaven, Schleusenstraße 1, 27472 Cuxhaven

⁶Bundesinstitut für Risikobewertung, Diederdorfer Weg 1, 12277 Berlin

⁷Senckenberg am Meer Wilhelmshaven, Südstrand 40, 26382 Wilhelmshaven und Biodiversität und Klima Forschungszentrum, Senckenberganlage 25, 60325 Frankfurt a.M.

Korrespondenzautor: Nicole Brennholt; E-Mail: brennholt@bafg.de

Zusammenfassung

Humanpathogene Bakterien der Gattung *Vibrio* kommen natürlich im Seewasser vor. Sie sind mit Gastroenteritiden, Ohren- und Wundinfektionen assoziiert, die durch den Kontakt mit bzw. durch die orale Aufnahme von Meerwasser oder kontaminiertem Fanggut verursacht werden. Bisher stellten sie insbesondere in Ästuaren der Tropen und Subtropen ein Problem dar. Der zunehmende Import von Fischereiprodukten könnte jedoch auch in Deutschland zu steigenden Infektionszahlen führen. Zudem wird eine zunehmende Verbreitung in unseren Küstengewässern in Folge der Klimaerwärmung befürchtet.

Im Rahmen eines Workshops in Koblenz wurden die Möglichkeiten zunehmender Gesundheitsrisiken durch Nicht-Cholera *Vibrio*-Infektionen diskutiert. Themen waren: (I) Vibrionen-Verbreitung und -Monitoring (II) Diagnostik und (III) lebensmittelbedingte Ausbrüche sowie epidemiologische Fragestellungen.

Der Workshop diente der Information über vergangene und aktuelle wissenschaftliche Aktivitäten zu pathogenen Vibrionen an den deutschen Küsten und der Vernetzung der Beteiligten. Probleme und Wissenslücken auf den Gebieten Prävention, Ökologie, Diagnostik und Vernetzung wurden identifiziert und erste Lösungsansätze erarbeitet.

Dieser Tagungsbericht fasst die wesentlichen Inhalte und Ergebnisse des Workshops basierend auf den Vorträgen und Diskussionsbeiträgen der Teilnehmer zusammen.

Schlagwörter: Humanpathogene Bakterien, *Vibrio* spp., Wundinfektionen, Gesundheitsgefahren, deutsche Küstengewässer

Abstract

Conference proceedings of the workshop "Pathogenic *Vibrio* spp. in the marine environment" – Federal Institute of Hydrology on April 14/15, 2010

Human pathogenic *Vibrios* naturally occur in sea water and represent a particular problem in tropic and subtropic estuaries. They are associated with gastroenteritis, ear and wound infections that are induced by ingestion of or contact with contaminated sea water and fish-catch. The increasing import of fish products could cause an increase of infection rates in Germany. Besides, there is a growing concern that abundances of pathogenic *Vibrios* could increase in German coastal waters as a result of climate change.

The possibility of growing health risks by non-Cholera *Vibrio*-infections was discussed in the framework of a workshop in Koblenz. Topics were (I) *Vibrio*-distribution and monitoring (II) diagnostics, and (III) food-born outbreaks and epidemiology.

The workshop served as a platform to exchange information about past and present scientific activities concerning pathogenic *Vibrios* at German coasts as well as to network with other participants. Problems and gaps of knowledge in terms of prevention, ecology, diagnostics and scientific networks were identified, and possible solutions were worked out. These conference proceedings subsume the main contents and results of the workshop based on oral presentations and discussion inputs during the workshop.

Keywords: Humanpathogenic bacteria, *Vibrio* spp., wound infections, health hazards, German coastal waters

1 EINLEITUNG

Um die Möglichkeiten zunehmender Gesundheitsrisiken durch Nicht-Cholera *Vibrio*-Infektionen in Deutschland zu

diskutieren, kamen am 14. und 15. April 2010 Fachinteressierte aus Wissenschaft und Behörden zu dem Workshop "Pathogene Vibrionen in der marinen Umwelt" an der

Bundesanstalt für Gewässerkunde in Koblenz (BfG) zusammen. Ziel dieses Workshops war es, über vergangene und aktuelle Aktivitäten zu informieren, die sich mit pathogenen Vibrionen in der marinen Gewäss erforschung bzw. Umwelthygiene an den deutschen Küsten beschäftigen sowie bestehende Probleme und Wissenslücken in diesem Bereich zu identifizieren, mögliche Lösungsansätze zu erarbeiten und eine stärkere Vernetzung der Beteiligten anzuregen. Thematisch gliederte sich der Workshop in drei Blöcke: (I) Vibrionen-Verbreitung und Monitoring an der deutschen Nord- und Ostseeküste, (II) methodische Ansätze und Diagnostik und (III) lebensmittelbedingte Ausbrüche durch Fischereiprodukte sowie epidemiologische Fragestellungen. Die erweiterten Zusammenfassungen der Vorträge finden sich in dem Heft BfG-Veranstaltungen 3/2010 Pathogene Vibrionen in der marinen Umwelt, ISSN 1866-220X.

Der Workshop fand im Rahmen des vom Bundesministerium für Verkehr, Bau und Stadtentwicklung (BMVBS) initiierten Ressortforschungsprogramms "KLIWAS: Auswirkungen des Klimawandels auf Wasserstraßen und Schifffahrt – Entwicklung von Anpassungsoptionen" statt. Die Einladung erfolgte im Rahmen des in der BfG angesiedelten KLIWAS-Projektes 3.04, welches klimabedingte Änderungen der Gewässerhygiene und der Verbreitung pathogener Keime in den Küstengewässern zum Untersuchungsschwerpunkt hat. Dieser Artikel enthält im Folgenden eine Zusammenfassung der bei dem Workshop gehaltenen Themenvorträge sowie eine Synthese der wichtigsten Diskussionsinhalte, vor allem in Bezug auf zukünftigen Forschungs- und Handlungsbedarf.

2 HINTERGRÜNDE ZU PATHOGENEN VIBRIONEN IN DER MARINEN UMWELT

Vibrionen sind ein natürlicher Bestandteil der bakteriellen Lebensgemeinschaften im salzhaltigen Wasser von Meeren, Küsten und Ästuaren. Zwölf humanpathogene Spezies dieser Bakteriengattung sind bekannt. Neben Lebensmittelvergiftungen, die durch den Verzehr von kontaminiertem Fisch, Muscheln und Schalentieren hervorgerufen werden, kann der Kontakt mit Meerwasser oder kontaminiertem Fanggut zu Ohreninfektionen und bei immungeschwächten Personen mit offenen Hautverletzungen zu gravierenden Wundinfektionen führen. Insbesondere *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* und *V. alginolyticus* spielen eine Rolle für die Infektionen, die Jahr für Jahr weltweit durch diese Organismen verursacht werden.

Da das Wachstum mariner humanpathogener Vibrionen durch Temperaturen $> 20^{\circ}\text{C}$ gefördert wird, stellen sie insbesondere in tropischen und subtropischen Breiten ein Pro-

blem dar, während *Vibrio*-assoziierte Infektionen in Mittel- und Nordeuropa aufgrund der niedrigen Wassertemperaturen eher selten sind. Der stetig wachsende Verbrauch an Fischereierzeugnissen (Deutscher Bundestag 2008) und der damit verbundene zunehmende Warenimport von Fischereiprodukten und Meeresfrüchten aus Problemregionen könnte jedoch in Deutschland zu steigenden Infektionszahlen führen, insbesondere auch aufgrund der steigenden Beliebtheit roher Produkte.

Zudem ist zu befürchten, dass sich diese potenziellen Krankheitserreger in Folge der Klimaerwärmung zukünftig auch in unseren Küstengewässern stärker verbreiten könnten. In der Zeit von 1985-2000 ist die mittlere Wassertemperatur in Nord- und Ostsee zwischen Juli und September bereits um $1,4^{\circ}\text{C}$ angestiegen (MacKenzie & Schiedek 2007) und laut Weltklimarat werden Hitzesommer im kommenden Jahrhundert in unseren Breiten zunehmen. Diese Faktoren könnten wasser- und ernährungsabhängige *Vibrio*-Infektionen begünstigen.

Seit 1994 der erste Fall einer durch *V. vulnificus* verursachten Wundinfektion nach Kontakt mit Ostseewasser in Deutschland bekannt wurde (Hoyer et al. 1995), traten solche Infektionen vereinzelt, jedoch z.T. mit sehr schwerem bis tödlichem Krankheitsverlauf, wiederholt in sommerlichen Hitzeperioden auf, wenn hohe Konzentrationen an *V. vulnificus* im Meerwasser nachgewiesen wurden. Zuletzt erkrankten im Sommer 2006 drei Badegäste in Mecklenburg-Vorpommern an Wundinfektionen mit diesem Erreger (Robert Koch-Institut 2004). Weitere Ostseerainer, insbesondere Dänemark, aber auch Schweden, Finnland und Polen, hatten im selben Zeitraum neben Erkrankungsfällen durch *V. vulnificus* auch Wund- und Ohreninfektionen durch *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* und nicht-toxische *V. cholerae*-Stämme zu verzeichnen (Andersson & Ekdahl 2006, Lukinmaa et al. 2006, Statens Serum Institut 2006, Stypulkowska-Misiurewicz et al. 2006). An der niederländischen Nordseeküste infizierten sich während des Hitzesommers 2006 drei Badegäste mit *V. alginolyticus* (Schets et al. 2006).

Obwohl saisonale Schwankungen keine eindeutigen Aussagen auf langfristige klimabedingte Trends erlauben, lässt sich nicht ausschließen, dass eine Verlängerung sommerlicher Hitzeperioden das Infektionspotential durch pathogene Vibrionen vergrößern könnte (Ruppert et al. 2004). In Taiwan wird seit 1985 eine stetige Zunahme an *V. vulnificus*-Infektionen (wasser- und nahrungsmittelabhängig) registriert (Hsueh et al. 2004). Obwohl bisher nicht eindeutig geklärt ist, ob diesem Anstieg eine "echte" Zunahme (durch stärkere Verbreitung oder Virulenz) oder eine Verbesserung des Nachweis- und Meldesystems zugrunde liegt, zeigen auch die für Deutschland und Nordeuropa genannten Bei-



Abb. 1:
Teilnehmer des Workshops „Pathogene Vibrionen in der marinen Umwelt“ am 14./15. April 2010 in der Bundesanstalt für Gewässerkunde in Koblenz.

spiele, dass ein zunehmender Infektionsdruck durch humanpathogene Vibrionen infolge steigender Wassertemperaturen und einer Häufung sommerlicher Hitzeperioden in Betracht gezogen werden muss.

3 KURZFASSUNG DER VORTRÄGE

Vor Beginn der themenspezifischen Vorträge wurden die Teilnehmer durch den Leiter der Abteilung "Qualitative Gewässerkunde" der BfG (Heininger) begrüßt und erhielten einen kurzen, allgemeinen Überblick über das Forschungsprogramm KLIWAS (Schubert, nicht im Tagungsbericht).

3.1 EINLEITUNG – EINFÜHRUNG IN DIETHEMATIK

KLIWAS-PROJEKT 3.04 – KLIMABEDINGTE ÄNDERUNGEN DER GEWÄSSERHYGIENE

(Nicole Brennholt, Simone Böer und Georg Reifferscheid)

Der Vortrag lieferte zunächst einen allgemeinen Überblick über die Gesundheitsrisiken, die als mögliche Folgen des Klimawandels in Mitteleuropa entstehen könnten. Zunehmende Wetterextreme und ihre Folgen wie Hitzewellen, Dürren, Stürme, Sturmfluten, Überschwemmungen und Erdbeben wurden als mögliche direkte Bedrohungen des Lebens und der Gesundheit der Bevölkerung benannt. Indirekte Folgen wie eine Verlängerung und Intensivierung der Pollensaison sowie die Ausbreitung allergener Neophyten wurden als weitere Risiken für die Gesundheit und das Wohlbefinden der Menschen dargestellt. Der negative Einfluss von

regionalen Klimaveränderungen auf die Luftbelastung in Ballungsgebieten, die Verfügbarkeit von sauberem Wasser und die landwirtschaftliche Produktivität wurde ebenso angesprochen wie die Möglichkeiten erhöhter Infektionsraten durch begünstigende Lebensbedingungen für Vektororganismen.

Abschließend wurde das KLIWAS-Projekt 3.04 vorgestellt, innerhalb dessen die Verbreitung pathogener Keime in den deutschen Küstengewässern vor dem Hintergrund des Klimawandels beleuchtet werden soll, mit dem Ziel, für das BMVBS Anpassungsoptionen für eine sichere Unterhaltung und Nutzung der Küstengewässer im Rahmen von Transport, Fischerei und Tourismus zu erarbeiten. Pathogene Vibrionen dienen als Modellorganismen dieser Studie, wobei neben der Evaluierung bestehender Erkenntnisse aus Untersuchungen von Landesbehörden und wissenschaftlichen Einrichtungen zum Vorkommen von pathogenen Vibrionen in den deutschen Küstengebieten eigene Monitoring-Ansätze (siehe auch Vortrag Frau Dr. Luden) und Laborversuche mit *Vibrio*-Isolaten im Vordergrund der Arbeiten stehen.

3.2 BLOCK 1 – VIBRIONEN-VERBREITUNG UND MONITORING AN DER DEUTSCHEN NORD- UND OSTSEEKÜSTE

VIBRIO SPP. – VERBREITUNG UND PROBLEMATIK IN DER NORDSEE

(Katrin Luden und Ernst-August Heinemeyer)

Obwohl für den Badebereich der Nordsee bisher keine Erkrankungsfälle durch *V. vulnificus* gemeldet wurden, hat das Niedersächsische Landesgesundheitsamt (NLGA; Standort Aurich) aufgrund der 2003 bekannt gewordenen Fälle in

der Ostsee 2004 sechs Entnahmestellen entlang der niedersächsischen Küste festgelegt, an denen ergänzend zur EU-Badegewässerüberwachung während der Badesaison Wasserproben zur Untersuchung auf Vibrionen entnommen wurden. Die Untersuchungen zwischen 2004 und 2009 erbrachten regelmäßig positive Nachweise auf *V. parahaemolyticus* und *V. alginolyticus*, insbesondere seit 2007. Sporadisch konnte auch *V. vulnificus* nachgewiesen werden. Einzelnachweise nicht-toxischer *V. cholerae*-Stämme konnten 2006, 2008 und 2009 erbracht werden. *V. alginolyticus* wurde am häufigsten und in größter Anzahl nachgewiesen. Alle *V. vulnificus*-Nachweise erfolgten bei Wassertemperaturen $< 20^{\circ}\text{C}$, wohingegen in der Wissenschaft allgemein eine Nachweismarke von 20°C gilt.

Im Herbst 2009 wurde das Monitoring in Kooperation mit der BfG (KLIWAS-Projekt 3.04) um vier Entnahmestellen im Weserästuar ausgeweitet, um einen möglichen Süßwasser-einfluss auf das Vorkommen humanpathogener Vibrionen in der Nordsee zu untersuchen. Um saisonale Unterschiede zu erfassen, werden seitdem alle zehn Entnahmestellen über die Badesaison hinweg monatlich beprobt. Zusätzlich zu den Wasserproben werden Sedimentproben untersucht, um festzustellen, ob pathogene Vibrionen bei kalten Temperaturen im Sediment überdauern. Die bisherigen Untersuchungen erbrachten keinen Nachweis auf *V. vulnificus* während des Winterhalbjahres. Positive Nachweise auf *V. alginolyticus* und *V. parahaemolyticus* erfolgten regelmäßig auch während der Herbst- und Wintermonate, wobei *V. alginolyticus* sich unabhängig von der Jahreszeit mit Nachweisraten von 87% (Sediment) bzw. 64% (Wasser) als dominierende Spezies zeigte. Insgesamt konnten pathogene Vibrionen-Spezies in weitaus mehr Sediment- als Wasserproben nachgewiesen werden.

VIBRIO SPP. IN DER OSTSEE – KLINISCHE "AUSGANGSFÄLLE", MESSSTELLEN UND MESSDATEN

(Gerhard Hauk, Oliver Duty und Martina Littmann)

Aufgrund der 2003 in der Ostsee aufgetretenen *V. vulnificus*-Infektionen führte das Landesamt für Gesundheit und Soziales Mecklenburg Vorpommern (LAGuS-MV) in den Jahren 2004-2007 in den Sommermonaten jeweils alle 14 Tage an neun bzw. zehn ausgewählten Badestellen der Ostsee sowie 2006 an sieben und 2007 an vier Badestellen der Boddengebiete in Mecklenburg-Vorpommern Untersuchungen auf das Vorkommen von *V. vulnificus* durch. Die ausgewählten Stellen repräsentieren den gesamten Küstenbereich des Landes. In den Jahren 2006 und 2007 konnte an allen zehn Ostseebadestellen der Erreger *V. vulnificus* im Ostseewasser mit Raten von 59,4 bzw. 76,5% nachgewiesen werden. Bei den Boddengewässern wurde 2006 an vier von sieben untersuchten Badestellen und 2007 an drei

von vier Badestellen der positive Nachweis erbracht. Die Nachweisraten lagen hier prozentual unter 50%. Die Salzkonzentrationen in den positiv beprobten Ostsee- bzw. Boddengewässern lagen zwischen 2,3 und 16,1‰; *V. vulnificus* war somit auch bei Salzkonzentrationen unter 5‰ regelmäßig im freien Wasser nachweisbar. Weitergehende quantitative Untersuchungen ab dem Jahr 2008 lassen eine deutliche Abhängigkeit der Erregerkonzentration von der Salinität mit erhöhten Erregerkonzentrationen im brackigeren Bereich der östlichen Ostsee und niedrigeren Konzentrationen im salineren Bereich der westlichen Ostsee vermuten. Temperaturen $> 20^{\circ}\text{C}$ fördern eindeutig ein Wachstum von *V. vulnificus*. Nicht die vorliegende Temperatur selbst ist dabei ausschlaggebend, sondern das Wasser muss zu einem bestimmten Zeitpunkt die 20°C -Marke überschritten haben. Im Sommer 2006 lagen die Wassertemperaturen der Ostsee für einen Zeitraum von sechs Wochen über 20°C . *V. vulnificus* konnte jedoch weit über diesen Zeitraum hinaus im Ostseewasser nachgewiesen werden, wobei noch die letzte Beprobung Anfang November bei $10,3^{\circ}\text{C}$ einen positiven Befund erbrachte.

HELGOLÄNDER LANGZEITDATEN UND GEPLANTE LANGZEITUNTERSUCHUNGEN BEZÜGLICH VIBRIO SPP.

(Gunnar Gerdts, Sonja Oberbeckmann, Hilke Döpke und Antje Wichels)

Im folgenden Vortrag wurde die Langzeit-Datenserie der Biologischen Anstalt Helgoland vorgestellt, im Rahmen derer seit 1962 täglich Proben an der sogenannten "Kabeltonne" auf der Helgoländer Reede entnommen und auch auf mikrobiologische Parameter untersucht werden. Herr Dr. Gerdts führte die Teilnehmer durch die Historie der Mikrobiologie in der Helgoländer Reede: Angefangen bei der "Prä-Molekularbiologie Ära", bei der lediglich Saprophyten im Rahmen der Langzeitreihe erfasst wurden, spannte sich der Bogen über die Direktzählung von Bakterien mit Hilfe fluoreszenzmikroskopischer Methoden in Kombination mit der Erfassung mikrobieller Aktivitäten (Enzymaktivitäten, ATP-Synthese), bis hin zu modernen kulturunabhängigen molekularbiologischen Methoden, die es ermöglichen, temporäre und räumliche Muster von Bakteriengemeinschaften im marinen Lebensraum aufzuklären, einzelne Mitglieder dieser Gemeinschaften zu identifizieren und unter Zuhilfenahme statistischer Anwendungen verantwortliche Umweltparameter für dynamische Vorgänge innerhalb der Bakteriengemeinschaften zu benennen.

Erste Datensätze der Untersuchungen zu *Vibrio* spp. in der Helgoländer Reede zeigten, dass *Vibrionaceae* einen Anteil von bis zu 0,8% der gesamten Bakterienpopulation ausmachen können. Dabei ist eine klare saisonale Abhängigkeit der *Vibrio*-Abundanzen zu beobachten, mit hohen

Vibrio-Konzentrationen im Sommer, unabhängig vom Kompartiment, das untersucht wurde. Insgesamt war bei den Untersuchungen ab 10°C ein deutlicher Anstieg der *Vibrio*-Abundanzen zu vermerken, die sich bei ca. 15°C stabilisierten.

VIBRIONET – EINE FORSCHUNGSINITIATIVE ZUR BEDEUTUNG VON VIBRIONEN IN DEUTSCHLAND

(Eckhard Strauch)

Das Codex Committee on Food Hygiene und die WHO haben *Vibrio* spp. als eine der wichtigsten Pathogengruppen identifiziert, die ein gesundheitliches Risiko durch Nahrungsmittel bedeuten, die in den Welthandel eingebracht werden. Mit besonderem Fokus auf *V. parahaemolyticus* in Fischen und Schalentieren soll in Kürze ein Diskussionspapier erarbeitet werden, in welchem Anpassungsstrategien an Risiken durch diesen Organismus entwickelt werden.

Vor dem Hintergrund dieses Papiers wurde der Forschungsverbund VibrioNet gegründet, der in diesem Beitrag vorgestellt wurde. Die beteiligten Arbeitsgruppen des VibrioNet sind das Bundesinstitut für Risikobewertung, das Robert Koch-Institut (RKI), das Institut für Fische und Fischereierzeugnisse, das Institut für Lebensmittelhygiene, die Abteilung "Medizinische Mikrobiologie" der Universität Dresden, das Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung, das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung und die Firma Q-Bioanalytik aus Bremerhaven. Internationale Partner aus Bangladesch, Chile, Indien, Thailand und Vietnam stehen dem Verbund mit ihrer Expertise zur Seite. Hintergrund des Forschungsverbundes ist die wachsende Bedeutung von Vibrionen als Krankheitserreger auch in Deutschland, die nicht nur im steigenden Bedarf und zunehmenden Handel an und mit Fischereiprodukten und Meeresfrüchten, sondern auch in der zunehmenden Verbreitung pathogener Vibrionen in der marinen Umwelt begründet liegt, wie an den zurückliegenden Infektionsfällen an der Ostsee deutlich wird. Problematisch ist, dass Nicht-Cholera *Vibrio*-Erkrankungen aufgrund fehlender Meldesysteme in Deutschland und Europa nicht erfasst und somit vermutlich in ihrer Bedeutung unterschätzt werden. Zudem ist das Wissen um das Vorkommen und die Ökologie pathogener *Vibrionaceae* in Deutschland äußerst lückenhaft. VibrioNet sieht seine Aufgabe darin, diese Lücken zu schließen und zu klären, inwieweit pathogene Vibrionen in Deutschland tatsächlich eine Bedrohung darstellen.

3.3 BLOCK 2 – METHODISCHE ANSÄTZE UND DIAGNOSTIK

VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS IN DER DEUTSCHEN BUCHT: EIN POLYPHASISCHER ANSATZ

(Sonja Oberbeckmann, Antje Wichels und Gunnar Gerdts)

Frau Oberbeckmann stellte in ihrem Vortrag Ergebnisse ihrer Doktorarbeit zur Klassifizierung potenziell pathogener *Vibrio*-Isolate von der Helgoländer Reede vor. Im Rahmen ihrer bisherigen Arbeiten wurde eine Kombination mikrobiologischer, molekularbiologischer und physiologischer Methoden angewendet, um potenziell pathogene Vibrionen – mit besonderem Fokus auf *V. parahaemolyticus* – in Seewasser-, Plankton- und Muschelproben zu detektieren. *Vibrio*-Isolate wurden dafür zunächst mit Hilfe von MALDI-TOF MS klassifiziert und mittels Sequenzierung der 16S rRNA und des *rpoB*-Gens identifiziert. Die Bestätigung der *V. parahaemolyticus*-Identität erfolgte im Anschluss auf Basis der funktionellen Gene *toxR* und *tlh*. Zudem wurde ein Screening hinsichtlich der Pathogenitäts-assoziierten Gene *tdh* und *trh* durchgeführt, um das Pathogenitätspotential der bestätigten *V. parahaemolyticus*-Isolate zu erfassen. Die Diversität der *Vibrio*-Isolate wurde mittels PCR (BOX, ERIC, REP) erfasst. Die meisten *Vibrio*-Isolate von der Helgoländer Reede wurden als *V. alginolyticus* oder *V. parahaemolyticus* identifiziert. Obwohl keines der *V. parahaemolyticus*-Isolate positiv für die Pathogenitätsindikatoren *tdh* oder *trh* war, zeigten mehrere Stämme Hämolyseaktivität. Die Ergebnisse bestätigen, dass weitere Untersuchungen und ein standardisiertes Monitoring hinsichtlich *Vibrio* spp. in Deutschland unabdingbar sind.

AKTUELLE METHODEN ZUR IDENTIFIZIERUNG VON VIBRIONEN IN MUSCHELN

(Eckhard Strauch, Dorothea Knabner, Antje Konietzny, Hedwig Mihajlovic und Ralf Dieckmann)

Herr Dr. Strauch stellte in seinem Vortrag einen Vergleich der verschiedenen biochemischen, serologischen, phänotypischen, Nukleinsäure-basierten und massenspektrometrischen Verfahren zum Nachweis von Vibrionen in Muscheln vor. Die primäre Isolierung von Vibrionen erfolgt dabei durch Anreicherung im Flüssigmedium und Ausplattieren auf Selektivplatten. Zur weiteren Identifizierung können phänotypische Merkmale wie Wachstum in An- und Abwesenheit von NaCl, Beweglichkeit und Gramverhalten herangezogen werden. *V. cholerae*-Isolate werden in der Regel mit Antiseren gegen O:1 und O:139 getestet. Alternativ können zur Bestimmung der Spezies klassische oder Real-Time PCR-Nachweise erbracht werden. Als gut geeignet hat sich die Sequenzierung eines variablen Abschnitts des konservierten *rpoB*-Gens nach vorheriger PCR-Amplifi-

kation erwiesen. Eine Überprüfung des Pathogenitätspotenzials von *V. parahaemolyticus* ist auf Grundlage der Hämolyisin-Gene *tdh* und *trh* möglich. Der Nachweis der Cholera-toxin-Gene *ctx* und *ompW* erfolgt routinemäßig für alle *V. cholerae*-Isolate. Bei der Speziesidentifizierung mittels MALDI-TOF MS werden insbesondere hochabundante ribosomale Proteine genutzt, deren Massen sich bei unterschiedlichen Bakterien aufgrund von Aminosäuresubstitutionen unterscheiden. Der Abgleich erfolgt dabei gegen Spektren aus Referenzspektren-Datenbanken.

3.4 BLOCK 3 – LEBENSMITTELBEDINGTE AUSBRÜCHE DURCH FISCHEREIPRODUKTE SOWIE EPIDEMIOLOGISCHE FRAGESTELLUNGEN

PATHOGENE *VIBRIO* SPP. IN FISCHEN UND FISCHEREIERZEUGNISSEN

(Edda Bartelt)

Der Vortrag entfiel. Zusammenfassend wurde vorab wie folgt berichtet:

Die Aufnahme von pathogenen *V. parahaemolyticus* wird oft mit dem Verzehr von rohen oder unzureichend erhitzten bzw. nachträglich kontaminierten Fischereierzeugnissen in Verbindung gebracht. Im Rahmen der Lebensmittelüberwachung wird *V. parahaemolyticus* insbesondere in zweischaligen Muscheln, aber auch in Fischen und Krustentieren häufig nachgewiesen. Keimzahlen können z.B. in Austern je nach Temperatur zwischen $1-10^4$ cfu/g schwanken. *V. parahaemolyticus* ist mesophil und halotolerant und kann sich beim Lagerungsprozess in Fischereierzeugnissen stark vermehren, wenn die Kühlkette unterbrochen wird. Dies ist insbesondere auf die niedrige Generationszeit (12-18 Min. bei 30°C) zurückzuführen. Sehr niedrige Temperaturen führen in Abhängigkeit von der Lebensmittelmatrix, der Salinität und weiterer Faktoren hingegen zur Keimverminderung. *V. vulnificus* z.B. vermehrt sich kaum unter 15°C, bei Temperaturen um 20°C in Fischereierzeugnissen dagegen sehr schnell (lebende Austern!). Er ist sehr sensitiv gegenüber üblichen Behandlungsverfahren für Lebensmittel (D-Wert bei 47°C: 78 Sek.), Kältelagerung und niedrigem pH (kein Wachstum bei pH<5).

In der amtlichen Untersuchung von Fisch und Fischereierzeugnissen in Niedersachsen wurde im Rahmen einer Schwerpunktuntersuchung von Großgarnelen im Jahre 2008 *Vibrio* spp. erfasst. 9% der untersuchten Tiere wurden positiv getestet, wobei in den positiven Garnelen der Nachweis von *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* als auch *V. vulnificus* gelang (LAVES 2009). Eine Studie zur Vibrionen-Kontamination von Miesmuscheln aus den Muschelerzeugungsgebieten Niedersachsens im Jahr 2007 zeigte, dass Miesmuscheln von grundsätzlich mikrobiologisch einwandfreier

Beschaffenheit (nach gängigen Einstufungskriterien Klassifizierung in "A-Gebiete") sehr häufig mit Vibrionen (teilweise mehrere *Vibrio* spp.) kontaminiert waren. *V. parahaemolyticus* – wenngleich selten Kanagawa-positiv – war mit 54% aller Vibrionenisolate die dominierende Vibrionenspezies. *V. fluvialis*, *V. vulnificus* und *V. cholerae* (Non-O1, non-O139) wurden nur selten nachgewiesen. Die Untersuchungen bestätigten, dass keine Korrelation zwischen Vibrionen und dem Vorkommen und der Keimzahl von *Escherichia coli* in Muscheln besteht, welche derzeit als Kriterium für die Klassifizierung von Muschelerzeugungsgebieten anzuwenden sind.

DIE BIOINVASION DER PAZIFISCHEN AUSTER (*CRASSOSTREA GIGAS*) IM NIEDERLÄNDISCHEN UND NIEDERSÄCHSISCHEN WATTENMEER: MIKROBIELLE UND CHEMISCHE RISIKEN FÜR DEN VERBRAUCHER

(Sven Ramdohr, Achim Wehrmann, Alexandra Markert, Georg Ackermann, Melanie Schweizer, Gerald Millat, Marnix Poelmann und Edda Bartelt)

Vor dem Hintergrund des INTERREG IVa Projektes "SafeGuard" stellen Herr Dr. Ramdohr und Herr Dr. Wehrmann den aktuellen Stand der laufenden Untersuchungen zur Bioinvasion der Pazifischen Auster für das Niedersächsische Wattenmeer vor, in deren Folge mögliche gesundheitliche Risiken durch pathogene Vibrionen entstehen könnten.

Seit 2003 werden beim Forschungsinstitut Senckenberg am Meer Wilhelmshaven die steuernden Prozesse und die Dynamik der Bioinvasion der Pazifischen Auster mit dem Ziel erforscht, ihre ökologischen Auswirkungen und Risiken abzuschätzen. Hierzu werden im Rahmen eines Monitoring-Programms zwölf bekannte Standorte (ehemals Miesmuschelbänke) entlang der Niedersächsischen Küste auf den Bestand der Pazifischen Auster hin untersucht. Bis heute konnte eine starke räumliche Ausbreitung und eine extreme Bestandszunahme beobachtet werden.

Während die Ernte von Miesmuscheln aus den zugelassenen Erzeugungsgebieten der amtlichen Lebensmittelüberwachung unterliegt, bestehen derzeit für die Austernriffe keinerlei Kontrollauflagen. Die Pazifischen Austern werden jedoch zunehmend von Besuchern des Wattenmeeres für den eigenen Verzehr gesammelt und entgegen lebensmittelhygienischer Vorschriften auch der Gastronomie zugeführt. Problematisch ist hierbei insbesondere, dass die Austern in den meisten Fällen roh verzehrt werden und so im Vergleich zum Miesmuschelverzehr ein erhöhtes gesundheitliches Risiko durch mikrobielle Infektionen besteht. Die amtlichen mikrobiologischen Untersuchungen der in den Verkehr gebrachten Miesmuscheln konzentrieren sich auf Fäkalkeime wie Salmonellen oder *E. coli*. Bei der Auster können jedoch u.a. auch Vibrionen, Noroviren und

Clostridien eine Gefährdung darstellen, sodass die Muschelhygieneüberwachung der Miesmuscheln nicht auf Austern übertragbar ist. Ungeklärt ist zudem, ob die unmittelbare Nähe der Austernriffe zu sublitoralen Kulturflächen zu einer mikrobiellen Kontamination der Miesmuscheln durch Austern führen kann. Um diesen offenen Fragen bezüglich der Pazifischen Auster Rechnung zu tragen, wurde das INTERREG IVa-EU-Verbundprojekt "SafeGuard" initiiert. Es soll eine Datenbasis zur mikrobiellen und chemischen Beschaffenheit der Pazifischen Auster im west- und ostfriesischen Wattenmeer geschaffen und ein geeignetes Monitoringsystem für eine Gefahrenabschätzung und mögliche amtliche Lebensmittelüberwachung erarbeitet werden, die auch eine Grundlage für die kommerzielle Nutzung der Pazifischen Auster bilden könnte.

4 SYNTHESE DER WICHTIGSTEN WORKSHOPINHALTE

4.1 KONTROLLE UND PRÄVENTION

Trotz der bekannt gewordenen Fälle von *Vibrio*-Wundinfektionen in den vergangenen Jahren ist in Deutschland nur wenig zur Verbreitung pathogener Vibrionen in heimischen Küstengewässern und den damit verbundenen Gesundheitsrisiken bekannt.

Um für das Thema zu sensibilisieren, wird die Aufklärung von Bevölkerung und Ärzten von den Workshopteilnehmern als wichtig und notwendig angesehen. Gerade in den Küstenregionen, welche für den Tourismus große Bedeutung haben und über eine Vielzahl von Rehabilitationseinrichtungen verfügen, sollte die Aufklärung bezüglich der Infektionsrisiken, z.B. durch Baden und Wasserwaten, stetig vorangetrieben und spezifisch auf die betroffenen Gebiete/Regionen zugeschnitten werden. Da gerade ältere und immungeschwächte Personen zur Risikogruppe gehören, wurde empfohlen, Informationsblätter in den Rehakliniken zu verbreiten und die Aufklärung über potenzielle Risiken von *Vibrio*-Infektionen in die Reiseberatung der Haus- und Klinikärzte zu integrieren. Eine umfassende Informierung von niedergelassenen Ärzten und Klinikpersonal über die aktuellen Kenntnisse der Vibrionenforschung können die Beratung von Badenden bzw. Erholungssuchenden an den Küsten verbessern und einen umfassenden Schutz der Bevölkerung vor *Vibrio*-Erkrankungen gewährleisten. Unpopuläre und unverhältnismäßige Maßnahmen, wie die Sperrung von Badestränden – so wie in der Vergangenheit in Schweden erfolgt – könnten so verhindert werden.

Da in der Regel nur bestimmte Risikogruppen (Personen höheren Alters und/oder mit chronischen Vorerkrankungen) von Wundinfektionen durch pathogene Vibrionen betroffen sind, wurde eine Aufklärung der Bevölkerung über die

Presse allgemein abgelehnt. Befürchtet wurde, dass eine unzureichende oder verzerrte Darstellung wissenschaftlicher Fakten Erholungssuchende unnötig beunruhigen und eine umfassende Aufklärung mit sinnvollen und angemessenen Handlungsempfehlungen verhindern könnte.

Die Frage nach einer Meldepflicht für *Vibrio*-Erkrankungen wurde mehrfach aufgegriffen. Ist eine Meldepflicht sinnvoll und an wen sollen mögliche Meldungen gehen? Da die Dunkelziffer der durch Vibrionen verursachten Erkrankungsfälle in Deutschland derzeit nicht abgeschätzt werden kann, wurde die Etablierung eines einheitlichen, länderübergreifenden Meldesystems für *Vibrio*-Infektionen durch die Workshopteilnehmer allgemein befürwortet. Das Vorhaben der Forschungsinitiative VibrioNet, ein *Vibrio*-Surveillance-System aufzubauen, welches die Meldung von *Vibrio*-Infektionen über die Landesbehörden/regionalen Gesundheitsämter an das RKI vorsieht, wurde daher sehr begrüßt. Um eine bessere "Meldefreudigkeit" zu gewährleisten, ist eine Vereinfachung der häufig umständlichen Meldewege anzustreben und den Krankenhäusern die Notwendigkeit einer Meldung zu verdeutlichen. Es wurde angeregt, auf Basis des Meldesystems eine Art "Schnellwarnsystem" zu entwickeln, welches unter Einbeziehung der medizinischen und umweltbezogenen Informationen schnellstmöglich Auskunft über die mögliche Verbreitung pathogener Vibrionen in den Küstengewässern und den damit verbundenen Infektionsrisiken für die Bevölkerung gibt.

Eine verbesserte länderübergreifende Vernetzung und Kommunikation zwischen den Überwachungsstellen für die Bereiche Badegewässerüberwachung und Muscheln/Lebensmittel sowie zwischen Deutschland und den Küstennachbarstaaten ist dafür unerlässlich. Auf nationaler Ebene konnte ein erster erfolgreicher Schritt in diese Richtung durch diesen Workshop besprochen werden.

Die Wichtigkeit einer **Meldepflicht (!)** für *Vibrio*-Erkrankungen in Deutschland wurde nur wenige Monate nach dem Workshop erneut deutlich. Im Sommer 2010 kam es unter den Badegästen in Mecklenburg Vorpommern zu zwei Todesfällen, die mit pathogenen Vibrionen in Verbindung gebracht werden konnten. Drei weitere Erkrankungen traten anscheinend auch bei jüngeren Personen auf, sind jedoch mangels gesetzlicher Vorgaben nicht offiziell erfasst worden.

Ziel all dieser Bemühungen muss die Erarbeitung anwendungsbezogener Handlungsempfehlungen sein, mit Hilfe derer der "Endverbraucher" *Vibrio*-Erkrankungen wirksam vorbeugen kann (z.B. die strikte Einhaltung der Kühlkette von Ernte bis Verzehr, um lebensmittelbedingte Ausbrüche zu verhindern).

4.2 ÖKOLOGIE

Dem Tourismus kommt eine stetig wachsende ökonomische Bedeutung in der Küstenregion zu. Veränderungen der Wasserqualität im Hinblick auf pathogene Mikroorganismen und damit verbundene Krankheitsausbrüche könnten den Tourismus negativ beeinflussen. Es ist daher unerlässlich, die ökologischen Einflussfaktoren zu identifizieren, die das Vorkommen und die räumliche Verbreitung pathogener Mikroorganismen, wie z.B. humanpathogener *Vibrio*-Arten, maßgeblich mitbestimmen.

Im Rahmen der bisherigen Badegewässerüberwachung blieben die Ursachen für die *Vibrio*-Infektionen an nordeuropäischen Küsten bisher weitestgehend verborgen. Nicht eindeutig geklärt ist, welche Umweltfaktoren die Vermehrung der Vibrionen begünstigen und somit den Infektionsdruck erhöhen können. In Bezug auf *V. vulnificus* zeigte sich in vergangenen Studien, dass der Erreger ab einer Wassertemperatur von 20°C vermehrt wächst und das Risiko einer Wundinfektion steigt. Ungeklärt ist in diesem Zusammenhang jedoch, wie Phyto- und Zooplankton das Wachstum von Vibrionen beeinflussen und inwiefern sich dadurch indirekt das Infektionsrisiko erhöht.

Große Wissenslücken bestehen auch hinsichtlich der erforderlichen Infektionsdosis für Wundinfektionen beim Kontakt mit belasteten Badegewässern. Um die Bevölkerung ausreichend vor *Vibrio*-Infektionen schützen zu können, wurde es von den Workshopteilnehmern als zwingend erforderlich angesehen, Infektionsdosen zu ermitteln, um so Grenzwerte für *Vibrio*-Konzentrationen in Badegewässern festlegen und zu gegebener Zeit Maßnahmen zum Schutz vor Infektionen ergreifen zu können.

In diesem Zusammenhang ist auch ein besseres Verständnis über die Aspekte notwendig, die zur Ausprägung von Pathogenitätsfaktoren bei Vibrionen führen. Die Beantwortung der Frage, welche Umweltfaktoren oder andere Stressoren für deren Ausprägung eine Rolle spielen und welche Pathogenitätsfaktoren überhaupt von Bedeutung sind, könnte die Beurteilung möglicher Gesundheitsgefährdungen durch Vibrionen maßgeblich unterstützen.

Um das Verständnis über die Ökologie pathogener Vibrionen in der marinen Umwelt und die Randbedingungen der damit in Verbindung stehenden Infektionen zu verbessern, sehen die Workshopteilnehmer die Fortführung bereits bestehender Monitoringprogramme sowie die Etablierung weiterer Monitoringprogramme (z.B. in Schleswig-Holstein) als unerlässlich an. Die regelmäßige Erfassung von Vibrionen-Abundanzen könnte eine ausreichende Datengrundlage schaffen, um eine Risikoanalyse für deutsche Küstengewässer durchzuführen und darauf aufbauend mögliche weitere Verpflichtungen abzuleiten (z.B. eine Einfüh-

rung von Grenzwerten für Badegewässer). Zudem könnte so abgeschätzt werden, welche Bedeutung pathogene Vibrionen in unseren Küstengewässern haben und ob durch den projizierten Klimawandel mit einem zunehmenden Infektionsdruck durch diese Organismen zu rechnen ist. Um die neuesten Erkenntnisse der Klimaprognosen in eine *Vibrio*-Risikoanalyse einfließen lassen zu können, ist es erforderlich, die Kommunikation zwischen Mikrobiologen/Ärzten und Klimafolgenforschern zu verbessern.

4.3 METHODIK

Bezüglich der Vibrionen-Diagnostik wurde eine Weiterentwicklung geeigneter Methoden – insbesondere zur Spezies-Differenzierung – als wünschenswert erachtet. Das Vorhaben von VibrioNet, kostengünstige, schnelle und leicht zu handhabende Testsysteme für den "Endnutzer", z.B. in Form eines Teststäbchens, zu entwickeln, wurde allgemein begrüßt.

Die Zuverlässigkeit und die Vor- und Nachteile kultivierungsunabhängiger molekularbiologischer Methoden wurde diskutiert. Allgemeiner Konsens war, dass kultivierungsunabhängige Methoden eine zeitsparende Alternative vor allem für die Untersuchung großer Probenmengen darstellen können und dass die Spezies-Identifizierung und der Nachweis eines Pathogenitätspotenzials wesentlich durch sie erleichtert wird. In diesem Zusammenhang wurde jedoch angemerkt, dass die Methoden für kleinere Labore derzeit noch zu kostenintensiv sind, insbesondere im Hinblick auf hoch entwickelte Nachweisverfahren wie MALDI-TOF MS etc..

Auf internationaler Ebene gibt es bereits Bemühungen Methoden zur Identifizierung von Vibrionen zu standardisieren. Klassische Standardmethoden (ISO etc.) haben bisher jedoch nur für Lebensmitteluntersuchungen Gültigkeit (Muscheln etc.). Es wurde darüber diskutiert, die Methodik auf Wasserproben auszudehnen bzw. dahingehend zu modifizieren. Dabei wurde zu Bedenken gegeben, dass eine generelle Standardisierung der Methoden (z.B. ISO) die Möglichkeiten einschränkt, anderweitige, für bestimmte Fragestellungen passendere Analysemethoden einzusetzen. Dies könnte ein Problem darstellen, wenn Alternativmethoden für gutachterliche Stellungnahmen nicht anerkannt würden. Eine generelle Standardisierung zur Identifizierung und Quantifizierung von Vibrionen in Badegewässern wurde von den Teilnehmern des Workshops daher kritisch gesehen.

4.4 DATENBANK

Es wurde allgemein der Wunsch geäußert, eine internetgestützte, wissenschaftliche *Vibrio*-Plattform einzurichten,

um den in Deutschland auf dem Gebiet der Vibrionen-Forschung aktiven Wissenschaftlern und Behörden die Möglichkeit zur Vernetzung zu geben. Diese sollte nicht nur als Diskussionsforum dienen, sondern auch den aktuellen Forschungsstand repräsentieren. In diesem Zusammenhang befürworteten die Workshop-Teilnehmer den Aufbau einer umfassenden *Vibrio*-Datenbank, die neben Angaben zum Auftreten von pathogenen Vibrionen auch sämtliche Metadaten und zur Verfügung stehende ökologische Umweltparameter beinhalten sollte, um so nachfolgende wissenschaftliche Auswertungen zu ermöglichen. Die Forschungsinitiative VibrioNet vom Bundesinstitut für Risikobewertung zieht den Aufbau und die Pflege einer solchen Internet-Plattform in Betracht.

5 FAZIT

Der Workshop wurde von allen Teilnehmern positiv bewertet und es wurde angeregt, sich auf nationaler Ebene im Rahmen vergleichbarer Veranstaltungen weiter zu vernetzen und auszutauschen. Ziel sollte dabei sein, die herausgestellten Wissenslücken bezüglich *Vibrio spec.* gemeinsam zu füllen und mögliche Veränderungen in Ausbreitung und Infektionsdruck durch *Vibrio spec.* vor dem Hintergrund klimatischer Veränderungen zeitnah zu erfassen. Sinnvoll wurden Intervalle von etwa zwei Jahren erachtet. Der nächste Workshop wird bereits im kommenden Winter in Verbindung mit dem Kick off-Meeting der Forschungsinitiative VibrioNet angedacht.

6 DANKSAGUNG

Wir danken dem BMVBS für die Finanzierung des Ressortforschungsprogramms KLIWAS mit der damit verbundenen Möglichkeit diesen Workshop durchzuführen, der BfG – insbesondere Yvonne Strunck – für die Veranstaltungsorganisation und natürlich allen Referenten und Teilnehmern

für die interessanten Beiträge, sei es in Form von Vorträgen oder regen Diskussionen.

7 REFERENZEN

- Andersson Y, Ekdahl K (2006): Wound infections due to *Vibrio cholerae* in Sweden after swimming in the Baltic Sea, summer 2006. *Euro Surveill* 11 (31): pii=3013
- Deutscher Bundestag (11.12.2008): Antwort der Bundesregierung auf die kleine Anfrage der Abgeordneten Dr. Christel Happach-Kasan, Angelika Brunkhorst, Hans-Michael Goldmann, weiterer Abgeordneter und der Fraktion der FDP – Drucksache 16/10929 – Moderne Aquakulturtechnik für die Speisefischproduktion in Deutschland. Drucksache 16/11344
- Hoyer J, Engelmann E, Liehr RM, Distler A, Hahn, H Shimada T (1995): Septic shock due to *Vibrio vulnificus* serogroup O4 wound infection acquired from the Baltic Sea. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 14 (11): 1016-1018
- Hsueh PE, Lin CY, Tang JJ et al. (2004): *Vibrio vulnificus* in Taiwan. *Emerg Infect Dis* 10 (8): 1363-1368
- LAVES (2009): Jahresbericht des Niedersächsischen Landesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit. Jahresbericht 2009. www.laves.niedersachsen.de
- Lukinmaa S, Mattila K, Lehtinen V, Hakkinen M, Koskela M, Siitonen A (2006): Territorial waters of the Baltic Sea as a source of infections caused by *Vibrio cholerae* non-O1, non-O139: report of 3 hospitalized cases. *Diagn Microbiol Infect Dis* 54 (1): 1-6
- MacKenzie BR, Schiedek D (2007): Daily ocean monitoring since the 1860s shows record warming of northern European seas. *Glob Chang Biol* 13 (7): 1335-1347
- Robert Koch-Institut (2004): Zu zwei Infektionen mit *Vibrio vulnificus* nach Kontakt mit Ostseewasser. *Epid Bull* 13: 106-112
- Ruppert J, Panzig B, Guertler L et al. (2004): Two cases of severe sepsis due to *Vibrio vulnificus* wound infection acquired in the Baltic Sea. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 23: 912-915
- Schets FM, van den Berg HHJL, Demeulmeester AA et al. (2006): *Vibrio alginolyticus* infections in the Netherlands after swimming in the North Sea. *Euro Surveill* 11 (45): pii=3077.
- Statens Serum Institut (2006): Infections with seawater bacteria. *EPI-NEWS* 2006: 26-32
- Stypulkowska-Misiurewicz H, Pancer K, Roszkowiak A (2006): Two unrelated cases of septicemia due to *Vibrio cholerae* non-O1, non-O139 in Poland, July and August 2006. *Euro Surveill* 11 (48), pii=3088. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=3088>