



<b>Algemene gegevens</b>	
PPS-nummer	TKI-AF-17038
Titel	Snelle on-site methoden voor voedselveiligheid en authenticiteit
Thema	Voedselveiligheid (BO-46 AF-GV – Gezonde en veilige producten)
Uitvoerende kennisinstelling(en)	WFSR
Projectleider onderzoek (naam + emailadres)	Andries Koops; <a href="mailto:andries.koops@wur.nl">andries.koops@wur.nl</a>
Penvoerder (namens private partijen)	Nedspice
Contactpersoon overheid	Marjan van Creij (M.G.M.vanCreij@minez.nl)
Totale projectomvang (k€)	1740
Adres projectwebsite	<a href="https://www.wur.nl/nl/Onderzoek-Resultaten/Onderzoeksprojecten-LNV/Expertisegebieden/kennisonline/Snelle-on-site-methoden-voor-voedselveiligheid-en-authenticiteit.htm">https://www.wur.nl/nl/Onderzoek-Resultaten/Onderzoeksprojecten-LNV/Expertisegebieden/kennisonline/Snelle-on-site-methoden-voor-voedselveiligheid-en-authenticiteit.htm</a>
Startdatum	1 april 2018
Einddatum	31 december 2021

#### **Goedkeuring penvoerder/consortium**

De jaarrapportage dient te worden besproken met de penvoerder/het consortium. De TKI's nemen graag kennis van eventuele opmerkingen over de jaarrapportage.

De penvoerder heeft namens het consortium de jaarrapportage	<input checked="" type="checkbox"/> goedgekeurd <input type="checkbox"/> niet goedgekeurd
Eventuele opmerkingen over de jaarrapportage:	I've read the report for AF17038 and am pleased to say it looks good to me.

#### **Inhoudelijke samenvatting van het project**

Probleemomschrijving	Door globalisatie van voedselproductie is het vaststellen van de herkomst, kwaliteit en veiligheid van voedselgrondstoffen een grote uitdaging. Het is voor bedrijven en overheden noodzaak en verplichting om de veiligheid en kwaliteit van hun grondstoffen en producten te garanderen, door de productieketen heen. Dit vraagt om slimme, betaalbare oplossingen voor het meten van voedselveiligheid en kwaliteit in de handelsketen en op productielocatie.
Doelen van het project	<p>AF17038 is een bundeling van 5 projecten en vier consortia met elk een eigen doelstelling (zie verder). De generieke doelstelling van het project als geheel is het toegankelijk en toepasbaar maken van snelle meetmethoden op maat voor verschillende productketens en bedrijfsgroepen. Dit programma dient als platform waarbinnen voedselproducerende bedrijven, technologiebedrijven, kennisinstellingen en andere stakeholders samenkomen, en kennis en technologie uitwisselen en op maat maken voor de meetvragen van de diverse productgroepen en ketens. Daarnaast zijn er specifieke doelstellingen per WP:</p> <p><b>WP1A</b>, Antibody gebaseerde multiplex strip test voor allergenen. <b>Doel.</b> Volgens de verordening van het Europese parlement (EC/1169/2011, ingang 12-2014) dienen aanbieders van onverpakte levensmiddelen, dus ook horeca, allergeneninformatie over hun producten te verstrekken. Doel van dit WP is om snelle, eenvoudige striptesten te ontwikkelen waarmee on-site combinaties van relevante allergenen gedetecteerd kunnen worden.</p> <p><b>WP1B</b>. DNA based on-site detection of allergens. <b>Aim.</b> The detection of allergens is typically performed using immunological methods. DNA-based</p>

	<p>methods complement immunochemical-assays and provide higher specificity and sensitivity, especially in processed foods. In this project, we will explore the use of Nanopore sequencing technology for rapid identification of allergenic ingredients in complex, multi-ingredient food products and assess the possibilities for true on-site food analysis.</p> <p><b>WP2.</b> Spectroscopie gebaseerde authenticiteitsbepaling van kruiden.  <b>Doel.</b> Specerijen staan als productgroep hoog op de lijst met fraudegevallen (Weesepeel &amp; van Ruth, 2015). Doel van WP2 is een analysesystematiek te ontwikkelen voor het on-site analyseren van de echtheid van specerijen. Een snelle fraude-screening methode, die bijvoorbeeld bij binnenkomst van grondstoffen of door de keten heen toegepast kan worden, zou de kwetsbaarheid voor fraude binnen deze sector kunnen verminderen. Aan het einde van het project in 2021, wordt WP2 geacht een nieuwe on-site spectroscopische methodiek te leveren.</p> <p><b>WP3.</b> Antibody gebaseerde multiplex on-site detectie van antiparasitica in melk. <b>Doel.</b> Binnen WP3 wordt een multiplex assay ontwikkeld voor de detectie van antiparasitica in melk. De huidige analyses door QLIP zijn kostbaar en arbeidsintensief. De te ontwikkelen methode is snel en kan meerdere antiparasitica bepalen in een enkele meting.</p> <p><b>WP4.</b> Optimalisatie monitoring en datafusie, gekoppeld aan WP2. <b>Doel.</b> Op basis van gemeten data een opzet maken voor een effectief bemonsteringsplan. In een Bayesiaans Netwerk (BN) zullen verschillende databronnen gekoppeld worden en kan inzicht verkregen worden in welke landen en voor welke kruiden en specerijen in het verleden bepaalde normoverschrijdingen gevonden zijn.</p>
--	--

<b>Resultaten</b>	
Beoogde resultaten 2019	<p><b>WP1A.</b> Bepalen geschikte antilichaamcombinaties voor de multiplex striptest (LFD). Het ontwikkelen van een prototype LFD en het gebruik in de praktijk; training van gebruikers; ontwerp voor een website met informatie voor gebruikers.</p> <p><b>WP1B.</b> In 2018 a procedure for rapid, nanopore-based DNA metabarcoding had been developed that allows for the universal identification of animal species (meat/fish) in food mixtures. The bottlenecks for fast on-site analysis using this procedure are the cumbersome laboratory procedure(s), and the long time to process the sequencing data using the existing bioinformatics workflow. In 2019, the main focus was to speed up the bioinformatics workflow, and to develop alternative target-enrichment workflows that do not require PCR.</p> <p><b>WP2:</b> Verzamelen van monsters voor zwarte peper en Kurmuma. Meten van de monsters met spectroscopische methoden (NIR-Vis en PTR-MS). Bouwen van database en statistisch model voor het voorspellen van fraude in zwarte peper.</p> <p><b>WP3.</b> De in 2018 ontwikkelde methode verder uitbouwen met specifieke antilichamen tegen de belangrijkste antiparasitica: triclabendazol (meest voorkomende) en moxidectine (EU MRL effectief).</p> <p><b>WP4.</b> Een model voor voorspelling van voedsel fraude in de toeleveringsketen van specerijen en voor het bepalen van de meest kosteneffectieve methode voor het opsporen van voedsel fraude</p>
Behaalde resultaten 2019	<p><b>WP1A.</b> De meest geschikte antilichaamcombinaties voor de simultane detectie van pinda en hazelnoot zijn bepaald. Met deze combinatie is vervolgens een prototype multiplex striptest (LFD) ontwikkeld. Van deze multiplex LFD zijn inmiddels de gevoeligheid en onderlinge kruisreactiviteit getest. In samenwerking met R-Biofarm de verschillende componenten van de teststrip getest. R-Biopharm gaat dit prototype ombouwen naar een gebruiksvriendelijke versie. In ziekenhuis de Gelderse Vallei in Ede is een</p>

	<p>eerste training en workshop op locatie gehouden voor implementatie en praktijkdemonstratie van de LFD voor de detectie van allergenen voor niet laboratorium getraind personeel. Een eerste ontwerp voor een website is gemaakt.</p> <p><b>WP1B.</b> The existing bioinformatics workflow was altered in multiple ways to increasing the data processing speed. Overall sample analyses has been speed up by 10X, and data can be processed in approximately 60 minutes, instead of 10 hours. To further reduce processing time, an alternative bioinformatics tool for identifying taxonomy, Centrifuge, was tested, which is called Centrifuge, but found not suitable for routine sample analysis. Sample materials of allergenic plant species were collected for pistache, soybean, celery, peanut, bread wheat, spelt, white mustard, European hazelnut. Species could be identified by DNA barcoding analysis, and the materials used to prepare experimental mixtures for testing improved workflows. The workflow procedures included: 1) a CRISPR-Cas9-mediated enrichment strategy for selective sequencing of MT DNA to replace the standard PCR for enriching DNA targets using a one-pot sample preparation enrichment procedure 2) Real-time selective sequencing using ReadUntil and the UNCALLED bioinformatics workflow. Both strategies promise to simplify and speed up sample handling and processing considerably. Initial steps were taken to prepare for the first experiments in 2020: sgRNAs are under development, and new hardware (workstation, flongle flowcells) and the required bioinformatics tools are being tested.</p> <p><b>WP2.</b> De NIR/Vis en PTR-MS metingen aan zwarte peper uitgevoerd en op basis van 231 zwarte peper monsters is een model gemaakt voor het voorspellen van fraude door bijmenging van laagwaardige materialen. Het model is gepresenteerd aan en de bedrijven. Met dit model kan een bedrijf frauduleuze monster detecteren die 5-10% adulterant (bijvoorbeeld peper bevat makkelijk en snel detecteren. Dat is voldoende gevoelig omdat minder dan 10% toevoeging voor geen toegevoegde waarde heeft voor frauduleuze partijen. De levering van kurkuma monsters is iets vertraagd door verschil tussen seizoenritme en project planning.</p> <p><b>WP3.</b> Na uitvoerige testen zijn vier antilichamen en vier antiparasitica-conjugaten geselecteerd voor de multiplex detectie van benzimidazolen, pyrethroiden, avermectines en organofosfaten. De ontwikkelde multiplex assay detecteert 9 benzimidazolen, 8 pyrethroiden, 6 avermectines en 14 organofosfaten in verschillende concentraties. De belangrijkste antiparasitica triclabendazol (meest voorkomende) en moxidectine (EU MRL effectief) werden echter niet gedetecteerd in de ontwikkelde multiplex. Een uitgebreide zoektocht en analyse heeft geen nieuwe antilichamen tegen deze targets opgeleverd. In een KB project worden daarom door WUR zelf (lama)antilichamen gemaakt. WP3 (oorspronkelijke looptijd 1 jaar) wordt daarom verlengd om deze twee targets alsnog in de test op te kunnen nemen.</p> <p><b>WP4.</b> Via de bedrijven is info opgehaald over inrichting handels en productieketen en toegepaste technieken voor detectie van voedsel fraude te onderzoeken. Idem voor voedsel fraude-gegevens uit publieke databases (RASFF en EMA) en gekoppeld aan de gedefinieerde parameters. De eerste versie van het Bayesiaanse netwerkmodel gebouwd voor het voorspellen van fraude hotspots en kosteneffectieve monsternamen.</p>
Beoogde resultaten 2020	<p><b>WP1A.</b> Methode ontwikkelen van multiplex extractie van meerdere allergenen tegelijk. Ontwikkelen van een goedkope paper-based striptest. Kwantitatief meten met teststrips met behulp van een smartphone camera. Bouwen van website met info over meten van allergenen in horeca/catering setting. Continuering van het in kaart brengen van kruisbesmetting op catering locaties.</p> <p><b>WP1B.</b> Further develop the CRISPR-Cas9-mediated enrichment strategy for selective sequencing on Oxford Nanopore's Flongle sequencer with an expanded target pool and samples with different complexity. Assess and compare real-time selective sequencing using ReadUntil and the UNCALLED bioinformatics workflow using similar targets and samples.</p>

	<p>Additionally, the combination of physical enrichment and in-silico selective sequencing using bioinformatics will be assessed.</p> <p><b>WP2.</b> Valideren van (on-site) NIR metingen aan zwarte peper door vergelijking met laboratorium metingen (PTR-MS). Voorspellende model voor aantonen van fraude in zwarte peper verder verfijnen met real life samples. NIR metingen aan kurkuma uitvoeren en bouwen van voorspellend model voor kurkuma.</p> <p><b>WP3.</b> Nieuwe antilichamen voor triclabendazole en moxidectine testen en meenemen in de multiplex.</p> <p><b>WP4.</b> Bepalen benchmark waarden, integratie met datasets uit WP2 en verdere verfijning van Bayesiaanse netwerkmodel. De ontwikkelde pilotversie zal verder worden uitgebreid met beschikbare gegevens uit het programma (o.a WP2), zodat de precisie van de BN kan worden verbeterd.</p>

<p><b>Opgeleverde producten in 2019</b> (geef de titels en/of omschrijvingen van de producten / deliverables of een link naar de producten op de projectwebsite of andere openbare websites)</p>
<p><u>Wetenschappelijke artikelen:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Voorhuijzen-Harink MM, Hagelaar R, van Dijk JP, Prins TW, Kok EJ, Staats M (2019) Towards on-site food authentication using nanopore sequencing. Food Chemistry <a href="https://doi.org/10.1016/j.fochx.2019.100035">https://doi.org/10.1016/j.fochx.2019.100035</a></li> </ul>
<p><u>Externe rapporten:</u></p>
<p><u>Artikelen in vakbladen:</u></p>
<p><u>Inleidingen/posters tijdens workshops, congressen en symposia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Poster Food Allergy Forum 2019, Nathalie Smits, Richard van Hoof, Jeroen Peters, Andries Koops, Toine Bovee and Leen van Ginkel (2019) Microsphere-based multiplex technology for the simultaneous detection of food allergens</li> <li>- Oral presentation: Testing food on allergen presence, the importance of well thought sample taking</li> <li>- ILVO – WFSR joint meeting, detection of food allergens, December 12th, 2019, Melle, Belgium</li> <li>- Presentation of the antiparasitics work during the H2020 B-GOOD consortium kick-off meeting</li> <li>- Oral presentation "Development of xMAP based assays for food and environmental safety" at xMAP Connect 2019, 06-11-2019</li> </ul>
<p><u>TV/ Radio / Social Media / Krant:</u></p>
<p><u>Overig (Technieken, apparaten, methodes etc.):</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Prototype polystyreen gebaseerde multplex LFD voor Pinda en Hazelnoot ontwikkeld</li> <li>- Kennis met betrekking tot uitdagingen van monsternamen en LFD uitvoering door niet laboratorium geschoolde mensen.</li> <li>- On-site spectroscopische methodiek gebaseerd op een prototype met 2 sensoren voor het meten van zwarte peper.</li> </ul>

- Statistisch model detectie fraude op zwarte peper.
- Methodiek voor PTR-MS op de geselecteerde zwarte peper monsters en gefraudeerde zwarte peper monsters en eerste statistische analyse hiervan.
- Multiplex antiparasitica methode die 37 antiparasitica in 1 meting kan detecteren.
- Een Bayesiaans netwerkmodel prototype om voedsel fraude in specerijen te voorspellen op basis van open access-databases (d.w.z. RASFF en EMA).
- Overdracht gegenereerde antiparasitica kennis naar het H2020 B-GOOD project