

Technical University of Denmark



Brug den nye teknik til at finde bakterierne

Josefsen, Mathilde Hasseldam; Löfström, Charlotta; Hoorfar, Jeffrey

Published in:
Levnedsmiddelbladet

Publication date:
2011

Document Version
Også kaldet Forlagets PDF

[Link back to DTU Orbit](#)

Citation (APA):
Josefsen, M. H., Löfström, C., & Hoorfar, J. (2011). Brug den nye teknik til at finde bakterierne. *Levnedsmiddelbladet*, 7(8), 20-21.

DTU Library

Technical Information Center of Denmark

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Brug den nye teknik til at finde bakterierne

I det store DTU-koordinerede EU-projekt Biotracer er der de seneste år blevet lagt en massiv indsats i at udvikle nye metoder til påvisning og kvantificering af salmonella og campylobacter. De gammeldags dyrkningsbaserede metoder er både langsomme, dyre og arbejdskrævende, men nu er de nye molekylære metoder færdigudviklede, validerede og godkendte - klar til at blive implementeret i laboratorier rundt omkring i landet.

Af M. Josefsen,
C. Löfström og J. Hoorfar,
DTU Fødevareinstituttet

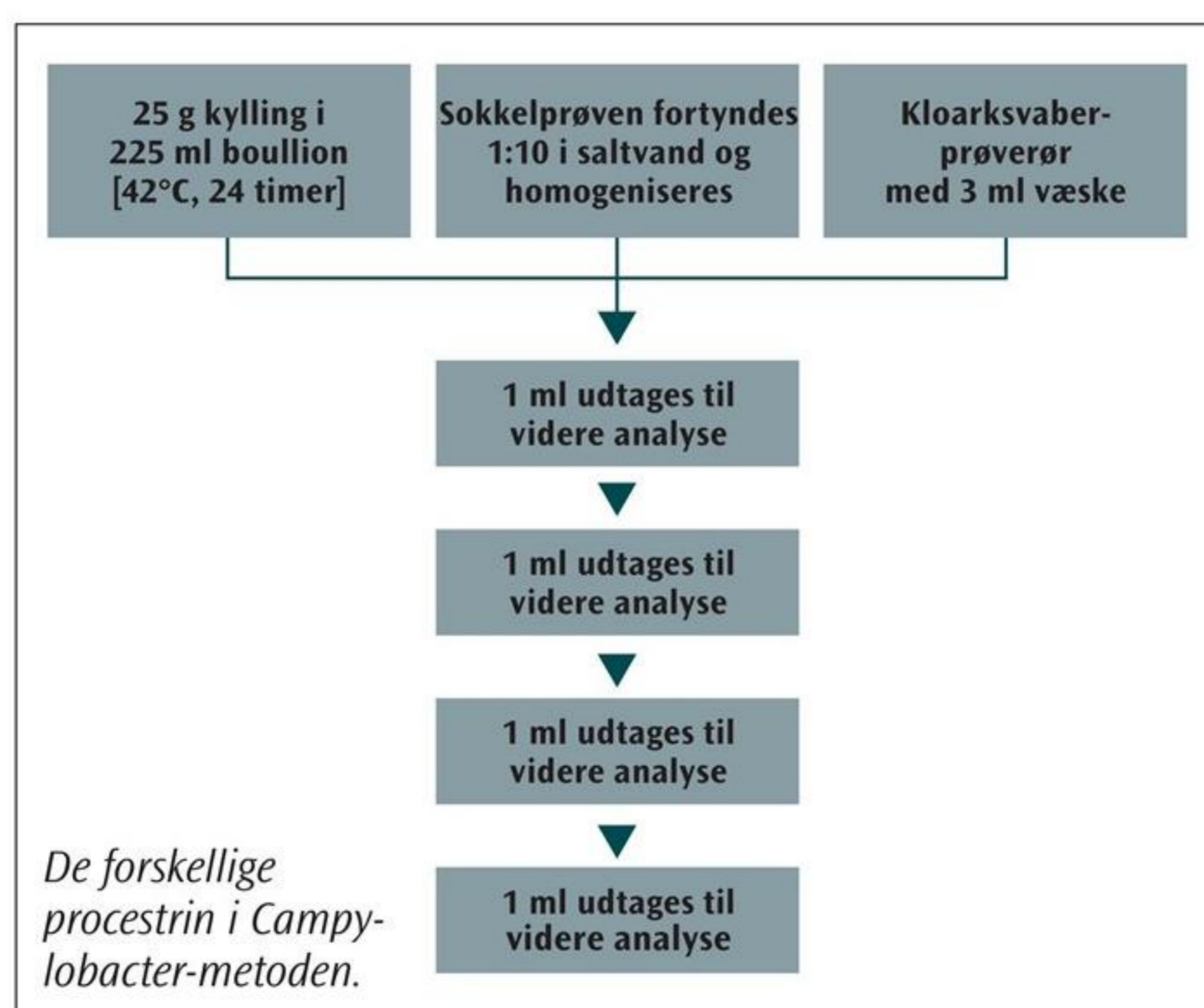
Salmonella og campylobacter ligger i toppen af listen over sygdomsfremkaldende fødevarerbarne bakterier, og derfor er det vigtigt at have hurtige og sikre metoder til påvisning og kvantificering af disse bakterier til rådighed. I dag anvendes dyrkningsbaserede metoder til påvisning og kvantificering af salmonella og campylobacter, som både er tids- og arbejdskrævende, og som desværre kan overse levedygtige bakterier, som ikke kan dyrkes.

Artiklen her beskriver nye PCR-baserede metoder til påvisning af salmonella og campylobacter, og for campylobacter ydermere til kvantificering af kun levende bakterier.

Disse nye metoder, og det erfaringsgrundlag der er kommet ud af Biotracer-projektet (www.biotracer.org), vil gøre skridtet til at implementere PCR-baserede metoder i laboratorier rundt omkring i landet meget mindre.

Udviklet sammen med slagterierne

Salmonella-metoden blev udviklet af DTU Fødevareinstituttet og Slagteriernes Forskningsinstitut i tæt samarbejde med store danske slagterier, og blev fra begyndelsen tilpasset deres behov. Metoden skulle reducere slagteriernes daværende analysetid på ca. 21 timer for



salmonella i svinekød, til den samme dag som slagtning. Baggrunden for udviklingen af hurtigmetoden var at sikre salmonella-frit kød, som kunne eksporteres til Sverige og minimere udgifter til lagring, da kødet først kan sendes af sted, hvis det er fundet frit for salmonella.

Fra slagterierne var det ønsket, at metoden skulle have få trin og være nem at lære for personer med tidligere erfaring fra dyrkningsbaserede mikrobiologiske teknikker. Det var også et krav, at metoden var lige så følsom som de eksisterende

standardmetoder fra Nordisk Metodikkomité for Levnedsmidler (NMKL) og den Internationale Organisation for Standardisering (ISO), dvs. den skulle kunne påvise 1 salmonella/25 g prøve.

Sådan kan og må metoden bruges

Den udviklede salmonella-metode er afprøvet i flere ringtests og er godkendt af den Nordiske Organisation for Validering af Alternative Metoder (NordVal) og kan derfor bruges på lige fod med de eksisterende dyrkningsbaserede stan-

dardmetoder fra NMKL nr. 71 og ISO 6579.

Den totale analysetid er afhængig af, hvilken prøvetype man ønsker at teste, eftersom det primære opformeringstrin varierer i længde. For kødprøver er analysetiden i alt 14 timer, for svaberprøver 16 timer og for sokkeprøver 20 timer. Proceduren kan findes på NordVals hjemmeside via www.nmkl.org.

Det er ikke meget, der skal til

For at bruge metoden kræves et almindeligt laboratorium egnet til mikrobiologiske og molekylærbiologiske analyser med standardudstyr såsom varmeskabe, pipetter, centrifuger etc. Yderligere er der brug for en real-time PCR termocycler og de reagenser, som skal bruges til PCR (mastermiks). Erfaringer fra projektet sammen med danske slagterier viser, at det kan være svært at fremstille PCR mastermikset på en kvalitetssikret måde, og derfor er der mulighed for at købe mastermiks, som leveres i portioner færdige til brug hos et dansk bioteknologi firma, www.DNA-technology.dk.

Industrien er aktiv deltager

Den PCR-baserede metode til påvisning af campylobacter blev ligeledes udviklet i tæt samarbejde med industrien og med deres behov for øje. Industrien ønskede en hurtig og pålidelig metode til påvisning, produkti-

Yderligere information og hjælp til implementering:

For yderligere information eller hjælp til at komme i gang med implementering kontakt: Charlotta Löfström (chalo@food.dtu.dk) / Mathilde Josefsen (mhjo@food.dtu.dk) på Fødevareinstituttet, Afd. for Mikrobiologi og Risikovurdering.



Salmonella-metoden er godkendt til kød, svaberprøver fra slagtekroppe og sokkeprøver, men kan tilpasses andre matricer.

onsstyring og kontrol af campylobacter fra jord til bord.

Den oprindelige metodeudvikling og validering blev udført i et projekt støttet af Innovationsloven (Direktoratet for Fø-

devareErhverv), med Danpo, COOP, Slagteriernes Forskningsinstitut og DTU Fødevareinstituttet som deltagere. Metoden blev valideret og godkendt under dette projekt, og senere videreudviklet i BIOTRACER-projektet til en kvantitativ metode.

Yderligere læsning

- Josefsen MH, Löfström C, Hansen TB, Christensen LS, Olsen JE, Hoorfar J. Rapid quantification of viable Campylobacter bacteria on chicken carcasses, using real-time PCR and propidium monoazide treatment, as a tool for quantitative risk assessment. 2010. Appl Environ Microbiol. 76:5097-104.
- Krause M, Josefsen MH, Lund M, Jacobsen NR, Brorsen L, Moos M, Stockmarr A, Hoorfar J. 2006. Comparative, collaborative, and on-site validation of a TaqMan PCR method as a tool for certified production of fresh, campylobacter-free chickens. Appl Environ Microbiol. 72:5463-8.
- Löfström C, Hansen F, Hoorfar J. Validation of a 20-h real-time PCR method for screening of Salmonella in poultry faecal samples. 2010. Vet Microbiol. 144:511-4.
- Löfström C, Krause M, Josefsen MH, Hansen F, Hoorfar J. 2009. Validation of a same-day real-time PCR method for screening of meat and carcass swabs for Salmonella. BMC Microbiol. 9:85.

Hvad kan metoden så?

Campylobacter-metoden er ringtest-valideret og godkendt af NordVal som et alternativ til de dyrkningsbaserede standardmetoder (NMKL og ISO). Metoden er godkendt til påvisning i rå kyllingekød, sokkeprøver og kloaksvabere, og proceduren kan findes på NordVals hjemmeside via www.nmkl.org.

Det overordnede workflow er illustreret i figuren.

Man bliver jo ikke syg af døde bakterier

Fra et fødevarerisikermæssigt synspunkt er det hensigtsmæssigt kun at kvantificere de levende bakterieceller, som udgør en reel risiko for human infektion. Det har været et ankepunkt ved PCR-baserede metodikker, eftersom PCR arbejder på DNA niveau, og DNA fra døde celler kan være til stede i prøverne i lang tid og resultere i helt forkerte analysesvar.

Real-time PCR-metoden er blevet videreudviklet til ikke bare at kunne påvise, men også antalsbestemme campylobacter, og den er blevet kombineret med en ny form for prøvebehandling med et farvestof, der

sikrer, at det kun er levende bakterier, der kvantificeres. Farvestoffet er på nuværende tidspunkt for dyrt til rutinediagnostik, men er man interesseret i at vurdere effekten af et givent tiltag for at reducere antallet af levende campylobacter-bakterier på f.eks. kyllinger, er metoden rigtig brugbar. Eftersom en total udryddelse af campylobacter fra primærproduktionen ikke er sandsynlig på nuværende tidspunkt, og der er blevet påvist en stærk positiv korrelation mellem antallet af campylobacter-bakterier på kyllinger og risikoen for human infektion, er reduktionsstrategier, noget der kigges på i stigende grad. Salmonella-metoden er godkendt til kød, svaberprøver fra slagtekroppe og sokkeprøver, og campylobacter-metoden til prøver fra primærproduktionen af fjerkræ (sokkeprøver og kloaksvabere) og kyllingekød, men den kan tilpasses andre matricer.

Workshop i september

DTU Fødevareinstituttet afholder workshop om molekylære metoder til salmonella og campylobacter den 28. september 2011. Yderligere information og tilmelding via Heidi Dahl Larsen, Dianova A/S, hkdla@dianova.dk.

Det vigtigste, når du fryser fødevarer?

Hvordan de er, når de bliver optøet og serveret.

Med CRYOLINE® køle- og fryseløsninger bevares smag og tekstur perfekt. Vil du være med til at "bryde isen", så ring til os i dag på 32 83 66 00.



www.aga.dk

A Member of
The Linde Group

AGA