

Waterkwaliteit meten met DNA-technieken

In relatie tot extreme weer, milieu- en drinkwaterincidenten



NGense

Wie zijn wij

- **Laboratorium water en bodem**
- **Onze services**
 - ORVIdetect qPCR analyses
 - ORVIdencode NGS analyses, incl. Bio-IT en interpretatie
 - Biologische afbraaktesten
 - Bioaugmentatie producten
 - Advies biologische afbraak verontreinigingen
- **Orvion Udetect®: mobiele qPCR**





Inhoud

1. Belang van DNA (technieken)
2. DNA-techniek 1: qPCR
3. DNA-techniek 2: Sequencing
4. Voorbeeld: Pilot Monitoring Maas
5. Belang DNA-technieken en vooruitblik
6. Vragen / discussie

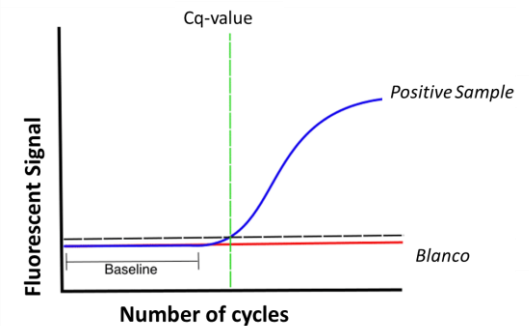
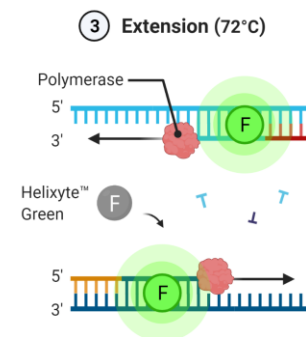
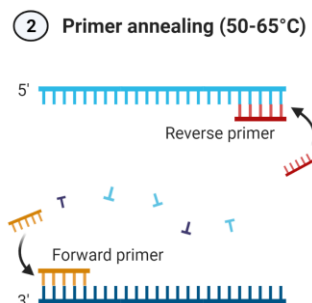
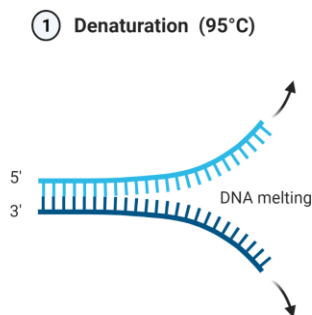
Het belang van DNA (technieken)



- DNA: relevante en specifieke informatie
- Met DNA-technieken kan de waterkwaliteit verbeterd, beschermd en gemonitord worden
- Enkele DNA-technieken zijn qPCR en NGS

DNA techniek 1: qPCR

- **Wat is het?**
 - DNA **specifiek en kwantitatief** meten
 - Gebaseerd op het vermenigvuldigen van DNA
- **Hoe werkt het?**
 - DNA uit watermonster wordt geïsoleerd
 - Target-DNA wordt **vermenigvuldigd**
 - Meting via **fluorescentie in realtime**



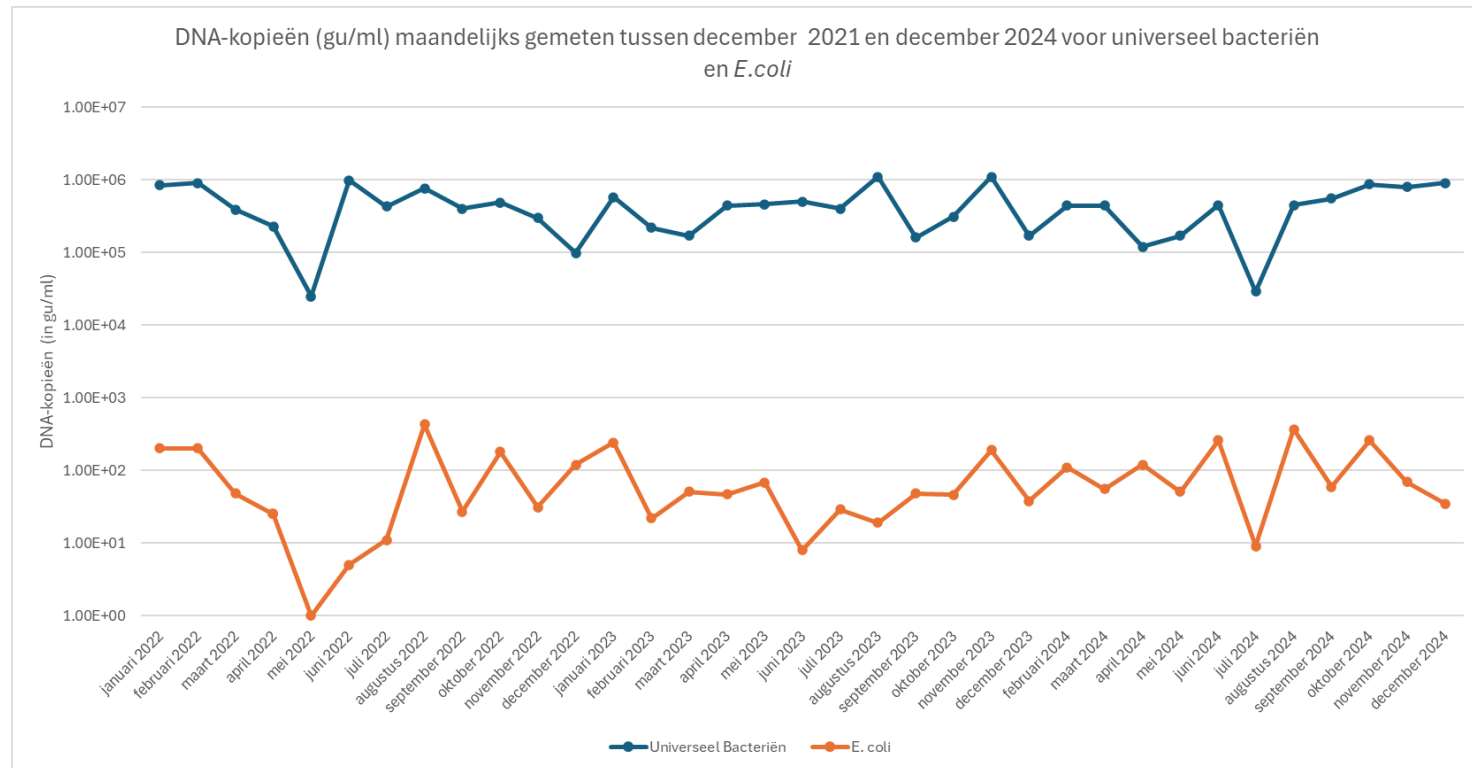
DNA techniek 1: qPCR

- **Voordelen van qPCR?**
 - Gevoelig: detecteert lage concentraties DNA
 - Specifiek: alleen doelsoort wordt gemeten
 - Snel resultaat: binnen enkele uren
 - Kwantitatief: geeft ook de hoeveelheid aan
 - Customizable: primer design
- **Udetect: de mobiele qPCR**
 - Laboratorium in-field
 - Demo



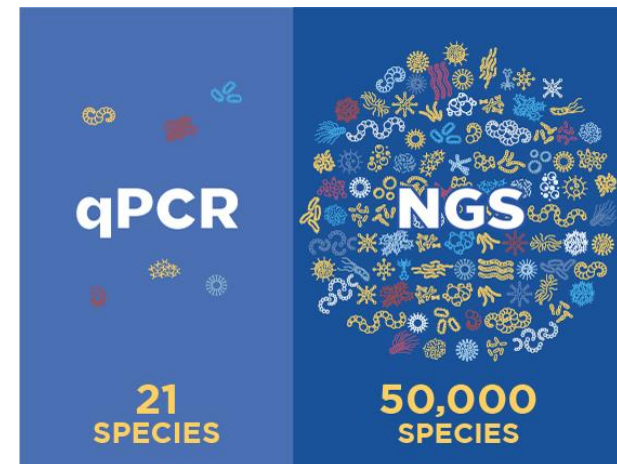
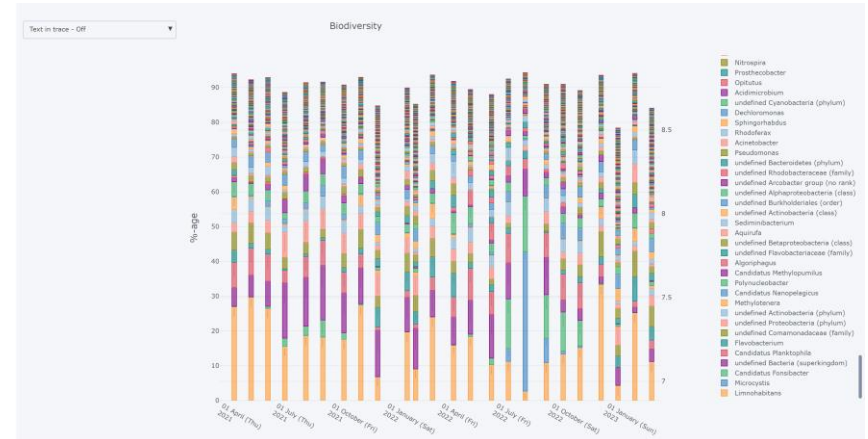
DNA techniek 1: qPCR

- Praktisch voorbeeld: Monitoring maas



DNA techniek 2: NGS

- **Wat is het?**
 - Grote hoeveelheden DNA tegelijk analyseren
 - Al het DNA in een monster in kaart brengen
- **Voordelen van NGS**
 - Volledig beeld van biodiversiteit
 - Geen specifieke primers nodig
 - Ideaal voor complexe of gemengde monsters
 - Inzicht in ecosystemen & ecologische veranderingen

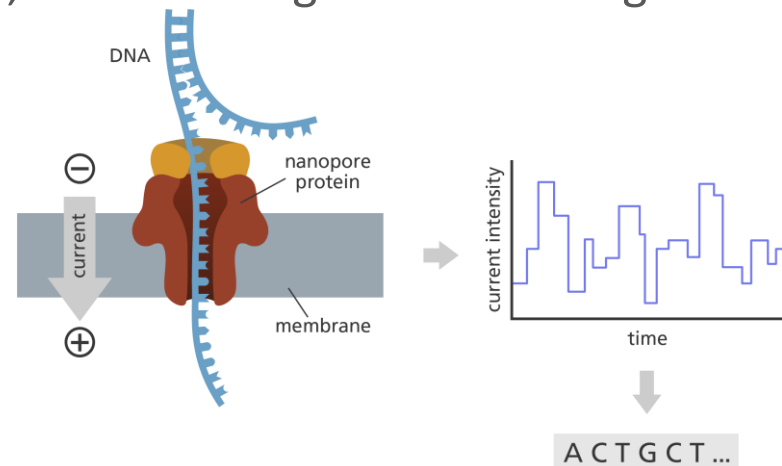
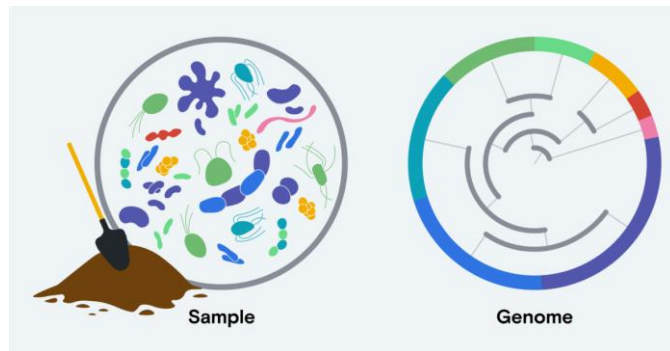


DNA techniek 2: NGS

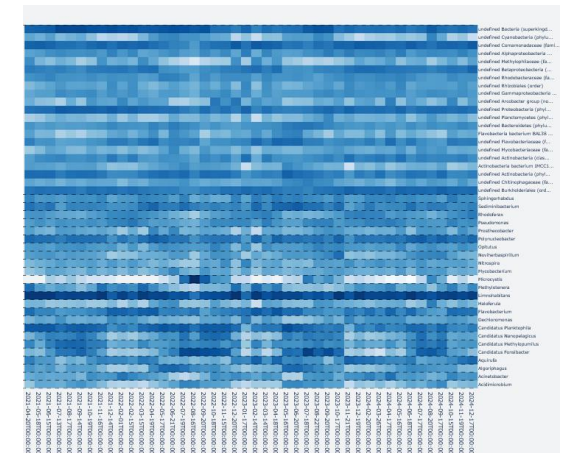
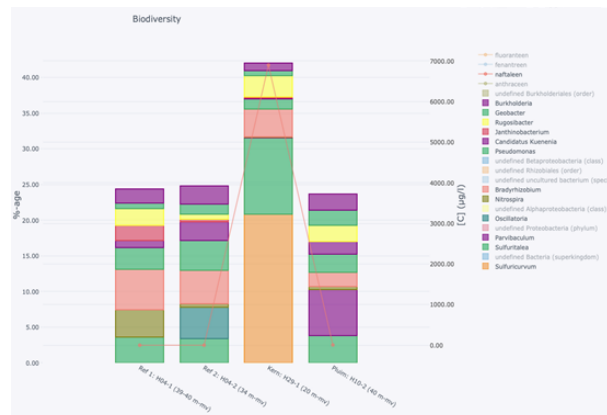
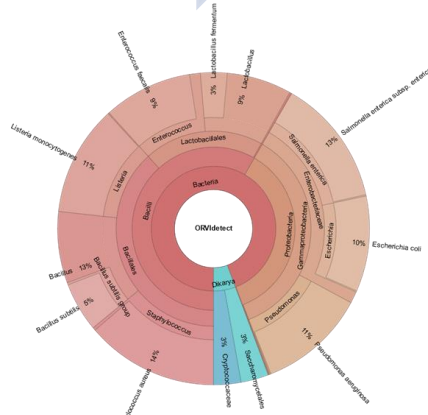
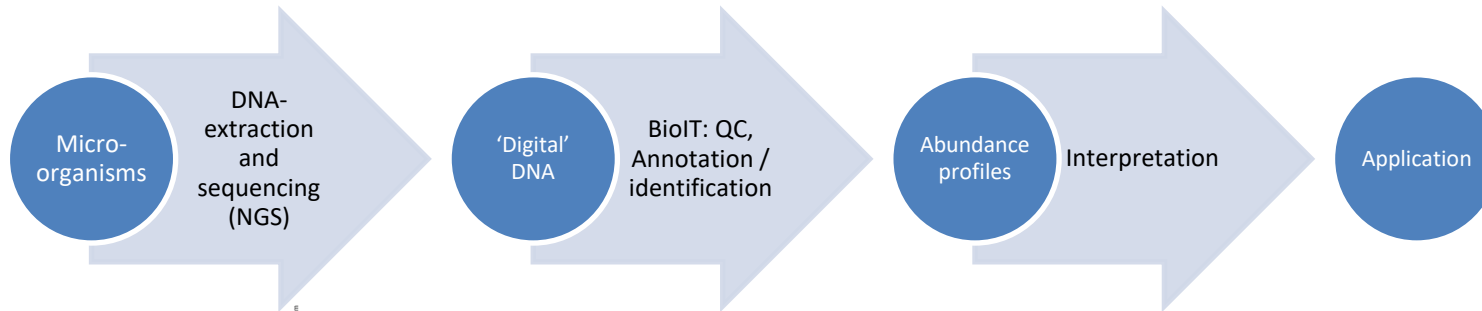
- **Hoe werkt ONT metagenomic sequencing**

- Library preparation: Adapters worden toegevoegd aan elk DNA-fragment voor sequencing
- Sequencing: Alle DNA-fragmenten van alle soorten worden parallel gesequenced (zonder vooraf te selecteren)
- Data-analyse (bio-informatica): Reads worden gekoppeld aan bekende genen/soorten

Resultaat: Inzicht in biodiversiteit, functionele genen en ecologische processen



NGS: van monster naar resultaat



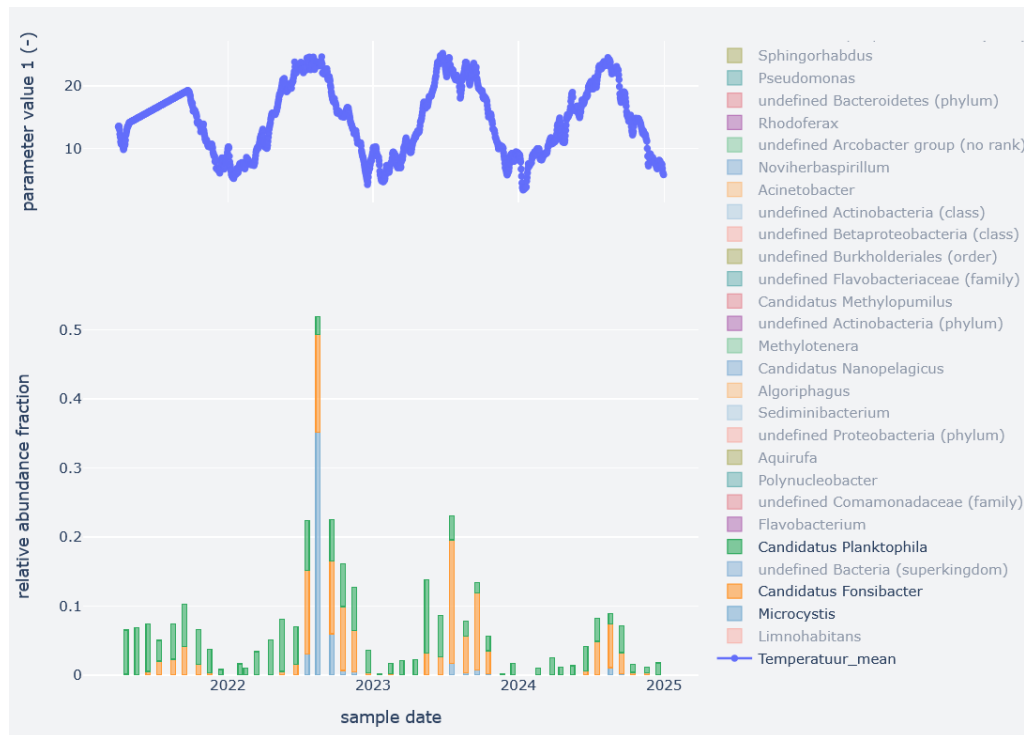
- Interactieve files, heatmaps, integratie parameters voor correlaties
- Gigantisch veel reads worden geproduceerd en opgeslagen, ook voor later gebruik

Pilot Monitoring Maas

- 4 jaar maandelijks NGS op monsters van Meetstation Eijsden
- Baseline en effect van bepaalde parameters
- Sinds ~6 maanden ook monsters bij BACTcontrol alarm
- Enorme biodiversiteit, vaakvoorkomende: *Limnohabitans*, *Flavobacterium* en *Polynucleobacter*

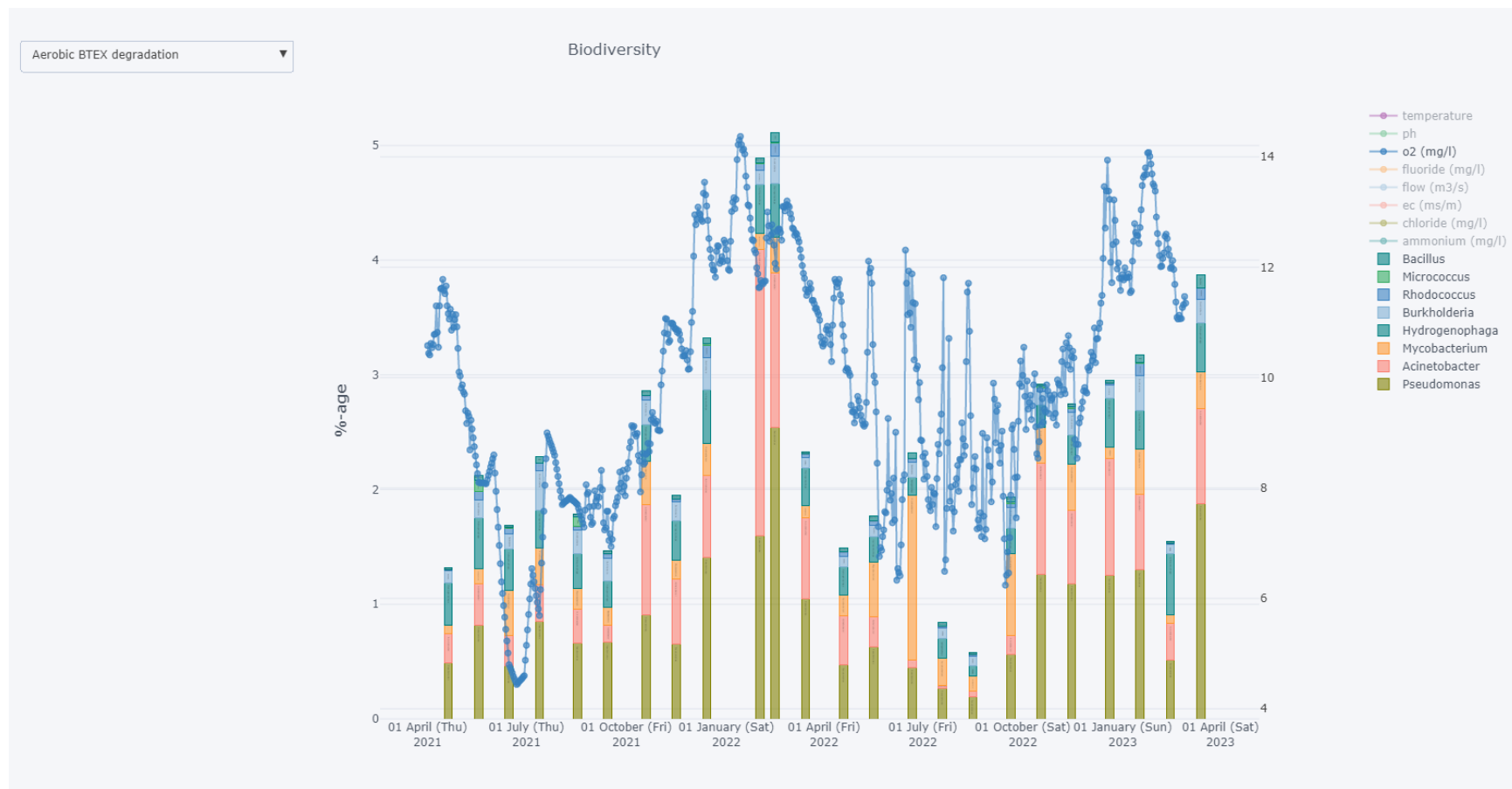


Microcystis, Candidatus Fonsibacter & Candidatus Planktophila

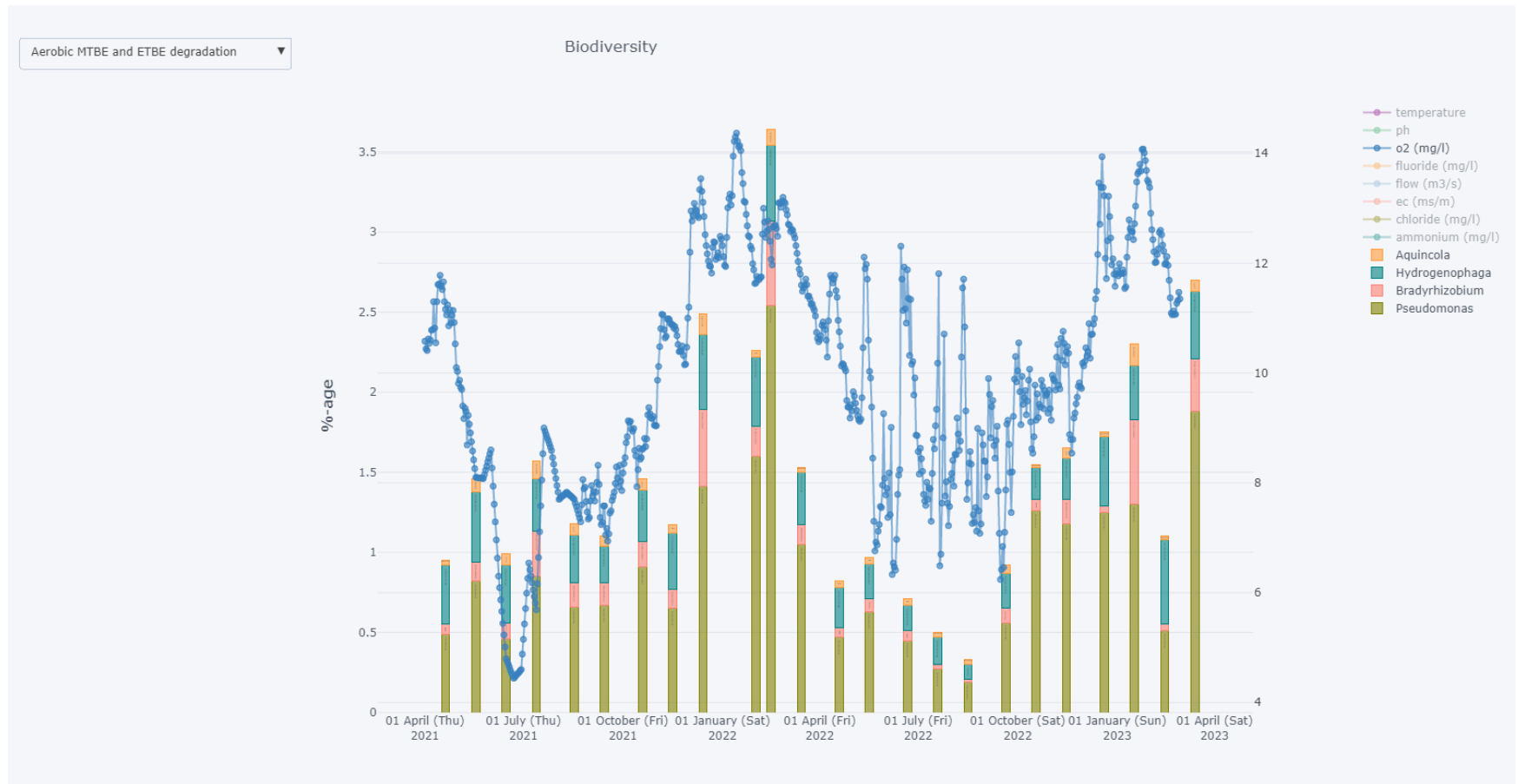


- *Microcystis* blauwalg: Juli – nov 22, meest dominant in aug 22 (40 %)
- *Candidatus Fonsibacter* & *Planktophila* beide symbiotische relatie met *Microcystis*
- Monitoring qPCR ter voorbereiding

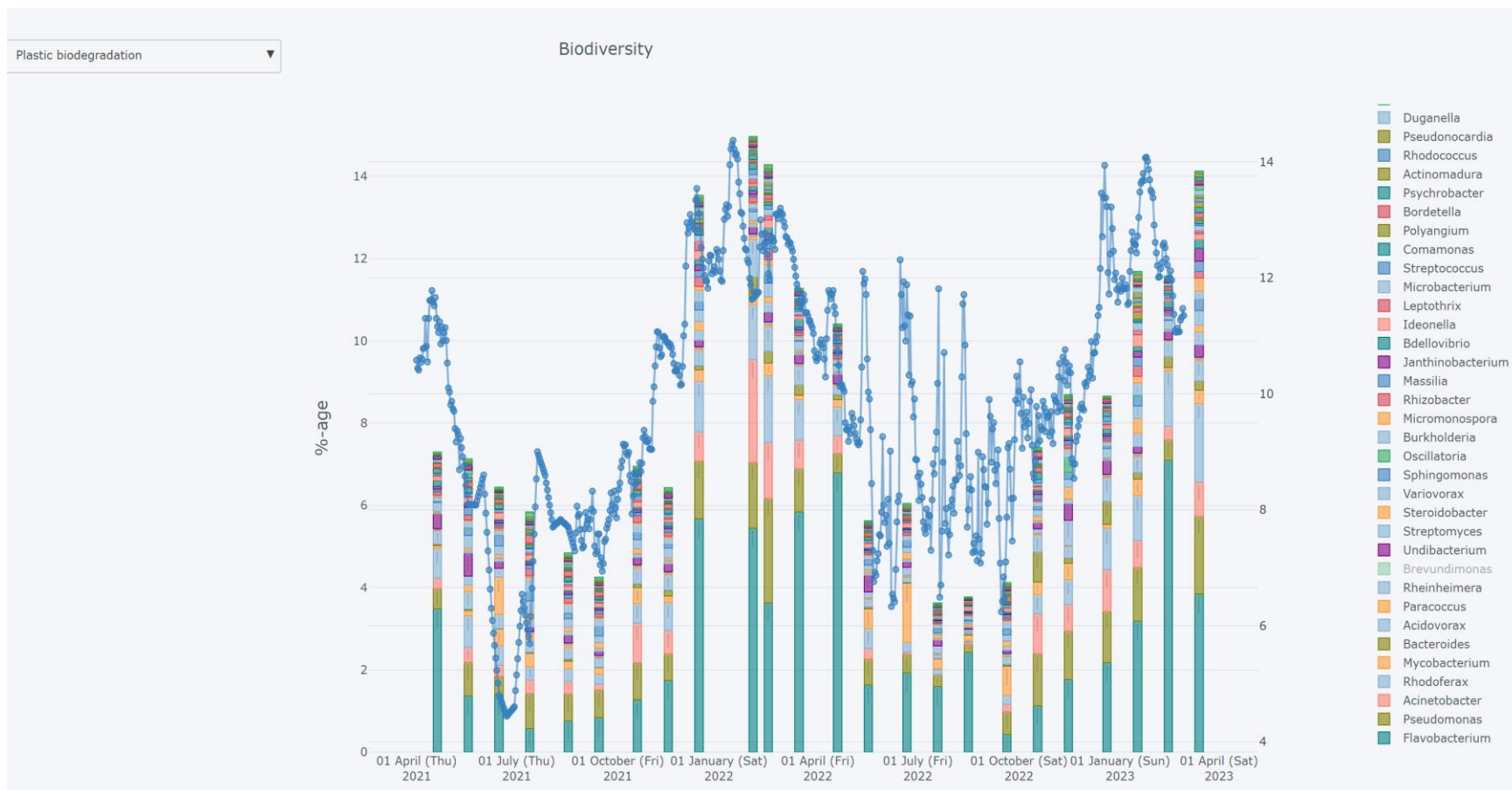
Aerobe BTEX afbrekers vs O2



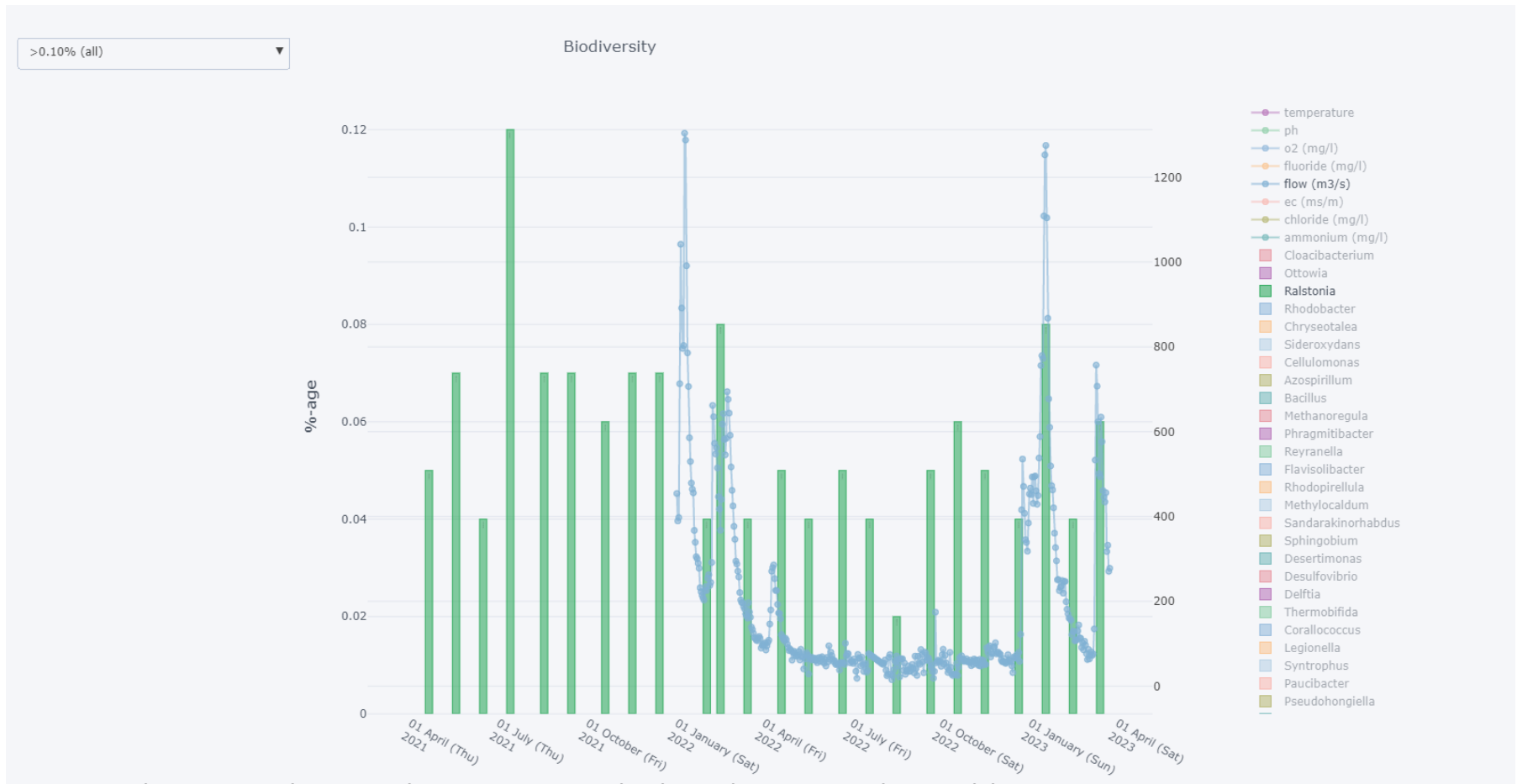
Aerobe MTBE afbrekers vs O2



Afbraak plastics vs O2

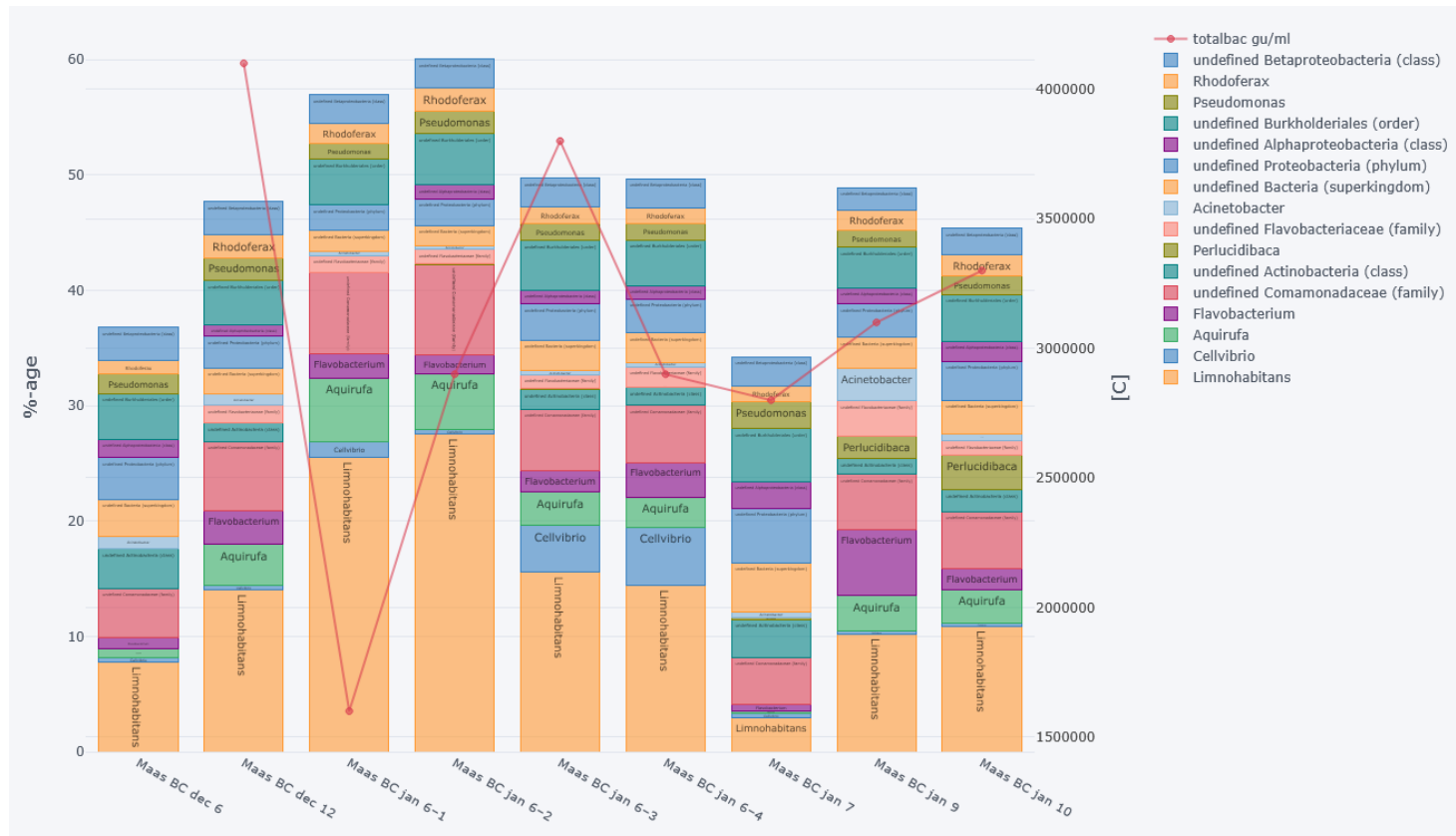


Ralstonia vs Debiet



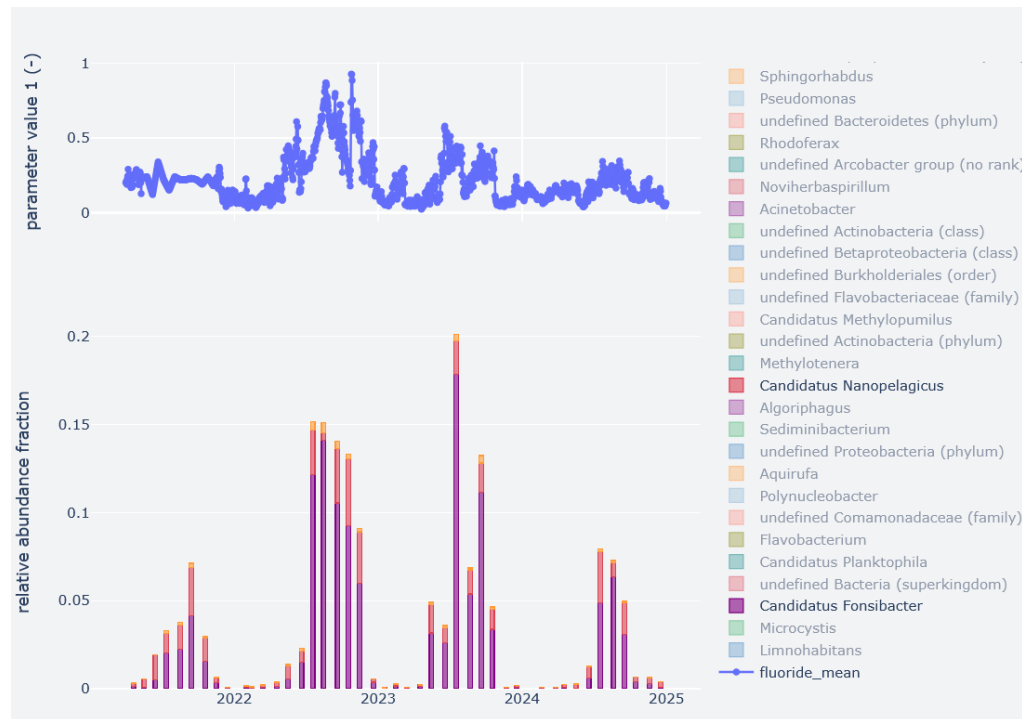
- *Ralstonia*: plantpathogeen, o.a. bekend van aardappel bruinrot
- Meer *Ralstonia* bij hoge afvoer (afspoeling van bodem)
- Sinds 2005: geen oppervlakte water meer voor beregning van aardappelvelden

Voorbeeld combinatie methodes



- BACTcontrol alarm → NGS + totaal bacterie qPCR

Correlaties?



- (Spearman) correlaties → SAR11 clade vs fluoride
- Nog niet beschreven correlaties
- Data opgeslagen voor toekomstige vraagstukken



5. Belang DNA-technieken en vooruitblik

- Inzicht in biodiversiteit, trends en effecten van parameters
- Monitoring en preventie
- Opslag data voor toekomstige vraagstukken
- Genen betrokken bij Antibiotica-resistentie, afbraak PFAS
- Identificeren van sleutelorganismen of –genen bij toxische events
- Design van nieuwe primers
- Combineren van DNA-technieken met andere methodes, zoals de BACTcontrol, potentieel ook in andere sectoren



Vragen?

Bedankt voor jullie aandacht!

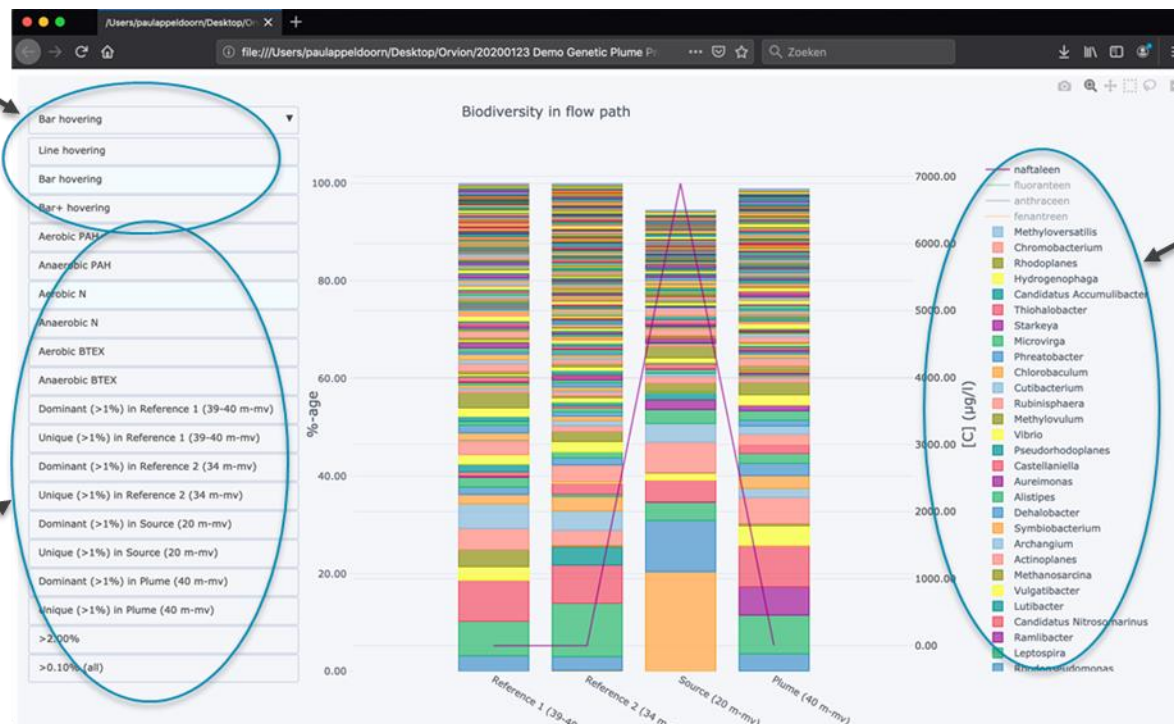
Hover-over

Select *bar hovering* to see biodiversity values (%-age)

Select *line hovering* to see contaminant values ($\mu\text{g/L}$)

Data filtration

Click on a filter to only visualise these parameters (see text below)



Parameters in graph

Click to turn individual parameters *on* or *off*

Double-click to turn all parameters *on* or *off*

3. Orvion NGS: Interactieve file

Populaties in de tijd gevisualiseerd

Inclusief andere parameters: verontreinigingen, pH, macroparameters, etc

Filterfuncties: bv. dominante soorten, pathogenen, aerobe BTEX afbrekers, etc

Selecteer parameters en/of soorten voor gedetailleerde informatie

VOORBEELD OPP WATER