

УДК: 57.083.331:616.98-07:578.826.1:636.59
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.58

РАЗРАБОТКА РЕАКЦИИ ЛАТЕКС-АГГЛЮТИНАЦИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОГО ЭНТЕРИТА ИНДЕЕК

Красков Д.А.^{*1,2} – асс., асп. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана, мл. науч. сотр. отдела вирусологии; **Джавадов Э.Д.**^{1,2} – д-р ветеринар. наук, проф. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана, научный консультант; **Веретенников В.В.**^{1,2} – канд. ветеринар. наук, ст. препод. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана, директор; **Тарлавин Н.В.**^{1,2} – канд. ветеринар. наук, ст. препод. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана, зам. директора по науке; **Дубовой А.С.**² – ст. науч. сотр. отдела вирусологии; **Самусева Г.Н.**² – ст. науч. сотр., отдела вирусологии

¹ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

² Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства – филиал ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства»

*- kraskov-00@bk.ru

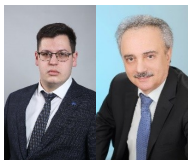
Ключевые слова: вирус геморрагического энтерита индек, реакция латекс-агглютинации, серологические реакции, лабораторная диагностика.

Keywords: turkey hemorrhagic enteritis virus, latex agglutination reaction, serological reactions, laboratory diagnostics.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-26-20116 «Разработка отечественных серологических тест-систем для диагностики иммунодепрессивных болезней птиц» и Санкт-Петербургского научно-го фонда.

Поступила: 24.08.2025

Принята к публикации: 05.12.2025
Опубликована онлайн: 26.12.2025



РЕФЕРАТ

При стремительном темпе роста индейководческой промышленности и возникновением новых вирусных болезней, приходится сталкиваться с проблемой отсутствия в России диагностических наборов и способов специфической профилактики этих болезней. Наиболее часто встречающейся и экономически опасной иммунодепрессивной болезнью является геморрагический энтерит индек (ГЭИ). Для диагностики вируса ГЭИ в России отсутствуют любые наборы, именно поэтому целью нашей работы являлась разработка серологического способа диагностики на примере реакции латекс-агглютинации. Было создано 4 группы с разницей в том, что были использованы различные буферные растворы для разведения и промывания латекса, различные виды латекса, их размер, а также от вида очистки глобулиновой фракции (1-й способ с помощью ПЭГ 6000, а второй с помощью осаждения глобулиновой фракции сульфатом аммония с последующим проведение диализа). После осаждения глобулиновой фракции на латексных микросферах по методике описанной в статье подвергались проверки следующим путём: на пластик наносил-

ся латексный диагностикум в объеме 50 мкл и к нему добавлялся супернатант гомогената селезенки индеек зараженных вирусом ГЭИ, а также присоединялось 50 мкл латексного диагностикума с добавлением супернатанта гомогената селезенки незараженных индеек. Перемешивали компоненты с помощью деревянного шпателя и ждали 10 минут для учета реакции. После учета реакции был сделан вывод, что наилучшей модификацией латекса является карбоксилированный с диаметром 200-400 нм, лучшим буфером является трис-НСI, а лучшим разведением глобулиновой фракции 1:2-1:16.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

При стремительном росте индейководческой промышленности в России, ветеринарная служба РФ и ветеринарные врачи птицефабрик сталкиваются с новыми болезнями птиц, которых раньше не было в нашей стране. Одной из таких болезней является геморрагический энтерит индеек.

Геморрагический энтерит индеек (ГЭИ) — это высококонтагиозная, иммунодепрессивная, инфекционная болезнь индеек, вызванная ДНК-содержащим вирусом из второй группы птичьих аденовирусов, семейства *Adenoviridae*, рода *Siadenovirus* клетками мишенями которого являются В-лимфоциты [7,10]. Данная болезнь характеризуется проявлением следующих клинических признаков: депрессия, диарея с примесью крови, обезвоживание, снижение температуры, и различными осложнениями спектр которых зависит от вида развивающегося бактериального патогена в птице [2,3,6,9]. Основными методами лабораторной диагностики ГЭИ являются серологические и молекулярно-биологические методы [4,5,8]. К сожалению, в России по нашим данным есть только один зарегистрированный серологический набор для выявления антител к вирусу ГЭИ (набор для проведения иммуноферментного анализа компании Вектор-Бест) и отсутствуют другие зарегистрированные способы и методы диагностики [1]. Однако, даже если использовать лабораторные способы диагностики, которые сейчас разработаны в РФ, но не зарегистрированы (для создания внутреннего отчетности на птицефабрике, и для понимания статуса по ГЭИ ветеринарными специалистами), а именно реакция диффузионной преципитации (РДП) и полимеразная цепная реакция в классическом варианте (ПЦР), являются

иногда проблематичными для специалистов ветеринарных лабораторий. Связано это, если говорить о ПЦР с необходимостью обучения специалистов и необходимостью дорогостоящего оборудования, а также с наличием больших рисков получить недостоверный результат при малейших ошибках во время выделения нуклеиновой кислоты и дальнейшим добавлением компонентов из ПЦР набора. Если же затронуть РДП, то таких недостатков там нет, однако возникает необходимость долго ждать результата реакции (48-72 часа). При постановке реакции латексагглютинации (РЛА) мы избегаем указанных недостатков. РЛА разработана нами на выявление вируса ГЭИ в органах мишенях [2]. Её преимуществом является легкое проведение самой реакции даже в «полевых» условиях, а также быстрый учет результата реакции (необходимо вытяжку из полученных органов-мишеней предполагаемой больной индейки, нанести на предметное стекло, на которое уже добавлен компонент из набора и уже через 5-10 минут по положительной и отрицательной агглютинации латексных частиц, можно будет сделать вывод о наличии вируса в организме). Недостатком РЛА является то, что она улавливает как патогенные, так и вакцинные штаммы вируса ГЭИ. Поэтому если применяется живая вакцина на птицефабрике, то данный метод будет неинформативен, так как будет давать положительный результат на вакцинный штамм. Однако если на птицефабрике применяется инактивированная вакцина, или вообще не применяется специфическая профилактика к ГЭИ, то РЛА можно использовать для диагностики.

Именно поэтому целью работы являлось создание РЛА на выявление вируса ГЭИ, который раньше не был разработан

и не был зарегистрирован в Российской Федерации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования были выполнены на базе Научно-консультационного диагностического центра по птицеводству кафедры эпизоотологии им. В.П. Урбана, ФГБОУ ВО СПбГУВМ и отдела вирусологии ВНИВИП. В данный комплекс исследований входил анализ и подбор латекса, который имеет наибольшую связывающую способность с антителами, для создания РЛА на выявление вируса ГЭИ. Именно поэтому было создано 4 группы наборов РЛА с различными видами и размерами латексных частиц, различными буферами для разведения и отмывки латексных частиц, а также с адсорбцией на латексе глобулиновой фракции, полученной различными способами.

Виды получения глобулиновой фракции:

1) Очистка глобулинов в сыворотке крови индеек (гиппериммунизированные живой вакциной «Dindoral» против ГЭИ, титр в иммуноферментном анализе - 1:17815) с помощью полиэтиленгликоля 6000 (ПЭГ 6000). Флакон с сывороткой крови индеек объемом 50 мл, поставленную на магнитную мешалку со скоростью 500 об/мин., капельно добавляли 40% раствор ПЭГ 6000, доводя его концентрацию в сыворотке крови до 13%. После этого ждали, когда ПЭГ 6000 полностью растворится в сыворотке крови и оставляли на сутки в холодильник. После полученную сыворотку крови с растворенным ПЭГ 6000 откручивали на центрифуге при 3000 об/мин в течение 30 минут. Полученный надосадок удаляли, и растворяли осадок в 10 мл физиологического раствора, тем самым получая концентрированную глобулиновую фракцию, которую в дальнейшем использовали для сорбции на латексных частицах.

2) Очистка глобулинов в сыворотке крови индеек с помощью сульфата аммония с последующим проведением диализа. Сначала был получен насыщенный раствор сульфата аммония, для этого в

колбу с 200 мл дистиллированной воды помещенной на магнитной мешалке со скоростью 400 об/мин мы поэтапно добавляли 150 грамм сульфата аммония, помешивание происходило в течение 3 часов. Раствор считается насыщенным при просветлении надосадочной жидкости и выпадение частиц сульфата аммония на дно колбы. Далее к флакону с 50 мл сыворотки крови индеек, помещенной на магнитной мешалке со скоростью 300 об/мин капельно добавляли насыщенный раствор сульфата аммония в соотношение 1:1. Далее полученный раствор оставляли на 1 час и откручивали на центрифуге при 3000 об/мин в течение 30 минут, полученный надосадок удаляли, а осадок растворяли в 50 мл в фосфатно-солевом буфере (ФСБ). После этого добавляли насыщенный раствор сульфата аммония и проводили тот же самый процесс еще 2 раза. После 3-го откручивания осадок доводили до 50 мл ФСБ.

Было отобрано 10 мл осажденной глобулиновой фракции с сульфатом аммония, после чего подвергали диализу против физиологического раствора. Отобраные 10 мл вносили в диализный мешок М-Cel диаметр пор 14 kDa ширина 25 мм в жидком консерванте. Затем закрепленный диализный мешок помещали на 4/5 длины в стеклянную бутылку с 5 литрами физиологического раствора. Бутылка находилась на магнитной мешалке со скоростью вращения магнита 400 об/мин, для проведения равномерного диализа. Бутылку с физиологическим раствором меняли трижды с интервалом 24 часа. После третьей смены физиологического раствора через 24 часа, освобожденная от сульфата аммония глобулиновая фракция к вирусу геморрагического энтерита индеек была отобрана в пробирку.

Группы наборов РЛА:

1 группа, где для разведения и отмывания латексных микросфер использовался физиологический раствор (рН=5,5)*:

1.1) Микросферы латексные 200 нм, СООН, 4%. К 2% латексным микросферам (разводили 4% латексные микросфе-

ры 1:1 с физиологическим раствором) добавляли очищенную глобулиновую фракцию полученную с помощью ПЭГ 6000 в соотношение 1:1, после чего выдерживали в термостате при температуре 37°C в течение 45 минут, после откручивали на центрифуге при скорости 3000 об/мин в течение 30 минут трижды с удалением надосадка и добавлением физиологического раствора после каждого центрифугирования. После последнего центрифугирования удаляли надосадок и добавляли в равном объеме физиологический раствор. Конечная концентрация латексного диагностикума составила 1%.

1.2) Микросферы латексные 400 нм, СООН, 4%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 1.1.

1.3) Микросферы латексные 200 нм, модифицированные стрепавидином 1%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 1.1, за исключением того, концентрация латексных микросфер изначально была 1%, и в конце мы получили латексный диагностикум в концентрации 0,5%.

1.4) Микросферы латексные 200 нм, СООН, 4%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 1.1. За исключением того, что использовали глобулиновую фракцию, полученную путем диализа после осаждения насыщенным раствором сульфатам аммония.

1.5) Микросферы латексные 400 нм, СООН, 4%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 1.4.

1.6) Микросферы латексные 200 нм, модифицированные стрепавидином 1%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в 1 пункте, но глобулиновую фракцию использовали как в пункте 1.4.

2 группа, где для разведения и отмывания латексных микросфер использовался ФСБ (pH=7,0)*:

2.1) Микросферы латексные 200 нм, СООН, 4%. К 2% латексным микросферам (разводили 4% латексные микросферы 1:1 с ФСБ) добавляли очищенную глобулиновую фракцию полученную с помощью ПЭГ 6000 в соотношение 1:1, после

чего выдерживали в термостате при температуре 37°C в течение 45 минут, после откручивали на центрифуге при скорости 3000 об/мин в течение 30 минут трижды с удалением надосадка и добавлением ФСБ после каждого центрифугирования. После последнего центрифугирования удаляли надосадок и добавляли в равном объеме ФСБ. Конечная концентрация латексного диагностикума составила 1%.

2.2) Микросферы латексные 400 нм, СООН, 4%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в 2.1 пункте.

2.3) Микросферы латексные 200 нм, модифицированные стрепавидином 1%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 2.1, за исключением того, концентрация латексных микросфер изначально была 1%, и в конце мы получили латексный диагностикум в концентрации 0,5%.

2.4) Микросферы латексные 200 нм, СООН, 4%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 2.1. За исключением того, что использовали глобулиновую фракцию, полученную путем диализа после осаждения насыщенным раствором сульфатам аммония.

2.5) Микросферы латексные 400 нм, СООН, 4%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 2.4.

2.6) Микросферы латексные 200 нм, модифицированные стрепавидином 1%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 2.1, но глобулиновую фракцию использовали как в пункте 2.4.

3 группа, где для разведения и отмывания латексных микросфер использовался трис-НСI буфер (pH= 7,4)*:

3.1) Микросферы латексные 200 нм, СООН, 4%. К 2% латексным микросферам (разводили 4% латексные микросферы 1:1 с трис-НСI) добавляли очищенную глобулиновую фракцию, полученную с помощью ПЭГ 6000 в соотношение 1:1, после чего выдерживали в термостате при температуре 37°C в течение 45 минут, после откручивали на центрифуге при скорости 3000 об/мин в течение 30 минут трижды с удалением надосадка и добав-

лением трис-НСI после каждого центрифугирования. После последнего центрифугирования удаляли надосадок и добавляли в равном объёме трис-НСI. Конечная концентрация латексного диагностикума составила 1%.

3.2) Микросферы латексные 400 нм, СООН, 4%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в 3.1 пункте.

3.3) Микросферы латексные 200 нм, модифицированные стрепавидином 1%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 3.1, за исключением того, концентрация латексных микросфер изначально была 1%, и в конце мы получили латексный диагностикум в концентрации 0,5%.

3.4) Микросферы латексные 200 нм, СООН, 4%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 3.1. За исключением того, что использовали глобулиновую фракцию, полученную путем диализа после осаждения насыщенным раствором сульфатаммония.

3.5) Микросферы латексные 400 нм, СООН, 4%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 3.4.

3.6) Микросферы латексные 200 нм, модифицированные стрепавидином 1%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 3.1, но глобулиновую фракцию использовали как в пункте 3.4.

4 группа отрицательная. Был использован нативный карбоксилированный и стрепавидиновый латекс без осаждения на них глобулиновой фракции.

**Во всех пунктах групп за исключением четвертой на латексные микросферы осаждали глобулиновую фракцию в различных разведениях: цельная фракция и разведения 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32.*

Все 4 группы РЛА наборов подвергались проверки следующим путём: на пластик наносился латексный диагностикум в объёме 50 мкл и к нему добавлялся супернатант гомогената селезёнки индеек зараженных вирусом ГЭИ (наличие вируса в супернатанте подтверждено в РДП, титр 1:32, положительный контроль), а также наносилось 50 мкл латексного диа-

гностикума с добавлением супернатанта гомогената селезёнок незараженных индеек (отсутствие вируса подтверждено с помощью ПЦР, отрицательный контроль). Перемешивали компоненты с помощью деревянная шпателя и ждали 10 минут для учета реакции.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты проведенных исследований указаны в таблице № 1 и таблице № 2.

Исходя из результатов, представленных в таблицах видно, что латексные микросферы модифицированные стрепавидином нельзя использовать для разработки РЛА, так как везде получен положительный результат независимо от выбранного буфера и типа очистки глобулиновой фракции. Также положительный результат получен с отрицательным контролем, что еще раз указывает нам то, что данные латексные микросферы не подходят. Возможно, такой результат был получен, потому что латекс модифицированный стрепавидином имеет слишком сильную адсорбирующую активность и не может корректно взаимодействовать с очищенными глобулиновыми фракциями.

Также при разработке нельзя использовать в качестве буфера – физиологический раствор и фосфатно-солевой буфер, так как готовые латексные микросферы, которые были получены с использованием физиологического раствора и ФСБ дают спонтанную агглютинацию (ложноположительную реакцию) с положительным и отрицательным контролем (Рис. 1). Скорее всего данный результат связан с неподходящим рН и ионной силой.

Также было обнаружено что в данном случае нет разницы между диаметрами латексных частиц 200 и 400 нм. Результаты между 200 и 400 нм были одинаковыми.

Наилучший результат показал карбоксилированный латекс с диаметром сфер 200 и 400 нм с использованием трис-НСI буфера, а наилучшим титром глобулиновой фракции в нашем случае является 1:2-1:16 (Рис. 2), так как с нативной глобулиновой фракцией (цельный титр)

получается ложно-положительный результат (скорее всего из-за большого количества адсорбированной глобулиновой

фракции), а с титром 1:32 уже во всех пробах отрицательный результат (Рис. 3).

Таблица 1 – Результаты РЛА с положительным контролем

Группа №1	Группа №2	Группа №3	Группа №4
1.1 Титр глоб., фракции: Ц – полож. 1:2 – полож. 1:4 – полож. 1:8 – полож. 1: 16 – полож. 1: 32 - отр.	2.1 Титр глоб., фракции: Ц – полож. 1:2 – полож. 1:4 – полож. 1:8 – полож. 1: 16 – полож. 1: 32 - отр.	3.1 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.	4.1 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.
1.2 Титр глоб., фракции: Ц – полож. 1:2 – полож. 1:4 – полож. 1:8 – полож. 1: 16 – полож. 1: 32 - отр.	2.2 Титр глоб., фракции: Ц – полож. 1:2 – полож. 1:4 – полож. 1:8 – полож. 1: 16 – полож. 1: 32 - отр.	3.2 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.	4.2 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.
1.3 Титр глоб., фракции: Ц – полож. 1:2 – полож. 1:4 – полож. 1:8 – полож. 1: 16 – полож. 1: 32 - отр.	2.3 Титр глоб., фракции: Ц – полож. 1:2 – полож. 1:4 – полож. 1:8 – полож. 1: 16 – полож. 1: 32 - отр.	3.3 Титр глоб., фракции: Ц – полож. 1:2 – полож. 1:4 – полож. 1:8 – полож. 1: 16 – полож. 1: 32 - отр.	4.3 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.
1.4 Титр глоб., фракции: Ц – полож. 1:2 – полож. 1:4 – полож. 1:8 – полож. 1: 16 – полож. 1: 32 - отр.	2.4 Титр глоб., фракции: Ц – полож. 1:2 – полож. 1:4 – полож. 1:8 – полож. 1: 16 – полож. 1: 32 - отр.	3.4 Титр глоб., фракции: Ц – полож. 1:2 – полож. 1:4 – полож. 1:8 – полож. 1: 16 – полож. 1: 32 - отр.	4.4 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.
1.5 Титр глоб., фракции: Ц – полож. 1:2 – полож. 1:4 – полож. 1:8 – полож. 1: 16 – полож. 1: 32 - полож.	2.5 Титр глоб., фракции: Ц – полож. 1:2 – полож. 1:4 – полож. 1:8 – полож. 1: 16 – полож. 1: 32 - полож.	3.5 Титр глоб., фракции: Ц – полож. 1:2 – полож. 1:4 – полож. 1:8 – полож. 1: 16 – полож. 1: 32 - отр.	4.5 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.
1.6 Титр глоб., фракции: Ц – полож. 1:2 – полож. 1:4 – полож. 1:8 – полож. 1: 16 – полож. 1: 32 - отр.	2.6 Титр глоб., фракции: Ц – полож. 1:2 – полож. 1:4 – полож. 1:8 – полож. 1: 16 – полож. 1: 32 - отр.	3.6 Титр глоб., фракции: Ц – полож. 1:2 – полож. 1:4 – полож. 1:8 – полож. 1: 16 – полож. 1: 32 - отр.	4.6 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.

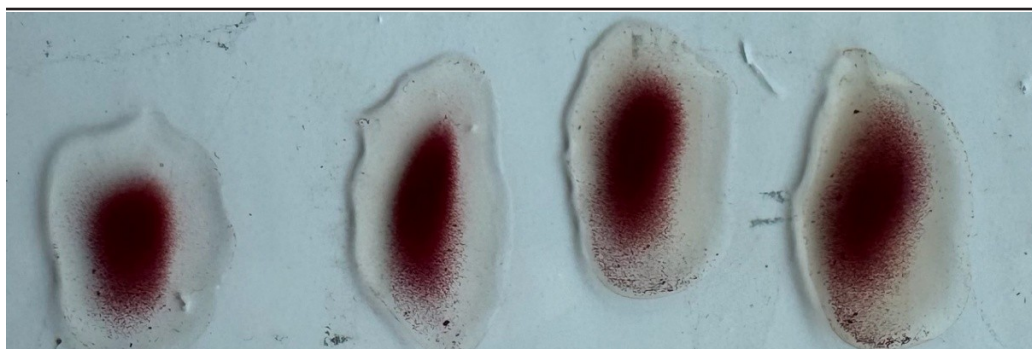


Рисунок 1 – Спонтанная агглютинация (ложноположительная реакция).

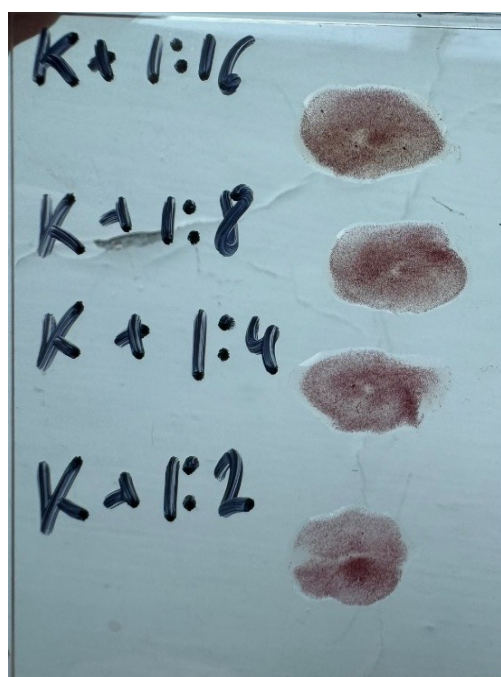


Рисунок 2 – Положительная реакция.



Рисунок 3 – Отрицательная реакция.

Для адсорбции на латексных частицах лучше использовать глобулиновую фракцию, полученную с помощью сульфата аммония с проведением последующего диализа. Так как глобулиновая фракция полученная с помощью ПЭГ 6000 с которой была адсорбирована на латексе трис-НСI буфером с дала отрицательный результат. Возможно для получения конкретных результатов, надо проводить более тщательную очистку глобулиновой фракции от ПЭГ 6000, так как его остаточные компоненты блокируют сайты адсорбции на латексных микросферах и не дают адсорбироваться глобулиновой фракции.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В рамках поставленной цели был разработан способ серологической диагностики на базе реакции латекс-агглютинации. Был подобран наиболее оптимальный буферный раствор для sensibilization латексных микросфер (трис-НСI буфер), а также подобрана наиболее подходящая модификация латексных микросфер с наибольшей адсорбирующей активностью (карбоксилированный латекс) и метод получения глобулиновой фракции. Данный способ серологической диагностики можно использовать для диагностики вируса геморрагического энтерита индеек в патологическом материале.

DEVELOPMENT OF LATEX AGGLUTINATION REACTION FOR THE DIAGNOSIS OF HEMORRHAGIC ENTERITIS IN TURKEYS

Kraskov D.A.^{*1,2} – Associate Professor of the Department of Epizootology named after V.P. Urban, M.Sc. of the Department of Virology of VNIVIP; **Javadov E.D.**^{1,2} – Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Epizootology named after V.P. Urban, scientific consultant of VNIVIP; **Veretennikov V.V.**^{1,2} – PhD. Veterinarian, Senior lecturer at the Department of Epizootology named after V.P. Urban, Director of VNIVIP; **Tarlavín N.V.**^{1,2} – PhD. Veterinarian, Senior Lecturer at the Department of Epizootology named after V.P. Urban, Deputy Director of Science at VNIVIP; **Dubovoy A.S.**² – Senior Researcher, Department of Virology at VNIVIP; **Samuseva G.N.**² – Senior Researcher, Department of Virology at VNIVIP;

¹St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

²All-Russian Scientific Research Veterinary Institute of Poultry Farming – branch of the Federal State Budgetary Scientific Research Center "All-Russian Scientific Research and Technological Institute of Poultry Farming"

*- kraskov-00@bk.ru

ABSTRACT

With the rapid growth rate of the turkey breeding industry and the emergence of new viral diseases, we have to face the problem of the lack of diagnostic kits and methods of specific prevention of these diseases in Russia. The most common and economically dangerous immunosuppressive disease is hemorrhagic enteritis of turkeys. There are no kits available for the diagnosis of the GEI virus in Russia, which is why the purpose of our work was to develop a serological diagnostic method using the latex agglutination reaction as an example. 4 groups were created with the difference that different buffer solutions were used for diluting and washing latex, different types of latex, their size, as well as the type of purification of the globulin fraction (the first method using PEG 6000, and the second by precipitation of the globulin fraction with ammonium sulfate

followed by dialysis). After deposition of the globulin fraction on latex microspheres, according to the method described in the article, checks were carried out in the following way: latex diagnosticum in a volume of 50 ml was dripped onto plastic and a supernatant of homogenate of turkeys infected with the GEI virus was added to it, and 50 ml of latex diagnosticum was dripped with the addition of a supernatant of homogenate of spleens of uninfected turkeys. The ingredients were mixed using a wooden stick and waited 10 minutes to account for the reaction. After taking into account the reaction, it was concluded that the best modification of latex is carboxylated with a diameter of 200-400 nm, the best buffer is tris-salt, and the best dilution of the globulin fraction is 1:2-1:16.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Диагностика геморрагического энтерита индеек с использованием реакции диффузионной преципитации/ Д.А. Красков, Э. Д. Джавадов, Н. В. Тарлавин [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2025. – № 3. – С. 26-28.
2. Изучение биологических свойств возбудителя геморрагического энтерита индеек / Д. А. Красков, Э. Д. Джавадов, В. В. Веретенников [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 4. – С. 52-58.
3. Красков, Д. А. Геморрагический энтерит индеек. Современные представления о болезни / Д. А. Красков // Ветеринария в АПК: Материалы Международной научно-практической конференции, Новосибирск, 04–06 июня 2024 года. – Новосибирск: Союзмолоко, 2024. – С. 83-85.
4. Определение реактивности иммунитета индейки с помощью нитросинего тетразолия / Э. Д. Джавадов, Н. В. Тарлавин, В. В. Веретенников, Д. А. Красков // Актуальные проблемы ветеринарной медицины: сборник научных трудов. Том № 153. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2022. – С. 19-23.
5. Разработка молекулярно-биологического способа диагностики ге-

- моррагического энтерита индеек / Д. А. Красков, Э. Д. Джавадов, В. В. Веретеников, Н. В. Тарлавин // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2024. – № 4. – С. 37-39.
6. Патогенез геморрагического энтерита индеек / Д. А. Красков, А. С. Дубовой, Г. Н. Самсуева, В. С. Бочкарев // SPbVetScience : сборник научных трудов. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2025. – С. 56-60.
7. Dhama, K., Gowthaman, V., Karthik, K., Tiwari, R., Sachan, S., Kumar, M. A., Munir, M. (2017). Haemorrhagic enteritis of turkeys – current knowledge. *Veterinary Quarterly*, 37(1), 31–42.
8. Lobová, D., & Celer, V. (2015). Expression and serological reactivity of hemorrhagic enteritis virus hexon protein. *Folia Microbiologica*, 61(3), 227–232.
9. Musa L, Rapi MC, Franciosini MP, Lupini C, Catelli E, Addis MF, Grilli G. Turkey Hemorrhagic Enteritis (THE): A Short Overview. *Pathogens*. 2024 Aug 6;13(8):663.
10. Tykałowski B, Śmiałek M, Koncicki A, Ognik K, Zduńczyk Z, Jankowski J. The immune response of young turkeys to haemorrhagic enteritis virus infection at different levels and sources of methionine in the diet. *BMC Vet Res*. 2019 Nov 1;15(1):387.
- A. Kraskov // Veterinary medicine in agriculture : Proceedings of the International Scientific and Practical Conference, Novosibirsk, June 04-06, 2024. Novosibirsk: So-yuzmoloko Publ., 2024, pp. 83-85.
4. Determination of turkey immunity reactivity using nitrosine tetrazolium / E. D. Javadov, N. V. Tarlavin, V. V. Veretennikov, D. A. Kraskov // Actual problems of veterinary medicine: collection of scientific papers. Volume No. 153. Saint Petersburg: Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2022. pp. 19-23.
5. Development of a molecular biological method for the diagnosis of hemorrhagic enteritis in turkeys / D. A. Kraskov, E. D. Javadov, V. V. Veretennikov, N. V. Tarlavin // Regulatory and legal regulation in veterinary medicine. - 2024. – No. 4. – pp. 37-39.
6. Pathogenesis of hemorrhagic enteritis in turkeys / D. A. Kraskov, A. S. Dubovoy, G. N. Samsueva, V. S. Bochkarev // SPbVetScience : collection of scientific papers. Saint Petersburg : Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2025. pp. 56-60.
7. Dhama, K., Gowthaman, V., Karthik, K., Tiwari, R., Sachan, S., Kumar, M. A., Munir, M. (2017). Haemorrhagic enteritis of turkeys – current knowledge. *Veterinary Quarterly*, 37(1), 31–42.
8. Lobová, D., & Celer, V. (2015). Expression and serological reactivity of hemorrhagic enteritis virus hexon protein. *Folia Microbiologica*, 61(3), 227–232.
9. Musa L, Rapi MC, Franciosini MP, Lupini C, Catelli E, Addis MF, Grilli G. Turkey Hemorrhagic Enteritis (THE): A Short Overview. *Pathogens*. 2024 Aug 6;13(8):663.
10. Tykałowski B, Śmiałek M, Koncicki A, Ognik K, Zduńczyk Z, Jankowski J. The immune response of young turkeys to haemorrhagic enteritis virus infection at different levels and sources of methionine in the diet. *BMC Vet Res*. 2019 Nov 1;15(1):387.

REFERENCES