

TNO vindt nieuwe toepassingen voor 'mass sequencing'

Snel inzicht zonder kweken

De gehele microbiële populatie van een productieomgeving in een keer in kaart brengen. Dat kan met *mass sequencing*, een moleculaire analysemethode waarvoor TNO nieuwe toepassingen vond. Voor mass sequencing zijn geen bacteriekweken nodig en de methode levert veel informatie op. Daarmee zijn productieprocessen beter te sturen. De techniek is al met succes toegepast in de zuivel.


Om een microbiel probleem aan te pakken, is het waardevol de micro-organismen die dit veroorzaken en hun herkomst te kennen. Bedrijven nemen soms echter maatregelen zonder dat zij de precieze oorzaak met kweekafhankelijke methoden kunnen achterhalen. TNO heeft nu een nieuwe toepassing gevonden voor de moleculaire analysemethode *mass sequencing*. Deze kweekvrije techniek geeft snel inzicht in de gehele microbiële populatie in een voedingsmiddelenbedrijf doordat vele monsters gelijktijdig zijn te onderzoeken, bijvoorbeeld van grondstoffen, halffabricaten, eindproducten, machineoppervlakken en de lucht. Per monster wordt zo een veel completer beeld van de aanwezige micro-organismen verkregen dan dat gebaseerd op kweekafhankelijke methoden. Met deze methode ontsnapt als het ware geen enkel micro-organisme aan de aandacht en is snel te achterhalen waar in het bedrijf de soorten micro-organismen aanwezig zijn die in het product worden teruggevonden.

Beperkingen

De traditionele methode om micro-organismen aan te tonen is gebaseerd op het kweken op een voedingsbodem, bijvoorbeeld in petrischalen. Micro-organismen moeten daar eerst (herstellen en) groeien om ze waar te nemen. Groei treedt echter lang niet altijd op, want die is onder andere afhankelijk van

Mass sequencing stap voor stap

1. Inventarisatie van de relevante producten en plaatsen voor monsternamen.
2. Monsternamen van producten, oppervlaktes en lucht op de gebruikelijke manier.
3. DNA-extractie en amplificatie (per monster wordt een moleculair label aangebracht. Dit maakt het mogelijk om in een run van veel monsters tegelijk de DNA-volgorde te bepalen terwijl de resultaten wel herleidbaar zijn tot de oorspronkelijke monsters.)
4. Bepalen DNA-volgorde (sequenzen) op het 16S ribosomaal RNA.
5. Identificatie van de soorten door middel van vergelijkingen in sequentie-databases.
6. Weergave en interpretatie van de resultaten.



Mass sequencing is een moleculaire methode waarbij de DNA-volgorde wordt bepaald in een soortspecifiek deel van het erfelijk materiaal van micro-organismen.

het soort medium, de concurrentie van andere soorten, de fysieke toestand van het micro-organisme, de temperatuur van de broedstof en de aanwezigheid van zuurstof. Het aantal kolonievormende eenheden op een petrischaal is dus in veel gevallen een onderschatting van het aantal micro-organismen dat in het monster voorkomt.

DNA

Mass sequencing is een moleculaire methode waarbij de DNA-volgorde wordt bepaald in een soortspecifiek deel van het erfelijk materiaal van micro-organismen. Als de DNA-volgorde bekend is, is ook meteen bekend om welk soort micro-organisme het gaat (zie kader). De methode was al beperkt beschikbaar voor individuele monsters. Het bijzondere aan de nieuwe toepassing van mass sequencing is dat het simultaan het erfelijk materiaal van veel micro-organismen in kaart brengt. Zelfs micro-organismen afkomstig van verscheidene monsters zijn tegelijk te identificeren. Mass sequencing vereist wel een gespecialiseerd laboratorium, vanwege de

kosten van de apparatuur en vereiste expertise. De investering die dat vraagt, maakt dat niet alle voedingsmiddelenbedrijven deze methode zelf kunnen uitvoeren. Ook het interpreteren van de grote hoeveelheid gegevens is zonder ervaring een grote uitdaging. TNO kan hierbij een rol spelen. De onderzoeksorganisatie krijgt deze techniek binnenkort zelf in huis en de afdeling Microbial Genomics heeft veel kennis over bio-informatics opgebouwd, waardoor ze in staat is om de resultaten te interpreteren.

Focussen

Het inzicht dat mass sequencing geeft in de microbiële flora die aanwezig is op verschillende plaatsen in de productie en in het eindproduct, maakt dat er specifieke maatregelen zijn te nemen om een probleem op te lossen. De focus leggen op plaatsen waar micro-organismen problemen geven, verhoogt de kans op succes. Zo kunnen er op bepaalde plaatsen hoge aantallen micro-organismen aanwezig zijn, maar als die niet uitgroeien in het product zijn ze minder van belang. De methode is ook uitermate geschikt

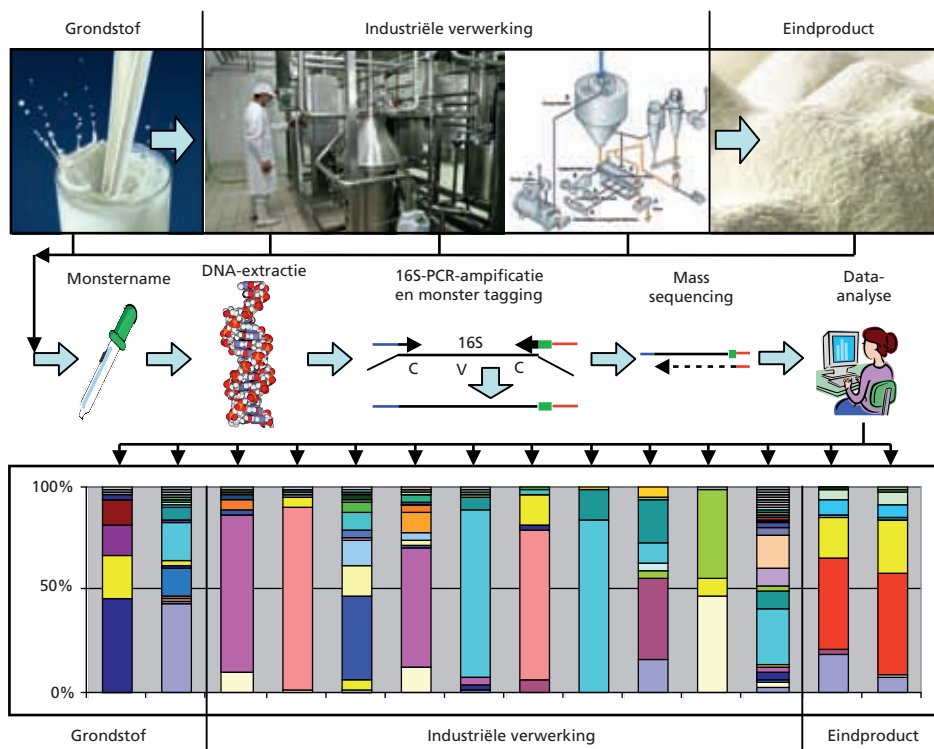
om in het laboratorium processimulaties uit te voeren om zo de invloed van veranderingen in het proces op de microbiële populatie te meten. Testen zijn te doen met andere grondstoffen of een andere temperatuur bij een verhittingsstap. Ook zijn producten te bewaren onder verschillende omstandigheden. Als vervolgens de monsters worden geanalyseerd met mass sequencing, wordt een goed beeld verkregen van de gevolgen van elke pro-

‘Met deze methode ontsnapt geen enkel micro-organisme aan de aandacht’

cesverandering op de microbiële populatie. Zo zijn ook de verschillen tussen productiefaciliteiten in kaart te brengen of tussen grondstoffen met een andere herkomst. Met de traditionele kweekmethoden voor micro-organismen is het onderzoeken van veel monsters op veel soorten micro-organismen een tijdrovende en arbeidsintensieve klus.

Verwachtingen

Mass sequencing is al toegepast in de voedingsmiddelenindustrie door het Top Institute Food and Nutrition (TIFN), een samenwerkingsverband van bedrijven en kennisinstellingen dat precompetitief onderzoek uitvoert. In het kader van het project Sporen & Biofilms werd de microbiële populatie van een melkpoederfabriek in kaart gebracht, zie figuur 1. De aanleiding was dat in sommige partijen melkpoeder thermofiele sporenvormers werden aangetroffen. Deze thermofiele sporenvormers waren nog niet bekend uit eerder onderzoek. Verdere karakterisering van deze stammen kan helpen bij het zoeken naar beheersmaatregelen. TNO-onderzoekers Remco Kort en Erik Hoornstra hebben hoge verwachtingen van mass sequencing: “Het is een betaalbare methode die veel kennis oplevert.”



Figuur 1. Mass sequencing in een zuivelfabriek. De bovenste rij geeft het productieproces weer van grondstof tot eindproduct. In de middelste rij de verschillende stappen van mass sequencing. De onderste rij laat de verschillende bacteriesoorten zien, waarbij elke kleur een andere bacterie aangeeft (een dergelijke weergave is ook mogelijk op hogere of lagere taxonomische niveaus). De grafiek laat zien hoe de microbiële populatie in de grondstof, tijdens verwerking en in het eindproduct verandert.

Annemarie Barbier-Schenk

Ir. A. Barbier-Schenk is freelance tekstschrijver
 Informatie: TNO Kwaliteit van Leven, Remco Kort, 030-6944625, remco.kort@tno.nl.