

УДК 619:578.82/83:636.4(476)

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВЫЯВЛЕНИЯ ЦИРКУВИРУСА СВИНЕЙ 2 ТИПА МЕТОДОМ ПЦР

Би Кайсюань, УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Научный руководитель: **Красочко П.П.**

Цирковиральная инфекция свиней наносит значительный ущерб свиноводству ввиду отставания в росте и повышенном отходе молодняка, а также нарушение репродуктивной функции свиноматок, рождении слабого потомства [2, 3]. Наиболее эффективным способом диагностики является полимеразная цепная реакция в режиме «реального времени» (ПЦР-РВ), которая позволяет быстро и достоверно подтвердить наличие генома цирковируса свиней 2 типа (ЦВС-2) в патологическом материале [1, 4].

Нами были подобраны праймеры и олигонуклеотидный зонд к высококонсервативному участку генома ЦВС-2 ORF2, которые требуют оценки их возможности выявлять геном данного вируса.

Целью настоящей работы является оценка способности выявления генома ЦВС-2 разработанными олигонуклеотидами.

Материалы и методы. Работа выполнялась в отраслевой лаборатории ветеринарной биотехнологии и заразных болезней животных УО ВГАВМ.

Выделение ДНК проводили с использованием коммерческих наборов: ДНК-сорб (Амплисенс, РФ), АртДНК, АртМагнит-Вет (Артбиотех, РБ).

Постановку ПЦР-РВ в амплификаторе Rotor-Gene 3000 с использованием премикса ArtMix (Артбиотех, РБ) по следующей программе: 95°C – 2 мин.; 40 циклов 95°C – 30 сек., 63°C – 30 сек., 67°C – 30 сек. Последовательности подобранных олигонуклеотидов:

CVS2F1F2 – GGAACCTGTGCCTTTTTTGGC

CVS2R1R2 – AGCTTCTACAGCTGGGACAG

CVS2PF2 – [JOE]-TACCAGCAATCAGACCCCG-[BHQ1]

Состав реакционной смеси: 12,5 мкл ArtMix, по 10 пмоль праймеров и зонда, выделенная ДНК 5 мкл, деионизированная вода до 25 мкл.

В качестве испытуемого материала использовали 2 штамма ЦВС-2 (РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»), инактивированный культуральный вирус (ООО «Ветбиохим»), ДНК из патологического материала от поросят и свиноматок.

Результаты исследований. Для оценки работоспособности разработанных пары праймеров и зонда для выявления генома ЦВС-2 сформировали панель из положительных и отрицательных образцов. В качестве положительных образцов выступали штаммы ЦВС-2, положительные пробы ДНК из патологического материала от свиней и поросят из различных свиноводческих хозяйств Республики Беларусь. В качестве отрицательных образцов использовали штамм вируса РРСС, парвовируса свиней (РУП «Институт экспериментальной ветеринарии

им. С.Н. Вышелесского)), отрицательные пробы ДНК из патологического материала от свиней и поросят из различных свиноводческих хозяйств Республики Беларусь.

Положительные и отрицательные пробы ДНК из патматериала предварительно были исследованы с помощью коммерческих тест-систем для выявления генома ЦВС-2 (ООО «Ветбиохим», «Амплисенс», РФ, «Артбиотех», РБ) и хранились при температуре минус 80°C до проведения эксперимента.

Результаты выявления генома ЦВС-2 представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты выявления генома ЦВС-2 в контрольной панели

Источник ДНК	Количество проб	Количество положительных проб		Количество отрицательных проб	
		Коммерч. тест-системы	Собственные олигонукл.	Коммерч. тест-системы	Собственные олигонукл.
Штаммы ЦВС-2	3	3	3	0	0
Штамм РРСС	1	0	0	1	1
Штамм парвовируса свиней	1	0	0	1	1
Пат.материал от поросят и свиноматок хозяйство №1	10	7	7	3	3
Пат.материал от поросят хозяйство №2	5	5	5	0	0
Пат.материал от поросят хозяйство №3	10	0	0	10	10
Сыворотка крови от свиноматок хозяйство №3	10	2	2	8	8

Как видно из таблицы 1, разработанные праймеры и зонд позволяют получать сходный результат, как по положительным, так и по отрицательным образцам ДНК в сравнении с коммерческими тест-системами.

Таким образом, разработанные олигонуклеотиды для выявления генома ЦВС-2 обладают высокой чувствительностью и специфичностью и могут использоваться для диагностики цирковиральной инфекции свиней.

Список используемой литературы: 1.) Коваллилин, В.Ф. Диагностика инфекционных болезней импортируемых в Россию свиней / В.Ф. Коваллилин // Инновационные пути развития свиноводства в России: материалы международной конференции. – Москва, 2009. – С.77-85. 2.) Сатина, Т.А. Цирковиральные инфекции свиней. Обзор литературы. - Владимир: ФГУ ВНИИЗЖ. - 2003. – 101 с. 3.) Porcine circovirus diseases / J. Segalés, G. M. Allan, M. Domingo // *Animal Health Research Reviews* Volume 6, Issue 2 2005, pp. 119-142 4.) Ramos, N.; Porley, D.; Mirazo, S.; Castro, G.; Cabrera, K.; Lozano, A.; Arbiza, J. Molecular study of porcine circovirus type 2 in wild boars and domestic pigs in Uruguay from 2010 to 2014: Predominance of recombinant circulating strains. *Gene* 2017, 637, 230–238.