




ПРИМЕНЕНИЕ МЕТАГЕНОМНОГО
ПОДХОДА ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ
ПАТОГЕНОВ СВИНЕЙ

Красников Н.Ю.



*Аспирант, м.н.с.
Лаборатория биохимии и молекулярной биологии
ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН*



Метагеномный подход

Сбор генетического материала



Диагностическое исследование
(молекулярное + биоинформатическое)

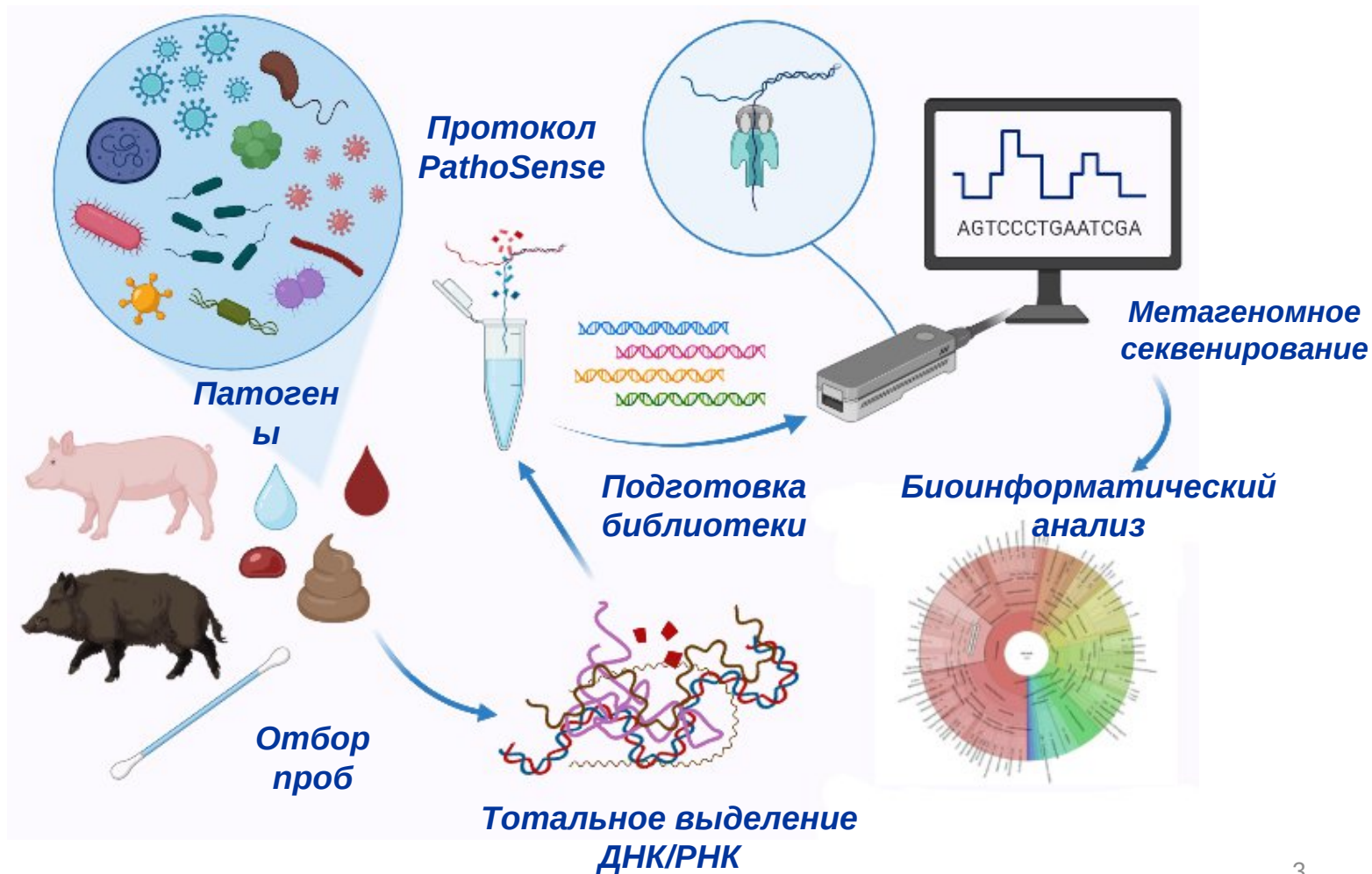


Установление
диагноза



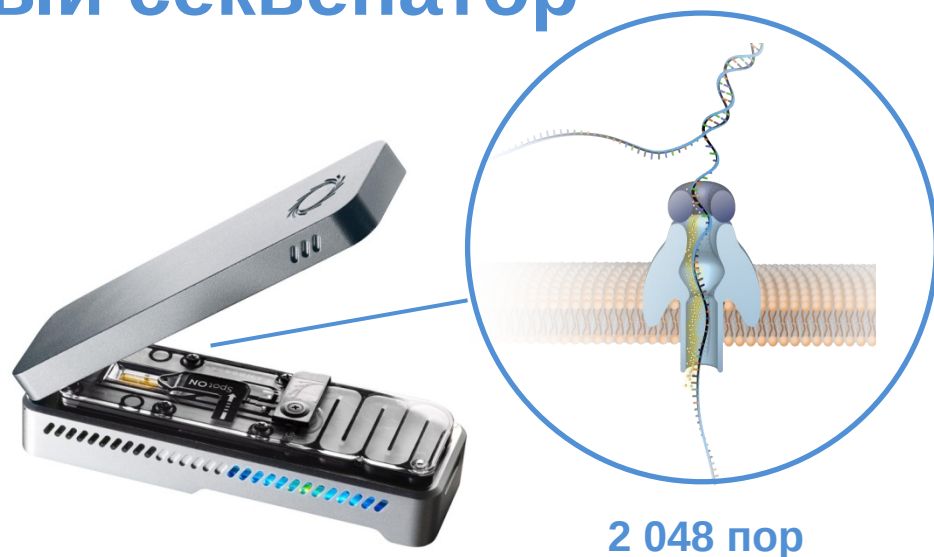


Общая схема метагеномного подхода в диагностике патогенов

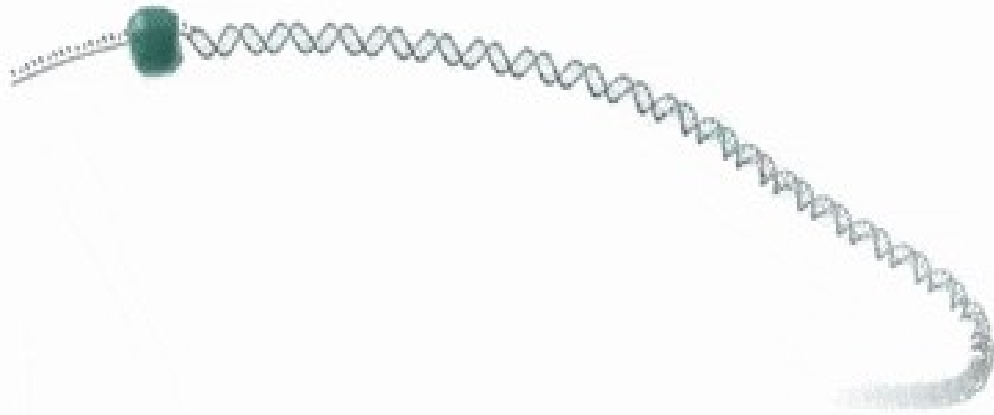




MinION (Oxford Nanopore) Нанопоровый секвенатор

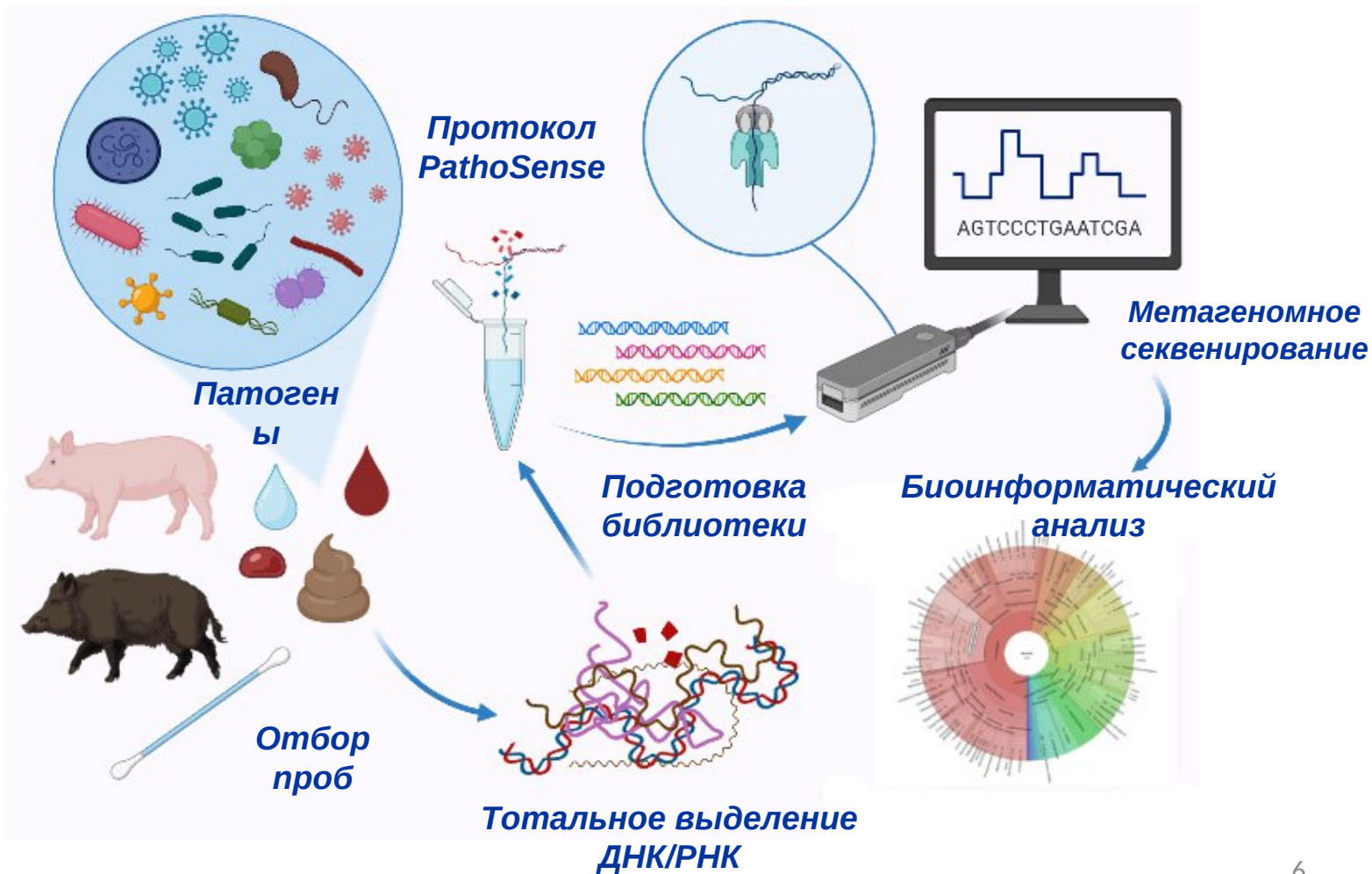


- ✓ Мобильный секвенатор (87 г.)
- ✓ Режим реального времени
- ✓ Возможность получения длинных прочтений (max = 2 млн. п.о.)
- ✓ Чтение РНК + ген. модификации
- ✓ Цена прибора
- ⊖ Низкая точность прочтений (нюансы связанные с бактериальными геномами)
- ⊖ Маленький срок службы ячейки (поры живые)





Общая схема метагеномного подхода в диагностике патогенов





Свинокомплекс №1 (Респираторные проблемы)

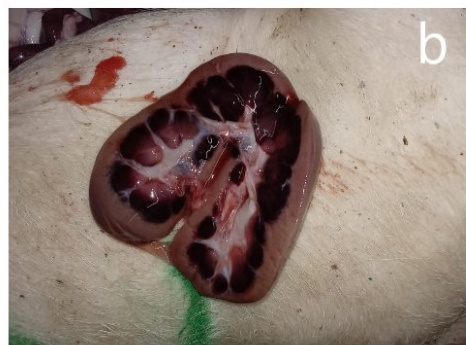
Проблемный возраст: 40-60 дней

Смертность на доращивании \approx 23.8%

+ 1.5% больных с нарушениями ЦНС

Отбор проб: 4 пулированных образца

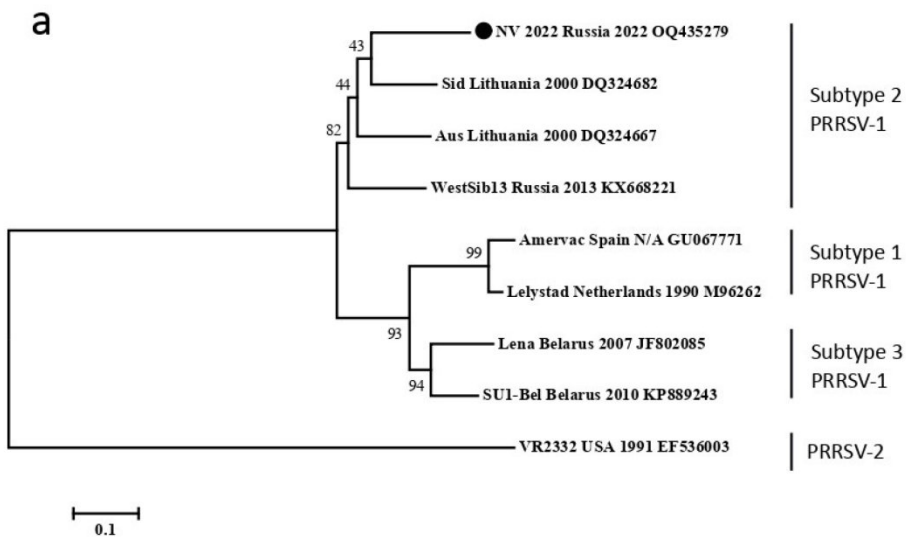
1. мазки с органов от павших животных,
2. трахеобронхиальные смывы (TBS) от вынужденно убитых животных,
3. назальные мазки от живых животных,
4. мазки с органов от вынужденно убитых животных с патологией нервной системы



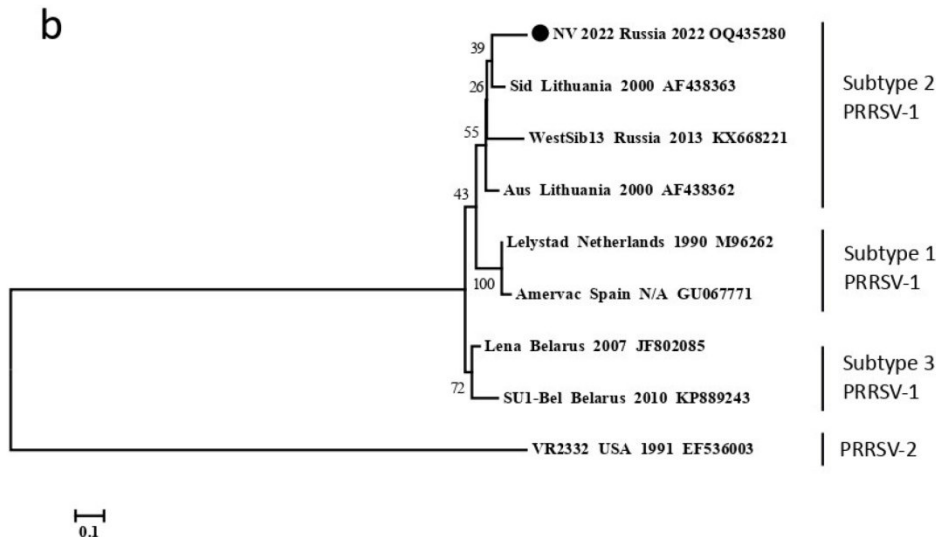


- Геном вируса РРСС во всех образцах
- 2 подтип Европейского РРСС (РРСС-1)
- Больше в ТБС и от животных с нарушениями ЦНС

- Вирус КЧС (вакцинный штамм)



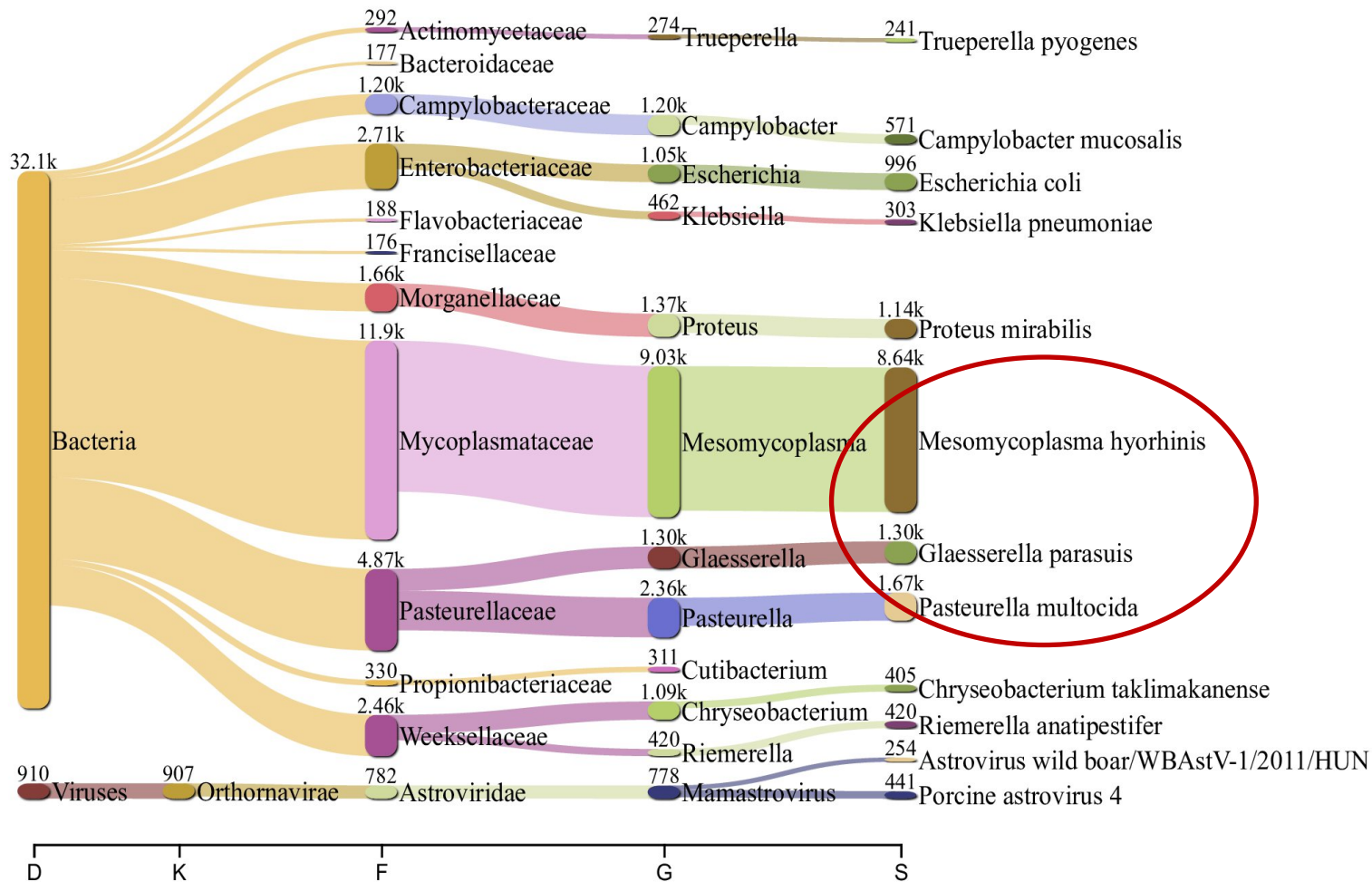
ORF5



ORF7



Наиболее превалирующие виды бактерий и вирусов в назальных мазках от живых животных (Свинокомплекс №1)





Case Report

Metagenomic Approach Reveals the Second Subtype of PRRSV-1 in a Pathogen Spectrum during a Clinical Outbreak with High Mortality in Western Siberia, Russia

Nikita Krasnikov * , Anton Yuzhakov , Taras Aliper and Alexey Gulyukin

Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Center VIEV", 109428 Moscow, Russia

* Correspondence: nick.krasnickoff2011@yandex.ru



Свинокомплекс №2 (Комплексные проблемы)

Клиническая картина:

**Подозрение на рожу (бородавчатый
эндокардит + крапивница)**

Отбор проб: 4 пулированных образца

1. кровь от живых животных
2. мазок с селезенки от павших животных,
3. мазок с сердца от павших животных,
4. мазок с сустава от павших животных

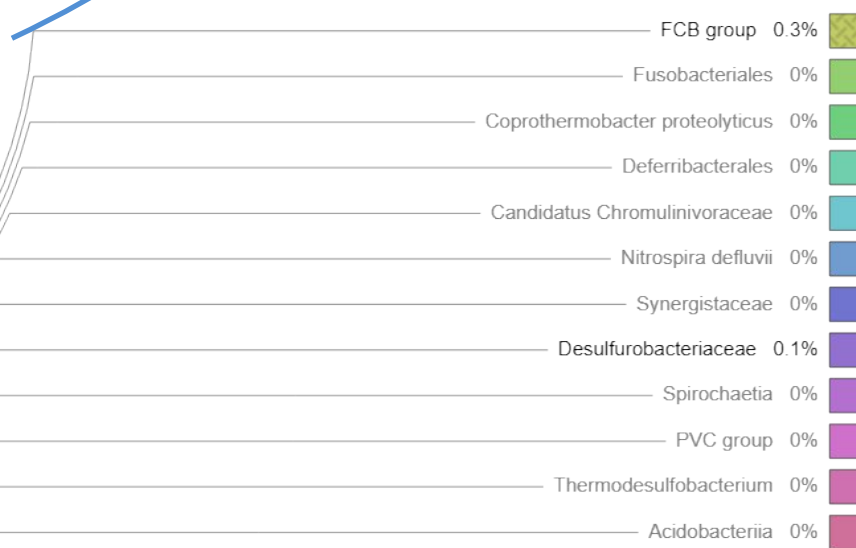
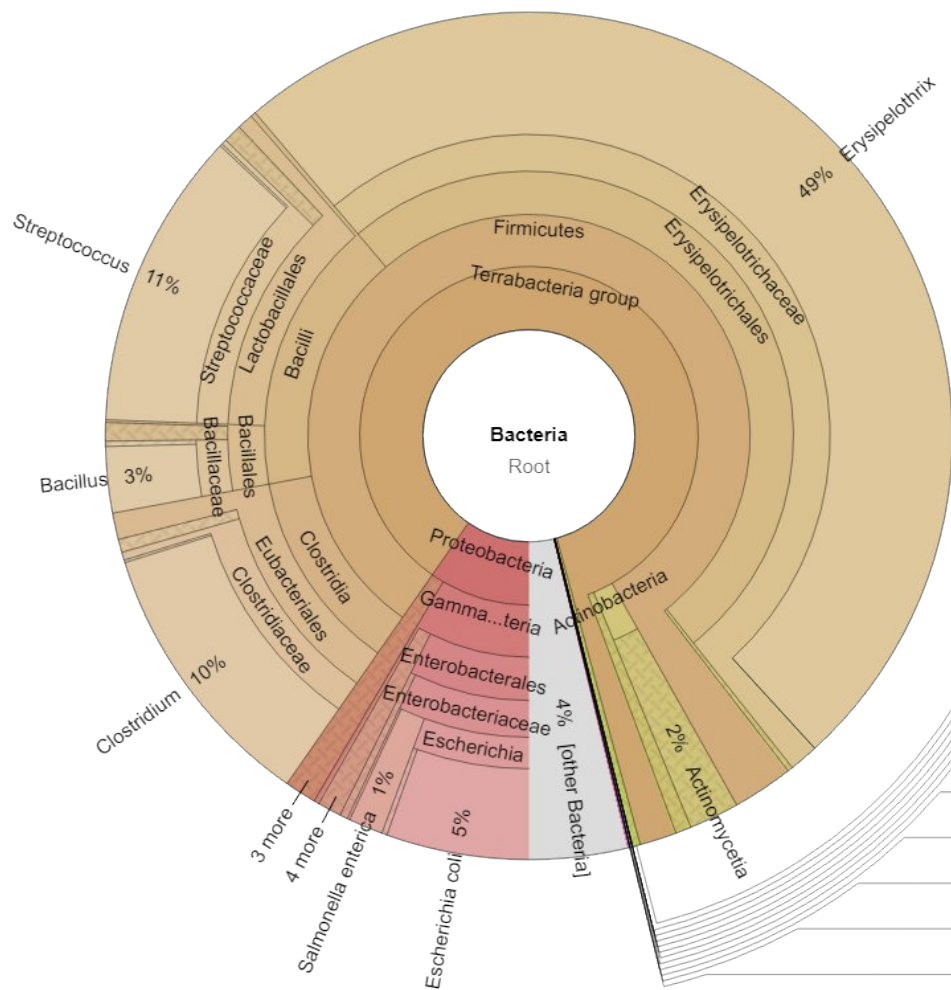


Рис. Кожная форма рожи свиней (MSD. Merck & Co., Inc., Rahway, NJ, USA)



Результат биоинформатического анализа мазка с сердечных тканей от павших животных,

E. rhusiopathiae 13% of Root





Свинокомплекс №3 (Кишечные проблемы)

**Клиническая картина: отставание в росте у молодняка +
кишечная патология (у павших)**

Отбор проб: 4 образца

2 пула кишечных мазков от живых животных с разных репродукторов

2 пула мазков со стенок кишечника от павших животных с разных репродукторов

Результаты:

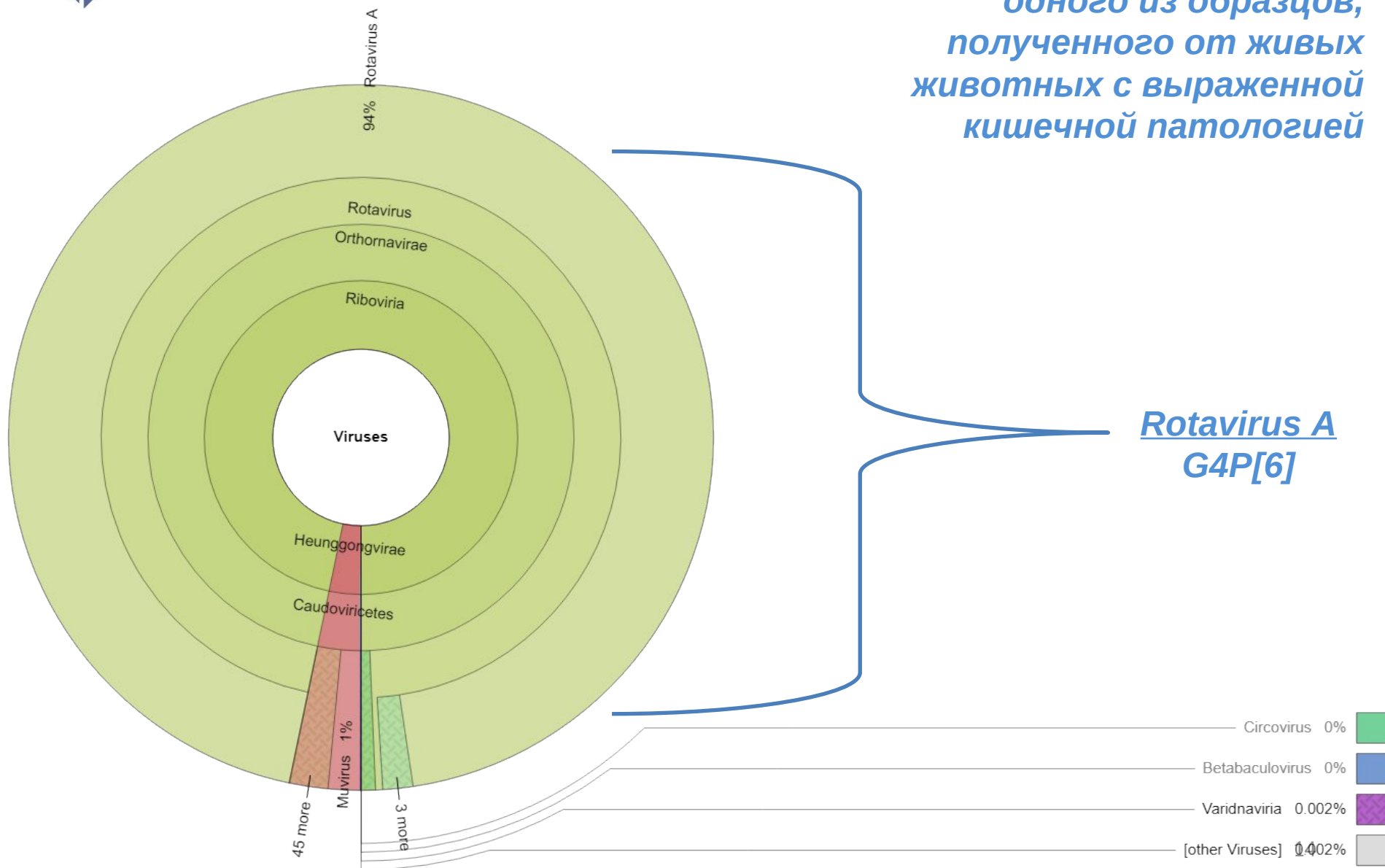
2 разных подтипа Ротавируса А на одном свинокомплексе

- G4P[6]
- G5P[13]

Нанопоровое метагеномное секвенирование позволяет типировать вирус!



Результаты
биоинформатического анализа
одного из образцов,
полученного от живых
животных с выраженной
кишечной патологией





Заключение

- Новый инструмент в экспресс диагностике инфекционных патогенов
- Обнаружение геномов всех вирусов и бактерий в образце
- Не только установление наличия патогена, но:
 1. Идентификация патогена до вида, подвида, субтипа
 2. Установление природы патогена (вакцинный штамм)
 3. Получение полного генома патогена (при большом количестве ген. материала)
- Антибиотекорезистентность

Сложности:

1. Трудности в обучении персонала (молекулярная + биоинформатическая части)
2. Сложность транспортировки образцов из дальних регионов в лаборатории (+4°C)
3. Отбор проб; важно не упустить момент ! (при яркой клин. картине)
4. Стоимость услуги ? (Полученный результат может окупить затраты)





Благодарности/Acknowledgements

ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН:

- Южаков А.Г.
- Алипер Т.И.
- Гулюкин А.М.

PathoSense BV & Veterinary Faculty of Ghent University :

- Prof. *Hans Nauwynck*
- *Dr. Nick Vereecke*
- *Dr. Sebastiaan Theuns*
- *Friso Griffioen*



А также ветеринарным специалистам и сотрудникам свинокомплексов за помощь в сборе образцов для исследований.

Финансирование: грант Минобрнауки «Использование передовых технологий для скрининга патогенов, окружающей среды и свиней для повышения качества санитарно-эпидемиологического контроля в стадах свиней». Соглашение № 075-15-2021-948 от 04.10.2021г, части международного европейского проекта Горизонт 2020 Era-Net ICRAD «Международная координация исследований в области инфекционных заболеваний животных»

nick.krasnickoff2011@yandex.ru
[+79670604331](tel:+79670604331)

