

Alle verwekkers in één keer ontdekken zonder te kweken

13-5-2022

In medisch microbiologische laboratoria wordt sinds jaar en dag gewerkt met allerlei verschillende kweekplaten om te ontdekken of er micro-organismen aanwezig zijn in klinisch patiëntmateriaal. Na het aanbrengen van patiëntmateriaal op de kweekplaat, duurt het minimaal een dag voordat er iets gezegd kan worden over de aanwezigheid van bacteriën. Voor sommige bacteriesoorten geldt dat dit enkele dagen duurt, bij schimmels duurt het bijna altijd meerdere dagen voordat de verwekker aangetoond kan worden. Het is alsof je "Wie is het?" speelt waarbij je telkens maar één nieuwe vraag kunt stellen, waardoor je vertraging oploopt. Inmiddels is daar door de komst van nucleïnezuuramplificatietechnieken, zoals bijvoorbeeld PCR, verandering in gekomen. Hierbij kan vaak sneller een verwekker vastgesteld worden doordat specifieke stukjes DNA van het micro-organisme aangetoond kunnen worden. Het is echter wel zo dat je met deze methode alleen datgene vindt waar je naar zoekt, terwijl het veel gemakkelijker zou zijn om alles in één keer uit te kunnen vragen. Met een nieuwe techniek genaamd MinION-sequencing komt deze gewenste situatie een stap dichterbij.

In het Maastricht ziekenhuis heeft het microbiologisch lab onlangs een pilot uitgevoerd met als doelstelling: het toepassen van de MinION-sequencingtechniek op patiëntmateriaal. Er wordt bij deze techniek een bepaald deel van het genetisch materiaal van alle aanwezige bacteriën en schimmels geamplificeerd (vermenigvuldigd), waardoor er geen selectie plaatsvindt op basis van vooraf afgesproken bacteriën of schimmels. Dat maakt dat je dankzij deze methode in één keer alle micro-organismen "vangt" die in het materiaal zitten. Vervolgens kunnen we met de MinION-sequencer de genetische code aflezen. Deze sequencer werkt ontzettend snel, waardoor je in "realtime" de aanwezige bacteriën en schimmels zou kunnen aantonen. Echter, de voorbereiding van het monster (genetisch materiaal zuiveren) en data-analyse (de resultaten van de MinION sequencing interpreteren) zijn nog wel een uitdaging. Dit laatste is zichtbaar in Figuur 1, waarin verschillen in de resultaten van maar een enkele monster te zien zijn.



Figuur 1. Verschillen in MinION-sequencing resultaten gekregen met het gebruik van 3 verschillende voorbehandelingsmethoden (eerste rij – de zogenaamde 'Rapid', '2x2' en 'Four-primer' technieken) en 3 data-analyse programma's (eerste kolom – de zogenaamde '16S', 'WIMP' en 'Kraken2' technieken). Het oorspronkelijke monster bevat 70% *Staphylococcus aureus* bacteriën (blauw gekleurde 'taartpunten') en 30% *Pseudomonas aeruginosa* bacteriën

(grijs gekleurde 'taartpunten'). Het aantonen van de *Pseudomonas aeruginosa* bacteriën gaat moeizaam en de *Staphylococcus aureus* bacteriën worden vaak alleen geïdentificeerd als *Staphylococcus* species. Daarom toont geen enkele taart het verwachte resultaat aan.

De MinION-sequencingtechniek heeft een grote potentie, omdat dokters hiermee op een snelle manier een heel gedetailleerd en breed beeld zouden kunnen krijgen van de micro-organismen die aanwezig zijn in patiëntmateriaal. Dit is heel belangrijk voor het bepalen van de juiste therapie. Echter, het is een uitdaging om deze techniek op grote schaal door te voeren, onder andere omdat er een groot verschil zichtbaar is tussen de digitale wereld [van 'enen en nullen'] en de klinische praktijk. Hiervoor zijn mensen nodig die beide werelden kennen en daarmee de oorzaak van de infectie snel kunnen opsporen. Het Maasstad Ziekenhuis ziet potentie hierin en gaat deze techniek verder doorontwikkelen en in 2022 op kleine schaal en later op grotere schaal toepassen in het laboratorium.

Auteurs:

- Maarten Sarink, Medische Microbiologie, Maasstad Ziekenhuis, Rotterdam.
- Pieter Smit, Medische Microbiologie, Maasstad Ziekenhuis, Rotterdam.