

**ISPITIVANJE PRISUSTVA SPECIFIČNIH ANTITELA PREMA *SALMONELLA*
ENTERITIDIS KOD VAKCINISANE I NEVAKCINISANE ŽIVINE***
*EXAMINING THE PRESENCE OF SPECIFIC ANTIBODIES AGAINST SALMONELLA
ENTERITIDIS IN VACCINATED AND UNVACCINATED POULTRY*

Radojičić Marina, Marković Maja, Nišavić Jakov, Krnjičić Dejan,
Zdravković Nemanja**

Uvod. Naša ispitivanja su imala za cilj da ukažu na opravdanost primene seroloških dijagnostičkih metoda, odnosno kompetitivnog imunoenzimskog testa – cELISA i metode klasične aglutinacije O i H antigena salmonela za utvrđivanje prisustva i titra specifičnih antitela protiv *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Enteritidis u uzorcima krvnog seruma vakcinisane i nevakcinisane živine.

Materijal i metode. U radu su korišćeni komercijalni kompetitivni imunoenzimski test - cELISA i metoda klasične aglutinacije korišćenjem O i H antigena *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Enteritidis. Uporednim ispitivanjem obuhvaćeno je ukupno 177 uzoraka krvnog seruma živine poreklom od 137 nevakcinisanih i 40 vakcinisanih jedinki sa većeg broja živinarskih farmi.

Rezultati. Kod 74 uzorka krvnog seruma, odnosno 54,01% od ukupnog broja ispitanih uzoraka seruma živine iz nevakcinisanih jata, primenom cELISA ustanovljena su specifična antitela protiv *S. Enteritidis*, dok su metodom klasične aglutinacije specifična antitela protiv O antigena 1,9 i 12 utvrđena kod 58 uzoraka, tj. kod 42,34% ispitanih uzoraka, a specifična antitela protiv H antigena g i m ustanovljena kod 61 uzorka, što iznosi 44,53% od ukupnog broja ispitanih uzoraka poreklom od nevakcinisanih jedinki.

U svim ispitivanim uzorcima krvnih seruma vakcinisane živine utvrđeno je prisustvo specifičnih antitela protiv *S. Enteritidis* i to kako primenom kompetitivne cELISA metode tako i klasičnom aglutinacijom sa somatskim O i flagelarnim H antigenima. Statističkom analizom

* Rad primljen za štampu 19.04.2016.

** Dr Marina Radojičić, docent, Dr Maja Marković vanredni profesor, Dr Jakov Nišavić, vanredni profesor, Dr Dejan Krnjičić vanredni profesor, Dr Nemanja Zdravković istraživač saradnik., Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Katedra za mikrobiologiju, Beograd

rezultata dobijenih metodom klasične aglutinacije i cELISA primenom kapa testa ustanovljeno je vrlo dobro slaganje ($kappa=0,813$).

Zaključak. Na osnovu poređenja rezultata ispitivanja uzoraka krvnog seruma na prisustvo specifičnih antitela protiv *S. Enteritidis*, može se zaključiti da metode cELISA i klasična aglutinacija sa O i H antigenima zauzimaju značajno mesto u serološkoj dijagnostici salmoneloze živine jer se njihovom primenom omogućava otkrivanje prisustva i titra specifičnih antitela protiv *S. Enteritidis* u populaciji nevakcinisane živine senzibilisane antigenima navedenog uzročnika kao i kod vakcinisanih životinja.

Ključne reči: *Salmonella Enteritidis*, cELISA, test aglutinacije, krvni serum živine.

Uvod / Introduction

Infekcije životinja i ljudi izazvane salmonelama imaju značajno mesto u veterinarskoj i humanoj medicini jer predstavljaju stalni problem u zdravstvenoj zaštiti životinja i ljudi kao i u prehrambenoj industriji u celom svetu. Salmoneloze spadaju među najznačajnije zoonoze bakterijske etiologije i najčešće se javljaju kod ljudi kao posledica konzumiranja kontaminirane hrane (Babić-Dunjić i sar., 2005). Jedan od najčešćih izazivača salmoneloze ljudi i živine je *Salmonella enterica subspecies enterica serovar Enteritidis* (Biđin, 1993). Pomenuti uzročnik se često nalazi u digestivnom sistemu odrasle živine koja ne pokazuje klinički manifestne simptome oboljenja (Nurmi, 1997). Pored izlučivanja navedene bakterije iz inficiranog organizma u spoljašnu sredinu fecesom, veoma je značajno i njeno vertikalno, odnosno transovarijalno prenošenje na konzumna jaja i kokošije embrione (Keller i sar., 1995). Najčešći put infekcije ljudi sojevima *S. Enteritidis* je preko svežih jaja, proizvoda od jaja, mesa živine i prehrambenih proizvoda koji sadrže živinsko meso (Feld i sar., 2000). U mnogim evropskim zemljama primenjuje se stalni nadzor (monitoring) u kontroli jata živine (OIE, 2010). Iz tih razloga, nameće se potreba za pravovremenim otkrivanjem prisustva *S. Enteritidis* kod inficirane živine.

U Republici Srbiji se radi sprečavanja pojave, ranog otkrivanja, širenja, praćenja, suzbijanja ili iskorenjivanja zaraznih bolesti donosi Pravilnik o utvrđivanju Programa mera zdravstvene zaštite životinja koji je za 2016. godinu objavljen u Službenom glasniku RS broj 25/16 od 9. marta 2016. godine. Za mikrobiološki pregled na prisustvo salmonela uzimaju se uzorci poreklom od kokoši nosilja, jata živine za odgoj podmlatka, kao i iz jata tovnih pilića i inkubatorskih stanica u skladu sa Pravilnikom o utvrđivanju mera za rano otkrivanje, dijagnostiku, sprečavanje širenja, suzbijanje i iskorenjivanje infekcija živine određenim serotipovima salmonela objavljenom u Službenim glasniku RS broj 7/10 od 19. februara 2010. godine i 76/10 od 22. oktobra 2010. godine. Dijagnostika salmoneloze prema

navedenim Pravilnicima u Republici Srbiji se zasniva na izolaciji, identifikaciji i serotipizaciji izolata *Salmonella* spp. iz fecesa, mekonijuma, podložaka, uginulih pilića, neinkubiranih jaja, uginulih embriona, ljuske jaja, nazuvaka i briseva okoline, što pored neophodnih klasičnih metoda bakteriološke dijagnostike ukazuje na opravdanost korišćenja i seroloških dijagnostičkih metoda u otkrivanju prisustva infekcije u populaciji živine.

Ispitivanja u našem radu imala su za cilj da ukažu na opravdanost primene kompetitivne imunoenzimske probe – cELISA pored klasične serumske aglutinacije O i H antigenima *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Enteritidis u serološkoj dijagnostici salmoneloze živine kao i za praćenje imunološkog odgovora kod vakcinisanih životinja.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Prisustvo specifičnih antitela protiv *S. Enteritidis* ispitivano je u uzorcima krvnog seruma od živine različitih hibrida, starosnih i proizvodnih kategorija i imunološkog statusa, odnosno od jata nevakcinisane i vakcinisane živine protiv salmoneloze. Ukupan broj uzoraka krvnog seruma obuhvaćenih ispitivanjem iznosio je 177 i to 137 poreklom od nevakcinisanih i 40 od vakcinisanih jedinki sa većeg broja farmi živine.

Za ispitivanje prisustva specifičnih antitela protiv *S. Enteritidis* u uzorcima krvnog seruma živine primenom metode klasične aglutinacije korišćen je antigen prethodno pripremljen u laboratoriji za serologiju Katedre za mikrobiologiju prema poglavlju 2.9.9. OIE Terrestrial Manual (OIE Terrestrial Manual, 2010), a za pripremanje navedenog antigena korišćen je soj *S. Enteritidis* ATTC 13076. U ispitivanju prisustva specifičnih antitela protiv *S. Enteritidis* u krvnim serumima živine korišćen je kompetitivni cELISA Flock Check SE test proizvođača IDEXX (SAD).

Metoda klasične aglutinacije je izvođena prema proceduri propisanoj od strane OIE (Poglavlje 2.9.9., OIE Terrestrial Manual, 2010). Neposredno pre izvođenja titracije, ispitivani uzorci krvnog seruma su razređivani sterilnim fiziološkim rastvorom u odnosu 1:10. Pripremljena su dvostruka razređenja ispitivanih krvnih seruma u koncentracijama od 1:20 do 1:320 i u zapremini po 0,25 ml u epruvetama u koje je predhodno zasebno uliveno po 0,25 ml suspenzije O i H antigena *Salmonella* Enteritidis. Vrednosti titra specifičnih antitela od 1:20 ili više su smatrane pozitivnom reakcijom.

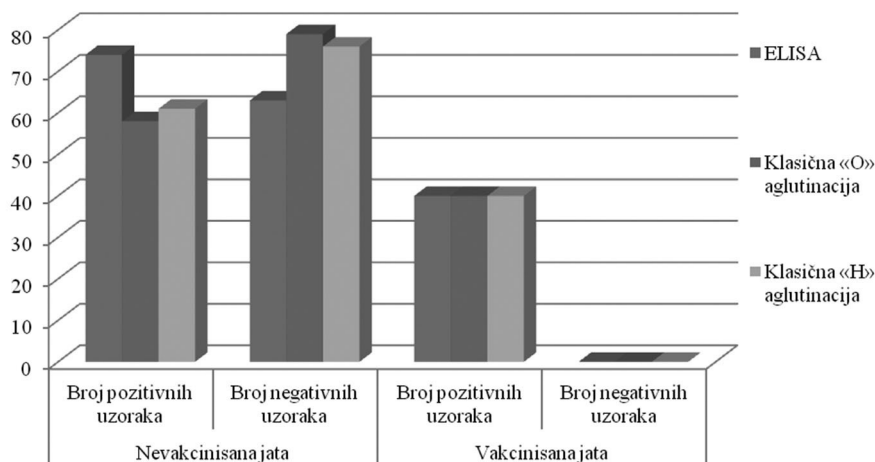
Izvođenje kompetitivnog imunoenzimskog testa – cELISA, čitanje i tumačenje dobijenih rezultata vršeni su prema uputstvu proizvođača uz korišćenje ELISA čitača za merenje adsorbance i filtera talasne dužine 650 nm. Svi uzorci su ispitivani u duplikatu, a dobijeni rezultati adsorbance su preračunavani primenom odgovarajućeg obrasca S/N tj. deljenjem srednje vrednosti adsorbance ispitivanog uzoraka (S) sa vrednošću adsorbance negativnog uzorka (N). Kada je dobijena

vrednost S/N bila veća ili jednaka 0,75 uzorak je tumačen kao negativan, a ukoliko se vrednost S/N odnosa kretala između 0,60 i 0,74 ispitivani uzorak je proglašavan sumnjivim i podvrgnut je ponovnom ispitivanju na prisustvo specifičnih antitela. Ukoliko je dobijena vrednost S/N bila manja ili jednaka 0,59, uzorak je označen kao pozitivan.

Za statističku analizu dobijenih rezultata ispitivanja korišćen je kappa test (<http://graphpad.com/quickcalcs/kappa1/>) i MedCalc kalkulator za određivanje nivoa osetljivosti i specifičnosti (https://www.medcalc.org/calc/diagnostic_test.php).

Rezultati i diskusija / Results and Discussion

Specifična antitela protiv *Salmonella* Enteritidis u uzorcima krvnog seruma nevakcinisane živine su metodom cELISA utvrđena u ukupno 74 uzorka (54,01%), dok su metodom klasične aglutinacije sa somatskim O i H antigenima ustanovljena u 58 (42,34%), odnosno 61 uzorku krvnog seruma (44,53%). Primenom obe metode ispitivanja, specifična antitela protiv *S. Enteritidis* ustanovljena su kod svih 40 uzoraka krvnog seruma vakcinisane živine (100%) (Grafikon 1).



Grafikon 1. Rezultati ispitivanja prisustva specifičnih antitela protiv *S. Enteritidis* u uzorcima krvnog seruma nevakcinisanih jata živine

Graph 1. Results of the testing the presence of specific antibodies against *S. Enteritidis* in blood serum samples of unvaccinated poultry flocks

Na osnovu poređenja rezultata ispitivanja uzoraka krvnog seruma živine na prisustvo specifičnih antitela dobijenih cELISA testom i metodama klasične aglutinacije sa O i H antigenima *Salmonella* Enteritidis, ustanovljeno je vrlo dobro slaganje rezultata dobijenih primenom navedenih seroloških testova ($kappa=0,813$). Pored toga, ustanovljena je vrlo značajna statistička razlika u prevalenciji *S. Enteritidis* među jedinkama poreklom iz vakcinisanih i nevakcinisanih jata ($p<0,01$) primenom sva 3 serološka testa (tabela 1).

Tabela 1. Rezultati ispitivanja prisustva titra antitela protiv somatskog O i flagelarnog H antigena *S. Enteritidis* u uzorcima krvnog seruma jedinki iz nevakcinisanih jata vakcinisanih primenom metode klasične aglutinacije

Table 1. Results of the testing the presence of antibody titres against somatic O and flagellar H antigene *S. Enteritidis* in blood serum samples of individuals from unvaccinated flocks, vaccinated by the method of classical agglutination

Nevakcinisana živina Unvaccinated poultry	Titar specifičnih antitela protiv O antigena <i>Titre of specific antibodies against O antigens</i>	Negativnih <i>Negative</i>	1:20	1:40	1:80	1:160
	Broj <i>Number</i>	79	0	20	29	9
	Titar specifičnih antitela protiv H antigena <i>Titre of specific antibodies against H antigens</i>	Negativnih <i>Negative</i>	1:20	1:40	1:80	1:160
	Broj <i>Number</i>	76	22	35	4	0
Vakcinisana živina Vaccinated poultry	Titar specifičnih antitela protiv O antigena <i>Titre of specific antibodies against O antigens</i>	Negativnih <i>Negative</i>	1:20	1:40	1:80	1:160
	Broj <i>Number</i>	0	25	13	2	0
	Titar specifičnih antitela protiv H antigena <i>Titre of specific antibodies against H antigens</i>	Negativnih <i>Negative</i>	1:20	1:40	1:80	1:160
	Broj <i>Number</i>	0	25	13	2	0

Izbor odgovarajućeg serološkog testa za praćenje i brzo otkrivanje prisustva specifičnih antitela protiv *S. Enteritidis* bio je predmet istraživanja mnogih autora, pre svega imajući u vidu da prisustvo antitela može da bude posledica infekcije ili vakcinacije protiv salmonela, ali i infekcije prouzrokovane drugim antigeni srodnim bakterijama. Serološke metode mogu da se primenjuju u identifikovanju inficiranih jata (Charles i sar., 1996), ali i preciznijem određivanju serogrupe ili serovarijeta salmonela koji je prouzrokovao infekciju (Barrow i sar., 1996).

Imunoenzimska metoda - ELISA ima široku primenu u detekciji niskih koncentracija specifičnih antitela u uzorcima krvnog seruma živine pozitivne na *S. Enteritidis* kao skrining test (Van Zijdervald, 1993; Velhner i sar., 2004). Ispitivanja danskih naučnika u okviru serološkog monitoringa salmoneloze takođe ukazuju na visoku specifičnost i osetljivost određenih ELISA testova (Feld i sar., 2000).

Kod pilića u prve dve do tri nedelje starosti je karakteristična imunološka reaktivnost na isključivo na flagelarne - H antigene, a kasnije na somatične - O, odnosno lipopolisaharidne antigene (LPS) *S. Enteritidis* (Gast i sar., 2002a). Pilići mogu da steknu specifični imunitet i pasivno preko žumancetne kesice u embrionalnoj fazi razvića, pri čemu prisustvo maternalnih antitela u njihovom

krvnom serumu ukazuje da su roditeljska jata bila senzibilisana antigenima salmonela kao posledica prirodne infekcije ili vakcinacije.

Nakon infekcije salmonelama visok titar specifičnih antitela se kod jedinki održava 2 do 3 meseca. Održavanje visokih titara specifičnih antitela protiv salmonela u krvnim serumima ispitivanih jedinki je ustanovljeno od 7. do 44. dana nakon infekcije, posle čega je utvrđeno njihovo naglo opadanje (Skov, 2002). Isti autori su utvrdili da se kod prirodno inficiranih pilića imunološki odgovor na LPS antigen *S. Enteritidis* javlja tek oko 16 dana od početka infekcije, dok su titri specifičnih antitela protiv navedenog antigena znatno niži u odnosu na titre specifičnih antitela protiv g,m flagelnog antigena. Prilikom ispitivanja prisustva specifičnih antitela protiv LPS antigena salmonela u uzorcima krvnog seruma pilića primenom ELISA metode, ustanovljeno je da veoma često dolazi do unakrsnih reakcija između različitih serovarijeteta *Salmonella* vrsta (Smith i sar., 1995).

Poseban dijagnostički značaj ima primena pojedinih ELISA testova za razlikovanje vakcinisanih od inficiranih jedinki. Najčešće su u upotrebi ELISA kitovi sa antigenima specifičnih marker proteina na primer FliC-specifični 9-kDa polipeptid *S. Enteritidis* označen skraćenicom SEP9 (Mizumoto i sar., 2006). Jedan od nedostataka primene ovakvog ELISA kita je uslovljavanje kupca da prethodno vakciniše jato živine adekvatnom marker vakcinom koju takođe prodaje isti proizvođač. Može se reći da je evropsko tržište zasićeno raznim marker vakcinama za koje postoje odgovarajući prateći marker ELISA kitovi. Ukoliko se ne koristi marker ELISA kit, jata nepoznatog imunskog statusa moraju da budu ispitana klasičnim bakteriološkim metodama odnosno izolacijom, identifikacijom i serotipizacijom bakterija roda *Salmonella* (Mizumoto i sar., 2004).

Dobijeni rezultati u ovom radu potvrđuju činjenicu da ELISA test ima visoku osetljivost u otkrivanju prisustva specifičnih antitela protiv *Salmonella* Enteritidis i da postoji vrlo dobro slaganje rezultata dobijenih cELISA testom i metodom klasične aglutinacije sa somatskim O i H antigenima ($kappa=0,813$).

Klasična aglutinacija uz upotrebu O i H antigena protiv *S. Enteritidis*, s obzirom na jednostavnu pripremu antigena i izvođenje testa, i dalje može da nađe svoje mesto u otkrivanju jata živine inficirane *S. Enteritidis*. Poznato je da se test klasične aglutinacije karakteriše relativno malom osetljivošću i da starije jedinke mogu imati nizak nivo aglutinina čije prisustvo u krvnom serumu može biti indukovano ne samo salmonelama, nego i drugim enterobakterijama. Pored toga, pojedinačno ispitivanje jedinki nema veći dijagnostički značaj tako da se ova metoda uglavnom primenjuje kod inicijalnog ispitivanja prisustva salmoneloze u jatu živine (OIE Terrestrial Manual 2010).

Zaključak / Conclusion

Na osnovu poređenja rezultata ispitivanja uzoraka krvnog seruma na prisustvo specifičnih antitela protiv *S. Enteritidis*, može se zaključiti da metode

cELISA i klasična aglutinacija sa O i H antigenima zauzimaju značajno mesto u dijagnostici salmoneloze živine pored klasičnih bakterioloških metoda zasnovanih na izolaciji i identifikaciji uzročnika, jer se njihovom primenom omogućava pouzdano dokazivanje prisustva i titra specifičnih antitela protiv *S. Enteritidis* u uzorcima krvnog seruma nevakcinisane živine senzibilisane antigenima navedenog patogena kao i vakcinisanih životinja.

Literatura / References

1. Babić-Dunjić V, Zlatar B, Dmitrović R. Učešće *Salmonellae*, *Campylobacter* i *Y. enterocolitica* u dijarealnom sindromu u Beogradu 2000-2004 godine. Zbornik radova i kratkih sadržaja VII Epizootiološki dani, Jagodina, 2005: 45-8.
2. Barrow P A, Mead G C, Wray C, Duchet-Suchaux M. Control of food – poisoning salmonella in poultry – biological options. *World Poultry Science Journal* 2003; 59: 373-81.
3. Feld NC, Ekeroth L, Gradel KO, Kabell S, Madsen M. Evaluation of a serological *Salmonella* mix-ELISA for poultry used in a national surveillance programme. *Epidemiol Infect* 2000; 125(2): 263-8.
4. Gast RK, Nasir MS, Jolley ME, Holt PS, Stone HD. Detection of experimental *Salmonella* enteritidis and *Salmonella typhimurium* infections in laying hens by fluorescence polarization assay for egg yolk antibodies. *Poultry Science* 2002; 81: 1128-31.
5. Gast RK, Nasir MS, Jolley ME, Holt PS, Stone HD. Serologic detection of experimental *Salmonella* enteritidis infections in laying hens by fluorescence polarization and enzyme immunoassay. *Avian Dis* 2002; 46(1):137-42.
6. McMullin P.F., K.R. Gooderham, Hayes G. A commercial *Salmonella* Enteritidis ELISA test: results arising for its use in monitoring for infection and response to an inactivated vaccine, Presented at the World Veterinary Poultry Association Congress, Budapest 1997.
7. Mizumoto N, Toyota-Hanatani Y, Sasai K, Tani H, Ekawa T, Ohta H, Baba E. Detection of specific antibodies against delgaellated *Salmonella* Enteritidis and *S. Enteritidis* FLiC-specific 9kDa polypeptide. *Veterinary Microbiology* 2004; 5(99):113-20.
8. Mizumoto N, Toyota-Hanatani Y, Sasai K, Tani H, Ekawa T, Ohta H, Bat E. Survey of Japanese layer farms for *Salmonella* enteritidis with vaccination-and infection-specific antigens for egg yolk antibodies. *J Food Prot* 2006; 69(1):17-21.
9. Pravilnik o izmenama i dopunama Pravilnika o utvrđivanju mera za rano otkrivanje, dijagnostiku, sprečavanje širenja, suzbijanje i iskorenjivanje infekcija živine određenim serotipovima salmonela 76/10 od 22. 10. 2010. godine.
10. Pravilnik o utvrđivanju mera za rano otkrivanje, dijagnostiku, sprečavanje širenja, suzbijanje i iskorenjivanje infekcija živine određenim serotipovima salmonela objavljenom u Službenim glasniku RS broj 7/10 od 19. 02. 2010. godine
11. Pravilnik o utvrđivanju Programa mera zdravstvene zaštite životinje za 2016.godine, Službeni glasnik RS broj 25/16 od 09.03.2016. godine
12. Skov MN, Feld NC, Carstensen B, Madsen M. The serologic response to *Salmonella* enteritidis and *Salmonella typhimurium* in experimentally infected chickens, followed by an indirect lipopolysaccharide enzyme-linked immunosorbent assay and bacteriologic examinations through a one-year period. *Avian Diseases* 2002; 46(2): 265-73.
13. Solano C, Galindo J, Sesma B, Alvarez M, Solsona MJ, Gamazo C. Enzyme-linked immunosorbent assay with a *Salmonella* enteritidis antigen for differentiating infected from vaccinated poultry. *Vet Res* 2000; 31(5): 491-7.
14. Van Zijderveld FG, Van Zijderveld AM, Anakotta J. Comparison of four different enzyme-linked immunosorbent assays for serological diagnosis of *Salmonella* enteritidis infections in experimentally infected chickens. *J Clin Microbiol* 1992; 30(10): 2560-6.

15. Velhner M, Oric D, Potkonjak D, Kapetanov M, Lazic S. Utvrđivanje titra specifičnih antitela na *Salmonella* enteritidis ELISA tehnikom u nekoliko odabranih jata kokoši nosilja Vet. Glasnik 2004; 58(3-4): 319–26.
16. Wierup M, Engstrom B, Engvalla A, Wahlstrom H. Control of *Salmonella* Enteritidis in Sweden. International Journal of Food Microbiology 1995; 25(3): 219 –26.
17. World Organisation for Animal Health (OIE). OIE Terrestrial Manual – Chapter 2.9.9. — *Salmonellosis*, 2010.

ENGLISH

EXAMINING THE PRESENCE OF SPECIFIC ANTIBODIES AGAINST SALMONELLA ENTERITIDIS IN VACCINATED AND UNVACCINATED POULTRY

Radojičić Marina, Marković Maja, Nišavić Jakov, Krnjaić Dejan, Zdravković Nemanja

Introduction. The objective of our research was to point to the significance of serological diagnostic methods, that is, competitive immunoenzyme test – cELISA as well as the method of classical agglutination of O and H salmonella antigen, for specific antibodies against *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Enteritidis presence and titre detection in blood serum samples of both vaccinated and unvaccinated poultry.

Material and methods. In our work, we have used commercial competitive immunoenzyme test - cELISA and classical agglutination method with O and H antigens of *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Enteritidis. Comparative testing included 177 blood serum samples of poultry, out of which 137 was from unvaccinated and 40 from vaccinated individuals originating from majority of poultry farms.

Results. In 74 blood serum samples, that is 54,01% out of the total of tested samples originating from unvaccinated flocks, by the use of cELISA test, there were found specific antibodies against *S.* Enteritidis, while by the method of classical agglutination specific antibodies against O antigen 1,9 and 12 were found in 58 samples, that is in 42,34% , and specific antibodies against H antigen g and m were found in 61 samples, what was 44,53% .

In all the tested blood serum samples of vaccinated poultry, there was determined the presence of specific antibodies against *S.* Enteritidis, both by the use of competitive cELISA method and classical agglutination with somatic O and flagellar H antigens. By the statistical analysis of the results obtained by the method of classical agglutination and cELISA use of *kappa* test, there was found out a very good compliance (*kappa*=0,813).

Conclusion. Based on the compared results of blood serum testing on the presence of specific antibodies against *S.* Enteritidis, it can be concluded that cELISA and classic agglutination with O and H antigen methods have a significant place in serological diagnostics of poultry salmonellosis, because their application enables detection of the titre of specific antibodies against *S.* Enteritidis presence in the population of unvaccinated poultry sensitized with antigens of the mentioned causative agent, as well as in unvaccinated animals

Key words: *Salmonella* Enteritidis, cELISA, agglutination test, poultry blood serum

ИССЛЕДОВАНИЕ НА НАЛИЧИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ К *SALMONELLA ENTERITIDIS* У ВАКЦИНИРОВАННОЙ И НЕВАКЦИНИРОВАННОЙ ДОМАШНЕЙ ПТИЦЫ

**Марина Радойчич, Майя Маркович, Яков Нишавич, Деян Крняич,
Неманя Здравкович**

Введение. Целью наших исследований было доказать оправданность применения серологических методов диагностики, а именно сравнительного ферментного иммуно-сорбентного теста – сELISA и метода классической агглютинации О и Н антигенов сальмонелл для определения присутствия и титра специфических антител к *Salmonella enterica* подвид *enterica* серовар *Enteritidis* в образцах сыворотки вакцинированной и невакцинированной домашней птицы.

Материал и методы. В работе использованы коммерческий сравнительный ферментный иммуно-сорбентный тест сELISA и классический метод агглютинации О и Н антигенов *Salmonella enterica* подвид *enterica* серовар *Enteritidis*. Сравнительному анализу было подвергнуто 177 образцов сыворотки домашней птицы, в том числе 137 невакцинированных и 40 вакцинированных особей с различных птицеферм.

Результат. В 74 образцах сыворотки, что составило 54,01% от общего числа исследованных образцов сыворотки невакцинированных домашних птиц, с использованием сELISA обнаружены специфические антитела к *S. Enteritidis*, в то время как классическим методом агглютинации специфические антитела к О антигену 1,9 и 12 обнаружены в 58 образцах, т. е. у 42,34% исследованных образцов, а специфические антитела к Н антигену g и m обнаружены в 61 образце, что составляет 44,53% от общего числа исследованных образцов сыворотки невакцинированных особей.

Во всех исследованных образцах сыворотки вакцинированных домашних птиц обнаружено присутствие специфических антител к *S. Enteritidis* с использованием как сравнительного сELISA теста, так и метода классической агглютинации с соматическим О и жгутиковым Н антигенами. Статистическим анализом результатов, полученных методом классической агглютинации и сELISA с применением *kappa* теста, установлено достаточно высокое совпадение (*kappa*=0,813).

Заключение. На основании сравнения результатов исследованных образцов сыворотки на присутствие специфических антител к *S. Enteritidis* можно сделать вывод, что тест сELISA и классический метод агглютинации О и Н антигенов занимают значительное место в серологической диагностике сальмонеллеза у домашней птицы, так как их использование способствует определению наличия и титра специфических антител к *S. Enteritidis* в популяции невакцинированной домашней птицы, сенсibilизированной антигенами указанного патогена, а также и у вакцинированных животных.

Ключевые слова: *Salmonella Enteritidis*, сELISA, тест агглютинации, сыворотка крови домашней птицы.