Ассоциация Росохотрыболовсоюз Российский государственный аграрный заочный университет Управления регулирования и использования объектов животного мира Министерства сельского хозяйства и продовольствия Московской области Московское общество охотников и рыболовов Московское общество испытателей природы

П МЕЖДУНАРОДНАЯ, VII ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «СОСТОЯНИЕ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ И ФАУНА ОХОТНИЧЬИХ ЖИВОТНЫХ РОССИИ И СОПРЕДЕЛЬНЫХ ТЕРРИТОРИЙ»

Материалы конференции

10-11 марта 2016 г.



БАЛАШИХА 2016

УДК 639.1.06.599.731.1

АПРОБАЦИЯ ЭКСПРЕСС-МЕТОДОВ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ЗАБОЛЕВАНИЙ ОХОТНИЧЬИХ РЕСУРСОВ В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ (АЧС)

А.А. Новиков, Д.В. Исаев, П.М. Павлов, А.В. Дежкин, О.А. Пантелеева

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Контрольный информационно-аналитический центр охотничьих животных и среды их обитания», Москва. E-mail: oxotkontr-pmp@mail.ru

Проанализированы первые результаты использования экспресс-метода выявления вируса африканской чумы свиней (АЧС) иммунохроматографическим методом «АЧС-ИХМ» среди диких кабанов(Sus scrofa) в полевых условиях.

Ключевые слова: кабан, вирус, АЧС-ИХМ, биоматериал, экспрессанализ.

В рамках государственного задания по апробации экспресс-метода выявления вируса АЧС в полевых условиях получены первые результаты использования наборов «АЧС-ИХМ» непосредственно при добыче кабанов во время проведения охоты или при проведении мероприятий по регулированию численности охотничьих ресурсов в пяти субъектах Российской Федерации Центрального федерального округа: Курской, Белгородской, Орловской, Брянской областей и на территории охотничьих угодий ФГБУ «ГООХ «Мещера» Рязанской области.

Набор разработан научно-исследовательским институтом диагностики и профилактики болезней человека и животных (АНО «НИИ ДПБ») и предназначен для экспресс-выявления вируса АЧС в крови, сыворотке крови и органах больных и павших от АЧС животных. Применение набора «АЧС-ИХМ» в охотничьих угодьях с использованием цельной крови кабанов при его добыче или живоотлове, изучено недостаточно. В связи с чем, работы по апробации наборов в полевых условиях в настоящее время проводятся в субъектах РФ, где были зарегистрированы случаи вспышек АЧС среди кабанов.

Принцип метода.

Метод основан на принципе иммунохроматографии. В окне «S» (рис. 1, 2) диагностического устройства (иммунострипа)

адсорбированы специфические мышиные моноклональные антитела к белку VP 73 вируса АЧС, конъюгированные с коллоидным золотом.

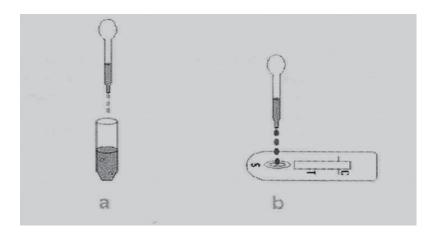


Рис. 1.

В окне для оценки результатов адсорбированы антитела к белку VP 73 вируса АЧС (зона «Т», тестовая зона) и антитела к IgG мыши (зона «С», контрольная зона). После внесения исследуемой пробы в окно «S» (при наличии в пробе антигена вируса АЧС), антиген связывается с конъюгированными антителами, образовавшийся комплекс антиген-антитело мигрирует по капиллярам хроматографической мембраны и фиксируется в зоне «Т» с появлением горизонтальной окрашенной полосы. Не связавшийся с антителами в зоне «Т» конъюгат мигрирует дальше по мембране и взаимодействует с антимышиными антителами в зоне «С», также образуя окрашенную полосу. При отсутствии в исследуемой пробе антигена вируса АЧС, конъюгат, мигрируя по мембране, не взаимодействует с антителами к вирусу АЧС в зоне «Т» и захватывается антимышиными антителами только в зоне «С», образуя окрашенную полоску. Таким образом, при наличии в пробе антигена вируса АЧС в окне для оценки результатов проявляются две полосы. В отрицательной пробе полоса появляется только в зоне «С» (рис. 2).

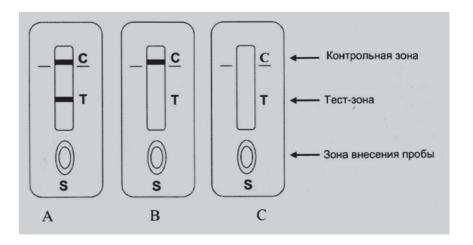


Рис. 2.

Весьма актуален вопрос о выявлении заболевания АЧС у кабанов на ранних стадиях, когда клинические признаки еще не проявились, для оперативного принятия неотложных мер по предупреждению распространения и профилактике заболевания животных в случае подтверждения заболевания.

Следует отметить, что методика применения набора рассчитана для использования в теплых погодных условиях, а хранение и транспортировка производится в защищенном от солнца месте при температуре от +2 до $+8^{\circ}$ С, в связи с чем, при проведении работ специалистами ФГБУ «Центрохотконтроль» ставилась задача по апробации использования и применения набора в полевых условиях в течение круглого года в различных климатических зонах Российской Федерации и при разных погодных условиях.

В качестве биологического материала при проведении экспресс-анализа берется цельная кровь, как у живых, так и у добытых кабанов. Так как, при использовании внутренних органов для проведения экспресс-анализа (селезенка, печень), необходимо готовить 10% суспензию на забуференном физрастворе и проводить центрифугирование в течение 1 мин при 3000g, что в полевых условиях сделать не представляется возможным.

Для проведения анализа в полевых условиях готовится три образца биоматериала: N 1 - тестируется на месте добычи кабана, N 2 - цельная кровь в пробирке или селезенка отправляется для исследования в межобластную ветеринарную лабораторию в целях

контрольной проверки и № 3 – консервируется для хранения в хозяйстве, при необходимости, для проведения контрольного анализа

Забор крови из вены кабана для экспресс-анализа от живых животных, проводились совместно с сотрудниками ГНУ ВНИИВ-ВиМ Россельхозакадемии при проведении работ по изучению миграционной активности кабанов методом радиомечения и мечения ушными метками на базе ФГБУ «ГООХ «Мещера». Весь остальной биоматериал (цельная кровь) брался от добытых кабанов.

Специалистами органов государственной власти субъекта Российской Федерации в области охоты и сохранения охотничьих ресурсов, а также сотрудниками охотничьих хозяйств, за период с августа по декабрь 2015 г. проведено 32 экспресс-анализа, из них 30 проб от добытых кабанови 2 пробы взяты от живых животных. Экспресс-анализ проводился при плюсовой температуре в полевых условиях на открытом воздухе, в салоне автомобиля и в помещении. Температурный диапазон при проведении работ варьировал от +1 до +22°C, в зависимости от места и времени проведения экспресс-анализа.

По полученным результатам экспресс-анализов (табл.) отмечено, что все испытуемые пробы, тестирование которых засчитано как достоверное, показали отрицательный результат т.е. испытуемые пробы не содержат антигена вируса АЧС.

Данные анализов подтверждаются актами контрольных исследований межобластных ветеринарных лабораторий.

За период проведения работ по апробации экспресс-метода «АЧС-ИХМ» в пяти субъектах Российской Федерации с августа по декабрь 2015 г., положительного результата на содержание антигена вируса АЧС в испытуемых пробах не зарегистрировано.

По результатам проведенных экспресс-анализов, из 32 испытуемых проб недействительными оказались по разным причинам 7 проб биоматериала, что составляет 21,9% от общего количества проведенных анализов.

Из них, по неизвестным причинам, результатов реакции не было в 2-х случаях, (анализ проводился в ноябре и декабре 2015 г. в помещении при комнатной температуре $+20^{\circ}$ C). При повторном проведении экспресс-анализов от этих же образцов патматериала результаты реакции были отрицательными, т.е. испытуемые пробы не содержали антиген вируса АЧС.

Результаты экспресс-анализа на выявление вируса «АЧС-ИХМ» среди кабанов

№ п/п	Субъект РФ	Дата поведения экспрессанализа	Количество проведен- ныхэкспрессанализов	t°C	Результаты анализа*
1	Брянская обл.	17.10.2015	5	от +2 до +22	_
2	Брянская обл.	06.11.2015	3	+20	Н
3	Брянская обл.	06.11.2015	2	от +5 до +20	_
4	Брянская обл.	21.11.2015	1	+3	_
5	Брянская обл.	30.11.2015	2	+20	н; —
6	Брянская обл.	09.12.2015	2	+20	н; —
7	Брянская обл.	10.12.2015	1	+20	_
8	Курская обл.	27.11.2015	1	+20	_
9	Курская обл.	28.11.2015	1	+20	_
10	Орловская обл.	30.09.2015	1	+13	_
11	Орловская обл.	01.10.2015	3	от +8 до +22	_
12	Орловская обл.	03.10.2015	1	+23	_
13	Рязанская обл.	20.08.2015	1	+19	
14	Рязанская обл.	27.10.2015	2	+ 5	
15	Рязанская обл.	28.10.2015	1	+22	
16	Рязанская обл.	29.10.2015	3	+2	н; —
17	Рязанская обл.	10.11.2015	2	+1	н; —

^{* &}quot;-" – отрицательный результат;

В третьем случае экспресс-анализ проводился в поле, температура воздуха составляла $+8^{\circ}$ С, ветер северо-западный -4 м/с, буферный раствор выветрился. При повторном проведении экспресс-анализа, иммуноскрип лежал в машине на передней панели, под солнечными лучами, буферный раствор высох. В остальных трех пробах при проведении анализа кровь свернулась и пипетка забивалась сгустками крови. Испытуемые пробы при интерпретации результатов тестирования засчитаны как недостоверные, т.к. нет видимой полосы в зоне «С».

[&]quot;+" – положительный результат;

[&]quot;н" – нет видимой полосы в зоне «С», результаты теста считаются не достоверными.

APPROBATION OF EXPRESS-METHODS FOR DETECTION OF PATHOGENS OF HUNTING RESOURCES IN THE FIELD (ASF)

A.A. Novikov, D.V. Isaev, P.M. Pavlov, V.A. Dezhkin, O.A. Panteleeva

Federal state budgetary establishment "Control information-analytical center of game animals and their habitats", Moscow
E-mail: oxotkontr@mail.ru

We have analyzed the first results of the use of a rapid method for detection of African swine fever virus (ASFV) immunochromatographic method "ASF-ICM" in wild boars(Sus scrofa) in the field.

Key words: boar, virus, ASFV-IHM, biomaterial, rapid analysis.