

Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print

ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10515

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:615.36:619:616.981:636.5

Agglutination test and passive hemagglutination test as immunological methods of antigenicity assessment of vaccines against poultry salmonellosis

O. P. Boiko¹, B. M. Kurtyak^{2✉}, O. M. Sen'¹, M. S. Romanovych², G. V. Sobko², T. O. Pundyak², P. K. Boiko¹

¹Lesya Ukrainka Volyn National University, Lutsk, Ukraine

²Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Lviv, Ukraine

Article info

Received 04.02.2022

Received in revised form

07.03.2022

Accepted 08.03.2022

Lesya Ukrainka Volyn National
University, Prosp. Voli, 13, Lutsk,
43025, Ukraine.

E-mail: inter-dep@eenu.edu.ua

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.

Tel.: +38-097-698-93-71

E-mail: kurtakbohdan@gmail.com

Boiko, O. P., Kurtyak, B. M., Sen', O. M., Romanovych, M. S., Sobko, G. V., Pundyak, T. O., & Boiko, P. K. (2022). Agglutination test and passive hemagglutination test as immunological methods of antigenicity assessment of vaccines against poultry salmonellosis. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(105), 102–108. doi: 10.32718/nvlvet10515

Salmonellosis ranks first among acute intestinal infections with an established pathogen in Ukraine. Poultry products are the most frequent source of human salmonellosis is the highest in both the world and Ukraine. Therefore, Salmonella-specific prevention measures in most countries are an issue of great importance. The study's goal was to compare the levels of antibodies against Salmonella to the enteritidis, Typhimurium, and infantis monoantigens in the serum of poultry immunized with the experimental bivalent, the trivalent vaccine against salmonellosis using the Agglutination test (AT) and Passive Hemagglutination test (PHA). The research of two Salmonella inactivated emulsified vaccines – bivalent (*S. enteritidis*) and trivalent (*S. enteritidis*, *S. typhimurium* and *S. infantis*) was conducted on one of the poultry farms of the Lviv region. The birds were vaccinated two times in the 14th day's interval. The sera samples were taken on the 14, 21, and 28th days after the last shot. The antibody (agglutinin) levels were assessed in the AT and PHA. Both vaccines (bivalent and trivalent) induced an intense immune response in birds' organisms. The average antibody titers were 1 : 512 – 1 : 717 using the AT and 1 : 4096 – 1 : 5734 using the PHA. The highest antibody levels were detected for *S. Enteritidis*: 1 : 5734 for trivalent vaccine and 1 : 5120 for bivalent one using PHA. AT antibody levels were lower: 1 : 717 for the trivalent vaccine and 1 : 640 for the bivalent. The antibody levels to *S. typhimurium* were: 1 : 4915 for trivalent vaccine and 1 : 4710 for bivalent (PHA) and 1 : 640 for trivalent vaccine 1 : 589 for bivalent on (AT). The lowest antibody levels were detected in *S. Infantis* in both tests. An interesting fact of *S. infantis* agglutinins presence in serum samples from poultry vaccinated with the bivalent vaccine in both tests may be explained by cross-immunity formed by *S. enteritidis* – *S. typhimurium* vaccine.

Key words: poultry, salmonella, vaccine, agglutination test, indirect hemagglutination test, antigenicity, antigenic affinity.

РА і РНГА – як імунологічні методи контролю антигенності вакцин проти сальмонельозу птиці

О. П. Бойко¹, Б. М. Куртяк^{2✉}, О. М. Сень¹, М. С. Романович², Г. В. Собко², Т. О. Пундяк², П. К. Бойко¹

¹Волинський національний університет імені Л. Українки, м. Луцьк, Україна

²Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, м. Львів, Україна

Ефективність специфічної профілактики інфекційних хвороб, в т. ч. й сальмонельозу птиці визначається імуногенністю вакцин. Контроль імуногенності вакцин – справа кропітка, складна і зазвичай відображає якийсь один найбільш вагомий у цьому випадку бік оцінки формування напруженості імунітету. Тому в багатьох країнах за серійного виробництва засобів специфічної

профілактики інфекційних хвороб використовують визначення їхньої антигенності в імунологічних реакціях, зокрема в реакції аглютинації (РА), непрямій гемаглютинації (РНГА), імуноферментного аналізу (ІФА), дифузної преципітації (РДП), непрямій імунофлуоресценції (РНІФ) тощо. В статті наведено результати порівняльної оцінки антигенності двох емульсованих вакцин проти сальмонельозу птиці – двовалентної та тривалентної з використанням двох імунологічних реакцій – РА і РНГА. Обидві вакцини містили сумарно однакову (по 6 млрд./см³) концентрацію мікробних клітин інактивованих формальдегідом та концентрованих аеросилом А-300 сальмонел таких видів, як *Salmonella enterica subsp. enterica* *Typhimurium* та *Enteritidis* (двовалентна вакцина) і *Salmonella enterica subsp. enterica* *Typhimurium*, *Enteritidis* та *Infantis* (тривалентна). Встановлено, що у сироватці крові птиці, щепленої двовалентною і тривалентною вакцинами з допомогою РА, для постановки якої було використано соматичні моноантигени згаданих вище видів сальмонел, виявилися значно нижчі рівні аглютининів, ніж з допомогою РНГА, для постановки якої були використані еритроцитарні монодіагностикуми. Застосування білків джзутикового антигену та анатоксинів сальмонел для виготовлення еритроцитарних монодіагностиків із досліджуваних видів сальмонел суттєво підвищує чутливість РНГА. Між обома імунологічними реакціями виявлено тісний корелятивний зв'язок ($\rho = 0,97$). Це дає підставу вважати, що обидві реакції з однаковим успіхом можуть бути використані як інструменти оцінки імунної відповіді організму птиці за лабораторного чи виробничого випробування сальмонельозних вакцин, а також з метою встановлення антигенної спорідненості між окремими видами мікроорганізмів.

Ключові слова: птиця, сальмонели, вакцина, реакція аглютинації, реакція непрямой гемаглютинації, антигенність, антигенна спорідненість.

Вступ

За даними European Food Safety Authority (2020) сальмонельоз як харчова токсикоінфекція продовжує стабільно займати друге місце (після кампілобактеріозу) за кількістю харчових токсикоінфекцій серед людей (Boelaert, 2019; Milczarek et al., 2019; Gourishankar, 2021; European Food Safety Authority, 2021).

За цим критерієм сальмонельоз в Україні посідає перше місце серед гострих кишкових інфекцій з встановленим збудником (Zarytskyi et al., 2016; Halka et al., 2019).

Питома вага саме продуктів птахівництва у виникненні біоризиків сальмонельозу людини є найвищою у всьому світі і в Україні зокрема (Ianko et al., 2018; Boiko et al., 2018). Так, згідно з даними, отриманими Т. О. Гаркавенко та ін. (2021), за період з 2016 по 2020 роки в Україні найбільш контамінованими щодо збудника сальмонельозу були продукти птахівництва: м'ясо (0,18 %), напівфабрикати (0,10 %), субпродукти (0,23 %) та яйця (0,07 %) (Harkavenko et al., 2021).

Виробництво м'яса птиці має тенденцію до зростання. Україна за підсумками 2020 року стала третім найбільшим постачальником м'яса птиці до країн Європейського союзу і посіла шосте місце серед світових виробників курятини. В структурі споживання м'яса українців курятина займає майже 50 %.

Зважаючи на це профілактика харчових токсикоінфекцій сальмонельозної природи насамперед базується на профілактиці сальмонельозу на птахівничих фермах і великих птахівничих господарствах (Shivaprasad et al., 1992; Foley et al., 2008; Larock et al., 2015; Wideman et al., 2016; Huang et al., 2022).

Контроль епізоотичного процесу за сальмонельозу птиці здійснюють на всіх трьох ланках – виявлення та ізоляція хворої птиці і сальмонелозносіїв (джерело збудника інфекції), знищення збудника на об'єктах довкілля, що мають стосунок до птиці, (механізм передачі збудника) і створення активного імунного прошарку серед маточного поголів'я (сприйнятлива птиця) (Boiko et al., 2014; Kuczkowski & Wieliczko, 2015). При цьому специфічній профілактиці сальмонельозної інфекції в усіх країнах світу відводиться особливе місце (Methner, 2007; Singh, 2020).

Зважаючи на це, серологічний моніторинг рівня сальмонельозних антитіл в сироватці крові імунізованої птиці є важливим заходом в системі контролю епізоотичного процесу за сальмонельозу птиці.

Мета роботи. Вивчити в порівняльних досліджах рівні антитіл в реакціях аглютинації та непрямой гемаглютинації до моноантигенів ентеритідіс, тифімуриум та інфантіс в сироватці крові птиці, імунізованої експериментально-дослідними серіями дво- і тривалентної емульсованої вакцини проти сальмонельозу в умовах виробничого випробування.

Матеріал і методи досліджень

Виробничі випробування двох сальмонельозних емульсованих вакцин – двовалентної (*S. enteritidis* і *S. typhimurium*) і тривалентної (*S. enteritidis*, *S. typhimurium* і *S. infantis*) проводили в одному із птахівничих господарств Львівщини. Вакцинували птицю дворазово; другий раз вакцину вводили на 14 добу після першого уведення. Кров для серологічного моніторингу за рівнем сальмонельозних антитіл брали на 14, 21 і 28 добу після початку вакцинації.

Накопичення мікробної маси для виготовлення обох вакцин проводили за однією технологією. Виробничі штами *S. typhimurium*, *S. enteritidis* і *S. infantis* вирощували на триптон-соєвому дріжджовому бульйоні (ТСДБ), за помірної аерації та постійному помішуванні у спеціально сконструйованому реакторі. Культури інактивували додаванням нейтрального формаліну з розрахунку 0,15 % кінцевої концентрації формальдегіду до об'єму культури; інактивацію проводили у початковій стадії стаціонарної фази її росту, коли рухова активність кожного штаму була найвищою; анакультури витримували за 37 °С впродовж 24 год, періодично помішуючи.

Для адсорбування і концентрування розчинних і корпускулярних антигенів використали аеросил А-300, який додавали до інактивованої культури з розрахунку 3 мг/см³. Для емульсування концентрованих антигенів сальмонел як поверхнево-активну речовину використали Twin-80, а як олійну основу – мінеральну олію з додаванням Span. Концентрація мікробних тіл кожного штаму у двовалентній вакцині становила 3 млрд./см³, а у тривалентній – 2 млрд./см³.

Рівні аглютининів в сироватці крові визначали в реакції аглютинації (РА) і в реакції непрямой гемаглютинації (РНГА).

РА ставили в об'ємі 1 см³, а РНГА – в об'ємі 0,5 см³; оцінювали реакції в плюсах.

Моноантигенами для РА слугували тримільярдні суспензії вбитих кип'ятінням протягом 30 хв. і двічі відмитих 0,85 % забуференим розчином натрію хлориду мікробних клітин 18-годинних культур *Salmonella typhimurium*, *S. enteritidis* і *S. infantis*.

Моноантигени для РНГА – 1 % суспензії формалізованих і танізованих еритроцитів барана, сенсифізованих анатоксинами і джугтиковими антигенами згаданих вище штамів сальмонел.

За граничний титр антитіл приймали найвище розведення досліджуваної сироватки, за якого реакція оцінювалася не менше, ніж на 2 плюси.

Результати та їх обговорення

Результати серологічного моніторингу за виробничого випробування двох експериментально-дослідних серій емульсованих вакцин проти сальмо-

нельозу птиці, виконаного за допомогою імунологічного дослідження сироватки крові курей, щеплених цими вакцинами, наведено в таблицях 1, 2 і 3. У першій і другій таблицях наведені середньоарифметичні дані граничних титрів антитіл відповідно на 7 і 14 добу, а в третій – на 28 добу після початку імунізації птиці обома вакцинами.

Дані табл. 1 свідчать, що продукція антитіл до імуногенів обох вакцин починається інтенсивно вже з перших днів після уведення вакцини і триває впродовж двох (табл. 2) і чотирьох (табл. 3) тижнів.

При цьому титри аглютининів до моноантигенів всіх трьох видів сальмонел у РНГА є значно вищими, ніж в РА у птиці, щепленої обома вакцинами (табл. 1, 2 і 3).

Аналізуючи дані, наведені у всіх трьох таблицях, можна зазначити, що обидві вакцини формують в організмі щепленої птиці напружену імунну відповідь на двократне уведення вакцини, що підтверджується високими граничними титрами аглютининів, які ми виявляли як за допомогою РА, так і РНГА. Так, середньоарифметичні титри антитіл в РА були в межах 1 : 512 – 1 : 717, а в РНГА – 1 : 4096 – 1 : 5734.

Таблиця 1

Середньоарифметичні титри аглютининів, виявлених у РА і РНГА, до моноантигенів сальмонел в сироватці крові птиці, вакцинованої дво- і тривалентною вакцинами, на 7 добу після щеплення (n = 10; P > 0,05)

Вакцина	Середньоарифметичні титри аглютининів до моноантигенів сальмонел					
	в РА			в РНГА		
	Ентеритідіс	Тифімуриум	Інфантіс	Ентеритідіс	Тифімуриум	Інфантіс
Двовалентна	1 : 45	1 : 38	1 : 9	1 : 361	1 : 301	1 : 67
Тривалентна	1 : 79	1 : 67	1 : 50	1 : 396	1 : 349	1 : 116

Таблиця 2

Середньоарифметичні титри аглютининів, виявлених у РА і РНГА, до моноантигенів сальмонел в сироватці крові птиці, вакцинованої дво- і тривалентною вакцинами, на 14 добу після щеплення (n = 10; P > 0,05)

Вакцина	Середньоарифметичні титри аглютининів до моноантигенів сальмонел					
	в РА			в РНГА		
	Ентеритідіс	Тифімуриум	Інфантіс	Ентеритідіс	Тифімуриум	Інфантіс
Двовалентна	1 : 192	1 : 157	1 : 35	1 : 1581	1 : 1396	1 : 301
Тривалентна	1 : 221	1 : 198	1 : 169	1 : 1671	1 : 1489	1 : 1257

Таблиця 3

Середньоарифметичні титри аглютининів, виявлених у РА і РНГА, до моноантигенів сальмонел в сироватці крові птиці, вакцинованої дво- і тривалентною вакцинами, на 28 добу після (n = 10; P > 0,05)

Вакцина	Середньоарифметичні титри аглютининів до моноантигенів сальмонел					
	в РА			в РНГА		
	Ентеритідіс	Тифімуриум	Інфантіс	Ентеритідіс	Тифімуриум	Інфантіс
Двовалентна	1 : 640	1 : 589	1 : 74	1 : 5120	1 : 4710	1 : 614
Тривалентна	1 : 717	1 : 640	1 : 512	1 : 5734	1 : 4915	1 : 4096

Аналіз даних всіх трьох таблиць однозначно свідчить про те, що РНГА є значно чутливішою, ніж РА. Так, титри аглютининів до моноантигенів ентеритідіс в РНГА становили 1 : 5734 (тривалентна вакцина) і 1 : 5120 (двовалентна), до моноантигенів тифімуриум 1 : 4915 і 1 : 4710 відповідно, тимчасом як у РА аглютинини до ентеритідіс становили – 1 : 717 (тривалент-

на вакцина) і 1 : 640 (двовалентна), а до тифімуриум – 1:640 (тривалентна вакцина) і 1 : 589 (двовалентна).

Подібну картину спостерігаємо, порівнюючи середньоарифметичні значення граничних титрів аглютининів до моноантигенів інфантіс – вони також значно вищі у РНГА, ніж у РА, як у птиці щепленої тривалентною, так і двовалентною вакцинами. Отримані дані вказують на тісну кореляцію (ρ = 0,97) між показни-

ками рівнів аглютининів, виявлених з допомогою РНГА і РА, у всіх випадках паралельного їх застосування з метою визначення антигенності обох вакцин.

Таким чином, залежно від можливостей тієї чи іншої лабораторії та наявності у них тих чи інших діагностикумів, кожна із цих реакцій може бути використана як метод об'єктивної оцінки антигенності сальмонельозних вакцин, а отже як інструмент серологічного моніторингу напруженості поствакцинального імунітету.

Продовжуючи аналіз даних **рисунку 1**, спостерігаємо, що найвищі рівні антитіл в обох імунологічних реакціях виявлені до антигенів *S. enteritidis* (1 : 640–717 в РА і 1 : 5120–5713 в РНГА), дещо нижчі до *S. typhimurium*. Найнижчі рівні антитіл у сироватці крові птиці, щепленої двовалентною вакциною, виявлено до антигенів *S. infantis*. Це можна пояснити тим, що двовалентна вакцина взагалі не містила антигенних структур цього штаму. З одного боку, результати

обох імунологічних реакцій свідчать про значний рівень перехресного імунітету, що його формують імуногени двовалентної вакцини до антигенів *S. infantis*. З іншого боку, можна говорити про високу антигенну спорідненість між поверхневими морфологічними структурами *S. infantis* та двома іншими видами сальмонел, з яких виготовлено вакцинний препарат. Цей факт насамперед засвідчує тісну антигенну спорідненість між цими трьома штамами як на рівні О-антигену, так і на рівні Н-антигенів. Так, *S. enteritidis* і *S. typhimurium* мають спільні 9 і 12 соматичні антигени, тимчасом як *S. infantis* має антигенну спорідненість із цими видами сальмонел за другою фазою джгутикового антигену (H² 1). Крім цього, перехресні серологічні реакції сальмонел між собою та іншими бактеріями родини *Enterobacteriaceae* можливі за рахунок спільності окремих антигенних детермінант ендотоксину сальмонел (Plitov, 2011).

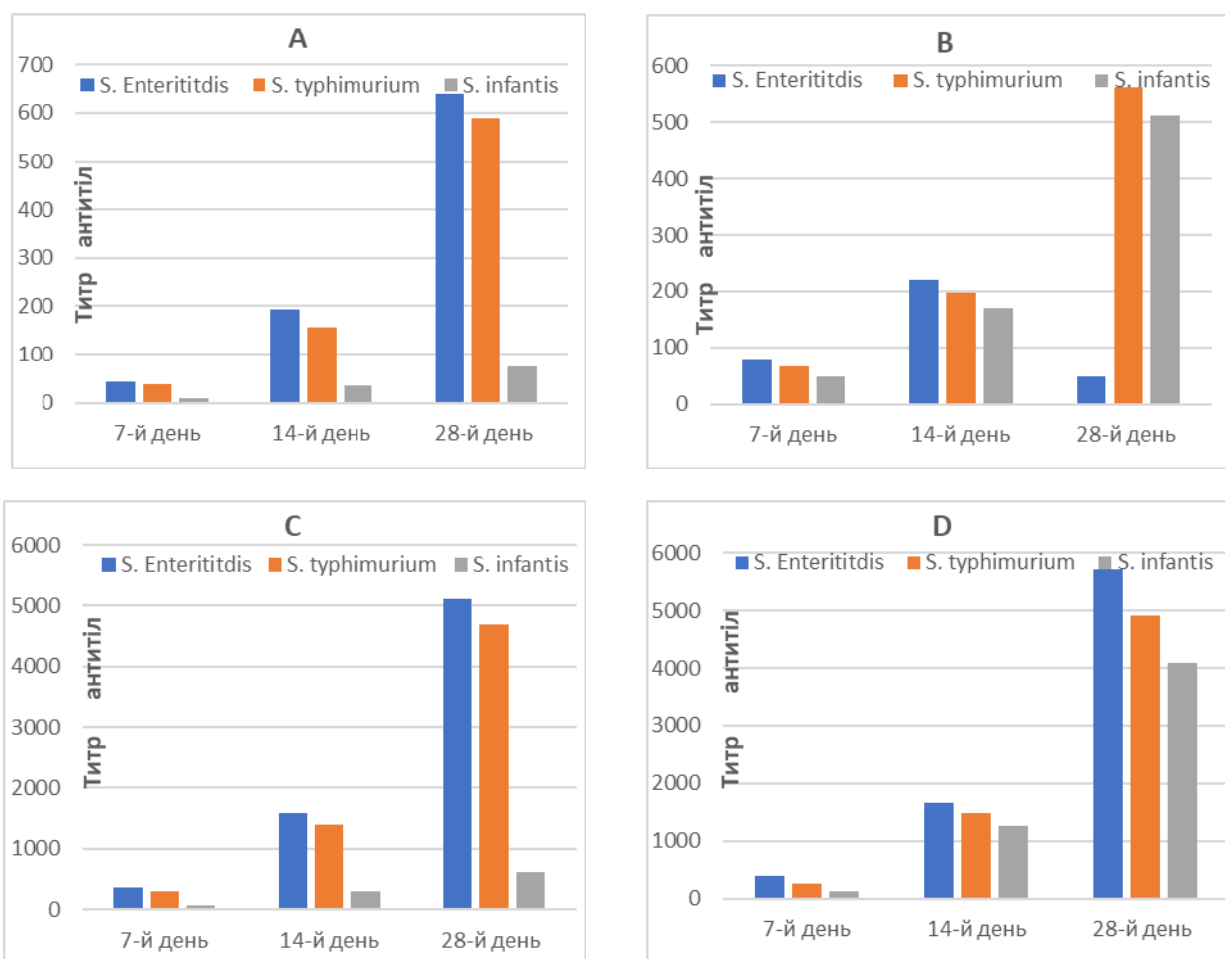


Рис. 1. Динаміка титрів сальмонельозних антитіл за серологічного моніторингу сироватки крові птиці, щепленої проти сальмонельозу двовалентною (А і С) і тривалентною (В і D) вакцинами у РА (А і В) та у РНГА (С і D)

Варто зазначити, що *S. infantis* не має значення в інфекційній патології тварин, тимчасом як з епідеміологічної точки зору цей вид сальмонел часто причетний до харчових токсикоінфекцій. В низці розвинених країн останнє є об'єктивним підґрунтям для уведення імуногенів *S. infantis* до складу протисальмонельозних вакцин, що використовуються у птахівництві. Власне

це й було мотивацією до конструювання тривалентної вакцини проти сальмонельозу птиці, яка, крім загальноприйнятих видів імуногенів, має на увазі *S. enteritidis* і *S. typhimurium*, містила б імуногени *S. infantis*.

Варто зазначити, що всі три види сальмонел характеризуються високою рухливістю, що свідчить про наявність у них добре розвинених джгутиків – повер-

хневих органел руху бактерій, які головним чином складаються з білків. Деякими вченими було встановлено, що вони володіють високою антигенністю та імуногенністю (Busol et al., 2010). Проте ці структури є дуже лабільними. Їхня кількість на поверхні бактеріальної клітини, як і тривалість перебування на поверхні бактеріальної клітини, залежить від багатьох факторів, зокрема генетичних та фенотипових (склад середовища, температурні умови інкубування, фаза її розвитку культури тощо) (Mandyhra et al., 2015).

Для цього у низці попередніх дослідів, результати яких ми ще не публікували, нами було вивчено вплив аерації, складників середовища та фазових періодів культур сальмонел на їхню рухову активність та загальну концентрацію мікробної маси. Було встановлено, що найвища рухова активність сальмонел перебуває в дуже короткому часовому інтервалі з точки зору тривалості інкубування культур. В період найвищої рухової активності сальмонел концентрація їх в культурі зазвичай на цілий логарифм нижча від кінцевої, тобто у фазу відмирання культури.

Тому при конструюванні протисальмонельозних вакцин нам довелося робити вибір – інактивацію культур сальмонел проводити у пік їх найвищої рухової активності чи у фазу відмирання, коли культура досягне максимальної концентрації мікробної маси, але рухова активність сальмонел тоді буде зведена нанівець. Перевагу у цьому виборі ми віддали фактору найвищої рухової активності сальмонел, зрозуміло, що при цьому ми суттєво втрачали на виході загальної бактеріальної маси, а можливо, й екзотоксинів, які продукують сальмонели в процесі росту і особливо при відмиранні клітин.

Підставою для такого вибору були результати наших досліджень імуногенності та антигенності вакцинних препаратів. Нами тоді було встановлено, що вакцини, виготовлені на основі бактеріальних клітин, позбавлених джгутиків, мали значно нижчу імуногенну активність порівняно з тими, що як імуноген містили бактеріальні клітини, не позбавлені джгутиків, і тривалість імунітету була значно коротшою (Busol et al., 2010; Mandyhra et al., 2015).

Зрозуміло, що рівні антигенності вакцинних препаратів можуть не відповідати рівню імуногенності. Проте тісний корелятивний зв'язок між цими показниками доведений (Obukhovska et al., 2012). Тому у випадках, коли в силу тих чи інших причин немає можливості проводити паралельне визначення імуногенності та антигенності нових експериментально-дослідних серій вакцинних препаратів, то в більшості випадків орієнтуються на останній показник, використовуючи для цього одну чи дві із цих імунологічних реакцій – РА, РНГА, ІФА або РНІФ.

Зважаючи на те, що перші дві імунологічні реакції є простими у виконанні, недорогими за вартістю діагностиків та обладнання і характеризуються чіткою візуалізацією результатів реакції, у наших дослідях ми віддали їм перевагу. До того ж, готуючи антигени для обох реакцій, ми мали змогу дати порівняльну оцінку впливу поверхневих антигенів сальмонел (соматичного і джгутикового) на чутливість цих реакцій.

Так, моноантигени всіх трьох видів сальмонел, що були виготовлені на основі соматичних антигенних детермінант сальмонельозних клітин, виявили в РА низькі (1 : 74 – 1 : 717) титри аглютининів порівняно із моноантигенами, що були виготовлені на основі джгутиків та екзотоксинів сальмонел і використані в РНГА – 1 : 563 – 1 : 5734.

Порівнюючи результати, отримані з допомогою обох імунологічних реакцій, зауважуємо, що титри аглютининів у РА співвідносяться із титрами у РНГА як 1 : 11,7. Постає питання, що могло мати такий суттєвий вплив на візуалізацію цих двох, на перший погляд дуже подібних, імунологічних реакцій. Чим обумовлена така значна різниця у чутливості цих двох реакцій?

Очевидно, що не лише рівнями аглютининів, бо досліджувалися одні й ті ж сироватки паралельно в обох реакціях. Зрозуміло, що умови та експозиція взаємодії аглютининів та антигенів теж не могли так суттєво вплинути на показники обох реакцій, бо вони були застосовані в апробований для кожної реакції спосіб, коли обидва реагенти реакції найповніше взаємодіють між собою.

Ймовірно, що на кінцеві результати обох реакцій мали вплив властивості антигенних детермінант моноантигенів, що були використані у реакціях.

Як було зазначено у розділі “Матеріали і методи”, еритроцитарні діагностикими для РНГА були виготовлені на основі сенсibilізації танізованих еритроцитів білками джгутиків та екзотоксинів сальмонел. Вони виявляють значно вищі рівні сальмонельозних антитіл, ніж соматичні моноантигени цих же видів у РА, що в разі підвищує чутливість РНГА і можливість візуалізації її результатів.

З іншого боку, РНГА з використанням джгутикового або інших поверхневих антигенів сальмонел може служити ефективним інструментом для вивчення антигенної спорідненості польових ізолятів сальмонел із виробничо-контрольними штамми і тим самим бути інструментом під час конструювання аутогенних протисальмонельозних вакцин в епізоотичних вогнищах сальмонельозу.

Таким чином, РНГА для оцінки антигенності сальмонельозних вакцин на етапі їх розробки чи виробничого випробування, а також з метою серологічного моніторингу рівня сальмонельозних антитіл в стадах птиці, щепленої проти сальмонельозу, з погляду на її чутливість, показовість та об'єктивність є значно ефективнішою імунологічною реакцією порівняно із РА.

Висновки

1. Обидві імунологічні реакції (РА і РНГА) виявили високий рівень кореляції за визначення титрів аглютининів, а тому можуть бути використані для оцінки антигенності вакцинних препаратів, а також з метою серологічного моніторингу рівня сальмонельозних антитіл в стадах птиці, щепленої проти сальмонельозу, виявлення антигенної спорідненості окремих видів та ізолятів сальмонел.

2. Застосування білків джугутикового антигену та анатоксину сальмонел для сенсibilізації еритроцитів при виготовленні еритроцитарного сальмонельозного діагностикуму суттєво підвищило чутливість РНГА порівняно із РА.

3. РНГА як метод серологічного моніторингу поствакцинальних сальмонельозних антитіл у щепленої птиці є чутливішою та економічно вигіднішою, бо не потребує значних витрат як діагностикуму, так і розхідних матеріалів, а отже ефективнішою, ніж РА.

Перспективи подальших досліджень:

1. Вивчення тривалості напруження імунітету у щепленої сальмонельозними вакцинами птиці за показниками рівня аглютининів.

2. Проведення імунологічного скринінгу за рівнем аглютининів у сироватці крові неімунізованої птиці м'ясних і яйценосних стад до моноантигенів епідемічно значущих видів сальмонел.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Boelaert, F. (2019). The stalled Salmonella situation in EU and assessment of current EU reduction targets. 24th EURL-Salmonella Workshop. 28-29 May 2019. URL: https://www.eurlsalmonella.eu/sites/default/files/2019-06/2%20Frank%20EFSA_Salm_sit_ass%20190528.pdf.
- Boiko, O. P., Boiko, P. K., Voloshyn, R. V., Kurtiak, B. M., Pundiak, T. O., Romanovych, M. S., & Sobko, H. (2018). Porivnialna kharakterystyka napruzhenosti epizootychnoi ta epidemichnoi sytuatsii shchodo salmonelozu na terytorii Lvivskoi oblasti. *Veterynarna biotekhnolohiia*, 32(2), 51–60. URL: http://vetbiotech.kiev.ua/volumes/JRN32/2_7.pdf (in Ukrainian).
- Boiko, P. K., Sen, O. M., Pundiak, T. O., & Sobko, H. V. (2014). Osoblyvosti kontroliu epizootychnoho protsesu za salmonelozu ptytsi u ptakhivnychkh gospodarstvakh Ukrainy. *Naukovyi visnyk LNUVMB imeni S. Z. Gzhytskoho*, 16(3(60)), 58–64 (in Ukrainian).
- Busol, V. O., Boiko, P. K., & Boiko, O. P. (2010). Kharakterystyka postvaksynalnoho imunitetu u tvaryn, shcheplynykh vaksynoiu “EMKARVAK”. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii im. S. Z. Gzhytskoho*, 12(2(44)), 28–35. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2010_12_2%281%29_8 (in Ukrainian).
- European Food Safety Authority (2021). The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, 19(2), e6406. DOI: 10.2903/j.efsa.2021.6406.
- Foley, S. L., Lynne, A. M., & Nayak, R. (2008). Salmonella Challenges: Prevalence in Swine and Poultry and Potential Pathogenicity of Such Isolates. *J Anim Sci.*, 86, E149–162. DOI: 10.2527/jas.2007-0464.
- Gourishankar, A. (2021). Geospatial analysis of salmonellosis and its association with socioeconomic status in Texas. *Fam Med Community Health*, 9(4), e001214. DOI: 10.1136/fmch-2021-001214.
- Halka, I. V., Muzykina, L. M., Mandyhra, S. S., Chekhun, A. I., Sydorenko, T. V., & Kravtsova, O. L. (2019). Poshyrennia salmonelozu tvaryn ta ptytsi v Ukraini u 2015–2018 rokakh. *Veterynarna biotekhnolohiia*, 35, 22–29. DOI: 10.31073/vet_biotech35-03 (in Ukrainian).
- Harkavenko, T. O., Andriiashchuk, V. O., Horbatiuk, O. I., Kozytyska, T. H., Musiits, I. V., & Harkavenko, V. M. (2021). Rezultaty bakteriolozhichnykh doslidzhen ta spektr serolozhichnykh variantiv salmonel, vydilyenykh iz kharchovykh produktiv tvarynnoho pokhodzhennia, v Ukraini za period 2016–2020 rr. *Veterynarna biotekhnolohiia*, 39, 29–43. DOI: 10.31073/vet_biotech39-03 (in Ukrainian).
- Huang, S., Rong, X., Liu, M., Liang, Z., Geng, Y., Wang, X., Zhang, J., Ji, C., Zhao, L., & Ma, Q. (2022). Intestinal Mucosal Immunity-Mediated Modulation of the Gut Microbiome by Oral Delivery of Enterococcus faecium Against Salmonella Enteritidis Pathogenesis in a Laying Hen Model. *Front. Immunol*, 13, 853954. DOI: 10.3389/fimmu.2022.853954.
- Ianko, N. V., Boiko, O. P., & Kraivanovych, N. (2018). Features of the Epidemic Process of Salmonellosis in Ukraine Based on the Example of Volyn Oblast. Third Annual BTRP Ukraine Regional One Health Research Symposium and Peer review Session, 62. URL: <https://swmprogramua.com/wp-content/uploads/2018/04/2018-swmp-symposium-abstract-index-lowres-final.pdf>.
- Kuczowski, M., & Wieliczko, A. (2015). Immunoprofilaktyka salmoneloz u drobiu. *Życie Weterynaryjne*, 90(1), 28–32. URL: <https://www.vetpol.org.pl/dmdocuments/ZW-01-2015-3.pdf>.
- Larock, D. L., Chaudhary, A., & Miller, S. I. (2015). Salmonellae Interactions With Host Processes. *Nat Rev Microbiol*, 13, 191–205. DOI: 10.1038/nrmicro3420.
- Mandyhra, M. S., Boiko, P. K., & Boiko, O. P. (2015). Metodychni pidkhody do konstruiuvannia bakterialnykh vaksyn na prykladi inaktyvovanykh vaksyn proty emfizematoznoho karbunkulu. *Veterynarna medytsyna: mizhvidomchyi tematychnyi naukovyi zbirnyk*, 101, 211–214. URL: http://jvm.kharkov.ua/sbornik/101/10_62.pdf (in Ukrainian).
- Methner, U. (2007). Vaccination of poultry against Salmonella: what is the ideal vaccine strain? URL: https://www.cabi.org/Uploads/animal-science/worlds-poultry-science-association/WPSA-czech-republic-2007/8_Methner%20Ulrich.pdf.
- Milczarek, M., Sadkowska-Todys, M., Czarkowski, M. P., & Kitowska, W. (2019). Salmonellosis in Poland in 2017. *Przegl Epidemiol*, 73(4), 463–477. DOI: 10.32394/pe.73.44.
- Obukhovska, O. V., Stehni, B. T., Zavorodnii, A. I., Petrenchuk, E. P., Hliebova, K. V., Kriukova, N. V., & Vovk, S. I. (2012). Vyvchennia imunohennykh ta protektyvnykh vlastyvostei eksperymentalnykh serii inaktyvovanykh vaksyn proty salmonelozu ptytsi. *Veterynarna medytsyna*, 96, 166–168 (in Ukrainian).

- Plitov, I. S. (2011). Indikacija patogennyh bakterij, cirkulirujushhijh v pticevodcheskih hozjajstvah. *Probl. vet. sanitarii, gigieny i jekologii*, 1(5), 63–65 (in Russian).
- Shivaprasad, H. L., Timoney, J. F., Morales, S., Lucio, B., & Baker, R. C. (1990). Pathogenesis of Salmonella Enteritidis Infection in Laying Chickens. I. Studies on Egg Transmission, Clinical Signs, Fecal Shedding, and Serologic Responses. *Avian Dis*, 34, 548–557. DOI: 10.2307/1591243.
- Singh, A. K. (2020) Vaccination in commercial poultry (layers, breeders & broilers). URL: <https://www.pashudhanpraharee.com/vaccination-in-commercial-poultry-layers-breeders-broilers>.
- Wideman, N., Bailey, M., Bilgili, S.F., Thippareddi, H., Wang, L., Bratcher, C., et al. (2016). Evaluating Best Practices for Campylobacter and Salmonella Reduction in Poultry Processing Plants. *Poultry Sci*, 95, 306–315. DOI: 10.3382/ps/pev328.
- Zarytskyi, A. M. Hlushkevych, T. H., & Bubalo, V. O. (2016). Aktualnist salmoneloziv v Ukraini. *Infektsiini khvoroby*, 13(85), 5–9. DOI: 10.11603/1681-2727.2016.3.6881 (in Ukrainian).