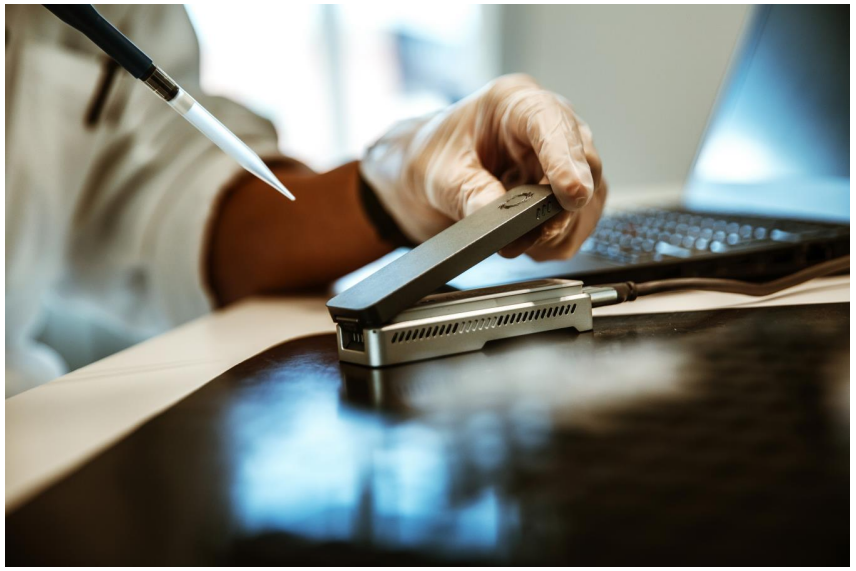
TEKNOLOGISK
INSTITUT

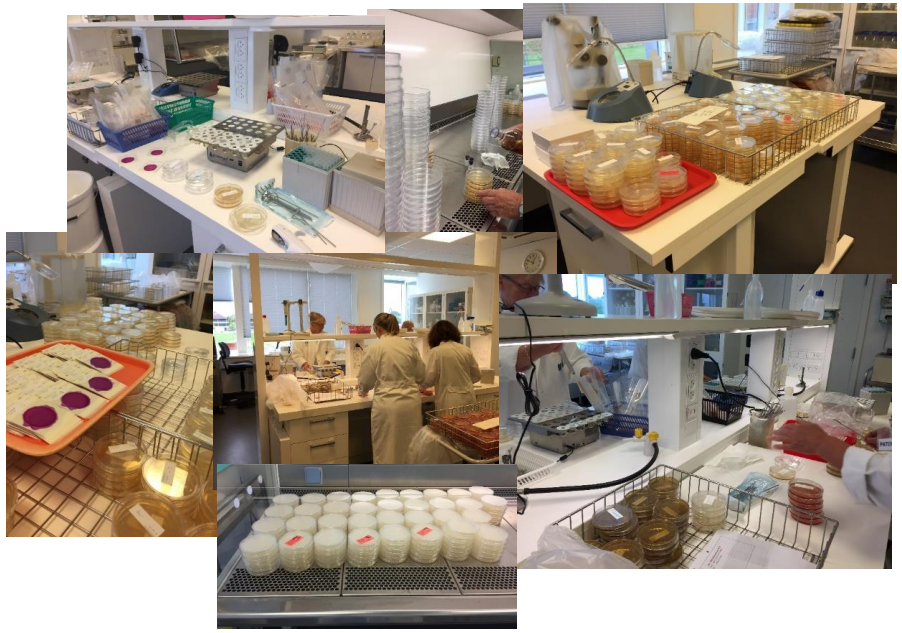
# Nye metoder til hurtig identifikation af mikrobielle årsager til fordærv af fødevare



Steffen Lynge Jørgensen, Specialist, PhD
DMRI – Fødevaresikkerhed

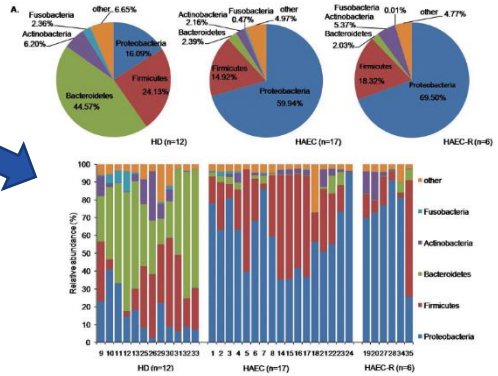
TEKNOLOGISK
INSTITUT

## Klassisk fødevareanalyse



- Dyrkningsbaseret
- Selektive/ikke-selektive substrater
- Gas, pH, temperatur
- Dage->uger

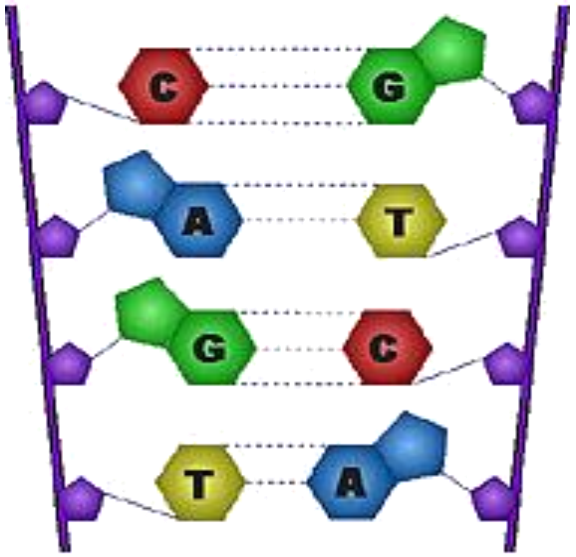
## Fødevareanalyse med DNA sekventering




- Ikke dyrkningsbaseret
- Identificerer alle bakterier (inkl. Ikke-dyrkbare)
- Bakterie sammensætning
- Timer->dage

# DNA koder for organismers egenskaber

- DNA står for **D**eoxyribo**N**ucleic **A**cid
- DNA er koden for en egenskab samles i et **gen**




G Guanine
C Cytocine

T Thymine
A Adenosine

TEKNOLOGISK
INSTITUT

# Sekventering oversætter DNA struktur til DNA kode

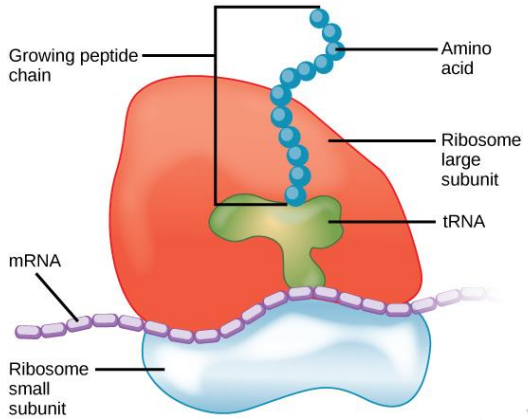
ATGATTCGGTCAGTGGTTAGCTGCA

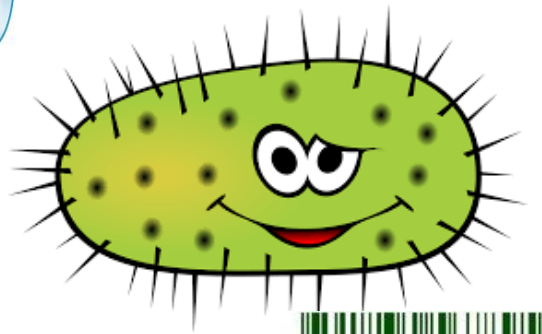
Gen Gen

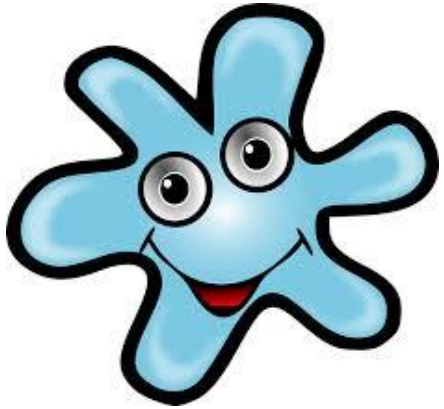
# Bakterie identifikation med 16S rRNA genet

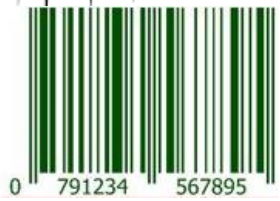
TEKNOLOGISK INSTITUT DMRI

- 16S rRNA genet koder for *ribosomerne*, der findes i alle bakterier
  - Ribosomer: Der hvor den genetiske kode "oversættes" til protein.
- 16S rRNA genet består af bl.a. variable regioner, der indeholder små DNA forskelle der fungerer som unikke stregkoder for forskellige bakterier
- Sekventering og sammenligning med referenceliste kan bruges til identifikation af bakterien
- Sekventering af 16S genet er ikke dyrkningsbaseret, derfor identificeres ikke-dyrkbare bakterier også
- 16S teknikken kan bruges på rene bakterie isolater eller i "blandede prøver", og give et billede af alle bakterier i prøven samt mængdeforhold
- 18S/ITS (som 16S), bruges til gær og skimmel (eukaryoter)



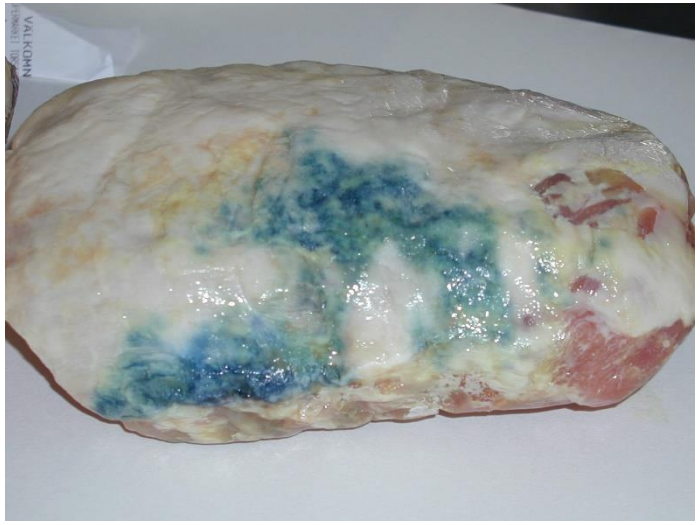



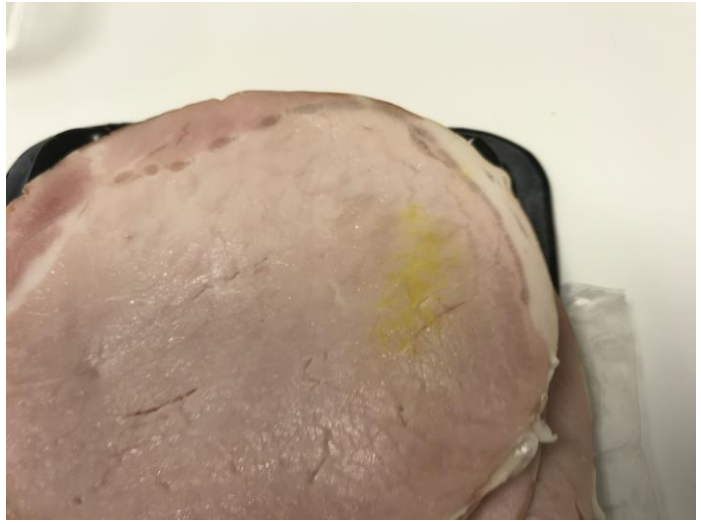




# Identificere årsager til fordærv

## Misfarvning og synligvæsk

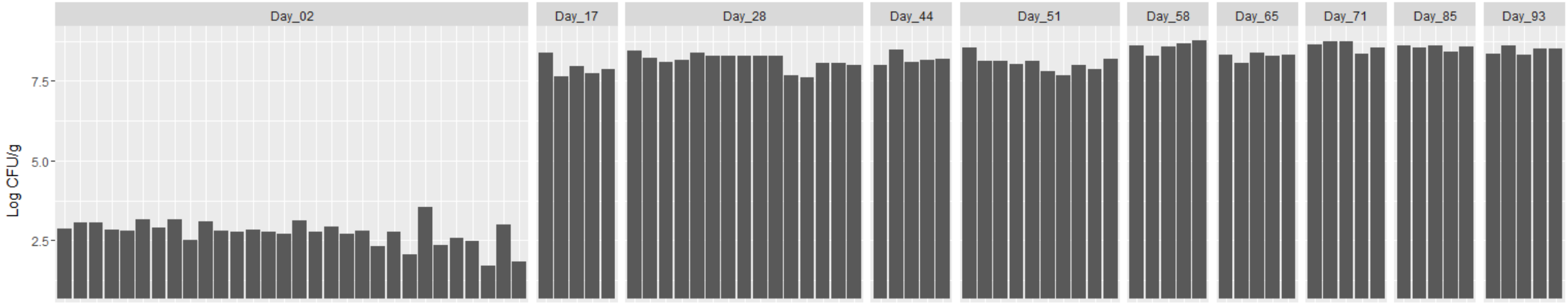




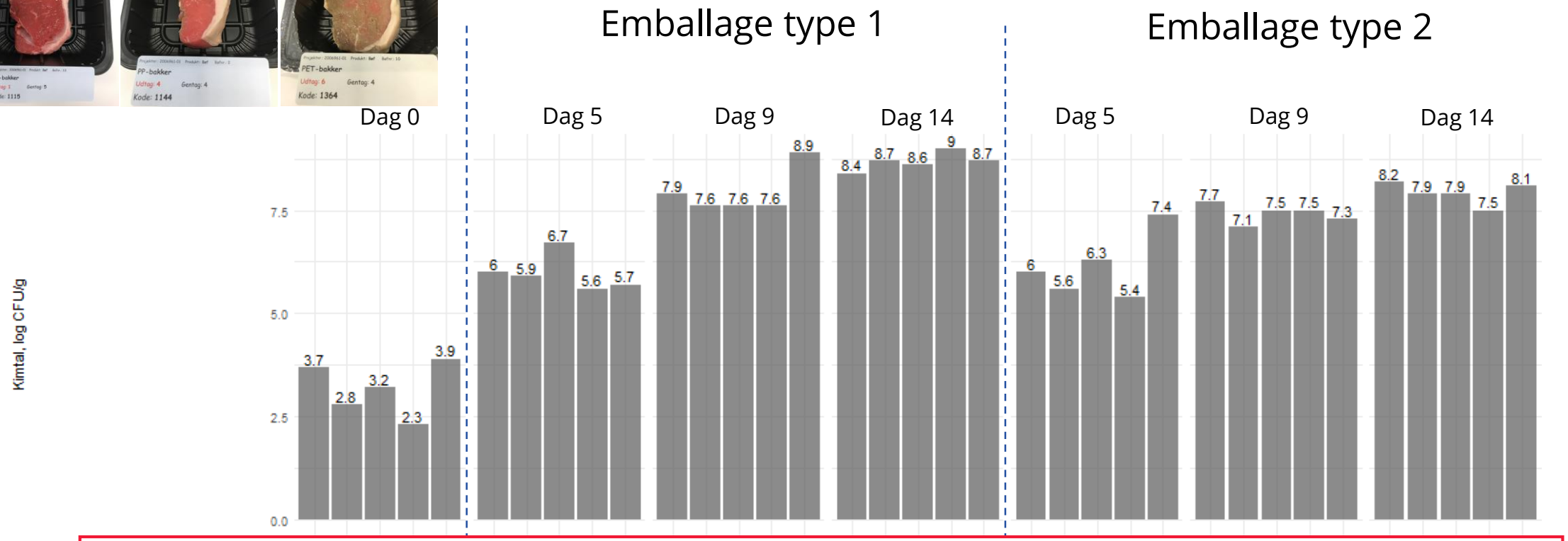
## Luft produktion

TEKNOLOGISK
INSTITUT

# DNA sekventering til overvågning af bakteriesammensætning i slicede kødprodukter



# Bakteriesammensætning i MA pakket bøf afhænger af emballage type

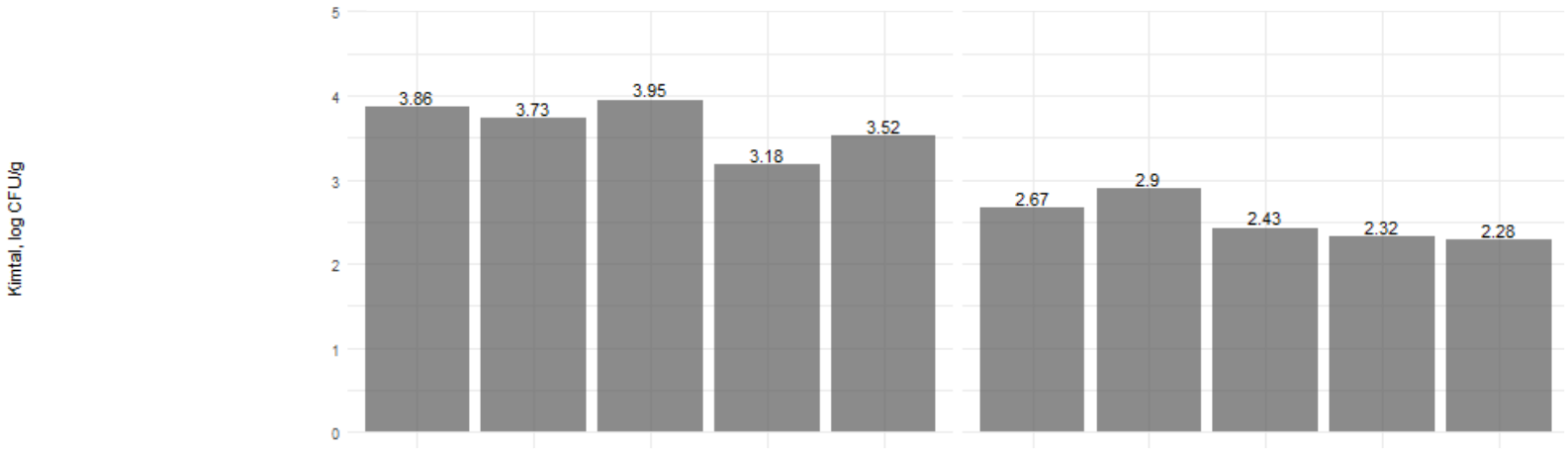


# DNA sekventering til sporing af kontamineringskilde i marineret kyllingefilet

Dag 0

Marineret filet

Ikke-marineret filet



TEKNOLOGISK
INSTITUT

# Muligheder og begrænsninger ved 16S

## Muligheder

- Beskrivelse af  bakterie sammensætning i produktionsmiljø og produkter
- Identifikation af fordærver bakterier uden
- Identifikation af kontaminationsveje for "ukendte" fordærvere
- Overvågning af en proces (fx. fermentering, biokonservering)

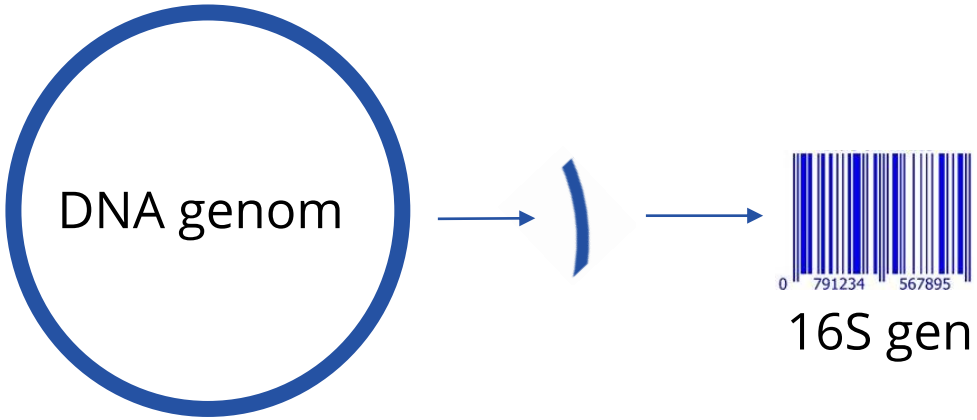
- Påvisning af ikke dyrkbare bakterier
- Kræver ikke ren-kultur
- Kan bruges på alle typer produkter

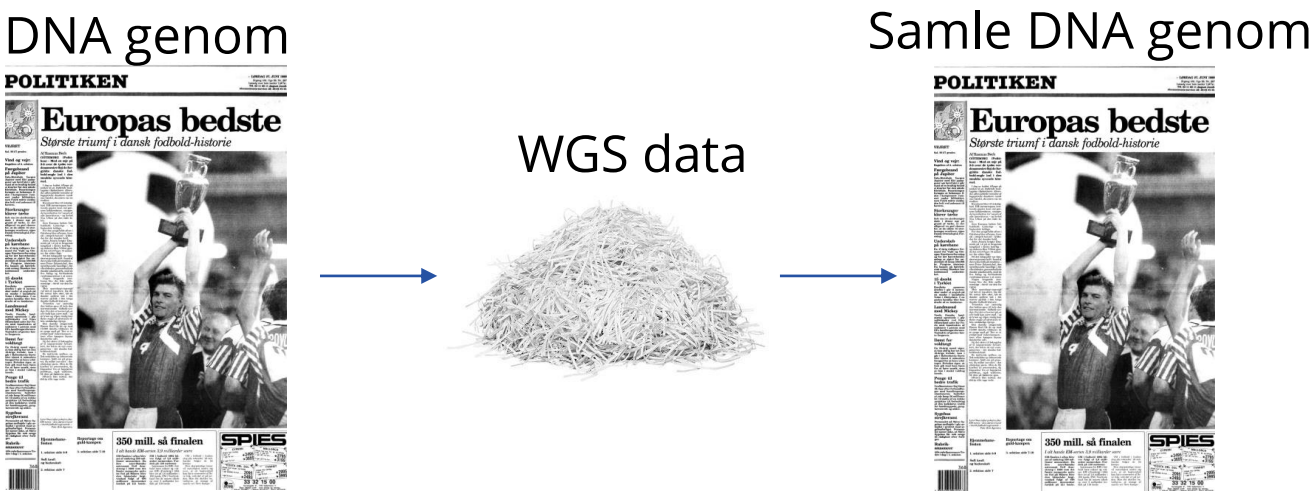
## Værd at vide

- Semi-kvantitativ
- Bedst egnet til kimtal over 2 log
- Datahåndtering af ikke bakteriel DNA
- Bedst på slægtsniveau

TEKNOLOGISK
INSTITUT

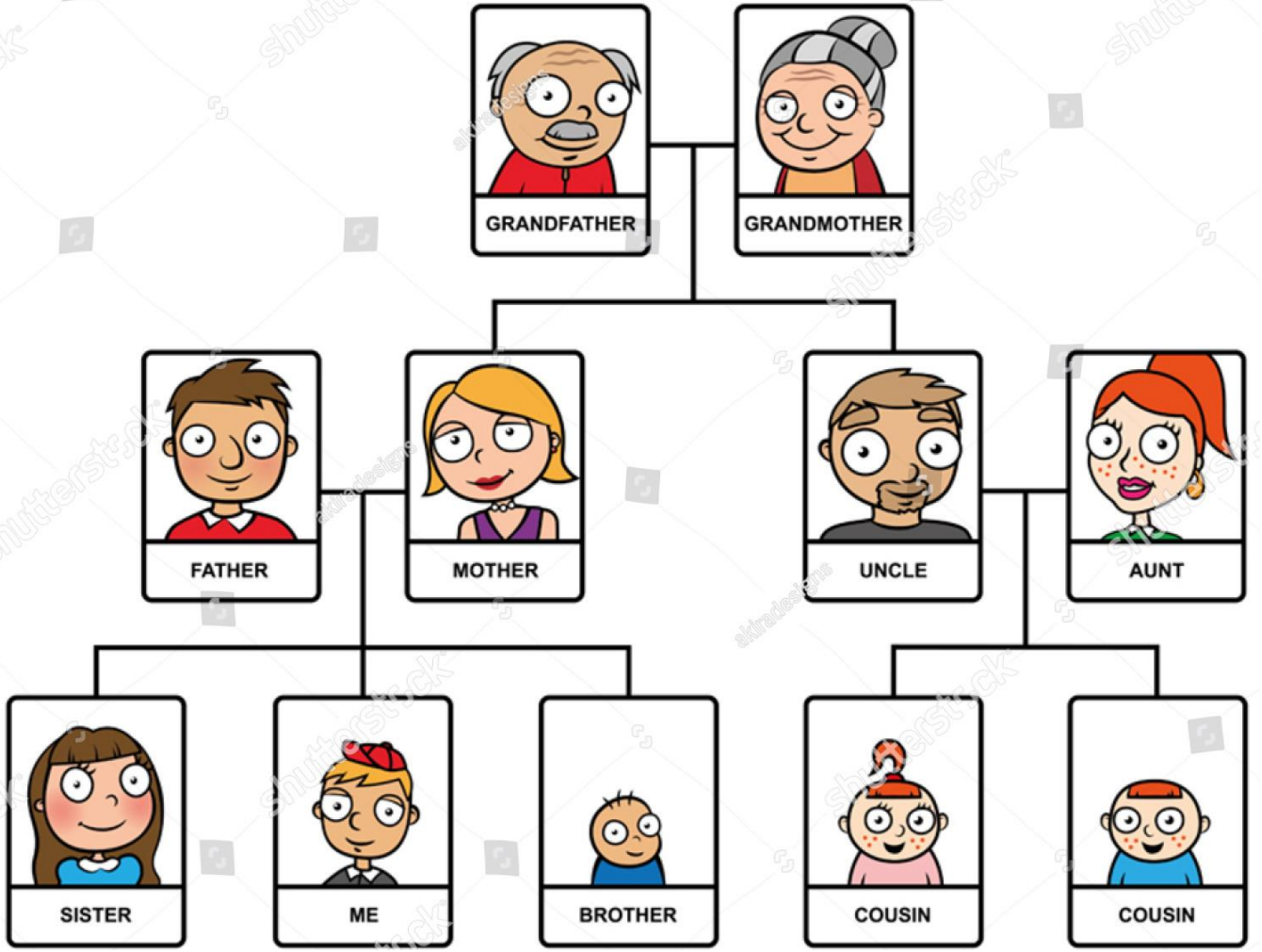
# Hel genom sekventering - Whole Genome Sequencing (WGS)



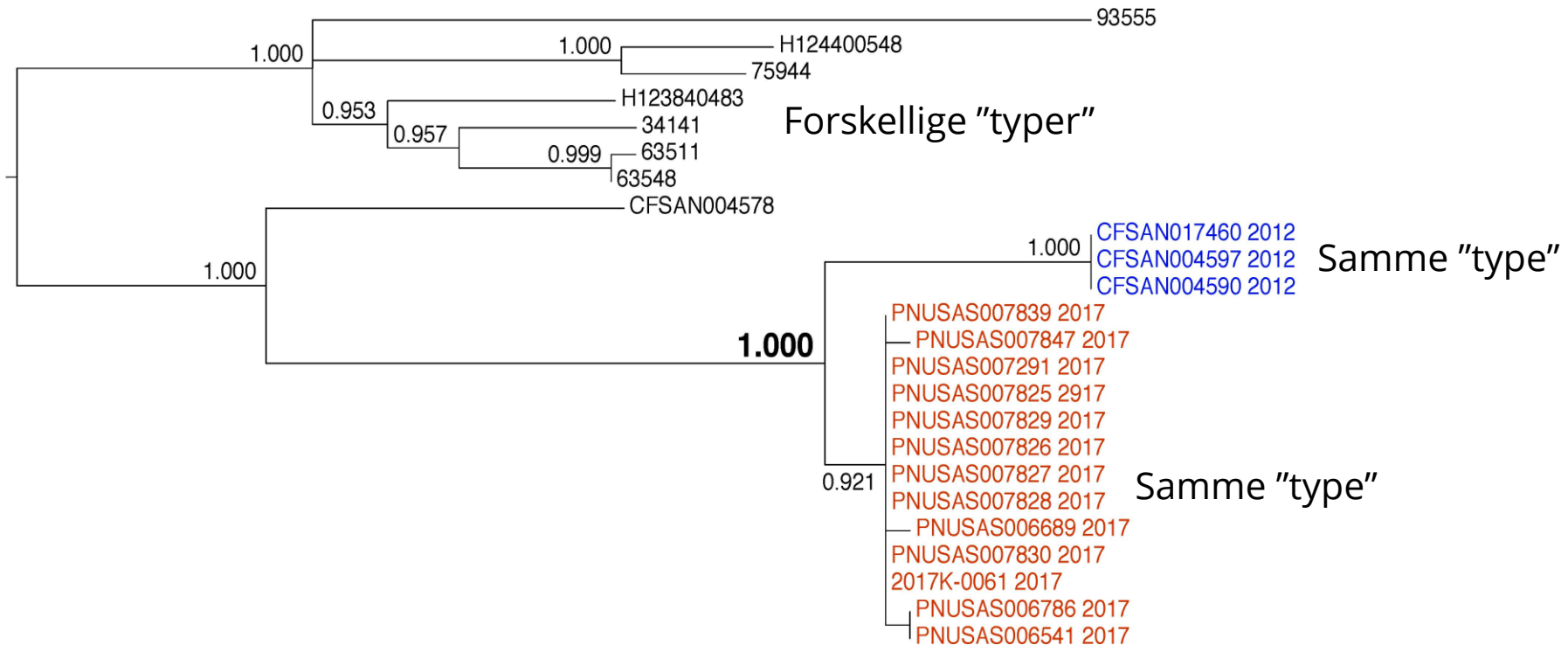
TEKNOLOGISK
INSTITUT

# Familie stamtræ med WGS



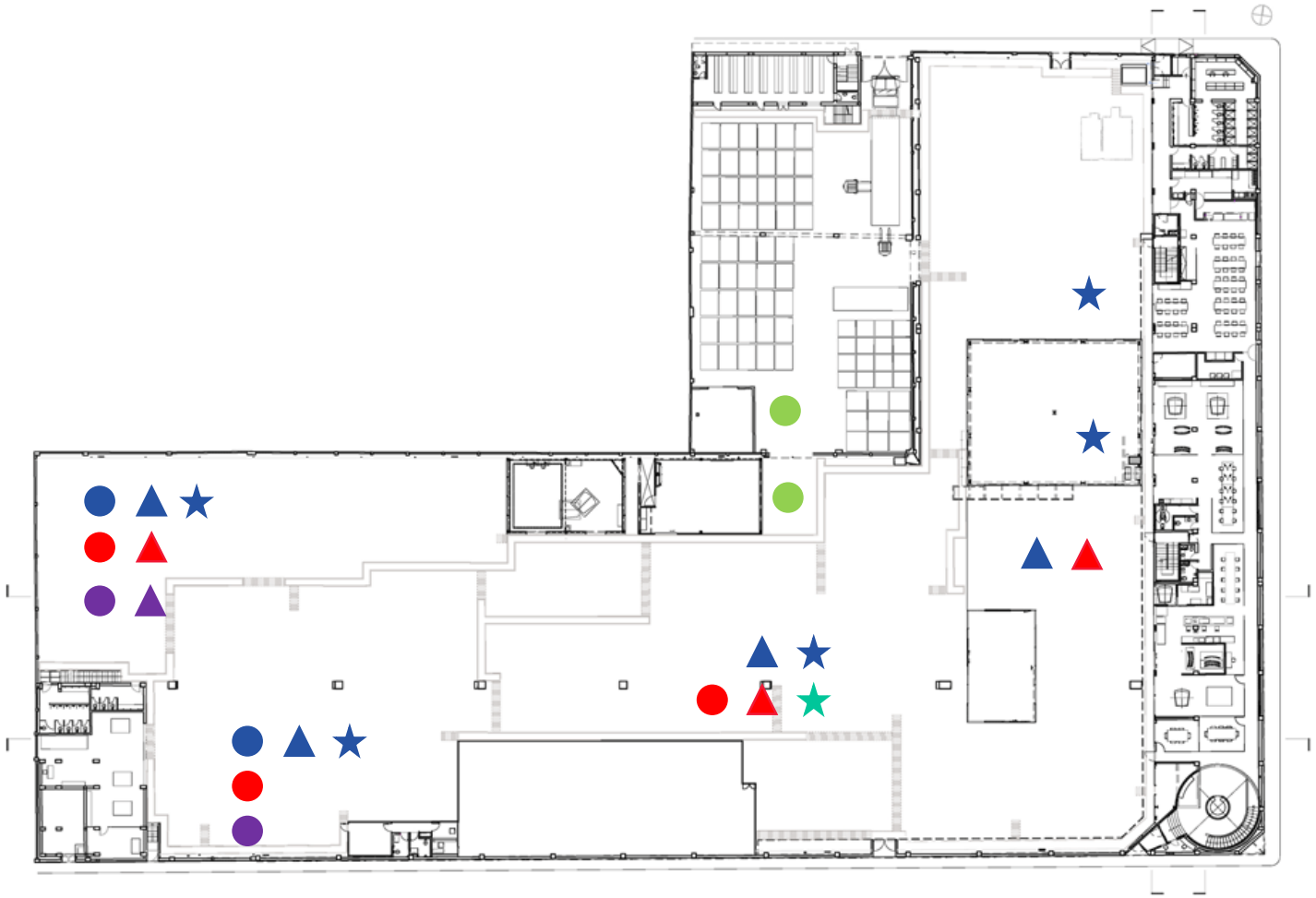
TEKNOLOGISK
INSTITUT

# Familie stamtræ med WGS



TEKNOLOGISK
INSTITUT

# Forureningssporing med WGS analyse

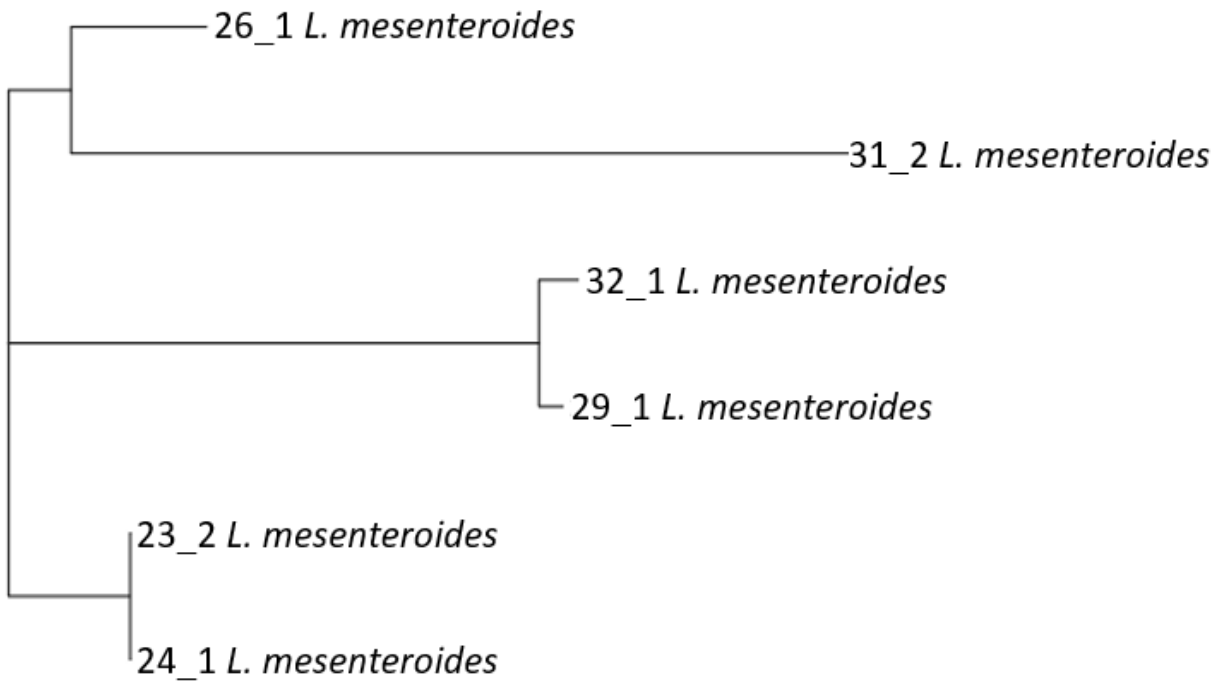


Bakterie X

- Type 1 - januar
- Type 2 - januar
- Type 3 - januar
- Type 4 - januar
- Type 1 - april
- Type 3 - april
- Type 4 - april
- Type 1 - juli
- Type 5 - juli

TEKNOLOGISK
INSTITUT

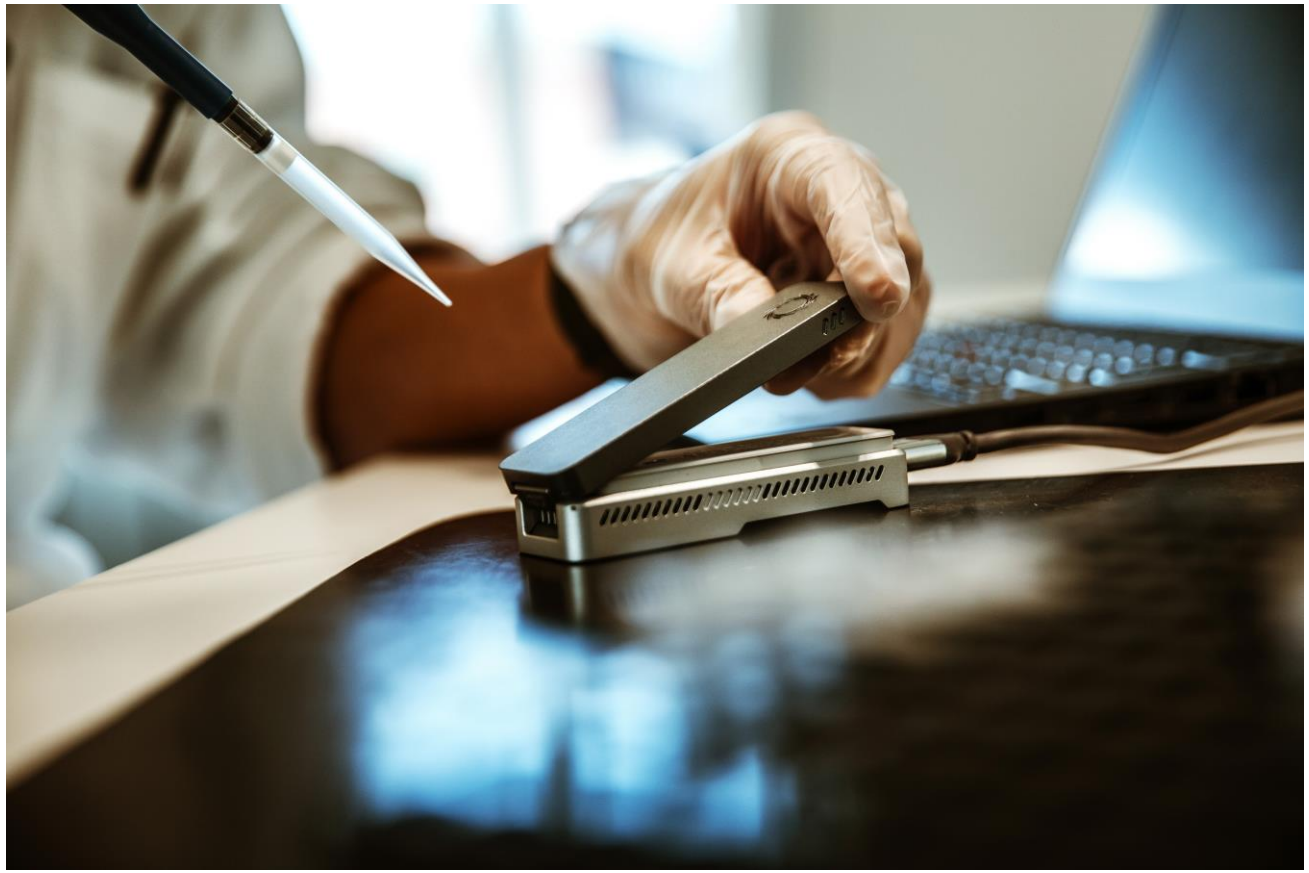
# WGS til slægtsbestemmelse af *L. mesenteroides* i pustede pakker pålæg

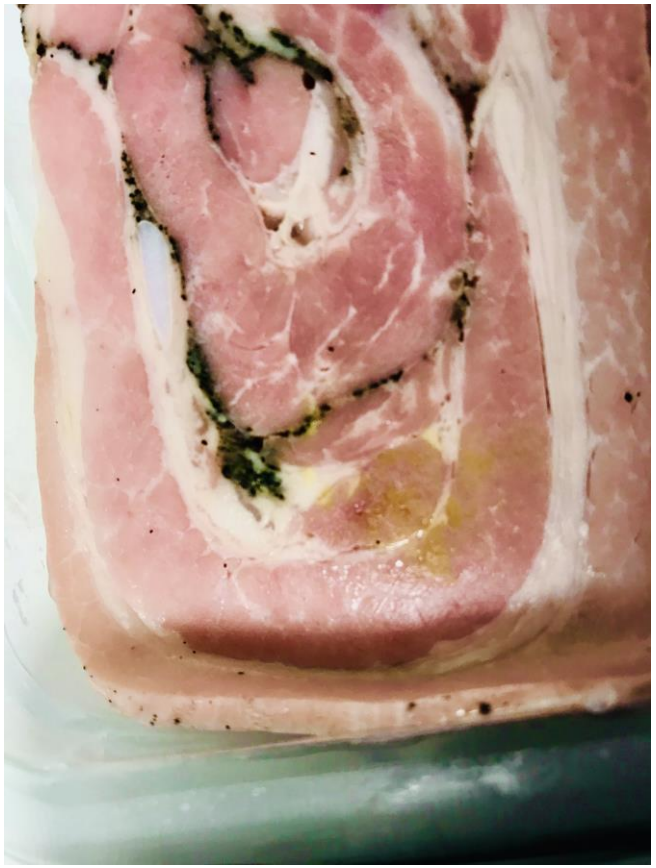



| | | |
|---|---|---|
| Fabrik D | Skiveskåret gris Mærke D | Pakket 5/6-19 |
| Fabrik C | Skiveskåret gris Mærke C | Pakket 20/6-19 |
| Fabrik C | Skiveskåret gris Mærke C | Pakket 20/6-19 |
| Fabrik D | Skiveskåret gris Mærke D | Pakket 17/6-19 |
| Fabrik E | Skiveskåret gris Mærke E | Pakket 30/5-19 |
| Fabrik E | Skiveskåret kylling Mærke E | Pakket 31/5-19 |

TEKNOLOGISK
INSTITUT

# Håndholdt sekventering til identifikation på mindre end 6 timer



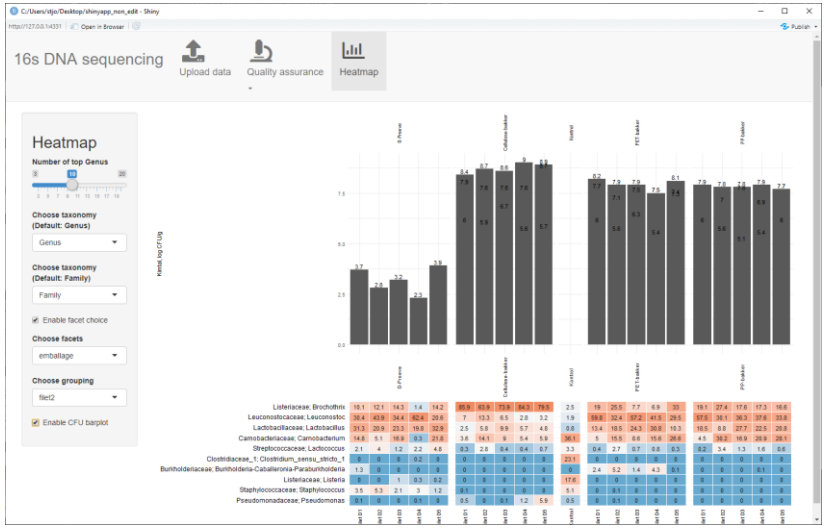


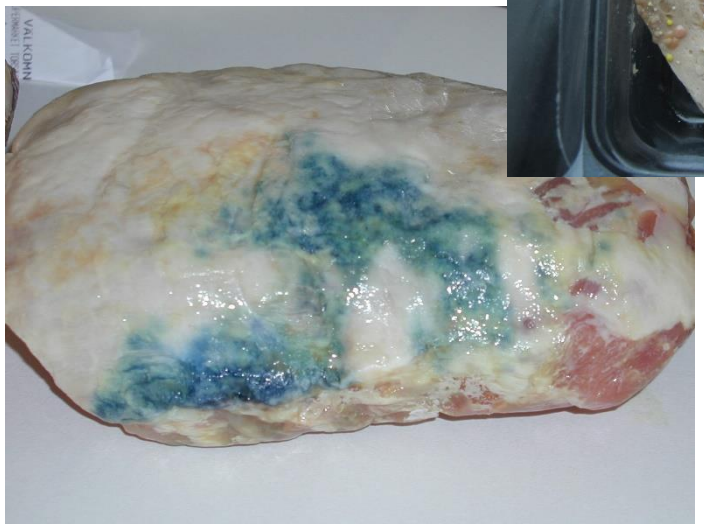
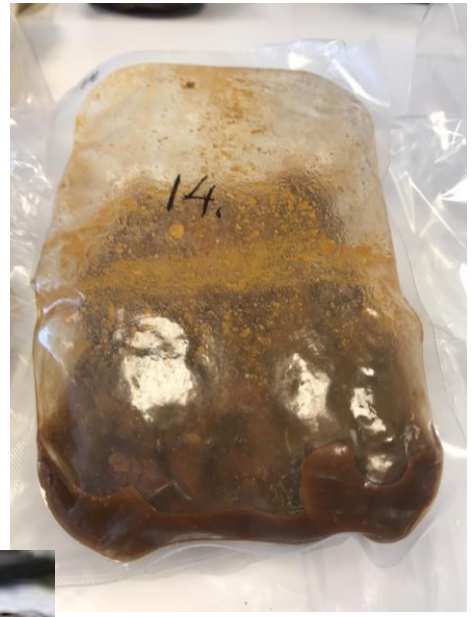
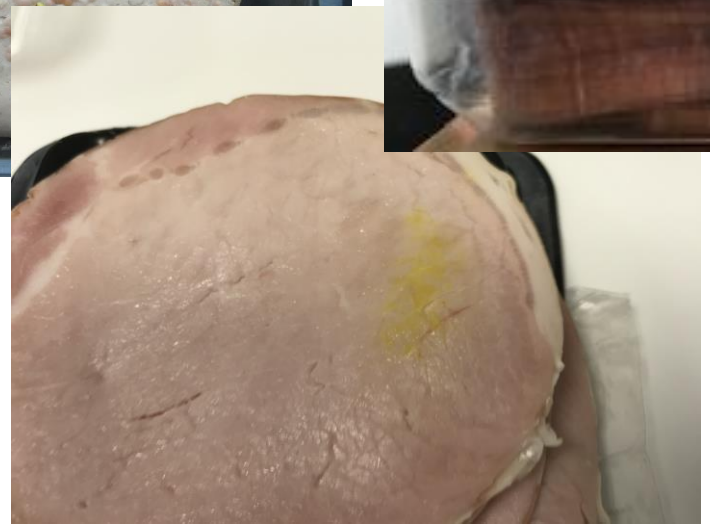
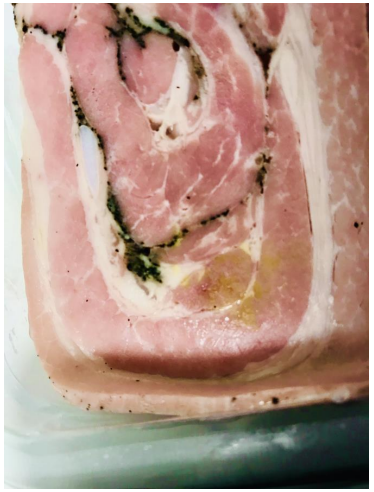
TEKNOLOGISK
INSTITUT

# DNA sekventering 2.0
# Sekventering på virksomhederne – udført af virksomhederne

- Helt workflow er udviklet
- Løbende udvikling af mere tilgængelig og brugervenlig prøveforberedelse
- Nyt brugervenligt IT-værktøj til dataanalyse udvikles
- IT-værktøjet skal føre analyserne og vurderingerne ud på virksomhederne i real-time
- Fokus på implementering i virksomheder pågår

```
tabPanel(h4("Heatmap"), icon = icon("bar-chart-o", "fa-3x"),
         column(width = 2, wellPanel(h2("Heatmap"),

                #For amp_heatmap function giving the choice of # of top genuses
                sliderInput(inputId = "top10",
                            label = "Number of top Genus",
                            min = 3, max = 20,
                            value = 10),

                #For same function: Lets user choose what taxonomy level is on the top 10 list
                selectInput(inputId = "top10tax",
                            label = "Choose taxonomy (Default: Genus)",
                            choices = c("Genus", "Kingdom", "Phylum", "Class", "Order", "Family", "Species")),

                #Displays the user choice named beside top 10 genus
                selectInput(inputId = "taxadd",
                            label = "Choose taxonomy (Default: Family)",
                            choices = c("Family", "Genus", "Kingdom", "Phylum", "Class", "Order")),

                #Checkbox for further options on faceting
                checkboxInput(inputId = "facet_on",
                              label = "Enable facet choice"),
                uiOutput("heat_facet"),
                uiOutput("heat_group"),

                #Checkbox for enabling the CFU plot
                checkboxInput(inputId = "cfu_on",
                              label = "Enable CFU barplot")
         )),

         #Plot is maximised to get as clear picture as possible
         column(10,
                plotOutput("heatmap", height = "800px")
         ))
```



TEKNOLOGISK
INSTITUT

# Tak for jeres opmærksomhed