Institut für Virusdiagnostik, Friedrich-Loeffler-Institut

Milch als Matrix für den Nachweis von MKSV, BVDV und Rifttalfieber-Virus mittels Multiplex Real-Time RT-PCR

M. Eschbaumer, K. Wernike

1. EINLEITUNG

Viele Viren werden von infizierten Rindern auch über die Milch ausgeschieden, wovon eine große Gefahr der Ansteckung anderer Tiere (z.B. bei Maul- und Klauenseuche und boviner Virusdiarrhoe) oder sogar des Menschen (bei Rifttalfieber) ausgehen kann. Gleichzeitig ergibt sich aber so auch die Möglichkeit der frühzeitigen Erkennung einer Einschleppung dieser Viren in einen Betrieb, wenn Tankmilchproben mit hochsensitiven Methoden wie real-time RT-PCR untersucht werden.

2. MATERIAL UND METHODEN

Ein etabliertes Multiplex real-time RT-PCR-Verfahren (Wernike et al., 2015, J Virol Methods 217:28-35) wurde für die gleichzeitige Erkennung und Unterscheidung von MKSV, BVDV und Rifttalfieber-Virus (RVFV) adaptiert. Mit den Viren versetzte Milch wurde zum Vergleich verschiedener RNA-Extraktionsverfahren herangezogen. Der Einfluss des Multiplex-Formats sowie der gleichzeitigen Amplifikation mehrerer Produkte auf die Spezifität und Sensitivität der einzelnen PCRs wurde ebenfalls eingehend untersucht.

3. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Beste Ergebnisse bei der RNA-Extraktion aus Milch wurden durch eine Kombination von TRIzol LS Reagent und RNeasy-Kieselgelsäulen erzielt. Es wurden keine Kreuzreaktionen zwischen den einzelnen PCRs und nur geringfügig reduzierte Sensitivität bei gleichzeitiger Amplifkation mehrerer Produkte festgestellt. Die Multiplex real-time RT-PCR erscheint geeignet, um mit hoher Sensitivität MKSV, BVDV und RVFV in Einzel- und Sammelmilchproben zu detektieren. Für die weitere Validierung wird zurzeit ein umfangreiches Panel von Milchen aus Kenia untersucht.

KORRESPONDENZADRESSE
Michael Eschbaumer
Institut für Virusdiagnostik
Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Südufer 10
17493 Greifswald
E-Mail: michael.eschbaumer@fli.de