



Wageningen Food Safety Research Nieuwsbrief WOT voedselveiligheid Microbiologie

Nummer 2, maart 2023

Deelprogramma Microbiologie

Het deelprogramma Microbiologie bij Wageningen Food Safety Research (WFSR) richt zich op het ontwikkelen en toepassen van analysemethoden om de aan- of afwezigheid van pathogene bacteriën en virussen en antibioticaresistente bacteriën effectief en efficiënt vast te stellen. Belangrijke onderwerpen zijn referentietaken, monsteronderzoek, de ontwikkeling en implementatie van nieuwe methodes en duiding van resultaten.

In deze nieuwsbrief wordt de potentie toegelicht van sequencing van bacteriën voor voedselveiligheid.

Introductie

Om pathogenen in de voedingsmiddelenindustrie effectief te bestrijden is het belangrijk om de herkomst van pathogenen te kennen. Het koppelen van pathogenen die humane infecties veroorzaken aan pathogenen die in voedsel gevonden worden, is essentieel bij bronopsporing en uitbraakonderzoek. Hiervoor zijn door de jaren heen diverse klassieke en moleculaire microbiologische technieken ontwikkeld. Met de ontdekking van DNA zijn door de jaren heen steeds meer moleculaire typeringstesten ontwikkeld die voor de indeling van bacteriën worden gebruikt. De laatste decennia maken met name de sequencing-technieken een enorme ontwikkeling door.

Achtergrond Whole Genome Sequencing

Binnen de bacteriologie wordt bijvoorbeeld high-throughputsequencing gebruikt voor Whole Genome Sequencing (WGS). Bij deze procedure wordt van een bacterieel isolaat de volledige genoomsequentie bepaald, oftewel het genetisch materiaal in kaart gebracht.

Met de ontwikkeling van high-throughputsequencing is vanaf de jaren 2000 DNA-sequencing in hoog tempo goedkoper en sneller geworden. Er zijn high-throughputmethoden die al in staat zijn om in slechts één dag het volledig menselijk genoom te sequencen.

Mogelijkheden WGS

WGS is op alle bacterie soorten toepasbaar. Het heeft een zeer hoge resolutie waardoor het mogelijk is pathogenen onderling te onderscheiden. Dit heeft als voordeel dat ook beter de herkomst van het pathogeen kan worden vastgesteld.



Het is ook mogelijk om bijvoorbeeld de virulentie- en resistentiefactoren middels WGS te bepalen. Bij het vaststellen van de potentiële virulentie kan verder onderscheid gemaakt worden tussen stammen. Dit kan worden gebruikt om te duiden waarom de ene stam wel virulent is en een andere stam niet.

Een andere toepassing van WGS is het bepalen van de mogelijke resistentie van bacteriën. Op basis van de aanwezigheid van genen of bepaalde mutaties wordt dan een genetisch resistentieprofiel opgesteld.

Een belangrijk gegeven is dat de European Food Safety Authority (EFSA) voor monitoring van antimicrobiële resistentie sinds kort WGS-data toestaat. Echter, het blijft van belang om gebruik te maken van fenotypische typering van antimicrobiële resistentie om nieuwe resistentiemechanismen te kunnen detecteren. Dit omdat nieuwe resistenties en de hieraan verbonden nieuwe genetische factoren nog onbekend zijn. In de toekomst wordt waarschijnlijk een combinatie gebruikt van fenotypische en op WGS-gebaseerde monitoring.





Wageningen Food Safety Research Nieuwsbrief WOT voedselveiligheid Microbiologie

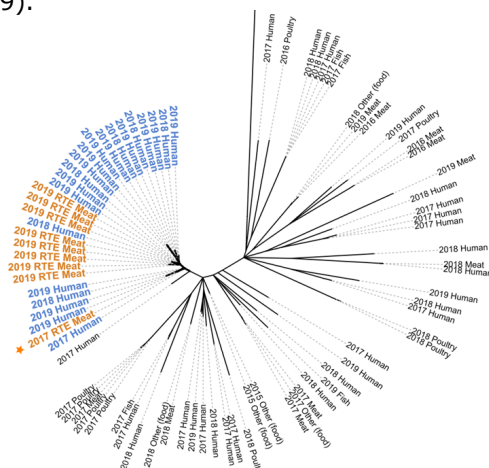
Nummer 2, maart 2023

WGS bij WFSR

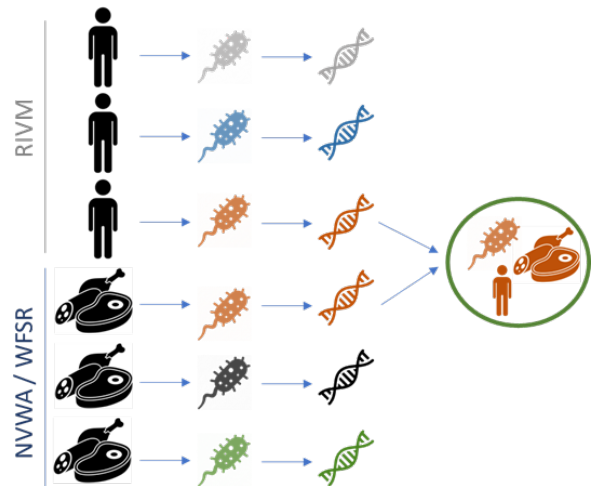
Bij WFSR wordt WGS sinds 2017 routinematig ingezet voor typering van *Listeria monocytogenes* en STEC, waarmee de klassieke typeringsmethoden zijn komen te vervallen. Sinds 2022 is hier ook de typering van *Salmonella* bij gekomen. Voor het opsporen van voedseluitbraken is in samenwerking met het RIVM een database opgezet waarin WGS-data gedeeld worden (Figuur 1). RIVM levert hierbij de data van bacteriën geïsoleerd uit patiënten en WFSR de data van bacteriën geïsoleerd uit voedsel. Deze manier van werken heeft al snel zijn waarde laten zien bij het oplossen van een uitbraak gerelateerd aan vleeswaren in 2019 (Figuur 2, NVWA, 2020). Bij deze uitbraak kon voor het eerst op basis van WGS-data een directe link gemaakt worden tussen voedsel en een producent. Het gevolg hiervan was een recall, en in een groot aantal supermarkten waren daardoor de vleeswaren-schappen leeg. In de afgelopen jaren heeft de NVWA regelmatig WGS-data gebruikt als ondersteuning om bedrijven er toe doen te bewegen om de productie-omgeving beter schoon te maken

Daarnaast zijn ook bij internationale uitbraakonderzoeken WGS-data vanuit Nederland van waarde gebleken, zoals bij een Europese uitbraak met *Salmonella* gerelateerd aan eieren uit Polen (Pijnacker et al., 2019).

Naast de pathogenen wordt WGS ook door WFSR gebruikt bij onderzoek aan resistente bacteriën. Voor resistente bacteriën worden vervolgens in samenwerking met Wageningen Bioveterinary Research (WBVR) de resistentiemechanismen bepaald aan de hand van deze data. Een aantal bevindingen zijn ook in samenwerking met WBVR gepubliceerd (Brouwer et al., 2018; Brouwer et al., 2019).



Figuur 2: Verwantschapsanalyse van het cluster dat een uitbraak veroorzaakte in 2019 gerelateerd aan vleeswaren.



Figuur 1: Representatie van het delen van de WGS-data tussen WFSR en RIVM, waarbij een match gemaakt kan worden tussen humaan en voedsel voor het oplossen van uitbraken.

Naast de directe typering die WFSR uitvoert middels de WGS-data, worden de data ook gebruikt in onderzoeksprojecten die bijvoorbeeld in samenwerking met het RIVM worden uitgevoerd. Voorbeelden van de samenwerking met het RIVM zijn bronattributiestudies voor STEC en *Campylobacter* (Mughini-Gras et al., 2018; Mughini-Gras et al., 2020).

De toekomst

Ontwikkelingen op het gebied van sequencing volgen elkaar snel op. Zo zijn er nieuwe technologische ontwikkelingen, zoals het sequencen van het genoom van een enkele cel (single cell genomics) en de ontwikkelingen op het gebied van metagenomics. Metagenomics is de techniek waarbij van een monster (voedsel, omgeving, grond) al het DNA in kaart wordt gebracht. Met metagenomicstechnieken kan bijvoorbeeld duidelijk gemaakt worden of er meerdere soorten pathogenen of resistenties tegelijk aanwezig zijn. Ook kunnen associaties tussen de verschillende pathogenen en resistenties beter onderzocht worden.

Naast deze technische lab-ontwikkelingen zijn er ook belangrijke ontwikkelingen op het gebied van data-analyse, zoals verbeterde algoritmes en statistische modellen. Hierbij worden ook steeds meer technieken ingezet die onder Kunstmatige Intelligentie vallen, zoals machine learning.

Ook WFSR zet in op deze ontwikkeling en werkt aan toepassingen van de nieuwe lab- en computertechnieken voor onderzoeks- en monitoringstaken.

