



FAVV Studieproject SP 2015-04: Verkennende studie betreffende de toepassing van metagenoomanalyse als hulpmiddel bij de bewaking van de voedselveiligheid van zachte rauwmelkse kazen

Prof. Nico Boon¹, Prof. Mieke Uyttendaele², Dr. Hugo Roume¹

¹Centrum voor microbiële ecologie en technologie (CMET), Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen, Universiteit Gent (UGent)

²Laboratorium Levensmiddelenmicrobiologie en -conservering (LFMFP), Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen, Universiteit Gent (UGent)

01/03/2016 – 14/12/2016

Samenvatting

Doelstelling

De doelstelling van dit beperkt studieproject was om de mogelijkheden van metagenoomanalyse na te gaan als hulpmiddel bij de bewaking van de voedselveiligheid van zachte rauwmelkse kazen. Met metagenoomanalyse wordt bedoeld de studie van al het genetisch materiaal dat direct wordt teruggevonden in een complex biologisch monster. De voornaamste onderzoeksvraag betrof de evaluatie van de mogelijkheid om via metagenoomanalyses specifieke bacteriële profielen of indicatororganismen (zoals *Escherichia coli*) te detecteren in verschillende types rauwmelkse kazen, dewelke indicatief zouden zijn voor de aanwezigheid en proliferatie van *Listeria monocytogenes*.

Proefopzet

Drie Belgische rauwmelkse hoevekazen werden geselecteerd, nl. een zachte witschimmelkaas en een semi-harde roodbacteriekaas beiden op basis van rauwe koemelk en een zachte witschimmelkaas op basis van rauwe geitenmelk. De kazen werden geïnoculeerd met *Listeria monocytogenes*, zowel op het kaassnijvlak als op de kaaskorst. De kazen werden bewaard gedurende 9 dagen bij 7 °C en 12 °C en bemonsterd op het snijvlak en de korst. Fysicochemische parameters werden opgemeten (zoutgehalte, wateractiviteit en zuurtegraad). Microbiologische analyses werden uitgevoerd met behulp van klassieke plaatmethoden (*Listeria monocytogenes*, *E. coli* en melkzuurbacteriën) en met metagenoomanalyse (nl. 16S rDNA sequentieanalyse).

Conclusies

De fysicochemische parameters vertoonden variatie zowel binnen éénzelfde soort kaas als tussen verschillende soorten kazen. De aantallen *E. coli* waren voor sommige kazen relatief hoog en alle kazen bevatten hoge aantallen melkzuurbacteriën. In sommige kazen kon *E. coli* uitgroeien tijdens bewaring bij 12 °C terwijl de aantallen melkzuurbacteriën constant hoog bleven. *Listeria monocytogenes* was niet van nature aanwezig op de kazen in het begin van de proef (vóór de artificiële inoculatie). Groei van *Listeria monocytogenes* was mogelijk in twee van de drie kazen na inoculatie. Deze groei was hoger bij 12 °C dan bij 7 °C. Met behulp van metagenoomanalyse kon *Listeria monocytogenes* niet altijd gedetecteerd worden in de geïnoculeerde kazen aangezien de aantallen te laag waren en de *Listeria monocytogenes* dus (vaak) niet behoorde tot de abundante populatie van de kaas. De resultaten van de metagenoomanalyse van geïnoculeerde en controlestalen vóór en na bewaring lieten niet toe om duidelijke conclusies te nemen



over de invloed van de aanwezigheid van *Listeria monocytogenes* op de bacteriële populaties en vice versa. Over het algemeen bracht de bewaartemperatuur meer veranderingen teweeg in de metagenoomprofielen op het snijvlak dan deze op de korst. Gezien de grote variabiliteit binnen en tussen de loten konden niet altijd duidelijke conclusies getrokken worden. Er kon geen bacteriële populatie worden geïdentificeerd die de groei van *Listeria monocytogenes* kon inhiberen of die gerelateerd was aan de aanwezigheid van *Listeria monocytogenes*.

Evaluatie van de studiedoelstellingen

De microbiologische karakterisatie met behulp van metagenoomanalyse op stalen van zachte rauwmelkse kazen kon in deze studie geen indicatie geven over de eventuele aanwezigheid of het risico op uitgroei van *Listeria monocytogenes* tijdens bewaring. Metagenoomanalyse kon voor de onderzochte zachte rauwmelkse kazen evenmin gebruikt worden om risicoprofielen op te stellen. In deze beperkte studie kon niet aangetoond worden dat metagenoomanalyse een meerwaarde heeft ten opzichte van de klassieke microbiologische technieken voor de beoordeling van de voedselveiligheid van zachte rauwmelkse kazen. Zowel klassieke cultuurmethoden als metagenoomanalyse kunnen toegepast worden om inzicht te verwerven over de aard van de aanwezige bacteriën maar geven weinig informatie over de functionaliteit of de interacties die optreden binnen een bacteriële populatie.

Uit deze studie is duidelijk gebleken dat de huidige metagenoomanalyses geen meerwaarde bieden voor het evalueren van risico's op pathogeencontaminatie in rauwmelkse kazen. Dit is te wijten aan i) hun beperkingen in het detecteren van lage densiteiten van bacteriële populaties, ii) de ongevoeligheid van de bacteriële populaties aan de aanwezigheid van de pathogenen, iii) de beperkte diversiteit van de bacteriële populaties in kazen die het aantal mogelijke indicatororganismen beperkt en iv) de intrinsieke goede performantie van de klassieke plaatmethode voor detectie van *Listeria monocytogenes* in kaas die ook in deze studie meer positieve stalen gaf.