

Trine Hansen

Sammenfatning af Ph.-D. afhandling

Afhandlingen er forsvaret den 23. august 2013

.....

Molecular Diagnostics of Foodborne Pathogens



Dansk sammendrag (Danish summary)

Sygdomme forårsaget af fødevarerbårne patogener udgør en vigtig økonomisk og sundhedsmæssig belastning på verdensplan. For at minimere forekomsten af fødevarerbårne patogener i fødevarereproduktionen og dermed øge fødevareresikkerheden, er metoder til påvisning og karakterisering af patogener nødvendig. Indførelsen af molekylær diagnostik metoder baseret på påvisning af organismers nukleinsyrer har gjort påvisning, identifikation og karakterisering af fødevarerbårne patogener hurtigere og med større specificitet og sensitivitet.

Fokus i denne afhandling har været at undersøge brugen af forskellige nukleinsyre baserede metoder til molekylær diagnostik af fødevarerbårne patogener med fokus på *Salmonella* og *Bacillus cereus* med henblik på at forbedre fødevareresikkerheden. Forskningen i afhandlingen beskæftiger sig med to dele af molekylær diagnostik: Karakterisering af *Salmonella* for en bedre forståelse af adfærden i svinekødsproduktionsmiljøer og påvisning af *B. cereus* i fødevarer-, foder- og vandprøver uden forudgående dyrkning.

Salmonellas evne til at overleve i fødevarereproduktionskæden menes at skyldes fasthæftelse på udstyrs- og kødoverflader, samt den efterfølgende kolonisering. I et studie i denne afhandling blev det vist, at væksttilstanden for *Salmonella* har betydning for fasthæftelsen på en svinekødsoverflade, hvilket yderligere har betydning for at kunne forårsage krydskontaminering i slagtekæden. *Salmonella* celler, der blev dyrket immobiliseret havde lettere ved at slippe kødoverfladen. I slagteprocessen kan *Salmonella* findes som immobiliseret på svinekød, hvilket gør at celler med lav fasthæftningsevne har en større risiko for krydskontaminering. Derimod vil en stærkere fasthæftning gøre dekontamineringstiltag mere vanskelige. *Salmonellas* evne til fasthæftelse kunne til en vis grad knyttes til specifikke gener. Deletionen af operonerne for enten *prg* eller *flhDC* i *S. Typhimurium* resulterede i en lavere fasthæftningsevne til en svinekødsoverflade. Desuden blev det fundet at en *S. Rissen* isolat med svag fasthæftning efter immobiliseret vækst manglede to fimbriæ gener, *safC* og *lpfD*, som er vigtige for fasthæftning og dannelse af biofilm. Derudover blev det fundet at *S. Typhimurium* udsat for et varmechok blev mere modstandsdygtig overfor efterfølgende varme- og syrepåvirkninger, hvilket kan gøre efterfølgende dekontamineringstiltag vanskeligere, og dermed føre til en højere risiko for forurening af fødevarer.

Bevidst eller utilsigtet forurening af fødevarer, foder og vandforsyning udgør en trussel mod folkesundheden på verdensplan, og behovet for generiske påvisningsmetoder, som kan screene for mange patogener på samme tid er ønskelig. En metagenom-baseret direkte 16S rDNA sekventeringsmetode blev evalueret som et redskab til screening af ukendte bakterier uden forudgående dyrkning. *B. cereus* i flaskevand blev brugt som model for metoden. Resultaterne viste, at metoden kunne påvise *B. cereus* i koncentrationer af 10^5 - 10^6 CFU/L, hvilket er et niveau som kan bruges til påvisning i udbrudssituationer. Som følge heraf blev metoden fundet til at være en god kandidat til påvisning af *B. cereus* og til screening for bakteriel forurening i vandprøver. Metoden blev yderligere testet på en række fødevarer- og foderprøver. Før metoden kunne benyttes til denne type prøver, blev fem forskellige kommercielt tilgængelige DNA ekstraktions kits evalueret, og MasterPure DNA Purification Kit blev fundet at være det bedst egnede til fødevarer- og foderprøver. Påvisning af *B. cereus* i disse prøver blev fundet til at være mere kompliceret sammenlignet med vandprøverne, og for at metoden skal kunne anvendes på denne type af prøver, skal yderligere optimeringer udføres.

Denne afhandling bidrager til bedre forståelse af adfærden af *Salmonella* i svinekødsproduktionen og hvilke faktorer, der påvirker tilpasningen og overlevelsen. Disse fund kan bruges til bedre kontrolforanstaltninger for *Salmonella* ved at bidrage til udviklingen af mere hensigtsmæssige produktionsmiljøer indenfor fødevarerproduktion, og som kan være med til at forbedre fødevarer sikkerheden. Desuden blev metoden til direkte påvisning af *B. cereus* i forskellige biologiske matricer fundet lovende med potentiale til at blive brugt til screening af patogener. Metoden vil derfor være anvendelig i udbrudssituationer, hvor den forårsagende patogen kan være ukendt.