



BO Melk: van kweek naar MALDI-TOF

Bent u benieuwd naar de oorzaak van mastitis bij die ene koe? Dan kunt u een individueel melkmonster nemen en laten onderzoeken in het GD-lab, een zogeheten BO Melk. Het onderzoek maakt onderscheid tussen verschillende bacteriesoorten en of de bacterie omgevings- of koegebonden is. Het onderzoek kan snel, tussen de 24 en 48 uur na binnenkomst krijgt u al de uitslag. Wat gebeurt er in de tussentijd?

Voordat u een monster neemt, is het belangrijk dat u de juiste buizen in huis hebt. Voor BO Melk zijn dat buizen met een speciale flipdop. Via uw dierenarts, of rechtstreeks bij GD, kunt u een pakket BO Melk bestellen. Hierin zitten alle materialen die u nodig hebt voor monsternamen en verzenden van de monsters. Hebt u de juiste buizen, dan kunt u een monster nemen van een kwartier met klinische verschijnselen van mastitis of van een kwartier met een verhoogd celgetal, eventueel na voorselectie aan de hand van de MPR-uitslag en bijvoorbeeld de CMT-test (vierkwartierschaaltje).

Het monster stuurt u vervolgens, samen met het inzendformulier naar ons lab. Op het formulier kunt u ook aangeven of u een antibioticagevoeligheidsbepaling wil laten doen om te achterhalen welk antibioticum het beste ingezet kan worden. Eenmaal binnen bij GD, wordt het monster allereerst ingeschreven zodat de juiste uitslag bij de juiste koe komt te staan.

Stap 1: celgetalbepaling

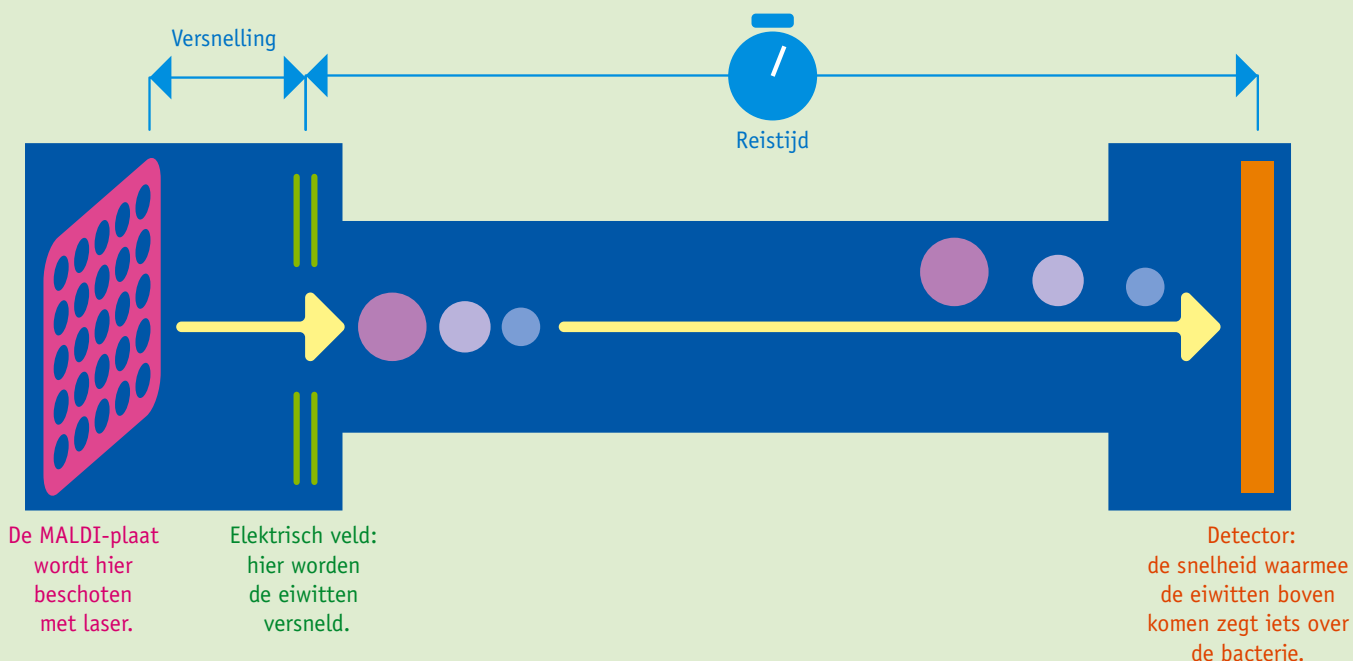
Nadat het monster is ingeschreven doet de analist eerst een celgetalbepaling. Hieruit volgt een getal dat het aantal cellen, voornamelijk witte bloedlichamen, per milliliter melk aangeeft, en dat geeft een indicatie van de ernst van de problemen. Is het celgetal hoog, dan is de kans groot dat er iets met de koe aan de hand is.

Stap 2: kweek

Daarna wordt het monster op kweek gezet. Met een entoog – een plastic stokje met een rondje eraan (zie afbeelding) – wordt precies 10 milliliter melk uit het monster opgenomen. Vervolgens strijkt de analist dat uit over een voedingsbodem waarop bacteriën goed kunnen groeien. Na een dag wegzetten van de plaat bij een temperatuur van 37 graden zijn losliggende zogenaamde bacteriekolonies zichtbaar, zoals in het midden van de afbeelding te zien. Sommige bacteriesoorten groeien langzamer, deze vertonen pas na 48 of 72 uur zichtbare groei.



HOE WERKT DE MALDI-TOF?



Na 24 uur beoordeelt de analist de groei op de voedingsbodem: zijn er kolonies zichtbaar? Zo ja, hoe zien ze er dan uit? Hierbij is ervaring van groot belang. Ervaren analisten kunnen vaak al snel aan bepaalde kenmerken zien dat het bijvoorbeeld om *Klebsiella* of *S. aureus* gaat. Dit geeft de analist al een eerste aanwijzing. Deze kenmerken noemen we de koloniemorfologie.

Stap 3: de MALDI-TOF

Om het helemaal zeker te weten gaat een beetje materiaal van de verdachte kolonies in de MALDI-TOF. Daarvoor worden de kolonies met een soort tandenstoker aangetipt en uitgesmeerd op een gemarkeerd spotje op een roestvrijstalen MALDI-plaat, met in totaal 96 spotjes. In de illustratie is dit het roze plaatje aan de linkerkant. Dat laat de analist even drogen en dan gaat er een goedje overheen, de zogenaamde matrix. Deze zorgt in de MALDI-TOF voor een goede warmteoverdracht naar het bacteriemateriaal als het wordt beschoten met laserlicht.

In de MALDI-TOF barsten de bacteriecellen open, en komen de eiwitten naar vrij. Die worden positief geladen, vervolgens komen ze in de gasfase. In het apparaat worden ze versneld in een elektrisch veld, en in een vacuümbuis schieten ze dan omhoog. De lichtere eiwitten zijn eerder aan het eind dan de zwaardere. De tijd die een molecuul nodig heeft om de detector te bereiken, is dus een maat voor de massa van het molecuul. Die informatie is belangrijk voor het identificeren van de bacterie.

De detector aan het einde van de buis registreert het als er een eiwitmolecuul aan het eind is. Welke pieken kenmerkend zijn voor elke bacteriesoort staat genoteerd in een bibliotheek, die de fabrikant van de MALDI-TOF zorgvuldig heeft samengesteld. De software bepaalt aan de hand hiervan binnen enkele seconden om welke bacteriesoort het gaat. Het hele proces, van begin tot eind, duurt niet langer dan tien minuten.

Stap 4: de uitslag

De uitslag van de MALDI-TOF is de definitieve uitslag die u krijgt. Meestal ontvangt u een (deel)uitslag tussen de 24 en 48 uur per mail. Wanneer u ook een antibioticagevoeligheidsbepaling heeft aangevraagd, dan ontvangt u de uitslag van het bacteriologisch onderzoek, mét daarbij de uitslag van de gevoeligheidsbepaling (in de regel) na 48 tot 72 uur. In dit geval is dit uw einduitslag.

Uitslagen

De uitslag(en) kunt u bespreken met uw eigen dierenarts. Daarnaast staat het UGA-team van GD dagelijks voor u klaar. Wilt u sparren over een plan van aanpak of de beste maatregelen op uw bedrijf om nieuwe gevallen van mastitis te voorkomen? Neem dan gerust contact op. Ontvangt u uw GD-uitslagen nog niet per mail? Geef dan meteen uw emailadres aan ons door. Informatie over het UGA-team en uiergezondheidsonderzoeken van GD vindt u op www.gddiergezondheid.nl/uga