

Informācija par mastīta diagnostikas testiem SIA Piensaimnieku laboratorija

Laboratorijā mastīta noteikšanai izmanto molekulārās bioloģijas metodi jeb reālā laika polimerāzes ķēžu reakciju (rl PCR).

PCR testam ir vairākas priekšrocības:

- rezultāts dažu stundu laikā,
- var izmantot paraugu no govīs, kurai jau uzsākta ārstēšana (to var izskaidrot sekojoši – PCR tests ir ļoti jutīgs, pietiek ar nelielu patogēno baktēriju skaitu, lai ar šo metodi, ekstrahējot (izdalot) baktēriju DNS (dezoksiribonukleīnskābes), pēc tam to pavairotu rPCR testā līdz noteikšanas sliekšnim,
- var izmantot gan nekonservētu, gan konservētu (ar BSM tabletīti) piena paraugu. Mastīta diagnostikai der arī piena paraugs, kas noņemts piena pārraudzības izmeklējumiem. Vienīgi paraugu paņemšanas brīdī rūpīgi jāseko tesmeņa, pupu, roku tīrībai, lai piena paraugā pēc iespējas mazāk iekļūtu apkārtējās vides mikroorganismi,
- testēšana vienlaicīgi tiek veikta arī pret mikoplazmām (*Mycoplasma bovis* un/vai *Mycoplasma spp.*), kuras klasiskajā mikrobioloģijā diagnosticēt grūti.

Ja piena paraugu ņem speciāli mastīta izmeklējumiem, tad tesmeni pēc nomazgāšanas nosusina, noslauca pirmās piena strūklas un paņem piena paraugu, ieslaucot no visiem četriem vai uz mastītu aizdomīgajiem pupiem.

Piedāvājam testēšanu ar **PathoProof Mastitis Complete-16** reaģentu komplektu (strādājam jau 5 gadus), kad izmeklējumus piena paraugā veicam paralēli uz 16 dažādiem ierosinātajiem:

Staphylococcus aureus, *Staphylococcus spp.* (iesk. koagulāzes pozitīvos un visus nozīmīgos koagulāzes negatīvos stafilokokus, izņemot *St.aureus*), *Enterococcus spp.* (iesk. *E.faecalis*, *E.faecium*), *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Corynebacterium bovis*, *Klebsiella oxytoca* un/vai *K.pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Trueperella pyogenes* un/vai *Peptoniphilus indolicus*, *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma spp.* (izņemot *M.bovis*), *Prototheca spp.*, raugi (*Yeast*), stafilokoku β -laktamāzes gēns (gēns, kas atbild par stafilokoku rezistenci pret β -laktāma grupas antibiotikām (penicilīnu, cefalosporīniem u.c.).

Beta-laktamāzes gēna (jeb *β -lactam* grupas antibiotiku, tai skaitā penicilīna, rezistences gēns) klātbūtne piena paraugā norāda uz to, ka dzīvnieka organismā esošie mikroorganismi, tai skaitā mastīta ierosinātajī, ir izturīgi pret šīs grupas antibiotikām un ārstēšana ar šiem preparātiem nedos gaidīto efektu.

Testēšanas rezultātu piemēri:

Parauga Nr./ Dzīvnieka Nr.	MET-008-01 ▲ Molekulārās bioloģijas metode – reālā laika polimerāzes ķēžu reakcija (rl PCR) Mastīta ierosinātajī (16 dažādu ierosinātāju DNS noteikšanai) ar PathoProof Mastitis Complete-16 PCR reaģentu komplektu		
	Baktērijas	Daudzums *	Proporcija **
1.	Enterococcus sp. (including faecalis and faecium)	++	>90%
	Staphylococcus sp.	+	
	T. pyogenes and P. indolicus	++	
	Yeasts	+	
2657.	Staph. aureus	++	>99%
	Str. dysgalactiae	+	
	Str. uberis	+	
3560.	Beta-lactamase gene	+	
	E. coli	+	
	Mycoplasma sp.	+	
	Staph. aureus	+++	>99%
	Str. uberis	+	
	T. pyogenes and P. indolicus	+	
81.	E. coli	+	
	Staphylococcus sp.	+	
	Str. dysgalactiae	+	
	Str. uberis	++	

▲ Metode neietilpst akreditācijas sfērā

*

+ - attiecīgās baktērijas DNS konstatēts nelielā daudzumā

++ - attiecīgās baktērijas DNS konstatēts vidējā daudzumā

+++ - attiecīgās baktērijas DNS konstatēts lielā daudzumā

Rezultātā netiek norādītas tās baktērijas, kuru DNS nav konstatēts vai kuru daudzums ir zem metodes noteikšanas sliekšņa.

**

Procenti norāda baktērijas proporcionālo daudzumu gadījumā, ja paraugā konstatētas vairāku baktēriju DNS un ja attiecīgā baktērija proporcionāli ir vairāk kā 90% no kopējā baktēriju daudzuma (visas pārējās kopā ir mazāk kā 10%).

Šogad piedāvājam jaunu testēšanas shēmu, izmantojot **QIAGEN** reaģentus.

Sākotnēji var veikt koppiena (vai laboratorijā precīzās proporcijās apvienotu) piena paraugu testēšanu.

Reaģentu ražotājs rekomendē apvienot līdz 10 govju pienu, tādējādi garantējot, ka apvienotajā paraugā tiks konstatēta kaut viena inficēta govs. Tālāk atkarībā no sākotnējiem rezultātiem testēšanas gaitā var „atšķetināt” līdz individuālu govju piena paraugiem.

QIAGEN reaģentu ražotājs piedāvā vairākus komplektus:

- QIAGEN *bactotype* Mastitis Screening PCR - *St.aureus*, *Str.dysgalactiae/Str.uberis*, *Str.agalactiae/M.bovis* DNS noteikšanai. Ātrai problemātisku ganāmpulku identificēšanai.
- QIAGEN *bactotype* Mastitis HP3 PCR - *St.aureus*, *Str.agalactiae*, *M.bovis* DNS noteikšanai. Gan šie, gan HP2+ reaģenti ir augsti patogēnu baktēriju noteikšanai.
- QIAGEN *bactotype* Mastitis HP2+ PCR – *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma spp* (citas sugas – *M.californicum*, *M.canadense*, *M.bovigenitalium*, *M.alkalescens*, *M.arginini*), *Str.agalactiae* DNS noteikšanai.
- QIAGEN *bactotype* Mastitis Env PCR - *Str.dysgalactiae*, *Str.uberis*, *E.coli* + *Klebsiella*, *T.pyogenes* DNS noteikšanai.
- QIAGEN *bactotype* Mastitis AMR PCR – antimikrobiālās rezistences gēnu (*MRSA mecA*, *MRSA mecC*, *ESBL (Extended Spectrum BetaLactamase)*) noteikšanai.

Šīs shēmas var izmantot vairākos virzienos:

1) diagnostiskos nolūkos. Var veikt testēšanu individuālu govju piena paraugiem (klīniskā vai subklīniskā mastīta noteikšanai). Bet var arī pēc iespējas īsākā laikā izmeklēt visu slaucamo govju ganāmpulku, piemēram, ar mērķi identificēt govīs, kurām pienā ir *Staphylococcus aureus*.

Testēšanas gaitu var sākt ar *QIAGEN Mastitis Screening PCR* reaģentiem izmeklējot līdz 10 apvienotus piena paraugus. Tām govīm, kuru apvienotajā piena paraugā tiek konstatēts *St.aureus*, tālāk testēšanu turpina ar *QIAGEN Mastitis HP3 PCR* reaģentiem. Apkopojot rezultātus ~600 slaucamu govju saimniecībā, 3 govīm pienā tiek konstatēts *St.aureus* +++, 8 govīm ++, 14 govīm +.

2) profilaktiski. Piemēram, ikmēneša piena pārraudzības paraugu (izmantojot laboratorijā apvienotu piena paraugu testēšanu) testēšanas rezultātus analizējot laika periodā un sekojot jebkurām būtiskām izmaiņām ganāmpulka līmenī.

Testēšanas rezultātu piemēri:

Paraugu Nr.	Apvienotā parauga Nr.	MET-008-01 ▲ Molekulārās bioloģijas metode – reālā laika polimerāzes ķēžu reakcija (rl PCR) Mastīta ierosinātāji ar QIAGEN <i>bactotype</i> Mastitis Screening PCR reaģentu komplektu (<i>St.aureus</i> , <i>Str.dysgalactiae/Str.uberis</i> , <i>Str.agalactiae/M.bovis</i> DNS noteikšanai) Baktērijas (Daudzums *)
121.-130.	1	IR KONSTATĒTS <i>St.aureus</i> (++) , <i>Str.dysgalactiae/Str.uberis</i> (+), nav konstatēts <i>Str.agalactiae/M.bovis</i>
161.-170.	2	IR KONSTATĒTS <i>St.aureus</i> (+), <i>Str.dysgalactiae/Str.uberis</i> (++) , nav konstatēts <i>Str.agalactiae/M.bovis</i>

Parauga Nr.	Dzīvnieka Nr.	MET-008-01 ▲ Molekulārās bioloģijas metode – reālā laika polimerāzes ķēžu reakcija (rl PCR) Mastīta ierosinātāji ar QIAGEN <i>bactotype</i> Mastitis HP3 PCR reaģentu komplektu (<i>St.aureus</i> , <i>Str.agalactiae</i> , <i>M.bovis</i> DNS noteikšanai) Baktērijas (Daudzums *)
125.	35302	IR KONSTATĒTS <i>St.aureus</i> (++) , nav konstatēts <i>Str.agalactiae</i> , <i>M.bovis</i>
165.	65266	Nav konstatēts <i>St.aureus</i> , <i>Str.agalactiae</i> , <i>M.bovis</i>

▲ Metode neietilpst akreditācijas sfērā

*

+ - attiecīgās baktērijas DNS konstatēts nelielā daudzumā

++ - attiecīgās baktērijas DNS konstatēts vidējā daudzumā

+++ - attiecīgās baktērijas DNS konstatēts lielā daudzumā

16 ierosinātāju PCR tests vienmēr ir pieejams laboratorijas klientiem. Par cenām lūdzu zvaniet mums pa tālr. 67910751 vai 26568424.

Par individuālām QIAGEN testēšanas shēmām lūdzu sazināties iepriekš, jo diagnostiskos reaģentus iegādāsimies tikai pēc īpašas vienošanās ar klientu. Individuālām shēmām piemērojama līgumcena atkarībā no paraugu daudzuma.