



Årsrapport 2014

31. marts 2015
Proj.nr. 2000207
SUM/RS/JUSS

Mikrobiologisk beredskab og laboratoriefaciliteter

Sammendrag

I projektet Mikrobiologisk beredskab og laboratoriefaciliteter sikres virksomhederne adgang til den nyeste viden inden for mikrobiologiske analysemetoder til dokumentation af holdbarhed og fødevarer sikkerhed af fersk kød og kødprodukter samt til hygiejnekontrol af produktionsfaciliteter.

Overvågningen af markedet for nye, hurtige og cost effektive analysemetoder har i 2014 medført, at 5 metoder er fundet så relevante, at de er afprøvet i praksis.

Den isotermiske PCR metode til Salmonella fungerer fint, når der sammenlignes med ISO Salmonella metoden, men den er for langsom i forhold til Salmonella 12 timer.

Et nyudviklet PCR instrument er afprøvet til Salmonella 12 metoden. Det kan reducere analysetiden med over 2 timer.

En automatisk MPN metode kan analysere alle typer af traditionelle kvantitative kimtalsundersøgelser på 24 timer.

Der er afprøvet et nyt ATP udstyr, som også kan måle en række andre parametre.

Mulighederne i fuldgenom sekventering er undersøgt og et udstyr er efterfølgende købt med støtte fra Norma og Frode S Jacobsens fond.

En række netværksmøder er gennemført for opdatering på de nyeste metoder og standarden.

Susanne Mansdal
Teamleder
Mikrobiologisk laboratorium

Indledning

Formål

Formålet med projektet er at sikre svine sektoren nem og hurtig adgang til nyeste viden om mikrobiologiske udfordringer og analysemetoder. At følge udviklingen inden for mikrobiologiske problemstillinger og analysemetoder giver svine sektoren bedre mulighed for at bevare den danske kødindustri's forspring i forhold til konkurrenterne og imødekomme kundekrav og myndighedskrav. Viden og overblik over de nyeste mikrobiologiske analysemetoder gør det muligt at vælge den bedste og mest omkostningseffektive løsning. Samtidig sikres viden om de bedst egnede metoder til brug for DMRI's udviklingsprojekter.

Baggrund

Baggrunden for projektet er at nye mikrobiologiske analysemetoder ofte er billigere, mere effektive og tidsbesparende, både hvad angår samlet analysetid og tidsforbrug til håndtering. Den seneste tids alvorlige eksempler på fødevarer smitte fx det stigende antal personer smittet med *Campylobacter* i Danmark, verotoxinproducerende *E. coli* i Tyskland og fødevarerforfalskning med brug af andre dyrearter viser, at der forsat er stort behov for nye og hurtigere analysemetoder til dokumentation af kvaliteten og sikkerheden af fødevarer. Hurtig smittesporing ved fund af patogene mikroorganismer er også vigtig og kan foretages med DMRI's beredskab af PCR-metoder. Laboratoriet er akkrediteret til en række mikrobiologiske analysemetoder, hvilket sikrer analyseresultaternes kvalitet og laboratoriets uvildighed.

Afprøvning og vurdering af nye mikrobiologiske analysemetoder

Nyheder inden for mikrobiologiske analysemetoder overvåges systematisk ved kontakt til leverandører og netværk samt abonnement på relevante nyhedsmedier og hjemmesider. Følgende metoder er afprøvet og vurderet:

<i>Isotermisk PCR metode til Salmonella</i>	DMRI har deltaget i ringtest med afprøvning og validering af en isotermisk PCR metode til påvisning af Salmonella, Loop Mediated Amplification (LAMP). Metoden blev afprøvet parallelt med Salmonella jf. ISO 6579:2002. Den isotermiske PCR del blev udført på Stratagene MX3005 real time PCR ved konstant temperatur og tager kun 60 min. Til sammenligning tager PCR delen af Salmonella 12 metoden 3 timer. Opformering til den isotermiske PCR foregår ikke i BPW, som Salmonella 12 og tager 24 timer mod 10-12 timer for Salmonella 12. LAMP metoden fungerede fint sammenlignet med ISO Salmonella, men hvis metoden skal være et hurtigere alternativ til den nuværende Salmonella 12, vil det kræve dokumentation med den kortere opformering og fornyet NordVal godkendelse.
<i>StepOne Plus til hurtig real time PCR af Salmonella</i>	Real time PCR instrumentet StepOne Plus fra Applied Biosystems er afprøvet til Salmonella 12 metoden og kan gennemføre selve real time PCR kørslen på 40 min. mod normalt 3 timer for traditionelle real time PCR maskiner, som Stratagene MX3005. Metoden optimeres i et andet projekt, "Ultrahurtig metode til påvisning af Salmonella på 2 timer (ULTRASAL)".
<i>TEMPO automatisk MPN metode</i>	I forbindelse med arbejdet i MIKRONET, er der opnået en opdatering på hurtigmetoden TEMPO fra BioMerieux. Metoden er baseret på automatisk MPN, Most Probable Number teknikken og kan benyttes til alle typer af kvantitative kimtalsundersøgelser. Analysetiden er 24 timer i stedet for 3-5 dage for de traditionelle analyser. Ud over den kortere analysetid er håndteringen i laboratoriet væsentlig mindre end ved de traditionelle analyser.
<i>Hurtigmetode til hygiejneundersøgelser</i>	Der er foretaget en opdatering på hurtigmetoder til hygiejneundersøgelser. Metoderne er baseret på ATP bioluminescence. Med det nye Lightning MVP ICON System fra BioControl er det muligt også at måle en række andre parametre som pH, temperatur, ledningsevne og koncentration, som er nødvendige i HACCP sammenhæng. Det medfølgende software kan holde styr på alle dataene og øjeblikkeligt give svar på, om krav til de indlagte procedurer er overholdt, eller om test eller rengøring skal gentages.

Fuldgenom sekventering Udstyr til fuldgenom sekventering på markedet er undersøgt. Der er udarbejdet ansøgning til Norma og Frode S. Jacobsens Fond om udstyr til fuldgenom sekventering, MiSeq WGS fra Illumina. Fuldgenom sekventering forventes at blive mere udbredt til påvisning af patogene bakterier generelt, og bør anskaffes, hvis DMRI fremadrettet skal beherske de moderne DNA-metoder.

Mikrobiologisk metodeberedskab, netværk og konferencer

NordVal godkendelse af Salmonella 12 metoden NordVal godkendelsen af Salmonella 12 real time PCR metoden er fornyet og gælder til 1. november 2016.

MIKRONET netværk om mikrobiologiske hurtigmetoder Netværket for brugere af mikrobiologiske hurtigmetoder, opnåede støtte af GUDP og startede i slutningen af 2013. I netværket deltager repræsentanter fra kød-, mejeri- og fiskeindustrien. Der er afholdt MIKRONET netværksmøder hos Arla Foods, DMRI og Danish Crown, hvor netværket blev opdateret på følgende hurtigmetoder:

- Kvantificering af kimtal - MOCON Greenlight
- Real time PCR til påvisning af *Listeria monocytogenes* fra Biorad og fra Thermo Scientific
- Automatisk kvantificering af kimtal – BioMerieux TEMPO
- Real time PCR til påvisning af *Listeria*, *Salmonella* og patogene *E. coli* – Pall GeneDisc
- MDS, Molecular Detection System fra 3M, isotermisk PCR til påvisning af *Salmonella*, *Listeria* og patogene *E. coli*

NMKL arbejdsgruppe Der deltages løbende i NMKL møder, hvor det beslutes, hvilke nye NMKL metoder, der skal udarbejdes, og hvilke af de eksisterende metoder, der skal revideres. Der er generelt stor fokus på hurtigere mikrobiologiske analysemetoder. NMKL's PCR metode til patogene *Yersinia* er derfor revideret. Den er enklere og hurtigere end den tidligere NMKL PCR metode. Der skal nu kun udføres en PCR analyse efter 24 timers opformering. Metoden er mere effektiv sammenlignet med den traditionelle dyrkningsmetode til påvisning af *Yersinia enterocolitica*. Årsmødet blev holdt i Island i august, hvor problematikken med resistente bakterier havde stor fokus.

*DANAK akkreditering
og årsmøde*

Laboratoriets DANAK akkreditering er opretholdt. Der er deltaget i DANAK's årlige akkrediteringsdag i juni, hvor DANAK orienterede om generelle nye tiltag inden for akkrediteringsområdet. DANAK er fortsat ved at udarbejde en ny retningslinje, AB 13 for beregning og angivelse af usikkerhed på mikrobiologiske analyseresultater. ISO 17025 med generelle krav til prøvningslaboratorier står for at blive opdateret. Laboratoriets akkrediterede analysemetoder er løbende vedligeholdt og er udvidet med Salmonella jf. ISO 6579. Foruden de akkrediterede analysemetoder har laboratoriet også et beredskab af specialanalyser, som ikke er akkrediterede. DMRI's kvalitetsstyringsystem er overført til Teknologisk Instituts fælles elektroniske akkrediteringssystem QA-web.

EUROLAB

Der er deltaget i møder i EUROLAB om revidering af ISO 17025 og den forventes færdig om to år. EUROLAB har overtaget arbejdet med at udarbejde en ny guideline for DANAK om validering af metoder, tidligere RL 1.

Studietur til FVST mikrobiologiske laboratorium Ringsted

For at sikre effektiv laboratoriedrift, er der gennemført studietur til Fødevarestyrelsens mikrobiologiske laboratorium i Ringsted. Her blev udvekslet erfaringer og nye ideer til effektivisering af prøvehåndtering, forskellige autoklavetyper, LIMS software LabVantage, støjdemping af stomachere, billigere bortskaffelse af patogen affald og hensigtsmæssig adskillelse af arbejdsopgaver for at forebygge krydskontaminering.