

Идентификация *Anaplasma marginale* методом ПЦР в реальном времени**Научный руководитель – Ковальчук Светлана Николаевна****Архипова Анна Леонидовна***Студент (магистр)*

Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени

К.И.Скрябина, Москва, Россия

E-mail: kamfora3@gmail.com

Anaplasma marginale (род *Anaplasma*, отряд *Rickettsiales*, семейство *Anaplasmataceae*) – эритроцитарный паразит, возбудитель анаплазмоза крупного рогатого скота (КРС). Анаплазмоз КРС протекает с признаками лихорадки, анемии и истощения. Источником возбудителя являются инфицированные животные, переносчиками - клещи и кровососущие насекомые. *A. marginale* широко распространена по всему миру и приводит к значительным экономическим потерям [2].

Своевременная диагностика играет решающую роль в предотвращении распространения инфекционных заболеваний. Нами была разработана тест-система для дифференцированного выявления *A. marginale* в крови КРС на основе ПЦР в реальном времени [1]. В качестве мишени для амплификации был выбран однокопийный ген *msp4*. В результате анализа нуклеотидных последовательностей гена *msp4* разных изолятов *A. marginale* и близкородственных видов анаплазм выявлены характерные для *A. marginale* участки, на основе которых были разработаны видоспецифичные праймеры и зонд для амплификации и детекции фрагмента гена *msp4* длиной 177 пар нуклеотидов методом ПЦР в реальном времени. Чувствительность метода позволяет выявлять от 100 копий гена *msp4* *A. marginale* в анализируемом образце ДНК. Специфичность метода позволяет надежно дифференцировать *A. marginale* от других видов анаплазм (*A. ovis*, *A. bovis*, *A. centrale*, *A. phagocytophilum*, *A. platys*). Разработанный нами метод позволяет проводить оценку бактериальной нагрузки в крови КРС на основе стандартной кривой, полученной с использованием разработанной нами плазмиды *pGEM* с фрагментом гена *msp4* *A. marginale*. В целях апробации разработанного нами метода были исследованы 30 образцов крови КРС. По результатам проведенного исследования 23% животных оказались анаплазмозоносителями, с уровнем паразитемии от $3,01 \times 10^4$ до $5,42 \times 10^5$ анаплазм на мл крови. Разработанный нами метод выявления *A. marginale* на основе ПЦР в реальном времени отличается от существующих аналогов высокой специфичностью, быстротой анализа, а также возможностью количественной оценки бактериальной нагрузки. Метод может быть использован для обнаружения и количественной оценки *A. marginale* в образцах крови инфицированных животных с целью подтверждения диагноза и при проведении эпидемиологического мониторинга анаплазмоза.

Источники и литература

- 1) Косовский Г. Ю., Ковальчук С.Н., Глазко Т.Т. Набор синтетических олигонуклеотидов для детекции гена *msp4* риккетсии *Anaplasma marginale* методом полимеразной цепной реакции в режиме «реального времени»: пат. 2595427 Российская Федерация. 2016. Бюл. № 24. — 11 с.

- 2) Kocan K.M., de la Fuente J., Blouin E.F., Coetzee J.F., Ewing S.A. The natural history of *Anaplasma marginale*//Vet. Parasitol. – 2010 – Vol. 167. – P. 95-107.