

Via mammoet-DNA naar beter begrip antibiotica-resistentie



## ‘Dat zullen écht mammoetbacteriën zijn!’

Redactie: Els van den Brink, fotografie: VUmc

**Wat begon als een interessant gesprek over antibiotica-resistentie liep voor arts-microbiologen Dries Budding en Bas Wintermans uiteindelijk uit op een uniek onderzoek naar de darmflora van een bevroren mammoet in Siberië.**

In 2013 ontdekten ivoorjagers een bevroren mammoet op een eiland in de Noordelijke IJszee. Het bleek te gaan om het duizenden jaren oude karkas van een volwassen vrouwtjesmammoet. De vondst was de ideale oplossing voor het idee waar Bas Wintermans en Dries Budding, arts-microbiologen in het Bravis ziekenhuis en het VUMC, net mee rondliepen, vertelt Budding: “Ik deed op dat moment onderzoek naar darmflora en Bas naar antibioticaresistentie. We vroegen ons af: zouden de darmbacteriën van zoveel jaren terug ook resistentiegenen bevatten of zijn zulke genen pas later ontstaan? Toen Bas een nieuwsartikel las over de ontdekking van deze mammoet, leek ons dat een unieke kans om die vraag te beantwoorden.” De twee vrienden legden contact met de onderzoekers in Rusland en kregen een uitnodiging om monsters te komen nemen.

### Mammoetboringen

In het voorjaar van 2014 gingen Budding en Wintermans op reis naar Jakoetsk. “De mammoet werd daar met een truck afgeleverd bij het laboratorium. Het was op dat moment nog één groot blok ijs. Je kon er alleen gaten in boren om er van binnen boorkernen uit te halen. In de loop van de week ontdooide de mammoet steeds verder, en konden we ook echt in de buikholte kijken. De darmen bleken nog helemaal intact, er zaten gewoon nog plantenresten in. Ook de lever was intact. Daardoor konden we een hele serie monsters nemen van verschillende weefsels en de darmflora”, vertelt Budding enthousiast. Helaas liep het onderzoek daarna tijdelijk vast door het ontbreken van een exportvergunning. De beide mannen hadden een paar monsters in hun toiletas meegenomen, maar de rest moest helaas achterblijven in Siberië.

Budding en Wintermans waren overigens niet de enige buitenlandse onderzoekers die monsters mochten nemen. Koreaanse wetenschappers hoopten bijvoorbeeld op een paar goede DNA-monsters om de mammoet te kunnen klonen, terwijl een Deense wetenschapper op zoek was naar de mammoetvariant van hemoglobine, die veel beter bestand zou zijn tegen lage temperaturen.

### Mammoet-DNA

Afgelopen januari gingen beide onderzoekers nogmaals naar Jakoetsk. “We hadden toestemming gekregen om daar in het lab de analyses te doen, er was zelfs een heel team van studenten vrijgemaakt om ons te helpen. We hebben toen van alle monsters DNA geïsoleerd. Voor DNA heb je geen exportvergunning nodig, dus dat konden we gewoon meenemen en hier in Nederland analyseren.”

Terug in Nederland, besloot Budding om de monsters eerst te analyseren met zijn zelf ontwikkelde IS-pro test (zie kader) om de bacteriën te identificeren. “We hebben daardoor een redelijk beeld van wat erin zit, maar heel veel bacteriën blijken totaal niet overeen te komen met de bacteriën uit onze database. Er is dus nog heel veel onbekend.”

Omdat de mammoet natuurlijk helemaal was bedolven onder modder en ijs, was een van de eerste vragen of de onderzoekers niet gewoon naar modderbacteriën zaten te kijken. Het risico op verontreiniging tijdens de monsternamen was behoorlijk groot. “Wij hebben daarom ook monsters genomen van de modder zelf. Sommige signalen in de modder bleken inderdaad overeen te komen met signalen in de mammoet, maar heel veel ook echt niet. Dat zullen dus waarschijnlijk echt mammoetbacteriën zijn”, concludeert Budding.

### Infectie

Tijdens het ontleden van het mammoetkarkas zagen de onderzoekers verschillende dingen die erop wezen dat de mam-

**Miele**  
PROFESSIONAL

De nieuwe norm in analysezuiver reinigen met de nieuwe generatie PG 85.



De nieuwe generatie Miele desinfectieautomaten overtuigen met perfecte reinigingsresultaten, een grote capaciteit en meer flexibiliteit.

- Betere reiniging door de innovatieve spoeltechniek met een gepatenteerde frequentiegestuurde circulatiepomp met geïntegreerde verwarming
- Meer capaciteit door verbeterde rekken en inzetten
- Minder verbruik van water, energie en chemie door toepassing van specifieke programma's en EcoDry
- Hoge betrouwbaarheid van het proces door nieuwe uitgebreide controlefuncties

Voordelen waar u dagelijks plezier van heeft!

Info: (0347) 37 88 84  
[www.miele-professional.nl](http://www.miele-professional.nl)





Bas Wintermans (met bril) en Dries Budding bij de onderzoekstafel met de ontdoode mammoet.

Inzet: Dries Budding op een teamfoto met collega-onderzoekers uit Jakoetsk.



moet waarschijnlijk ziek was, vertelt Budding. “We zagen een knobbel, wat volgens de Russische patholoog een lymfeklier was, maar dan wel opvallend groot. Waarschijnlijk was hij dus opgezet, wat kan betekenen dat er sprake was van een infectie. We zagen ook vreemde knobbels in de lever, wat ook kan duiden op een ziekte. Later konden we ook bloedmonsters nemen en daar bleken bacteriën in te zitten. Eerst dachten we dat het een verontreiniging was, de mammoet zat tenslotte helemaal onder de modder, maar we ontdekten dat de bacteriën ook binnen in de witte bloedcellen zaten. We denken daarom dat dit pathogene bacteriën zouden kunnen zijn, die bij de mammoet een infectie hebben veroorzaakt. We hebben alleen nog niet kunnen determineren om welke bacteriesoort het gaat. Het lijkt een beetje op een Rhodococcus, wat een bekende pathogeen is bij paarden, maar we zullen het echt moeten sequencen om daar meer over te kunnen zeggen. Mogelijk hebben we hiermee dus een heel oude mammoetpathogeen ontdekt.”

### Samenwerking in sequencing

Om echt conclusies te kunnen trekken over de mammoetbacteriën, is het noodzakelijk om nog een stap verder te gaan en de DNA-volgorde volledig te bepalen. Dat is nog niet zo eenvoudig. “Met standaard DNA-sequencing methodes loop je al snel vast, omdat het ontbreekt aan goede referentiedata”, verklaart Budding. “Er zijn weinig overeenkomsten met bekende bacteriën. We moeten dus vooral de novo-sequencing

doen. We hopen een samenwerking aan te gaan met Naturalis die hiervoor net een nieuwe machine heeft aangeschaft. Naturalis heeft ook veel kennis van metabole processen. Dat zou kunnen helpen om bijvoorbeeld bodembacteriën te onderscheiden van pathogenen. Uiteindelijk willen we er graag een groot samenwerkingsproject van maken, waarbij ook andere onderzoekers een rol kunnen spelen. Iedereen die veel kennis heeft van een bepaald onderdeel, zou dan een deel voor zijn of haar rekening kunnen nemen. Dit is echt een unieke vondst, dus ik denk dat dit de beste data zijn die we ooit gaan krijgen. Die moeten we samen zo veel mogelijk benutten.”

## IS-pro techniek: sneller bacteriën identificeren

Tijdens zijn promotieonderzoek ontwikkelde Budding een nieuwe techniek voor de identificatie van bacteriën, IS-pro genoemd. Hierbij wordt een klein stukje DNA, de zogenaamde 16S-23S interspace-regio, vermenigvuldigd met PCR. De test maakt gebruik van het feit dat deze interspace regio verschilt in lengte voor elke bacteriesoort, terwijl de sequentie van het eerste stukje kenmerkend is voor de klasse waar de bacteriesoort toe behoort (het phylum). Vandaar dat voor elk phylum een andere primer wordt gebruikt, met een fluorescent label in een andere kleur. Hierdoor is het mogelijk om bacteriesoorten te herkennen aan de hand van de lengte van het geamplificeerde stukje DNA, in combinatie met de kleur van het label. Zelfs als een bacteriesoort niet blijkt voor te komen in de bijbehorende database, maakt de test wel duidelijk waar hij ongeveer ingedeeld zou moeten worden. Een groot voordeel van de IS-pro test is dat het niet nodig is om bacteriën vooraf te kweken. Dat betekent een behoorlijke tijdsbesparing en is een pluspunt bij de analyse van darmbacteriën die vaak niet gekweekt kunnen worden. Het VUMC gebruikt de test al een paar jaar in de kliniek, andere ziekenhuizen zijn er onlangs ook mee van start gegaan.



# BRS

A Beun-De Ronde Company

Innovations in  
Analysis & Chemistry

[www.brs.be](http://www.brs.be)