

Nachweis von Mastitis-Erregern mittels real time PCR: Nicht unproblematisch, bisher (zu) teuer und allenfalls eine Aufgabe für Fachleute!



MBFG

An der Feldmark 16
31515 Wunstorf
Tel.: 0 50 31-96 90 94
Fax.: 0 50 31-96 90 95
www.mbf-g-wunstorf.de

In jüngster Zeit sind nicht-tierärztliche Dienstleister mit der Werbung für eine Mastitis-Diagnostik mittels einer vorgeblich unfehlbaren real time PCR-Methodik (System „PathoProof®“) auf den Markt getreten. Zu dieser Thematik möchten wir Ihnen hier einige Informationen geben.

Was ist eine „real time PCR“?

Krankheitserreger lassen sich auch mittels Methoden aufspüren, mit denen (nur) die Erbsubstanz (DNS) dieser Erreger nachgewiesen wird. Solche Methoden stützen sich auf die sogenannte Polymerase-Kettenreaktion. (Englisch: Polymerase Chain Reaction, abgekürzt: PCR) Mit Hilfe dieser Reaktion können auch kleinste Mengen von in der jeweiligen Probe enthaltener DNS stark vermehrt werden.

Verschiedene Erreger-Arten unterscheiden sich auch hinsichtlich ihres genetischen Materials. Und bestimmte Teile des Genoms sind charakteristisch für die jeweilige Erreger-Art. Kennt man für eine Erreger-Art charakteristische Gene, kann man mittels der PCR-Technik im Probenmaterial gezielt nach eben solchem genetischen Material suchen. Wird man fündig, weiß man allerdings nicht, ob der betreffende Erreger lebend oder tot vorlag.

Es gibt inzwischen auch PCR-Methoden, die eine Aussage dazu erlauben, ob viel oder wenig des jeweiligen genetischen Materials in der untersuchten Probe war. Diese Methoden nennt man Echtzeit-PCR-Verfahren. (Die englische Bezeichnung lautet: real time PCR) Bei diesen Verfahren wird bereits während jener Phase der Untersuchung, in der man die Vermehrung eventuell in der Probe enthaltener Erreger-DNS betreibt, erfasst, ob eine Vermehrung solcher DNS erfolgt. Und falls ja, wie stark die Vermehrung ist. Von der Stärke der Vermehrung kann man auf die Ausgangskonzentration der gesuchten DNS zurückschließen.

Real time PCR-Verfahren zum Nachweis von Bakterien-DNS sind unter Umständen schneller als andere mikrobiologische Verfahren. Zum Beispiel schneller als der klassische Nachweis lebender Bakterien mittels Anzüchtung.

Der real time PCR-Test namens PathoProof® wird von einem finnischen Unternehmen namens Finnzymes Diagnostics verkauft. Mit Hilfe des Verfahrens dieses Unternehmens kann man Milch auf zwölf Arten von Mastitis-Erregern und auf das Penicillinase-Gen von Staphylokokken testen.

Für den „PathoProof®-Mastitis Complete-12“-Test gilt:

- 1) Das Verfahren führt am Tag des Starts der Untersuchung (nach einigen Stunden) zu einem Untersuchungsergebnis.

- 2) **Man kann nur DNS von jenen (zwölf) Erregerarten finden, nach denen man sucht.** (Dazu gehören z.B. nicht: Hefen, Prototheken, Streptococcus canis (ScG), Aerokokken, Mykoplasmen, Proteus und Pseudomonaden)
- 3) **Das DNS detektierende Verfahren unterscheidet nicht zwischen lebenden und toten** (somit fraglich relevanten) **Erregern.**
- 4) **Die Untersuchung erlaubt dem Labor** (mangels Erregeranzüchtung) **keine anschließende Testung von Erregern auf deren Antibiotikaempfindlichkeit.** Zudem erlaubt es keine anschließende Stammdifferenzierung und keine Asservierung z.B. zwecks Herstellung einer „Stallvakzine“.
- 5) **Das Verfahren ist bisher sehr teuer.** (Eine Untersuchung kann zu einem Preis von weniger als 20,-Euro pro Probe bisher schwerlich kostendeckend angeboten werden. Mit klassischer Methodik kann die Untersuchung zu einem viel geringeren Preis erfolgen.)

Ganz besonders problematisch ist aber, dass viele Milchproben längst nicht nur jene Keime enthalten, die mit der Milch aus dem Innern des Euters ausgetreten sind.

Fast alle Keimarten, die nach einer Infektion des Euters Mastitis auslösen können, kommen auf der Schleimhaut des Strichkanals und / oder auf der Zitzenhaut bzw. auf der Handhaut vieler Probennehmer und zudem im Stallschmutz vor.

Es ist daher von großer Wichtigkeit, dass die Sauberkeit der Probe seitens fachlich versierter und erfahrener Untersucher beurteilt wird. Eine solche Beurteilung ist bei alleiniger Nutzung der PCR-Methodik derzeit aber nicht möglich.

Falls also in einer Milchprobe mittels einer PCR-Methode die DNS von Mastitis-Erregern gefunden wurde, ist häufig unklar, weshalb diese DNS in der Probe enthalten war. Infolge einer Infektion des betreffenden Euters / Euterviertels mit dem jeweiligen Erreger? Oder infolge der Kontamination der Milchprobe bei bzw. nach dem Austritt aus dem Euter / Euterviertel? Die nicht-selektive Anzüchtung von in der Probe enthaltenen Keimen ermöglicht im Gegensatz zur PCR in der Regel eine recht sichere Antwort auf diese Fragen. Daher halten wir die nicht-selektive Bakterien-Anzüchtung derzeit im Rahmen der Routine-Mastitis-Diagnostik für unverzichtbar. Wir werden diese Anzüchtung daher in der Routine-Mastitis-Diagnostik auch weiterhin Probe für Probe vornehmen und die Kulturen tierärztlich beurteilen.

Wegen des oben geschilderten Problems sind für die Untersuchung auf Mastitis-Erreger mittels des Systems PathoProof® nur Milchproben tauglich, die äußerst hygienisch gewonnen wurden!

Wurden mittels PathoProof®-Verfahrens **Proben** untersucht, **die im Rahmen der Milchleistungsprüfung** in erster Linie zwecks Bestimmung der Milchinhaltsstoffe **gewonnen wurden**, ist die **Bedeutung der Untersuchungsergebnisse überaus fraglich!** Denn solche Proben werden mit Sicherheit Keime enthalten, die nicht mit der Milch aus dem Euter des Tieres ausgetreten sind.

Die **Untersuchung von Tankmilchproben** mittels des PathoProof®-Verfahrens ist hinsichtlich eines Informationsgewinns für die Mastitis-Bekämpfung **von geringem Wert!** Tankmilchproben kann man selbstverständlich auch mit klassischen Methoden untersuchen. Im Rahmen der Mastitis-Bekämpfung macht eine solche Untersuchung aber in den seltensten Fällen Sinn. Sie wird von uns daher nicht

propagiert. (Besser beachten Sie Störungen der Eutergesundheit auf „Einzeltierebene“ und veranlassen Sie gegebenenfalls Untersuchungen von Viertelgemelksproben!)

PCR-Verfahren werden häufig dafür gelobt, dass mit ihnen mehr Nachweise von Erregern geführt werden als mit anderen mikrobiologischen Methoden. Diesbezüglich sollte man kritisch sein! Denn: **Wer mehr Nachweise von Erregern** (lebenden oder toten?) **liefert, hat nicht unbedingt die bessere Diagnostik gemacht.** Auch wenn das Ausweisen eines Erregers die Erwartung des Kunden in vielen Fällen besser erfüllt als ein fehlender Erregernachweis. **Es muss stets um medizinisch relevante Nachweise (von Infektionen!) gehen.**

Die molekularbiologische Erkenntnisse nutzende real time PCR-Methodik ist nicht „idiotensicher“! Sie ist keine Methode, die man ohne fundierte Kenntnisse anwenden sollte. Ein System, in das man etwas Probe hineingibt und das dann nach einer Weile über einen angeschlossene Computer ein Ergebnis ausgibt, legt aber leider den Eindruck nahe, dass der Test absolut objektiv und zudem fehlerfrei abläuft. Und dass er ein mit Sicherheit richtiges und relevantes Ergebnis produziert. Daher gilt: **Wenn eine solche komplexe Methode zwecks (veterinär)medizinischer Diagnostik angewandt wird, sollte dies durch gut ausgebildete Untersucher - z.B. Laborärzte bzw. Labortierärzte - geschehen.**

Derzeit sehen wir jedoch zur Einführung des real time-PCR-Systems PathoProof® zwecks Routine-Mastitis-Diagnostik in unserem Labor weder einen medizinischen noch einen wirtschaftlichen Grund. Wir beobachten die methodische Entwicklung selbstverständlich und werden sinnvolle neue Techniken sicherlich zum Nutzen unserer Kunden zu nutzen wissen. (Stets orientiert an der jeweiligen tierärztlichen Fragestellung.) Und wir werden den Nutzen von Verfahren auch neu bewerten, falls sich die mit der Nutzung der jeweiligen Methodik verbundenen Kosten deutlich ändern.

Unser Urteil, dass das teure PathoProof®-System für das Aufspüren von Infektionen mit Mastitis-Erregern derzeit von fraglichem diagnostischem Wert ist, teilen wir mit anderen auf dem Gebiet der Mastitis-Bekämpfung besonders versierten tierärztlichen Kollegen. Auch mit Kollegen aus anderen Staaten. Unser Eindruck ist, dass die Firma Finnzymes Diagnostics ihr Produkt nicht in von ihr gewünschtem Umfang an tierärztliche Labordiagnostiker verkaufen kann und daher gezielt nach anderen Kunden sucht. Und dass Finnzymes Diagnostics nicht-tierärztliche Kunden mit dem Argument, es werde unfehlbare und zudem auch von Nichtfachleuten einfachst anzuwendende molekularbiologische Methodik angeboten, zum Kauf des Systems bewegt.

Aus gegebenem Anlass möchten wir hier nochmals betonen: **Wir legen hohen Wert darauf, unseren Kunden/-innen neben sinnvoller mikrobiologischer Diagnostik auch eine fachlich fundierte Interpretation der Untersuchungsergebnisse zu bieten.** Und beste tierärztliche Beratung hinsichtlich der Umsetzung von Untersuchungsergebnissen in sinnvolles Handeln im Dienste der Eutergesundheit. Wenn Sie Fragen an uns haben, sollten Sie uns jeweils einfach anrufen!

Ihr tierärztliches Team der MBFG

Dr. R. Tschischkale Dr. Th. Peters Dr. J. Ramm

11.03.2010