

På vej mod hurtigere diagnostik af mastitis

Et netop afsluttet ph.d. projekt har fundet nye potentielle biomarkører for mastitis ved hjælp af en nyudviklet analysemetode. Metoden er så effektiv at den kan gennemføres på flere hundrede mælke- og vævsprøver fra kvægbesætninger.

Diagnostik af mastitis og identifikationen af mastitisbakterier foregår i dag i laboratorier (hos dyrlægen) ved dyrkning af mælkeprøver. I takt med at malkeroboter og fuldautomatiske overvågningssystemer som Herd Navigator bliver mere udbredte, er det af stor interesse at kunne diagnosticere mastitis direkte under malkningen for at kunne iværksætte den rigtige behandling hurtigst muligt. Til dette er der brug for biomarkører.

Koens reaktion på mastitisbakterier

Koens immunforsvar reagerer forskelligt afhængigt af hvilke bakterier, der er trængt ind i yveret. Det er derfor oplagt at måle de inflammationsproteiner, som koen udskiller i mælken i forbindelse med mastitis, for herved at finde biomarkører, der kan anvendes til diagnosticering direkte i mælk. Den massive tilstedeværelse af de dominerende mælkeproteiner såsom kasein er

dog med til at komplicere analyserne af følsomme biomarkører i mælk.

Formål med projektet

Formålet med dette forskningsprojekt var derfor at udvikle en sensitiv metode til at måle mange inflammationsproteiner i mælk, for at undersøge forskellen i køernes immunreaktion på mastitis forårsaget af henholdsvis bakterier med cellevæg (grampositive) fx *Staph.*



aureus og bakterier uden cellevæg (gramnegative bakterier) fx *E. coli*. Formålet var endvidere at foreslå potentielle biomarkører i mælk, der kan anvendes til at skelne mellem grampositive og gramnegative mastitisbakterier.

Ny metode

I projektet blev der, ved brug af massespektrometri-teknologier, udviklet en ny sensitiv metode til at kvantificere specifikke proteiner i mælk og yvervæv for at kunne identificere nye biomarkører. Med denne metode (kaldet selected reaction monitoring - SRM) er det nu muligt at bestemme den præcise mængde af mange forskellige inflammationsproteiner i én og samme analyse på omkring en time, og denne analysemetode er så effektiv, at den kan gennemføres på flere hundrede mælke- og vævsprøver fra kvægbesætninger.

Køer med eksperimentel mastitis

I forsøget indgik der tre køer med mastitis forårsaget af cellevægskomponenten peptidoglycan fra *Staph. aureus* og tre køer med mastitis forårsaget af endo-toksinet lipopolysaccharid fra *E. coli*. Mælken fra køerne blev opsamlet på seks tidspunkter fra 0 - 54 timer efter stimulering med henholdsvis *peptidoglycan* og *lipopolysaccharid* og analyseret ved hjælp af SRM metoden.

Nye biomarkører fundet

Resultaterne viste, at køer, stimuleret med lipopolysaccharid fra *E. coli*, forårsager en mere akut reaktion af koens immunforsvar end køer stimuleret med peptidoglycan fra *Staph. Aureus*. Dette understøtter evidensen for, at gramnegative bakterier forårsager en meget

mere akut mastitis end grampositive bakterier. Mængden af en række proteiner fandtes væsentligt forøget i køerne med gramnegativ mastitis. Disse proteiner er dermed potentielle biomarkører til at skelne mellem gramnegativ mastitis og grampositiv mastitis. For at sikre anvendeligheden af resultaterne skal data fra flere køer med mastitis dog inddrages for at bekræfte sensitivitet og specificitet for de potentielle biomarkører.

Når de fundne biomarkører er testet i et større dyremateriale, vil de bedste markører kunne indgå i assays, som forhåbentligt ville kunne implementeres i systemer som Herd Navigator og hjælpe til bedre diagnostik af mastitis.

Flere oplysninger

Stine Lønnerup Bislev,
Aarhus Universitet

stinel.bislev@agrsci.dk

