



STECTRACK

Validatie van detectiemethoden voor nieuw opduikende ziekteverwekkende *Escherichia coli*

DUUR VAN HET PROJECT
01/01/2007 – 31/01/2009

BUDGET
345.293 €

SLEUTELWOORDEN
STEC detection, validation, multiplex PCR, IMS

CONTEXT

Voedselveiligheid is wereldwijd van groot belang. Voedselgerelateerde Shiga-like toxine producerende *Escherichia coli*, of STEC infecties, vormen een belangrijk probleem voor de volksgezondheid. Deze uiterst pathogene bacteriën kunnen verscheidene ziektebeelden veroorzaken, zoals diarree en haemolytisch uraemisch syndroom (HUS). Een routine detectiemethode is enkel beschikbaar voor het sorbitol-negatieve serotype O157. Andere *E. coli* serotypes, zoals O26, O103, O111, O145 en sorbitol-positieve O157, zijn echter verantwoordelijk voor 80% van de humane STEC infecties en 23% van de HUS gevallen. Deze serotypes, ook niet-O157 STEC genaamd, worden beschouwd als nieuw opduikende pathogene organismen. Voor deze serotypes is geen routine detectiemethode beschikbaar. De ontwikkeling van een detectie- en een isolatiemethode voor niet-O157 STEC in dit project biedt de autoriteiten de mogelijkheid om een degelijk preventiebeleid op te stellen voor een betere voedselveiligheid. Het draagt eveneens bij tot duurzame ontwikkeling, waarin preventie cruciaal is.

PROJECTBESCHRIJVING

Doelstelling

Het doel van het project is de validatie van een detectie- en een isolatiemethode voor niet-O157 STEC en sorbitol-positieve O157 in voedingsmiddelen, dierlijk afgeleide producten en stalen van menselijke klinische isolaten. Tijdens een vorig SPSP II project (projectnummers CP-02-581 en CP-43-582) werd reeds een detectie- en isolatiemethode ontwikkeld voor deze serotypes. Deze methoden zullen verder geoptimaliseerde en gevalideerd worden in dit project.

Methode

Aanrijkmethode en isolatiemedia die ontwikkeld zijn tijdens het SPSP II project zullen verder geoptimaliseerd worden door de Universiteit Gent. De bereiding van selec-

tieve isolatiemedia zal vereenvoudigd worden en de detectielimiet voor STEC in feces zal verbeterd worden. Voor dit laatstgenoemde zal immunomagnetische scheiding (IMS) toegepast worden na de selectieve aanrijksstap en voor het uitplaten op een selectief medium.

Multiplex PCR en het PulseNet Europe PFGE protocol zullen toegepast worden. Een 25-amplicon multiplex PCR, ontwikkeld door het UA-VIB (VIB8), zal toegepast worden voor de karakterisatie en serotypering van een collectie van humane klinische stammen, beschikbaar in het Belgisch STEC Referentie Centrum in het Universitair Ziekenhuis Brussel (UZ Brussel). Daarnaast zal door ILVO-T&V een PFGE (pulsed field gel electrophoresis) protocol toegepast worden op de collectie van humane klinische stammen van het Referentie Centrum. Deze patronen zullen, aan de hand van BioNumerics software, geanalyseerd en geclusterd worden en vervolgens toegevoegd worden aan een on-line PNE-databank. Deze databank maakt wereldwijd een vroege identificatie van uitbraken afkomstig van een gemeenschappelijke haard mogelijk. Overigens zal het UA-VIB multiplex PCRs ontwikkelen gebaseerd op verschillende serotypes en virulentiegenen. Deze multiplex PCRs zullen door ILVO-T&V geoptimaliseerd worden voor gebruik in routine screening van stalen zoals melk, kaas, vlees en runderfeces.

De geoptimaliseerde detectie- en isolatiemethoden zullen geëvalueerd worden op humane klinische stalen door het UZ Brussel voor zijn toepasbaarheid bij routine screening in klinische laboratoria.

Ten slotte wordt het gehele isolatieprotocol voor STEC geëvalueerd tijdens een in-huis validatie studie, uitgevoerd door de Universiteit Gent en ILVO-T&V. Verschillende soorten stalen zullen geïnoculeerd worden met verschillende concentraties van stammen van de serotypes O26, O103, O111, O145 en sorbitol-positieve O157. In een volgend stadium zal de STEC isolatie methode gevalideerd worden in een interlaboratorium studie of ringonderzoek. Deze studie zal gecoördineerd worden door de Universiteit Luik. Het protocol voor de validatie en de evaluatie van de resultaten zal gebaseerd zijn op richtlijnen beschreven in de ISO 16140 norm.



STECTRACK

Validatie van detectiemethoden voor nieuw opduikende ziekteverwekkende *Escherichia coli*.

INTERACTIE TUSSEN VERSCHILLENDE PARTNERS

De interacties tussen de verschillende partners werden in detail beschreven in de paragraaf 'Methode'.

Band met internationale programma's

Er zijn geen specifieke samenwerkingsverbanden met andere wetenschappelijke programma's. Wel zullen buitenlandse laboratoria, die betrokken zijn met STEC onderzoek, aan het ringonderzoek deelnemen. De deelnemende internationale laboratoria kunnen bijdragen tot het verspreiden van de nieuwe methode op grote schaal. Bovendien maakt het contact met de internationale laboratoria discussies mogelijk omtrent de beperkingen van STEC detectie. Tenslotte kan het wijdverspreid toepassen van de methode, de basis zijn voor de ontwikkeling van een standaard methode door een internationale organisatie, zoals ISO of CEN.

RESULTATEN EN PRODUCTEN

In de eerste plaats verwachten we dat de aanrijksprocedures en isolatiemedia geoptimaliseerd zullen worden, zodat voor de verschillende matrices een maximale detectielimiet van 1 CFU per gram bereikt wordt. In de tweede plaats zal een collectie van humane klinische stammen gekarakteriseerd worden en de verkregen PFGE patronen zullen beschikbaar worden gesteld in een on-line PNE-databank. Ten derde zal een routine detectiemethode ontwikkeld worden voor de screening van stalen en een routine detectie- en isolatiemethode voor de analyse van humane feces stalen in klinische laboratoria. Tenslotte zullen een in-huis validatie studie en een interlaboratorium studie de STEC isolatie methode finaal valideren.

PARTNERS - ACTIVITEITEN

- De Universiteit Gent is ervaren in conventionele microbiologische methoden en in onderzoek betreffende vleescontaminatie en staalname in slachthuizen.
- Het ILVO-T&V is ervaren in moleculaire microbiologie en in methoden voor bacteriële taxonomie, inclusief moleculaire typering. Het instituut heeft ook een ruime ervaring in de kwaliteitsbepaling van melk en zuivelproducten.
- Het UA-VIB8 is ervaren in de ontwikkeling van moleculaire methoden en heeft een algoritme ontwikkeld voor het ontwerpen van complexe multiplex PCR assays.
- Het UZ Brussel (voormalig UZ-VUB) is ervaren in humane klinische diagnose en functioneert als het STEC Referentie laboratorium in België. Deze partner heeft toegang tot humane klinische stalen en bezit een collectie van humane klinische isolaten.
- De Universiteit Luik is ervaren in de validatie van microbiologische methoden en bezit een ruime ervaring in het organiseren van microbiologische interlaboratorium studies op nationaal en internationaal niveau.

CONTACT INFORMATIE

Coördinator

Lieven De Zutter

Universiteit Gent
Faculteit Veterinaire Geneeskunde
Department van Veterinaire Publieke
Gezondheid & Voedselveiligheid
Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke
Tel: +32 (0)9 264 74 51
Fax: +32 (0)9 264 74 91
lieven.dezutter@ugent.be
<http://www.vvv.ugent.be/>

Promotoren

Lieve Herman, Marc Heyndrickx & Koen De Reu

Instituut voor Landbouw en Visserij Onderzoek (ILVO)
Eenheid Technologie en Voeding
Brusselsesteenweg 370, B-9090 Melle
Tel: +32 (0) 9 272 30 00
Fax: +32 (0)9 272 30 01
lieve.herman@ilvo.vlaanderen.be
<http://www.ilvo.vlaanderen.be/TenV/>

Jurgen Del-Favero

Toegepaste Moleculaire Genoom Groep
VIB Departement Moleculaire Genetica (UA-VIB)
Universiteit Antwerpen
Universiteitsplein 1 - Gebouw V
B-2610 Antwerpen
Tel: +32 (0)3 265 10 32
Fax: +32 (0)3 265 10 12
jurgen.delfavero@ua.ac.be
<http://www.molgen.ua.ac.be/> &
<http://www.vibgeneticservicefacility.be/>

Denis Piérard

Universitair Ziekenhuis Brussel (UZ Brussel, voormalig Academisch Ziekenhuis Vrije Universiteit Brussel, AZ-VUB)
Laboratorium voor Microbiologie
Laarbeeklaan 101, B-1090 Brussel
Tel: 32 (0)2 477 50 02
Fax: +32 (0)2 477 50 15
denis.pierard@uzbrussel.be
<http://www.uzbrussel.be/>

Georges Daube

Université de Liège
Faculté de Médecine Vétérinaire
Sart-Tilman, B43b, B-4000 Liège
Tel: +32 (0)4 366 40 15
Fax: +32 (0)4 366 40 16
georges.daube@ulg.ac.be
<http://www.mdaoa.be>

Opgvolgingscomité

Voor de volledige en de meest up-to-date samenstelling van het Opgvolgingscomité, gelieve onze databank van federale onderzoeksacties (FEDRA) te bezoeken op <http://www.belspo.be/fedra> of <http://www.belspo.be/ssd>