



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

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies

ISSN 2518–7554 print
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9208
<http://nvlvet.com.ua>

UDC 636:579.887.111.636.5

Comparative assessment of the antigenity of autogenic vaccine against salmonellosis in the RA and RG

O.P. Boiko¹, B.M. Kurtiak², T.O. Pundiak², P.K. Boiko¹, O.M. Sen'³, M.S. Romanovych², G.V. Sobko²

¹Experimental Station of Epizootology of the Institute of Veterinary Medicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Rivne, Ukraine

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

³Institute of Veterinary Medicine, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Article info

Received 12.10.2018
Received in revised form
13.11.2018
Accepted 14.11.2018

Experimental Station of
Epizootology of the Institute of
Veterinary Medicine of the
National Academy of Sciences of
Ukraine, 18, Prince
Volodymyr St., Rivne,
33028, Ukraine.
E-mail: lbop_ua@gmail.com

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

Institute of Veterinary Medicine,
National Academy of Sciences of
Ukraine, Donetsk, 30, Kyiv,
03151, Ukraine.

Boiko, O.P., Kurtiak, B.M., Pundiak, T.O., Boiko, P.K., Sen', O.M., Romanovych, M.S., & Sobko, G.V. (2018). Comparative assessment of the antigenity of autogenic vaccine against salmonellosis in the RA and RG. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, 20(92), 41–45. doi: 10.32718/nvlvet9208

The results of the comprehensive approach to the diagnosis, general and special measures for the elimination of the infection center for the outbreak of *Salmonella* in calves in one of the large dairy farms in the Volyn region are presented. The use of classical diagnostic methods using modern environments and approaches made it possible to isolate and identify two types of *Salmonella* Typhimurium and *S. dublin*. Antibiotic therapy of calves for salmonellosis was carried out with labeled antibiotics in combination with medicinal products of symptomatic nature. Forced current and final disinfection of cages and whole calf, as well as wicker yards and cows were carried out with a 0.1% solution of the new disinfection preparation "Epydes", created on the basis of derivatives of polyhexamethylguanidine (PGMG), at a rate of 0.3 l/m². For a specific prevention of salmonellosis, we designed our two series of autogenic vaccines from isolated strains of salmonella, the difference between which was the choice of adsorbent. The study of the tension of humoral immunity in cats and calves vaccinated against salmonellosis in agglutination and indirect hemagglutination reactions revealed high levels of antibodies to immunogens that were part of two experimental autopsy series of autogenic vaccines. In this case, the immune response to the antigens of the Typhimurium was higher than that of Dublin antigens. Titres of antibodies from cats and calves vaccinated with a vaccine in which the aerosol was used as an adsorbent were higher than those for a vaccine in which an aluminum hydroxide was used as an adsorbent. The reaction of indirect agglutination showed several times the higher sensitivity to detect salmonella antibodies than the agglutination reaction, which is the basis for recommending it as an immunological method of tension of humoral immunity for animal salmonellosis. The comprehensive approach to diagnosis of disease, modern approaches to the treatment of calves with salmonella, the destruction of the pathogen in the environment and the modern approach to the immunization of the infection, made it possible to improve the economy throughout the year from salmonella caused by two types of salmonella.

Key words: salmonella, diagnostics, disinfection, vaccines, agglutination reaction, indirect hemagglutination reaction.

Порівняльна оцінка антигенності аутогенної вакцини проти сальмонельозу телят в РА і РНГА

О.П. Бойко¹, Б.М. Куртяк², Т.О. Пундяк², П.К. Бойко¹, О.М. Сень³, М.С. Романович², Г.В. Собко²

¹Дослідна станція епізоотології Інституту ветеринарної медицини НААН, м. Рівне, Україна

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

³Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ, Україна

У роботі наведено результати комплексного підходу до встановлення діагнозу, проведення загальних і спеціальних заходів із ліквідації вогнища інфекції за спалаху сальмонельозу в телят на одній із великих молочнотоварних ферм Волинської області. Застосування класичних методів діагностики з використанням сучасних середовищ та підходів дало можливість виділити та ідентифікувати два види сальмонел – *Salmonella typhimurium* і *S. dublin*. Антибіотикотерапію хворих телят на сальмонельоз телят проводили підтитрованими антибіотиками в комплексі із лікарськими засобами симптоматичного характеру. Вимушену поточну і заключну дезінфекцію кліток і всього телятника, а також вигулних двориків і корівників проводили 0,1% розчином нового дезінфекційного препарату “Епідез”, створеного на основі похідних полігексаметиленгуанідину (ПГМГ), з розрахунку 0,3 л/м². Для специфічної профілактики сальмонельозу нами застосовано сконструйовані нами дві серії аутогенних вакцин із виділених штампів сальмонел, відмінність між якими полягала у виборі адсорбента. Вивченням напруженості гуморального імунітету у щеплених проти сальмонельозу корів і телят в реакціях аглютинації та непрямой гемаглютинації встановлено високі рівні антитіл до імуногенів, що входили до складу двох експериментально-дослідних серій аутогенних вакцин. При цьому імунна відповідь до антигенів Тифімуриум була вищою, ніж як до антигенів Дублін. Титри антитіл у корів і телят, щеплених вакциною, в якій як адсорбент використано аеросил, були вищими, ніж такі до вакцини, в якій як адсорбент використано гідроксид алюмінію. Реакція непрямой аглютинації показала в декілька разів вищу чутливість для виявлення сальмонельозних антитіл, ніж реакція аглютинації, що є підставою для рекомендування її як імунологічного методу напруженості гуморального імунітету за сальмонельозу тварин. Комплексний підхід до діагностики хвороби, сучасні підходи до терапії хворих на сальмонельоз телят, знищення збудника в об'єктах довкілля та сучасний підхід до імунопрофілактики інфекції дали змогу впродовж року оздоровити господарство від сальмонельозу, спричиненого двома видами сальмонел.

Ключові слова: сальмонельоз, діагностика, дезінфекція, вакцини, реакція аглютинації, реакція непрямой гемаглютинації

Вступ

Здоров'я людини та тварин, безпечність харчових продуктів, харчування нерозривно пов'язані між собою. Сальмонельоз є однією з чотирьох основних причин найпоширеніших діарейних хвороб у всьому світі, що спричиняються нездоровою їжею ([Who Estimates Of The Global Burden..., 2015](#)). В Україні сальмонельоз людей реєструють в усіх регіонах з різною інтенсивністю ([Iakubchak and Kobysch, 2012](#); [Kysliak, 2017](#)). В останні роки рівень захворюваності населення коливався в межах 19,49–52,65 випадків на 100 тис. населення і має тенденцію до зростання ([Zarytskyi et al., 2016](#); [Informatsiyni biuleten pro rozpovsiudzhenist salmonel ..., 2016](#)).

Майже у 90% випадків сальмонельозних токсикоінфекцій фактором передачі збудника є м'ясо, яйця, молоко та продукти з них ([Ściepiń-Pyśniak, 2010](#); [Methner, 2012](#); [Harkavenko et al., 2015](#); [Gonçalves-Tenório et al., 2018](#)). Тому актуальність контролю сальмонельозної інфекції в гуманній та ветеринарній медицині, незважаючи на детально регламентовані правила діагностики, методи боротьби і заходи профілактики, не зменшується ([Who Estimates Of The Global Burden..., 2015](#); [Informatsiyni biuleten pro rozpovsiudzhenist salmonel ..., 2016](#); [Zarytskyi et al., 2016](#)). Особливо, коли йдеться про спалахи захворювання серед популяції продуктивних сільськогосподарських тварин. Спалах сальмонельозу телят на молочнотоварній фермі одного із великих виробників молока у Волинської області став підставою для науково-виробничого випробування сучасних підходів до ефективного контролю епізоотичного процесу за сальмонельозу великої рогатої худоби.

Матеріал і методи досліджень

В роботі використано клініко-епізоотологічні, патологоанатомічні, гістологічні, бактеріологічні, біохімічні, імунологічні та статистичні методи дослідження. Для гістологічного дослідження шматочки паренхіматозних органів фіксували у 10% формаліні; фарбування парафінових зрізів проводили гематоксилін-

еозином ([Who Estimates Of The Global Burden..., 2015](#); [Informatsiyni biuleten pro rozpovsiudzhenist salmonel ..., 2016](#); [Zarytskyi et al., 2016](#)). Бактеріологічне дослідження проводили за ДСТУ – 4769:2005 та ISO 6579-1:2017. Для передзбагачення застосовували забуферену пептонну воду (режим інкубування: +37 °C 18–20 год); селективне збагачення здійснювали на напіврідкому агарі Раппапорта Василадіса з новобіоцином (+41,5 °C 24–48 год), для селективного виділення сальмонел використовувала ксилозо-лізіндезоксихолат лактозний агар (КЛД) (Himedia LTD., India). Типізацію виділених культур проводили за культурально-біохімічними властивостями та антигенною структурою. Біохімічну ідентифікацію проводили з допомогою комерційних реагентів та середовищ, (Himedia LTD., India), а Антигенну ідентифікацію – у реакції аглютинації на склі з допомогою моноклональних специфічних сироваток для соматичних О- та джгутикових Н- антигенів (“Sifin”, Germany) ([DSTU 4769:2007](#); [ISO 6579:1-2017](#)).

Дві експериментально-дослідні серії вакцин проти сальмонельозу – емульсована інактивована формаліном і концентрована гідроксидом алюмінію (вакцина №1); емульсована інактивована концентрована аеросилом А-300 (вакцина № 2) – готували за власною методикою, спираючись на дані ряду авторів ([Holovko and Ushkalov, 1997](#); [Ushkalov, 2002](#); [Golovko et al., 2007](#)).

Накопичення бактеріальної маси сальмонел вели на триптон-соевому дріжджовому бульйоні (ТСДА) за 37 °C у спеціально змонтованих реакторах із активною аерацією культури стерильним повітрям, яке поступало на дно реактора і, піднімаючись вгору, рівномірно перемішувало культуру. Інактивацію проводили нейтральним формаліном з розрахунку 0,2% формальдегіду у момент, коли за повторного дослідження культури приріст концентрації мікробних тіл не перевищував $10 \pm 3\%$. Аерацію культури продовжували ще впродовж 24 год для того, щоб пройшла більш повно інактивація. Наступний етап інактивації відбувався без аерації, але за постійного періодичного перемішування культури впродовж 48 год. Адсорбували і концентрували розчинні та корпускулярні ан-

тигени інактивованих культур з допомогою аеросилу й гідроксиду алюмінію з розрахунку 3 мг адсорбенту на 1 мл анакультури. Адсорбування тривало 48 год за періодичного помішування; осідання – 48 год. Після цього із адсорбованої анакультури декантували надосадову рідину з таким розрахунком, щоб після додавання поверхнево активної речовини та емульгатора концентрація мікробних тіл у кожній вакцині становила 5×10^9 м.т./см³ кожного імуногену. До фасування вакцини досліджували на фізичні показники (стійкість емульсії та її в'язкість), а після фасування – на стерильність, нешкідливість, ареактогенність та імуногенність (Radchenko, 1991; Ivchenko and Sharandak, 2007).

Імунологічні дослідження сироватки крові для встановлення напруженості імунітету за показниками рівня поствакцинальних антитіл визначали у РА і РНГА. РА ставили у полістиролових планшетах в об'ємі 1 см³; як антиген використовували 2-мільярдні суспензії триразово відмитих фосфатно-сольовим буфером формалінованих 18-годинних культур сальмонел, вирощених на ТСДА (Radchenko, 1991). РНГА ставили у полістиролових планшетах (плашках) в об'ємі 0,1 см³ з допомогою мікротитратора Такачі; як антиген використовували сенсibilізовані розчинним антигеном сальмонел танізовані еритроцити барана (Zimmerman et al., 1968; Wray et 1975; Kurtiak et al., 2013).

Результати та їх обговорення

Спалах сальмонельозу спостерігали у телят віком 25–30 діб; захворіло 9, загинуло 3 телят; інкубаційний період тривав 1–3 доби, а перебіг захворювання – гострий (2–7 днів).

Епізоотологічним розслідуванням із застосуванням бактеріологічного дослідження було встановлено, що ймовірним фактором занесення збудника інфекції був заміник цільного молока.

Клінічні ознаки: загальне пригнічення, втрата апетиту, тремор м'язів, прискорене дихання та серцебиття; пронос, підвищення температури тіла до 40,8–41,8 °С.

Патологоанатомічно виявлено ознаки зневоднення організму та ознаки сепсису, про що свідчили гіперплазія лімфовузлів, гострий дифузний серозно-катаральний гастроентероколіт із помітним дифтеретично-проліферативним ураженням пейєрових пляшок і солітарних фолікулів товстого кишечника, дистрофія паренхіматозних органів, ознаки геморагічного діатезу.

Гістологічно в печінці виявляли вузлики двох типів: коагуляційно-некротичні й так звані паратифозні, що являють собою скупчення ретикулоцитів ендотеліальних елементів; дифтеретичний коліт і специфічні паратифозні гранульоми, що вважають патогномічною ознакою сальмонельозу, яка й була врахована нами.

Бактеріологічним дослідженням із фекалій від 9 клінічно хворих телят і патологічного матеріалу від 3

трупів телят виділено та ідентифіковано 2 види сальмонел – *Salmonella typhimurium* і *S. dublin*. Типізацію виділених ізолятів проводили за морфологічними ознаками, тинкторіальними, культуральними і біохімічними властивостями.

Обидва штами були вірулентними для білих мишей у дозі 0,2 см³ за підшкірного введення суспензії (1:10) патологічного матеріалу; загибель наступила через 36 год (*S. dublin*) і 58 год. (*S. typhimurium*).

Хворих телят лікували комплексно, застосовуючи симптоматичну терапію та підтитровані антибіотики до виділених ізолятів сальмонел.

Дезінфекцію приміщень, кліток і вигульних двориків проводили 0,1% розчином нового дезінфекційного препарату “Епідез”, який використовували з розрахунку 0,35 л/м² (Lysytsia et al., 2018). Контроль якості профілактичної і вимушеної дезінфекції проводили бактеріологічним методом за наявністю кишкової палички (Yakubchak et al., 2010).

Для специфічної профілактики сальмонельозу застосували дві експериментально-дослідні серії вакцини проти сальмонельозу, які були виготовлені нами із виділених штамів сальмонел: вакцина № 1 концентрована гідроксидом алюмінію; вакцина № 2 – концентрована аеросилом А-300; концентрація кожного імуногену в обох серіях вакцин становила 5×10^9 м.т./см³. Обидві вакцини були інактивовані формаліном та емульсовані.

Вакцину перед введенням підігрівали до 20–25 °С, збовтували і вводили внутрішньом'язово в ділянці середньої третини шиї телятам по 1,0 см³ (перше введення) і 2,0 см³ (друге) та коровам – по 2,0 см³; інтервал між введеннями 14 діб. Тільних корів вакцинували за 30–60 діб до отелу.

Телят, отриманих від невакцинованих корів, імунізували у віці 8–10 діб, а через 14 діб повторно, а телят від вакцинованих корів – у віці 17–20 діб, а через 14 діб повторно.

З метою встановлення напруженості гуморального імунітету до антигенів вакцинних штамів сальмонел ми дослідили сироватки крові щеплених корів і телят. Кров для дослідження брали на 14-й день після повторного введення вакцини. У сироватці крові визначали рівні антитіл у РА до моноантигенів Дублін і Тифімуріум та в РНГА – із еритроцитарними діагностикумами, які були сенсibilізовані розчинними антигенами *S. dublin* і *S. typhimurium*. Результати досліджень наведено у табл. 1.

Аналізуючи дані табл. 1 можна зробити декілька висновків.

Зокрема, титри аглютинінів у сироватці крові тварин, щеплених вакциною № 1 і № 2, були досить високими і становили відповідно $1:800 \pm 240$ – $1:1120 \pm 240$ (у корів) і $1:520 \pm 150$ – $1:960 \pm 315$ (у телят). Це є свідченням того, що живильне середовище, взятє для нарощування мікробної маси, дало можливість оптимально розкрити антигенні детермінанти обох штамів.

Таблиця 1

Рівні сальмонельозних антитіл в РА і РНГА до антигенів *S. dublin* і *S. typhimurium* в сироватці крові телят і корів, щеплених експериментально-дослідними серіями бівалентної інактивованої вакцини проти сальмонельозу

Експериментально-дослідні серії вакцини	Група тварин	Титри сальмонельозних антитіл в			
		РА до антигенів		РНГА до антигенів	
		Дублін	Тифімуриум	Дублін	Тифімуриум
№ 1	Корови, n = 8	1:800 ± 240*	1:880 ± 300**	1:3200 ± 800*	1:3520 ± 930*
	Телята, n = 8	1:520 ± 150*	1:600 ± 70*	1:2880 ± 560*	1:3200 ± 1005*
№ 2	Корови, n = 8	1:960 ± 270*	1:1120 ± 240*	1:3840 ± 1320	1:4480 ± 1120*
	Телята, n = 8	1:880 ± 300**	1:960 ± 315**	1:3520 ± 1200	1:4160 ± 1360*
	Телята, n = 5	1:10 ± 2*	1:11 ± 3*	1:48 ± 3*	1:56 ± 2*

Примітка: * – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$

З іншого боку, не менш важливим є вибір інактиватора. Відомо, імуногенні та антигенні властивості сальмонел, головним чином, детермінуються джгутиковим антигеном (Sieburth, 1957; Mandyhra et al., 2015). Джгутики бактерій найкраще зберігаються, коли для інактивації активно ростучої культури застосовують формальдегід. Очевидно, ці фактори, що були використані нами під час конструювання вакцин, відіграли визначальну роль у розкритті антигенної активності обох вакцинних препаратів.

Принагідно варто зазначити, що вибір адсорбенту теж впливає на антигенність вакцин. Так, вакцинний препарат № 1, в якому як адсорбент використано гідроксид алюмінію, мав на 7–10% нижчу антигенну активність порівняно з препаратом № 2 як в РА, так і в РНГА. Очевидно, це пов'язано з мікроструктурою адсорбентів – частинки оксиду кремнію в аеросилі є значно дрібніші, що й забезпечує їм більшу поверхню адсорбування, а отже й тим самим тривалішу й інтенсивнішу антигенну та імуногенну дію на імунокомпетентні клітини організму.

Варто зазначити, що титри антитіл до моноантигенів Тифімуриум як у РА, так і в РНГА були вищими порівняно із такими до моноантигену Дублін. Ця відмінність, на нашу думку, пов'язана з відмінністю у поверхневій будові антигенних детермінант обох штамів, але не їх екзотоксинів, тому що під час виготовлення монодіагностиків як для РА і РНГА суспензії мікробних клітин робочих штамів сальмонел ми неодноразово відмивали фосфатно-сольовим буфером. На нашу думку, це зводило нанівець вплив екзотоксинів на прояв обох реакцій.

І насамкінець, є дуже вираженою відмінність у чутливості між обома реакціями – титри антитіл в РНГА у 3 і більше раз є вищою, ніж у РА. При цьому ця відмінність у чутливості реакцій проявилася на результатах дослідження сироваток крові як від корів, так і від телят.

Зважаючи на те, що між рівнями антитіл до моноантигенів Тифімуриум і Дублін, що ми їх виявляли з допомогою РА, і такими до моно діагностиків робочих штамів сальмонел у РНГА, виявлена тісна кореляція ($r > 0,9$), ми вважаємо, що РНГА можна з успіхом і більшою наглядністю застосовувати для оцінки напруженості гуморального імунітету за рівнем поствакцинальних антитіл у сироватці крові.

Якщо би можна було оцінювати рівень напруженості імунітету проти сальмонельозу за рівнем аглютинінів, що ми їх виявили з допомогою РА і РНГА, то у цьому випадку можна стверджувати, що обидві вакцини – № 1 і № 2 стимулювали по всьому прошарку щеплених тварин (корів і телят) 100% імунітет.

Щеплення корів і телят проти сальмонельозу, яке тривало впродовж року, а також проведення заходів загальної профілактики, в т. ч. й текучої та заключної дезінфекції, яку проводили дезінфекційним засобом “Епідез”, дало можливість оздоровити господарство від сальмонельозу.

Висновки

1. Спалах сальмонельозу телят свідчить про існування епізоотичного процесу сальмонельозу тварин в регіоні.
2. Комплексний підхід є запорукою ефективної діагностики захворювання.
3. Виділення та ідентифікація двох сероварів сальмонел (*Salmonella enterica* subsp. *enterica*) Typhimurium та Dublin свідчить про можливість одночасної циркуляції двох видів сальмонел в одному епізоотичному вогнищі.
4. Експериментально-дослідні вакцини проти сальмонельозу, в яких як імуногени було використано анатоксини та інактивовані мікробні клітини обох аутогенних штамів сальмонел, проявили високі антигенні властивості, що підтверджено в РА і РНГА.
5. Для виявлення рівнів гуморальних антитіл у сироватці крові щеплених проти сальмонельозу тварин РНГА виявилася значно чутливішою, ніж РА, а тому є високочутливим тестом оцінки антигенності сальмонельозних вакцин і перспективним лабораторним методом контролю епізоотичного процесу за сальмонельозу тварин.
6. Застосування двох експериментально-дослідних серій вакцини (емульсованих інактивованих і концентрованих гідроксид алюмінієм (№ 1) і аеросилом А-300 (№ 2), в яких як імуноген було використано анатоксини та корпускулярні антигени двох аутогенних штамів сальмонел, дало можливість ефективно ліквідувати спалах сальмонельозної інфекції телят.

Перспективи подальших досліджень полягають у розробці нових підходів до конструювання аутоген-

них вакцин проти сальмонельозу тварин та методів контролю їхньої імуногенності.

References

- Who Estimates Of The Global Burden Of Foodborne Diseases World Health Organization (2015). WHO/FOS/15.02 http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/200046/WHO_FOS_15.02_eng.pdf?sequence=1.
- Iakubchak, O.M., & Kobys, A.I. (2012). Salmonella enteritidis – zbudnyk emerdzhentnoi kharchovoi toksykoinfek-tsii. Suchasne ptakhivnytstvo, 7, 9–13. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Sps_2012_7_4 (in Ukrainian).
- Kysliak, I.I. (2017). Stan epidnahliadu za salmonelozom v Ukraini. Naukovi dopovidy Rehionalnoho Na-ukovoho Sympoziumu v ramkakh kontseptsii “Iednye zdorovia”, Kyiv (in Ukrainian).
- Informatsiyni biuleten pro rozpovsiudzhennist salmonel sered liudei (khvorykh ta nosiiv) ta v obiektakh seredovyscha zhyttiedialnosti liudyny na terytorii Ukrainy u 2015 rotsi (2016): informatsiyni lyst. K.: DZ “Tsentralna sanitarno-epidemiologichna stantsiia” MOZ Ukrainy (in Ukrainian).
- Zarytskyi, A.M., Hlushkevych, T.H., & Bubalo, V.O. (2016). Aktualnist salmonelozu v Ukraini i perspektyva borotby z nym. Infektsiini Khvoroby, 3(85), 5–9. http://nbuv.gov.ua/UJRN/InfKhvor_2016_3_3 (in Ukrainian).
- Gonçalves-Tenório, A., Silva, B.N., Rodrigues, V., Cadavez, V., & Gonzales-Barron, U (2018). Prevalence of Pathogens in Poultry Meat: A Meta-Analysis of European Published Surveys. Foods, 7(5). pii: E69. doi: 10.3390/foods7050069.
- Methner, U. (2012). Vaccination of poultry against Salmonella: what is the ideal vaccine strain? URL: https://www.salmonella360.com/site/fromassets/100_2312_140517191905.pdf.
- Harkavenko, T.O., Mekh, N.Ia., & Movchun, O.M. (2015). Faktory shcho spryiaut rozvytku salmonely v kuriachykh yaitsiakh za yikh ekzohennoi kontami-natsii. Veternarna medytsyna Ukrainy, 4, 9–12 (in Ukrainian).
- Stępień-Pyśniak, D. (2010). Occurrence of Gram-negative bacteria in hens' eggs depending on their source and storage conditions. Polish Journal of Veterinary Sciences, 13(3), 507–513. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21033566>.
- DSTU 4769:2007. Bakteriologichne doslidzhennia patologicznego materialu vid tvaryn. Metody vyivlennia salmonel (in Ukrainian).
- ISO 6579:1-2017 (E). Mikrobiologhiia kharchovoho lantsiuha. Horyzontalniy metod pidra-khunku ta serologichnoho typuvannia Salmonella. Vyivlennia Salmonella spp. (in Ukrainian).
- Ushkalov, V.O. (2002). Zasoby spetsyfichnoi profilaktyky salmonelozu tvaryn (teoretychne obhruntuvannia, rozrobka ta vprovadzhennia). Avtoref. dys. d-ra vet. nauk. Kharkiv, 40 (in Ukrainian).
- Holovko, A.M., & Ushkalov, V.O. (1997). Problema infektsiinykh zakhvoriuvan novonarodzhennykh teliat ta deiaki eta-py na shliakhu yikh rozv'iazannia (dosvid IEKVM). Vet. medytsyna Ukrainy, 10, 6 (in Ukrainian).
- Golovko, A.M., Ushkalov, V.A., & Skrypnyk, V.G. (2007). Mikrobiologicheskies i virusologicheskies metody issledovaniy v vete-rinarnoy laboratorii (spravochnoe posobie). Pod red. A.M. Golovka. H.: “NTMT” (in Russian).
- Ivchenko, V.M., & Sharandak, V.V. (2007). Metody imunologichnykh doslidzen v laboratoriiakh veterynarnoi medytsyny. Metodichni rekomendatsii dlia likariv-imunologiv laboratorii veterynarnoi medytsyny. Bila Tserkva: BTsDAU (in Ukrainian).
- Radchenko, V.A. (1991). Immunogennaja aktivnost' formolvakciny dlia kur, prigotovlennoj iz S. enteritidis. Aktual'nye problemy veterinarii. Tezy dokladov nauch. konferencii prof.-predavatel'skogo sostava LVI. L.: LVI, 77–78 (in Russian).
- Kurtiak, B.M., Boiko, O.P., & Pundiak, T.O. (2013). Zastosuvannia reaktsii ahliutynatsii ta nepriamoi imuno-fluorescentsii dlia retrospektyvnoi diahnostyky salmonelozu velykoi rohatoi khudoby: metod. rekomendatsii dlia spetsialistiv veterynarnoi medytsyny, naukotsiv ta studentiv. Lviv (in Ukrainian).
- Zimmerman, R.A., Mathews, J., & Wilson, E. (1968). Microtiter Indirect Hemagglutination Procedure for Identification of Streptococcal M-Protein Antibodies. Appl Microbiol., 16(11), 1640–1645. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4881952>.
- Wray, C., Morris, J.A., & Sojka, W.J. (1975). A comparison of Indirect Haemagglutination Tests and Serum Agglutination Tests for the Serological Diagnosis of Salmonella Dublin Infection in Cattle British. British Veterinary Journal, 131(6), 727–737. doi: 10.1016/S0007-1935(17)35145-X.
- Lysytsia, A.V., Mandyhra, Yu.M., & Boiko, O.P. (2018). Polimerni pokhidni huanidynu, yikh vlastyvosti ta vplyv na biolohichni obiekty: monohrafiia. Kherson: Oldi-Plius (in Ukrainian).
- Yakubchak, O.M., Khomenko, V., & Kovalenko, V.L. (2010). Veternarna dezinfektsiia: (instruktsiia ta metod. rekomendatsii). K.: Kompaniia Bioprom (in Ukrainian).
- Mandyhra, M.S., Boiko, P.K., & Boiko, O.P. (2015). Metodichni pidkhody do konstruiuvannia bakterialnykh vaksyn na pryk-ladi inaktyvovanykh vaksyn proty emfizematoznoho karbunkulu. Veternarna medytsyna: mizhvidomchyi tematychnyi naukovyi zbirnyk. Kharkiv, 101, 211–214. http://jvm.kharkov.ua/sbornik/101/10_62.pdf (in Ukrainian).
- Sieburth, J.N. (1957). Indirect Hemagglutination Studies on Salmonellosis of Chickens. J. Immunol., 78(5), 380–386. <http://www.jimmunol.org/content/78/5/380>.