

Изучение вирусных инфекций ИHN и VHS у рыб методом ПЦР в реальном времени.

Научный руководитель – Айрапетян Вардуи Оганесовна

Жукова Ирина Витальевна

Студент (специалист)

Российско-Армянский (Славянский) университет, Ереван, Армения

E-mail: irina.zhukova.17@mail.ru

VHSV и IHNV - вирусы-возбудители вирусной геморрагической септицемии (VHS) и инфекционного некроза гемопоэтической ткани (IHNV) соответственно. Они принадлежат к одному роду *Novirhabdovirus* семейства ОЦ (-) РНК-содержащих вирусов *Rhabdoviridae*. VHSV и IHNV заражают пресноводных и морских рыб разного возраста из разных отрядов, в том числе лососеобразных (*Salmoniformes*). Заражение происходит при контакте здоровой рыбы с инфицированной рыбой или контаминированной водой. Характерными симптомами являются кровоизлияния в кожные покровы и во внутренние органы, в том числе в мозг, и отказ рыбы от приема пищи [1, 2]. Оба вируса являются высоколетальными, смертность может достигать до 90-95%, однако известно, что вирусы не инфицируют икру. Для предотвращения дальнейшего распространения заболевания необходимо полностью осушить контаминированный водоем и утилизировать всю рыбу.

В Армении Ишхан (*Salmo ischchan aestivalis*) является наиболее распространенной и промыслово значимой рыбой, на её долю приходится порядка 55% улова. Этот эндемический вид, ареал которого охватывает озеро Севан, в настоящее время находится на грани полного исчезновения. Вирусы IHNV и VHSV поражают Ишхан (*Salmo ischchan aestivalis*), что приводит к его массовой гибели не только в искусственных водоемах, но и в озере Севан. Рыбные хозяйства Армении несут большие потери из-за того, что на данный момент не существует быстрых, доступных и высокоточных методов ранней диагностики и методов лечения ИHN и VHS.

Целью данного исследования является разработка метода диагностики VHS и ИHN с помощью ПЦР-РВ.

С помощью инструмента NCBI BLAST был проведен дизайн праймеров для данных вирусов. Для проведения ПЦР-РВ использовались 5 × One Step Mix из набора HiScript III One Step qRT-PCR Probe Kit и РНК, выделенные из селезенки, сердца и почек зараженных и контрольных рыб с помощью наборов «РИБО-преп» и BioFACT Total RNA Prep Kit. После выделения РНК хранились при -80 °С для дальнейшего исследования. С целью получения релевантных результатов использовались положительные контроли, содержащие в себе плазмидный вектор pUC57.

В результате исследования была разработана эффективная методика для детекции вирусной инфекции ИHN у рыб. На данный момент продолжается отработка температурного режима проведения ПЦР-РВ для VHSV.

Источники и литература

- 1) Development and validation of a novel Taqman-based real-time RT-PCR assay suitable for demonstrating freedom from viral haemorrhagic septicaemia virus / Jonstrup S.P., Kahns S., Skall H.F. [et al.] // Journal of fish diseases. – 2013. – Vol. 36. – №1. – P. 9-23
- 2) Universal reverse-transcriptase real-time PCR for infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) / Purcell M.K., Thompson R.L., Garver K.A. [et al.] // Diseases of Aquatic Organisms. – 2013. – Vol. 106. – №2. – P. 103-115