



Foto: Uffe Weng/Roskilde Universitet

SUPER-SALMONELLA

gør os klogere på tarminfektioner

Vores naturlige tarmflora af bakterier yder en vis beskyttelse mod sygdomsfremkaldende bakterier. Men ganske små ændringer i genomet på en indtrængende bakterie kan være nok til, at konkurrencefordelen tipper til dens side.

I vores tarme bor der billioner af bakterier, som hjælper os med at fordøje vores mad og bidrager med næringsstoffer. Til gengæld får de husly og lidt næring fra vores føde. Tilsammen kaldes denne population af bakterier for vores mikrobiota (eller mikrobiom). Sammensætningen er kompleks med mange forskellige arter, og den er tilpasset miljøet i tarmen. En yderst vigtig egenskab ved vores mikrobiota er også, at den yder delvis beskyttelse overfor indtrængende arter af fx sygdomsfremkaldende bakterier. Mekanismerne for denne delvise beskyttelse har været svære at belyse, men studier tyder på, at det bl.a. skyldes, at mikrobiota optager al tilgængelig næring og dermed direkte hæmmer indtrængende arter i at etablere sig. Man ved

også, at antibiotika-behandling, der jo rammer alle bakterier, dvs. også vores mikrobiota, er en vigtig risikofaktor for efterfølgende infektion med en sygdomsfremkaldende bakterie. Formodentlig skyldes det, at antibiotikaen udløser en forstyrrelse af vores mikrobiota, der er stor nok til at tillade indtrængende arter en plads i økosystemet i vores tarme. Af samme årsag er man også tit tilbageholdende med at behandle tarminfektioner med antibiotika.

I de senere år har vi desværre set en fremkomst af sygdomsfremkaldende bakterier, der meget effektivt er i stand til at etablere sig i tarmen og forårsage infektion, selv hos sunde individer uden forudgående antibiotikabehandling. Det tyder altså på, at disse epidemiske bakterier er

i stand til at udkonkurrere vores mikrobiota og kolonisere vores tarme. Man ved dog endnu ikke, hvorfor disse varianter er så succesfulde.

Mus med salmonella

For at blive klogere på dette har jeg brugt bakterien *Salmonella Typhimurium* som model for en sygdomsfremkaldende tarmbakterie. Denne bakterie er en almindelig årsag til fødevarebårne infektioner, som kommer til udtryk ved kraftig diarre og høj feber.

For at kunne studere *Salmonellas* evne til at kolonisere tarmen i konkurrence med mikrobiota har jeg også benyttet mig af en musemodel for tarminfektioner. Jeg har brugt en særlig muse-type, der godt kan blive inficeret med *S. Typhimuri-*

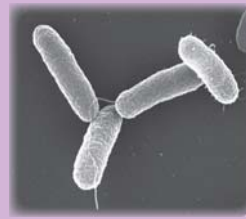
Om forfatteren



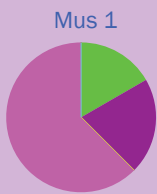
Lotte Jelsbak er cand. scient. og ph.d. Hun er lektor i Medicinal Biologi på Roskilde Universitet, hvor hun forsker i sygdomsfremkaldende bakterier og hvilke mekanismer, de benytter sig af, når de gør os syge. ljelsbak@ruc.dk



Mus inficeres med *Salmonella*



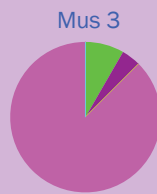
Fordeling af bakteriestammer ved infektion



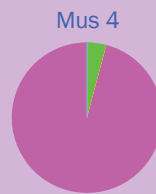
Mus 1



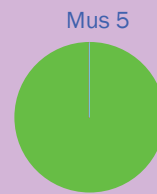
Mus 2



Mus 3



Mus 4



Mus 5

Fordeling af bakteriestammer i afføringsprøver efter 6 uger

Dominant variant har 2 mutationer uden påvirkning af protein-sekvensen

Dominant variant har 1 mutation, der ændrer protein-sekvensen

Dominant variant i mus 1, 3 og 4 har identisk mutation, der ændrer proteinsekvensen af et regulatorprotein

um, men som ikke viser tegn på sygdom. Det vil sige, at jeg kan lade forsøgene køre over relativt lang tid, uden at musene lider overlast. I mit forsøg var jeg interesseret i at undersøge, om *S. Typhimurium* kunne udvikle sig til en ny variant ved at ændre i sit DNA og derefter undersøge, om disse ændringer gør *Salmonella* bedre i stand til at etablere sig i tarmmiljøet. Ved på denne måde at bruge eksperimentel evolution og naturlig selektion kan man afdække, hvilke processer i tarmmiljøet der normalt begrænser sygdomsfremkaldende bakteriers evne til at etablere sig i tarmen.

Salmonella kan udvikle superkoloniserings-varianter

I min undersøgelse konstruerede jeg 8 *Salmonella*-stammer, der er ens, bortset fra et kort DNA-stykke, hvor DNA-sekvensen varierer mellem de 8 stammer. De 8 stammer har dermed fået indbygget en slags "stregkode" i deres DNA, der gør det muligt at skelne dem fra hinanden ved hjælp af molekylære teknikker. Før musene blev inficeret med bakterierne, blandede jeg alle 8 stammer i forholdet 1:1, og musene blev inficeret med denne blanding. I alt blev 5 mus inficeret. Derefter fik salmonellabakterierne lov til at etablere sig i tarmen over

4-6 uger. Undervejs blev der jævnligt indsamlet prøver af musenes afføring. Ved hjælp af DNA-stregkoden er det muligt at undersøge, hvordan fordelingen af de forskellige stammer udvikler sig og dermed afgøre, om en af de 8 stammer er bedre til at etablere sig i tarmen end de andre. Hvis det er tilfældet, kan det tyde på, at denne stamme har tilpasset sig tarm-miljøet og dermed har opnået en fordel i forhold til de andre stammer (= naturlig selektion). Ofte er det nemlig kun ganske små ændringer i bakteriers DNA, der skal til for at øge deres konkurrenceevne i et givent miljø.

Analysen af afføringsprøverne viste klart, at der i alle mus var fremkommet dominante varianter, der optrådte i relativt større tal i forhold til de andre varianter. Da jeg undersøgte disse succesfulde varianters DNA ved hjælp af genomanalyse, viste det sig, at alle dominante varianter havde fået ændret deres DNA-sekvens 1 til 2 steder i genomet. Især var det interessant, at den dominante variant fra 3 af musene var fra den samme stamme med den samme ændring i DNA. Det tyder på, at netop denne DNA-ændring gjorde *Salmonella* særligt effektiv til at kolonisere tarmen og udkonkurrere mikrobiotaen i musene.

Lille ændring gør hele forskellen

Mutationen i denne stamme af bakterier befinder sig i en regulator af gener, der er nødvendige for at bakterier kan benytte en særlig sukker-art (glucuronat) som næring. Tilsyneladende ændrer mutationen på aktiviteten af regulatoren, således at bakterier med denne mutation er bedre til at benytte glucuronat som næring. Derved opnår de en øget konkurrenceevne for næringsstoffer i tarmen.

Min undersøgelse bekræfter altså, at en ganske lille ændring i sygdomsfremkaldende bakteriers genom kan være nok til, at de kan opnå en konkurrencefordel og dermed potentielt blive endnu mere sygdomsfremkaldende.

Men denne viden kan vi også udnytte til vores egen fordel. En ganske lille ændring af genomet i en af de "gode" bakterier i vores tarm vil således måske også være nok til at give dem en konkurrencefordel, som kan hjælpe med at udkonkurrere de indtrængende bakterier. Den viden kan man bruge til at udvikle bakteriestammer til at behandle tarminfektioner og dermed mindske brugen af antibiotika. ■

Videre læsning
Studiet er publiceret i BMC Microbiology: Søndberg E, and Jelsbak L. (2016) *Salmonella Typhimurium* undergoes distinct genetic adaptation during chronic infections of mice.

Studiet er støttet med en bevilling fra Det Frie Forskningsråd for Teknologi og Produktion til Lotte Jelsbak, bevillingsnummer: 12-126640

Alle museforsøg er godkendt af Forsøgsdyrstilsynet i Danmark og udført i henhold til gældende lovgivning.