

Streszczenie rozprawy doktorskiej pt.

**„Identyfikacja, serogrupy i geny wirulencji *L. monocytogenes* izolowanych z żywności i środowisk pokrewnych”**

Autor: **Kamila Muskalska**

Promotor: **prof. dr hab. Waldemar Dąbrowski**

Promotor pomocniczy: dr inż. Barbara Szymczak

*Listeria monocytogenes* jest jedną z kluczowych kontaminacji mikrobiologicznych żywności. Bakteria wywołuje chorobę - listeriozę o wysokim poziomie śmiertelności (20-30%). Fakt ten niesie za sobą obowiązek badania żywności pod względem obecności *L. monocytogenes*. Do tej pory „złotym standardem” identyfikacji tego patogenu była norma ISO, jednak obecnie badacze coraz częściej wykorzystują dodatkowe testy fenotypowe bądź genetyczne. Dane literaturowe nie precyzują jednak jednoznacznie, które z wykorzystywanych genów gatunkowych mogłyby posłużyć jako wysoce specyficzne markery *L. monocytogenes*. Ważnym aspektem dotyczącym chorobotwórczości *L. monocytogenes*, jest także serologia gatunku. W obrębie gatunku typuje bowiem się 12 serotypów podzielonych na pięć serogrup: IA(1/2b, 3b, 7), IB(4b, 4d, 4e), IIA(1/2a, 3a), IIB(1/2c,3c) i III (4a, 4c), z których tylko trzy, 1/2a, 1/2b i 4b odpowiadają za 96% zachorowań. Ponadto 50% przypadków listeriozy w skali światowej wywołuje serotyp 4b. Pozostałe typy serologiczne stanowią znikomą przyczynę listeriozy, co oznaczać może, że posiadają inne zdolności do wywoływania zachorowań.

Celem badań było porównanie skuteczności metod biochemicznych i genetycznych stosowanych w identyfikacji *L. monocytogenes* oraz określenie potencjału wirulencji szczepów w zależności od ich typu serologicznego.

W pierwszym etapie badań szczepy identyfikowano do gatunku za pomocą genów: *iap*, *hly*, *prfA*, *lmo0733*. Na podstawie porównawczych analiz z zastosowaniem metod genetycznych i biochemicznych, jako markery gatunkowe wytypowano geny *prfA* i *lmo0733*, natomiast wykluczono stosowanie genów *hly* i *iap*. Określono ponadto niską specyficzność testów fenotypowych. Zidentyfikowano 114 szczepów *L. monocytogenes*, które następnie klasyfikowano do poszczególnych grup serotypowych za pomocą testu mutipleks PCR. W żywności zidentyfikowano serogrupy: IA (28,3%), IB (26,4%), IIA (26,4%), IIB (18,9%). W tuszach i kale wykryto grupy serotypowe 1/2a-3a i 1/2b-3b-7, natomiast w glebie wyłącznie 4b-4d-4e. W ostatniej fazie badań określano potencjał do wirulencji w oparciu o 12 głównych

genów zjadliwości. Serogrupy IA, IB, IIA, IIB posiadały podobny potencjał chorobotwórczy, u szczepów tych zidentyfikowano większość badanych genów wirulencji (*prfA*, *hly*, *plcA*, *plcB*, *mpl*, *actA*, *iap*, *inlA*, *inlC*, *inlJ*). Geny *inlB* i *llsX* okazały się specyficzne dla wybranych grup serotypowych. Gen *inlB* wystąpił wyłącznie u IA, IIA, IIB, natomiast *llsX* u części izolatów IA (83%) i IB (50%). Obniżony potencjał wirulencji wykryto u szczepów z serogrupy 4a-4c (brak genów *iap*, *inlB*, *inlC*, *inlJ*, *llsX*), co może świadczyć o ich odmiennych zdolnościach do wywoływania zachorowań. Na podstawie korelacji genów wirulencji i serotypów *L. monocytogenes* ustalono ponadto nowy podział na sześć serogrup: I (1/2b, 7), II (4e), III (4b, 4d), IV (4a), V (4c), VI (3b, 1/2a, 3a, 1/2c, 3c).

Podsumowując, badania zrealizowane w niniejszej rozprawie stanowiły pierwszy przełomowy etap, który wskazuje na konieczność zmian w diagnostyce *L. monocytogenes*. Zasugerowano także znaczną odmienność grupy serotypowej III od pozostałych typów serologicznych, uzasadniając tym niezbędność dalszych badań, które mogą w przyszłości doprowadzić do utworzenia nowego niepatogenicznego podgatunku tego mikroorganizmu.

Kamila Huskulska