

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ СВИНЕЙ

Сальников Николай,
к.б.н., ООО «НекстБио»
n.salnikov@nextbio.ru

Москва - 2021

ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ СВИНЕЙ И КАБАНОВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2020 Г.*

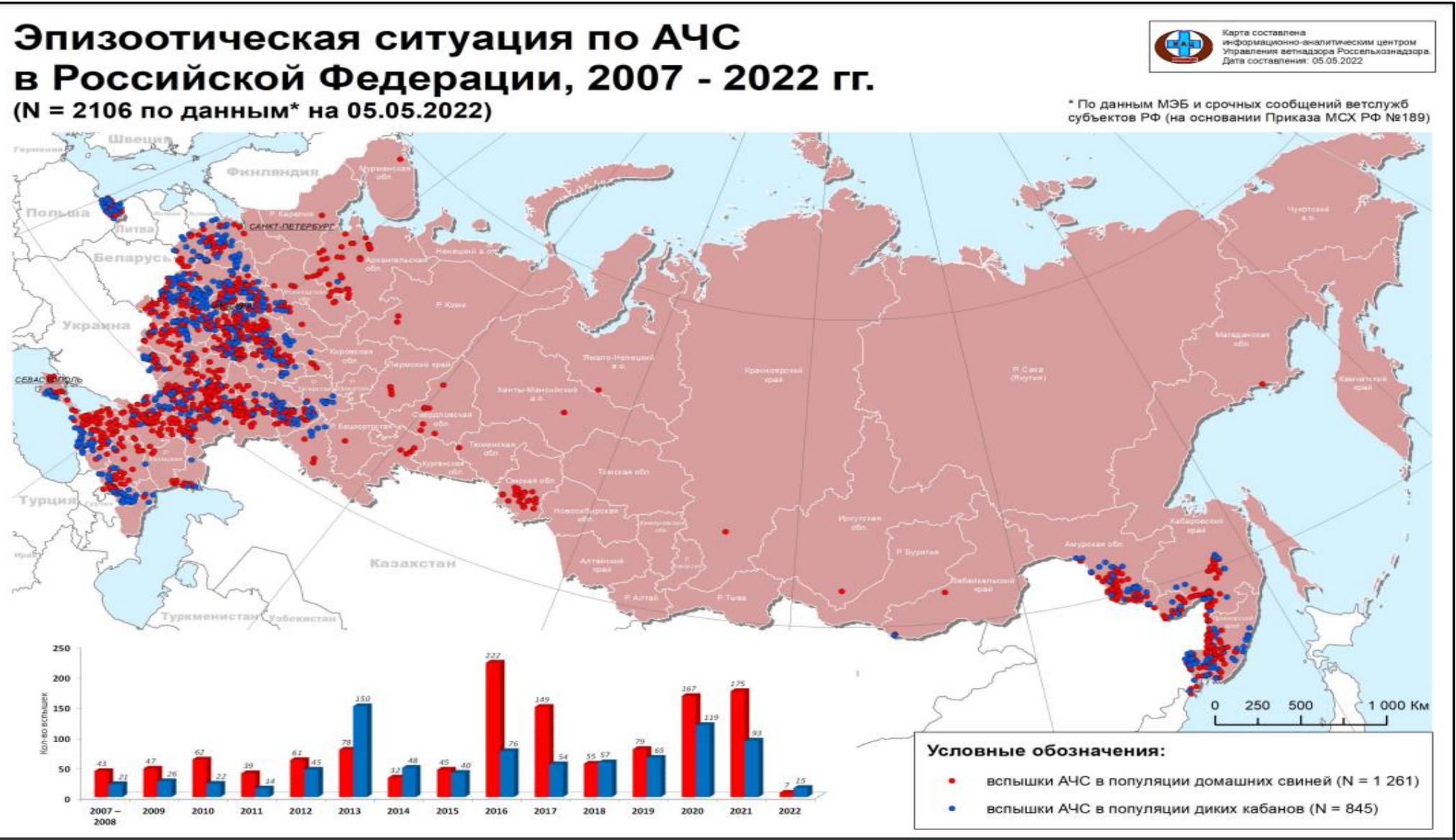


*ИАЦ Россельхознадзора

https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/rf/2020/iac2020_all.pdf

ЭПИЗООТИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО АЧС В Российской Федерации 2007 - 2022*

(ИАЦ Россельхознадзора)



*По данным нотификации в МЭБ

ДИАГНОСТИКА АЧС

Диагноз устанавливают комплексно с учетом эпизоотологических данных, клинических, патологоанатомических изменений и лабораторных исследований

МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ АЧС

ПРЯМЫЕ

обнаружение вируса,
вирусного антигена или
генома вируса

- Биопроба на животных;
- Выделение вируса в культурах клеток;
- Реакция гемадсорбции (РГАд);
- Реакция задержки гемадсорбции (РЗГАд);
- Реакция прямой иммунофлуоресценции (РПИФ);
- Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

НЕПРЯМЫЕ

обнаружение антител к вирусу

- Реакция непрямой иммунофлуоресценции (РНПИФ);
- Твердофазный иммуноферментный анализ (ТФ ИФА);
- Иммуноблотинг

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА АЧС

Классическая чума свиней (КЧС)

Синдром дерматита и нефропатии поросят (СДНП)

Болезнь Ауески

Отравление



Репродуктивно-респираторный синдром свиней (РРСС)

Рожа свиней

Сальмонеллез

Пастереллез



АмплиПрайм® АЧС

Набор реагентов для выявления ДНК вируса африканской чумы свиней методом полимеразной цепной реакции в режиме «реального времени»



АмплиПрайм® КЧС

Набор реагентов для выявления РНК вируса классической чумы свиней методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в режиме «реального времени»



АмплиПрайм® РРСС

Набор реагентов для выявления РНК вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в режиме «реального времени»



АмплиПрайм® ЦВС-2/ЦВС-3

Набор реагентов для выявления и количественного определения ДНК цирковирусов свиней 2 и 3 типов методом полимеразной цепной реакции в режиме «реального времени»

ОСОБЕННОСТИ НАБОРОВ «АмплиПрайм» ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ

- ✓ Удобная комплектация набора
- ✓ Единый контроль выделения НК (ВКО)
- ✓ Единая программа амплификации

Чувствительность

- $1 \cdot 10^3$ копий/мл

Амплификаторы

- Rotor-Gene 3000/6000/Q
- CFX96
- QuantStudio 5
- ДТ-96/Прайм

Наборы для выделения ДНК/РНК

- «МагноПрайм ВЕТ»
- «АмплиПрайм® РИБО-преп ВЕТ»



Позволяют с высокой эффективностью выделять ДНК/РНК из широкого спектра биоматериала



Содержат внутренний контрольный образец **ВКО В** для оценки качества выделения ДНК и РНК

- ✓ Набор «МагноПрайм® ВЕТ» совместим с автоматическими станциями для выделения нуклеиновых кислот

МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

ОБЩИЙ ДЛЯ ВСЕХ НАБОРОВ:

- цельная кровь, плазма, сыворотка крови;
- аутопсийный материал (лимфоузлы, селезенка, легкие, печень, миндалины);
- инфицированные культуры клеток

АмплиПрайм® АЧС

Мазки со слизистой носоглотки и миндалин; **костный мозг**; **продукты свиноводства** (мясо, шкуры и т.п.), мясные изделия (полуфабрикаты, фарш, сосиски, колбасы и т.п.); **объекты ветеринарного надзора** (смывы с поверхностей стен и конструкций животноводческих помещений, комбикорм, подстилка)

АмплиПрайм® КЧС

мазки со слизистой носоглотки и миндалин; **костный мозг**; фекалии; **продукты свиноводства** (мясо, шкуры и т.п.), мясные изделия (полуфабрикаты, фарш, сосиски, колбасы и т.п.); **объекты ветеринарного надзора** (смывы с поверхностей стен и конструкций животноводческих помещений, комбикорм, подстилка)

АмплиПрайм® РРСС

мазки со слизистой носоглотки и миндалин; сперма от больных и инфицированных животных; экссудат из грудной полости, пробы паренхиматозных органов от мертворожденных или абортировавших плодов, плацента и плодовые оболочки; **продукты свиноводства** (мясо, шкуры и т.п.), мясные изделия (полуфабрикаты, фарш, сосиски, колбасы и т.п.); **объекты ветеринарного надзора** (смывы с поверхностей стен и конструкций животноводческих помещений, комбикорм, подстилка)

АмплиПрайм® ЦВС-2/ЦВС-3

Мазки со слизистой ротовой и носовой полостей, фекалии; сперма от больных и инфицированных животных; почки, кишечник, пробы паренхиматозных органов от мертворожденных или абортировавших плодов, плацента;

ВАЛИДАЦИЯ НАБОРА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ДНК ВИРУСА АЧС

В ФГБУ "Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория"

Критерии, по которым проходила валидация набора «АмплиПрайм®АЧС»:

➤ **Специфичность**

исследовали образцы, не содержащие геном вируса АЧС;

➤ **Повторяемость**

исследовали 4 пробы заведомо положительного патологического материала (пробы селезенки от естественно инфицированных свиней) 1 исследователем в 3 повторах на амплификаторе «Rotor-Gene Q» в течении 1 дня;

➤ **Воспроизводимость (внутрилабораторная);**

исследовали 4 пробы заведомо положительного (содержащего геном вируса АЧС) патологического материала (пробы селезенки от инфицированных свиней) в 3-х повторах 2-мя операторами в разные дни на разном оборудовании («Rotor-Gene Q» и «CFX96»)

СПЕЦИФИЧНОСТЬ НАБОРА «АмплиПрайм® АЧС»

Тестируемые образцы в рамках валидации в ФГБУ ЦНМВЛ:

- Вирус КЧС (проба селезенки);
- Парвовирус свиней (антиген);
- Вирус болезни Ауески (культуральный материал)

+ Отдельно тестировались:

- Биоматериал от клинически здоровых свиней;
- Вирус РРСС;
- ЦВС-2 и ЦВС-3;
- Вирус трансмиссивного гастроэнтерита свиней;
- Вирус эпидемической диареи свиней
- *Chlamydia suis*
- *Brucella suis*
- *Salmonella Choleraesuis*
- *Pasterella multocida*
- *Mycoplasma hyopneumonia*
- *Listeria monocytogenes*

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОБ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ

№№ п/п	Наименование образца	Значение Ct по каналу FAM/Green	Значение Ct по каналу JOE/Yellow	Результат исследования
1	Мясные блоки из свинины)	34,28	28,09	положительно
		37,24	27,78	положительно
2	Жир - сырец	38,50	28,88	положительно
		38,43	28,40	положительно
3	Сервелат «Зернистый»	36,98	28,07	положительно
		41,11	28,20	положительно
4	П/ф мясной крупнокусковой бескостный из свинины	24,16	27,84	положительно
		23,65	27,54	положительно
5	Мясные блоки из свинины жилованной	39,26	28,27	положительно
		39,17	29,24	положительно
6	Колбаса «Чесночная»	32,87	28,54	положительно
		32,11	28,21	положительно
7	Шпик свиной	30,17	28,20	положительно
		30,30	27,83	положительно
8	Колбасное изделие	38,30	28,43	положительно
		38,64	28,58	положительно
9	Шпик свиной, жир-сырец	22,08	27,44	положительно
		22,00	27,19	положительно

ВЫВОДЫ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ АПРОБАЦИИ НАБОРА «АмплиПрайм® АЧС»

Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору
(Россельхознадзор)
Федеральное государственное бюджетное учреждение
"Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория"
(ФГБУ ЦНМВЛ)



МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ
ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ДНК
ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ МЕТОДОМ
ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ В РЕЖИМЕ
«РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ» «АмплиПрайм® АЧС»

Разработчики:

[Девришова З.С.](#), заведующая отделом молекулярных исследований;

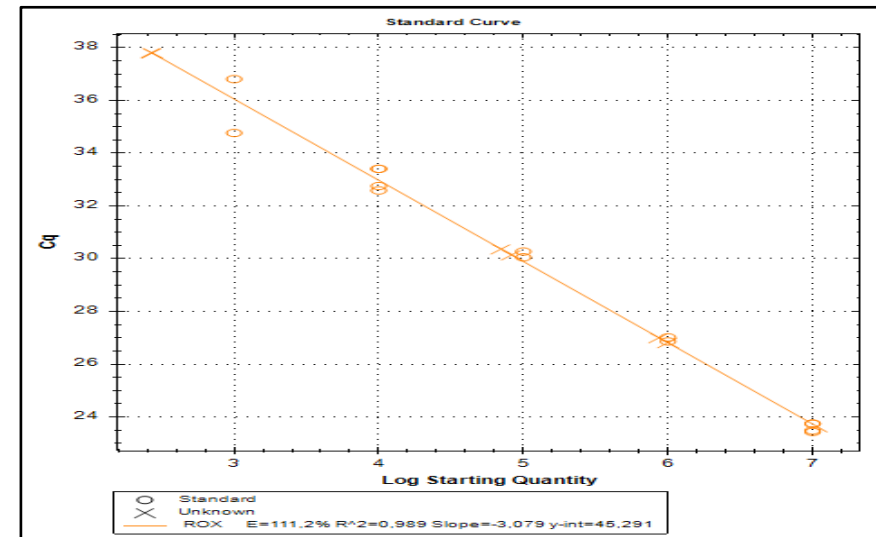
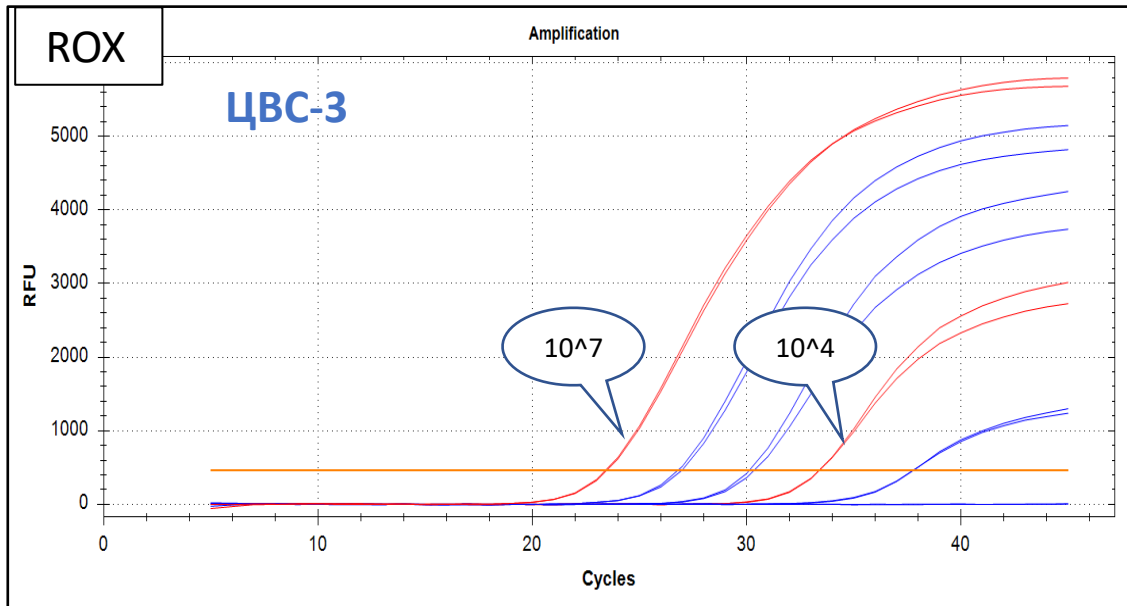
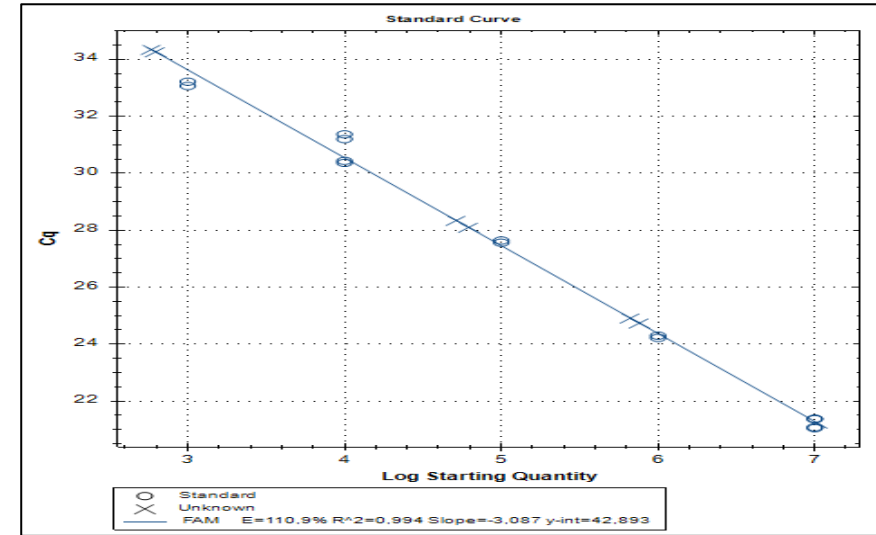
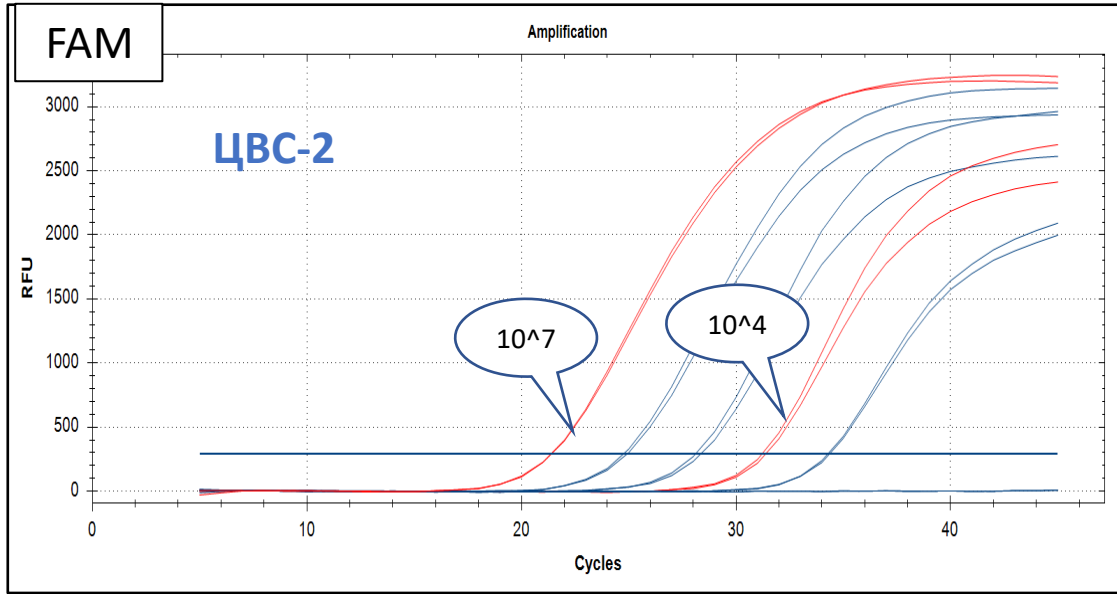
[Преображенская А.С.](#), научный сотрудник отдела молекулярных исследований;

[Варенцова А.А.](#), начальник отдела координации научно-исследовательских работ, кандидат биологических наук.

Москва, 2021

- Получены высокие результаты повторяемости и внутрилабораторной воспроизводимости результатов исследования:
 - коэффициент вариации (CV) в условиях повторяемости составил 1,2-1,7%;
 - коэффициент вариации (CV) в условиях внутрилабораторной воспроизводимости составил 3,6-6,6%;
- Отсутствие ложноположительных результатов при исследовании образцов, содержащих геномы других вирусов, а также образцов биоматериала от клинически здоровых животных;
- Были получены положительные результаты при исследовании проб пищевой продукции, содержащих геном вируса АЧС;
- Набор реагентов «АмплиПрайм® АЧС» (ООО «НекстБио») может быть рекомендован для использования в лабораторной практике в научно-исследовательских учреждениях и диагностических ветеринарных лабораториях для выявления генома вируса АЧС в биологическом материале и пробах пищевой продукции;
- Разработаны «Методические рекомендации по применению набора реагентов для выявления ДНК вируса АЧС методом полимеразной цепной реакции в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® АЧС»;

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАБОРА «АмплиПрайм® ЦВС-2/ЦВС-3»





АмплиПрайм® *Chlamydia* spp.

Набор реагентов для выявления ДНК микроорганизмов семейства *Chlamydiaceae* в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции в режиме «реального времени»



АмплиПрайм® Грипп А

Набор реагентов для выявления РНК вируса гриппа А методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в режиме «реального времени»



АмплиПрайм® Бруцеллез

Набор реагентов для выявления ДНК микроорганизмов рода *Brucella* методом полимеразной цепной реакции в режиме «реального времени»



АмплиПрайм® АмплиПрайм® Грипп А/Н1 pdm

Набор реагентов для выявления РНК вируса гриппа А и пандемичного подтипа Н1 (Н1 pdm) методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в режиме «реального времени»

БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ!!!