

Research carried out at the farm, named Zhukov, Bragin district, Gomel region of Belarus for 30 cows with hypodermosis. The intensity of the hypodermis larvae infestation in all animals was 16–45 skin mounds containing agents on each cow. An experienced group of animals was made up of 20 animals treated akaribilom. 10 cows were included in the control group, which was not runnability.

Blood analysis conducted at the beginning of the experiment and after treatment at 3, 7, 14 and day 21. The morphological indices were determined by an automatic hematology analyzer «Medonic-Ca 620» (Sweden). Leykoformulu counted in blood smears stained Pappenheim. Biochemical studies of blood serum was performed in automatic biochemical analyzer "Sarmay Lumen" (Spain) and «EuroLyser» (England), using the "Randox" (England) and "Sarmay" (Poland) set of reagents production companies.

It was found that akaribil is an effective therapeutic agent, providing complete recovery of cows at hypodermosis. The efficacy of this drug against larval hypodermis cows was 100 %. This confirmed that at 21-th day of experiment in animals that had been treated by akaribil, protuberances previously filled pathogens at skin completely disappeared.

Also, due to the use of akaribil significant increase in the number of erythrocytes by 7.7 % ( $p < 0.05$ ) occurred in the blood of animals. This index before the study was  $6.50 \pm 0.2$  T/l of cows experiment group and  $6.11 \pm 0.2$  T/l – in a control group. At 21-th day after the start of treatment the number of erythrocytes in the blood of animals was  $7.0 \pm 0.3$  and  $6.4 \pm 0.4$  T/l respectively.

At baseline, animals of both groups had a leukopenia, which disappeared in a group experiment by increasing the number of leukocytes by 10.0 % ( $p < 0.01$ ). So, at the beginning of the study, this index was  $11.9 \pm 0.2$  G/l of cows experiment group and  $11.5 \pm 0.2$  G/l – in a control group. After 21 days, the number of leukocytes changed to  $13.1 \pm 0.5$  and  $11.3 \pm 0.4$  G/l, respectively.

Also in infested animals were observed depression of a hemoglobin concentration in blood. Cows of the experimental group had this index  $91.0 \pm 1.5$  g/l, and of control group –  $87.0 \pm 1.0$  g/l. For the end of the study hemoglobin concentration was changed to  $96.7 \pm 3.8$  and  $86.0 \pm 0.2$  g/l, respectively. So, through the use of akaribil this index increased by 6.3 % ( $p < 0.05$ ).

Sick animals with hipodermatosis had a hypoproteinemia. The protein content of cow blood serum was  $45.8 \pm 1.1$  g/l in the experimental group and  $46.0 \pm 1.06$  g/l – in the control. Application of akaribil allowed to reach  $48.2 \pm 1.2$  and  $44.5 \pm 1.5$  g/l, respectively. This means that the disinfected animal protein concentration increased to 5.2 % ( $p < 0.05$ ).

Thanks to using of akaribil for animals of the experimental group, their serum lysozyme activity increased for 19.8 % and bactericidal – for 10.6 % ( $p < 0.05$ ). So at the beginning of researches, these indices of experimental group cows were  $8.1 \pm 0.1$  and  $66.1 \pm 1.1$  %, respectively. After 21 days of the study, they increase for 19.8 and 10.6 %, respectively ( $p < 0.05$ ). This means that they were  $9.7 \pm 0.2$  and  $73.1 \pm 1.4$  %. The lysozyme and bactericidal serum activity of animals in the control group did not change significantly and amounted at the end of the study  $8.1 \pm 0.2$  and  $61.1 \pm 1.1$  %, respectively.

Inhibition of the immune system of the cows' organism under the influence of *Hypodermis* larvae was confirmed by determining the phagocytic activity of leukocytes. The blood of animals of experimental and control groups at baseline, the index was  $36.1 \pm 0.7$  and  $36.2 \pm 0.6$  %, respectively. But to the 21-th day of the study, the experimental group of cows their phagocytic activity of white blood cell count was significantly increased by 25.2 % (to  $45.2 \pm 2.5$  %,  $p < 0.01$ ), while the control group remained to be reduced ( $36.0 \pm 0.7$  %).

All these developments point to a recovery of hematopoiesis and immunity in cows under the influence of akaribil. Such a phenomenon is possible because akaribil drug leads to death of hypodermosis pathogens. As a result of the death of pathogens, they cease to allocate to a host toxic metabolites. Because of this stops the oppression of the hematopoietic and immune systems of the body and the cow is restored. This factor is a very important for the restoration of normal milk production of cows and maintaining profitability.

**Key words:** acaribil, cattle, hypodermosis, blood, morphological and biochemical blood parameters, nodules, gadfly.

Надійшла 17.10.2016 р.

УДК 619:616.98:579.842.14С

ТІМЧЕНКО О. В., здобувач

Одеський філіал Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи

## ЗНАЧЕННЯ ПІРОЛІДОНІЛПЕПТИДАЗИ В ІДЕНТИФІКАЦІЇ САЛЬМОНЕЛ ТА ЦИТРОБАКТЕРІЙ, ІЗОЛЬОВАНИХ ІЗ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ ТА КОРМІВ

Висвітлено дані щодо частоти продукування ферменту піролідонілпептидази ентеробактеріями, які ізольовані з харчових продуктів та кормів для тварин, у результаті чого встановили його значення в ідентифікації. У ветеринарній бактеріології в Україні виявлення ферменту L-піролідонілпептидази не є широко поширеним. Але результати наших експериментальних досліджень вказують, що його виявлення має велике значення для ідентифікації культурально і біохімічно схожих та антигенно споріднених ентеробактерій, таких як сальмонели і цитробактерії. Дослідження показали, що цитробактерії володіють піролідонілпептидазною активністю у 100 % випадків незалежно від виду дослідного матеріалу: харчові продукти чи корми. І навпаки, сальмонели зовсім його не продукують. Разом з цим отримали дані щодо частоти синтезу піролідонілпептидази інших представників ентеробактерій: *Klebsiella spp.* та

*Serratia spp.* продукують у 100 % випадків, *Enterobacter spp.* (11,5 %), *Hafnia spp.*, *E. coli*, *Proteus spp.* та *Shigella spp.* не володіють піролідонілпептидазною активністю.

**Ключові слова:** значення, ідентифікація, піролідонілпептидаза, корми, сальмонели, цитробактерії, харчові продукти.

**Постановка проблеми.** Вживання бактерій, що перебувають у тій чи іншій екологічній ніші, безпосередньо пов'язано з генетично закріпленою здатністю підключати регуляторні системи мінливості та адаптації на різних стадіях розвитку бактерійної популяції.

У мікробіології застосовують ряд експрес-тестів для диференціації та ідентифікації ентеробактерій (Арі-тест, ЕНТЕРО-тест та ін.). До їх складу входять реагенти, за допомогою яких визначають наявність ферменту L-піролідонілпептидази. Такі тест-системи більшість лабораторій в Україні використовують рідко, через їх дороговизну, оскільки до їх складу входить багато тестів, які не передбачені у ДСТУ та ISO. Але під час інтерпретації результатів досліджень часто виникають сумніви, тому що сальмонели біохімічно схожі та антигенно споріднені з іншими представниками родини *Enterobacteriaceae*, такими як цитробактерії і без допомоги ІФА, РІФ, ПЛР та ін. достовірний результат надати важко. А аналізатори та витратні матеріали до них для виявлення бактерій роду *Salmonella* не завжди є в наявності у лабораторіях.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** У ветеринарній бактеріології виявлення ферменту L-піролідонілпептидази не є широко розповсюдженим, оскільки ідентифікацію ентеробактерій проводять відповідно до вимог ISO, EN, ДСТУ [1–3], ГОСТів [4] та методичних рекомендацій [5, 6], у яких не описано визначення цього ферменту.

Вперше на наявність ферменту піролідонілпептидази в ентеробактерій звернули увагу Mulczyk M. та Szewczuk A. (1969) [7, 8]. Деякі автори вказували, що цитробактерії майже постійно синтезують піролідонілпептидазу (PLP, PYR) порівняно з сальмонелами, які його не продукують у 99,6 %, *E. coli* та інших ентеробактерій [7–9].

**Мета дослідження** – проаналізувати частоту продукування ентеробактеріями ферменту піролідонілпептидази та встановити його значення у ідентифікації цитробактерій та сальмонел, ізольованих із харчових продуктів та кормів для тварин.

**Матеріал і методи досліджень.** За період 2013–2016 рр. дослідженню підлягало 886 зразків, з них харчових продуктів – 659 та корми для тварин – 227 проб. Для порівняння застосовували еталонні штами ентеробактерій, що надані нам з Державного науково-контрольного інституту біотехнології та штамів мікроорганізмів та інституту ім. Л.В. Громашевського: *Salmonella typhimurium* 144, *Salmonella adobrace* 1, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Shigella flexneri* ГІСК 266а, *Klebsiell pneumonia* NCTC 5055, *Serratia marcescens* НДА-1, *Enterobacter aerogenes* ГІСК 2531, *Proteus vulgaris* ГІСК 160209.

Оскільки бактерії впродовж свого існування еволюють, пристосовуючись до умов навколишнього середовища, тому для вирішення завдання ми штучно контамінували харчові продукти (м'ясо свинини, яловичина та куряче, пельмені сирі, риба холодного копчення) і корми для тварин штамми мікроорганізмів. У об'ємі 1 см<sup>3</sup> – 1·10<sup>4</sup> мікробних клітин – на 50 г дослідженої проби. Проби витримували в термостаті за температури 36–37 °С протягом 20–24 год.

Дослідження зразків проводили відповідно до ДСТУ EN 12824, ДСТУ ISO 6579 та ДСТУ IDF 93A. Ідентифікацію проводили за вказаними методами та визначником Берджі (2005).

Культури ентеробактерій, які виростили на диференційно-діагностичних агаризованих середовищах (BCA, Радж Ханса, Еделя Кампельмахера) стерильною бактеріологічною голкою переносили на поживний агар та в поживний бульйон. Культивували за температури 30 °С протягом 20–24 год.

Виявлення ферменту піролідонілпептидази проводили за допомогою PYR-тесту (фірми «Erba Lachema», Чехія). Для цього суспензію добової агарової культури наносили на зволожену дистильованою водою смужку просочену реагентом № 1 – піролідонілом. Смужки з культурами поміщали в стерильні чашки Петрі та інкубували за температури 37 °С протягом 10 хв. Потім наносили реагент № 2 кольоровий проявник (розчин диметиламіноциннамальдегіду) та спостерігали (за кімнатної температури) зміну кольору через 1–2 хв [10]. Під дією ферменту бактерійної пептидази піролідоніл-*b*-нафтиламід розщеплюється до *b*-нафтиламиду, а після внесення розчину диметиламіноциннамальдегіду, колір смужки змінювався на червоний або червоно-помаранчевий.

**Основні результати дослідження.** В результаті дослідження 886 зразків, у тому числі 227 – кормів для тварин та 659 – харчових продуктів ізолювали всього 490 культур ентеробактерій. Із 367 (55,7 %) проб харчових продуктів виділили 452 культури ентеробактерій, серед яких ідентифікували до цитробактерій – 102 (22,6 %). Із 103 (45,4 %) проб кормів для тварин виділили 38 культур ентеробактерій, серед яких 14 (36,8 %) віднесли до *Citrobacter spp.*

Схожі за культуральними та біохімічними властивостями відбирали сальмонели, цитробактерії та протей. На ВСА вони росли у вигляді темно-коричневих із металевим блиском колоній, на агарі Радж Ханса – червоних, на агарі Еделя Кампельмахера – рожевих та червоних колоній, з утворенням червоного преципітату під середовищем. Відповідно до загальноприйнятих методів (які є обов'язковими методами в Україні та Європі) біохімічну ідентифікацію проводили за наступними показниками: збродження лактози, сахарози та глюкози на трицукровому залізовмісному агарі, продукування сірководню та уреазі, реакція Фогес-Проскауера, декарбоксілювання лізину.

Бактерії роду *Salmonella*, *Proteus* та деякі цитробактерії продукували сірководень так, що почорніння середовища спостерігалось не лише в стовбчику, але і в скошеній частині агару Олькеницького та лізинзалізовмісному середовищі. У зв'язку з цим не можна було дати результати щодо виділення сечовини та збродження цукрів. Такі бактерії перш за все спонукали нас до сумніву діагностики. Для ідентифікації бактерій родів *Salmonella* та *Citrobacter* від *Proteus spp.* застосовували тест для виявлення фенілаланіндезамінази (на агарі фенілаланін з наступним нанесенням на колонії хлорного заліза), що до речі, теж відсутній у стандартних методиках. Підозрілі колонії піддавали серотипуванню з сальмонельозними аглютинуючими сироватками полівалентними та моновалентними. За О-антигенною спорідненістю відмічали культури цитробактерій (103 зразка).

Усі культури ентеробактерій піддавали PYR-тесту, результати наведені в таблиці 1.

Таблиця 1 – Результати виявлення піролідонілпептидази (PYR-тест) у представників бактерій родини *Enterobacteriaceae*, ізолюваних із харчових продуктів та кормів

Ентеробактерії	Всього виділено епізоотичних культур ентеробактерій, n=490		з них:			
	к-ть культур	PYR-тест позитивно	з харч. прод., n=452		з кормів, n=38	
			виділено культур	PYR-тест позитивно	виділено культур	PYR-тест позитивно
Епізоотичні штами						
<i>Salmonella spp.</i>	11	0	9	0	2	0
<i>Citrobacter spp.</i>	116	116	102	102	14	14
<i>Hafnia spp.</i>	24	0	19	0	5	0
<i>E. coli</i>	139	0	112	0	27	0
<i>Klebsiella spp.</i>	25	25	21	21	4	4
<i>Proteus spp.</i>	51	0	32	0	19	0
<i>Shigella spp.</i>	16	0	11	0	5	0
<i>Enterobacter spp.</i>	52	6	32	5	20	1
<i>Serratia spp.</i>	21	21	18	0	13	0
Інші ентеробактерії	35	26	21	19	14	7
Референтні штами						
<i>Salmonella typhimurium 144</i>	8	0	5	0	4	0
<i>Salmonella adobraco</i>	8	0	5	0	4	0
<i>Escherichia coli ATCC 25922</i>	8	0	5	0	4	0
<i>Shigella flexneri ГІСК 266a</i>	8	0	5	0	4	0
<i>Klebsiella pneumonia NCTC5055</i>	8	8	5	5	4	4
<i>Serratia marcescens НДА-1</i>	8	8	5	5	4	4
<i>Enterobacter aerogenes ГІСК 2531</i>	8	0	5	0	4	0
<i>Proteus vulgaris ГІСК 160209</i>	8	0	5	0	4	0

Із даних таблиці видно, що усі культури цитробактерій володіли піролідонілпептидазною активністю, тоді коли епізоотичні та референтні штами сальмонел, ешерихій, шигел, протею, навпаки, повністю не проявляли такої активності. Ентеробактери епізоотичних штамів з 52 культур лише шість містили даний фермент, а референтні штами *Enterobacter aerogenes* ГІСК 2531 не продукували піролідонілпептидазу у всіх зразках.

Таким чином, виявлення ферменту PYR має значення в ідентифікації культурально та біохімічно схожих ентеробактерій, а саме бактерій роду *Salmonella* та цитробактерій, що дозволяє достовірно інтерпретувати результати, у сумнівних випадках.

**Висновки.** 1. *Citrobacter spp.*, *Klebsiella spp.* та *Serratia spp.* продукують фермент піролідонілпептидазу в 100 % випадків незалежно від виду дослідного матеріалу: харчові продукти чи корми. Рідше виявляли даний фермент у *Enterobacter spp.* (11,5 %). А *Salmonella spp.*, *Hafnia spp.*, *E. coli*, *Proteus spp.* та *Shigella spp.* не володіють ферментом піролідонілпептидаза.

2. Враховуючи біохімічну схожість та антигенну спорідненість *Salmonella spp.* і *Citrobacter spp.*, результати наших експериментальних досліджень свідчать про те, що виявлення ферменту L-піролідонілпептидази має важливе значення для їх ідентифікації.

3. Пропонуємо внести доповнення до ДСТУ EN 12824, ДСТУ ISO 6579 і ДСТУ IDF 93A, інших стандартів та методичних розробок щодо ідентифікації *Salmonella spp.* від антигенно споріднених та біохімічно схожих *Citrobacter spp.* – виявлення ферменту L-піролідонілпептидази (за відсутності аналізаторів для виявлення сальмонел).

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод виявлення *Salmonella* (EN 12824:1997, IDT): ДСТУ EN 12824:2004. – [Чинний від 2005-07-01]. – К.: Держспоживстандрт України, 2005. – 20 с.
2. Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Методика виявлення *Salmonella spp.* (ISO 6579:2002, IDT): ДСТУ ISO 6579:2006. – [Чинний від 2007-07-01]. – К.: Держспоживстандрт України, 2008. – 20 с.
3. Молоко і молочні продукти. Визначення *Salmonella* (IDF 93A:1985, IDT): ДСТУ IDF 93A:2003. – [Чинний від 2004-07-01]. – К.: Держспоживстандрт України, 2004. – 16 с.
4. М'ясо птиці, субпродукти і полуфабрикати птиць. Метод виявлення *Salmonella*: ГОСТ 7702.2.3-93. – [Дата введення 1995-01-01]. – К.: Госстандарт України, 1996. – 6 с.
5. Методи виділення та ідентифікації сальмонел: методичні рекомендації / Наказ МОЗ України 24.05.2013. № 425.
6. Методичні рекомендації щодо бактеріологічного аналізу кормів для тварин / [Гаркавенко Т.О., Кравцова О.Л., Семенчукова І.В. та ін.]. – К.: ДНДІЛДВСЕ, 2014. – 45 с.
7. Mulczyk M. Pyrrolidonyl peptidase in bacteria: a new colorimetric test for differentiation of Enterobacteriaceae / M. Mulczyk, A. Szewczuk // Journal of General Microbiology (Britain). – 1970. – Vol. 61. – P. 9–13.
8. Evaluation of L-Pyrrolidonyl Peptidase Paper Strip Test for Differentiation of Members of the Family *Enterobacteriaceae*, Particularly *Salmonella spp.* / K. Inoue, K. Miki, K. Tamura, R. Sakazaki // Journal of clinical microbiology. – 1996. – Vol. 34, № 7. – P. 1811–1812.
9. Brener Don J. Bergey's manual of Systematic Bacteriology / Don J. Brener, Noel R. Krieg, Jems T. Staley. – USA: Springer, 2005. – Second Edition. – Vol. 2, part B. – P. 651–655.
10. Mikro-La-Test®: Идентификация микроорганизмов [Электронная версия]. – Erba Lachema s.r.o. (Чехия). – 27 с. – Режим доступа: [https://www.erbalachema.com/attachments/MikroLaTest\\_RU.pdf](https://www.erbalachema.com/attachments/MikroLaTest_RU.pdf).

#### REFERENCES

1. Mikrobiologija harchovyh produktiv i kormiv dlja tvaryn. Goryzontal'nyj metod vyjavlennja *Salmonella* (EN 12824:1997, IDT): DSTU EN 12824:2004. – [Chynnyj vid 2005-07-01]. – K.: Derzhspozhyvstandrt Ukrai'ny, 2005. – 20 s.
2. Mikrobiologija harchovyh produktiv i kormiv dlja tvaryn. Metodyka vyjavlennja *Salmonella spp.* (ISO 6579:2002, IDT): DSTU ISO 6579:2006. – [Chynnyj vid 2007-07-01]. – K.: Derzhspozhyvstandrt Ukrai'ny, 2008. – 20 s.
3. Moloko i molochni produkty. Vyznachenja *Salmonella* (IDF 93A:1985, IDT): DSTU IDF 93A:2003. – [Chynnyj vid 2004-07-01]. – K.: Derzhspozhyvstandrt Ukrai'ny, 2004. – 16 s.
4. Mjaso pticy, subprodukty i polufabrikaty ptich'i. Metod vyjavlenija *Salmonella*: GOST 7702.2.3-93. – [Data vvedenija 1995-01-01]. – K.: Gosstandart Ukrainy, 1996. – 6 s.
5. Metody vydilennja ta identyfikacii' sal'monel: metodychni rekomendacii' / Nakaz MOZ Ukrai'ny 24.05.2013. № 425.
6. Metodychni rekomendacii' shhodo bakteriolohichnogo analizu kormiv dlja tvaryn / [Garkavenko T.O., Kravcova O.L., Semenchukova I.V. ta in.]. – K.: DNDILDVSE, 2014. – 45 s.
7. Mulczyk M. Pyrrolidonyl peptidase in bacteria: a new colorimetric test for differentiation of Enterobacteriaceae / M. Mulczyk, A. Szewczuk // Journal of General Microbiology (Britain). – 1970. – Vol. 61. – P. 9–13.
8. Evaluation of L-Pyrrolidonyl Peptidase Paper Strip Test for Differentiation of Members of the Family *Enterobacteriaceae*, Particularly *Salmonella spp.* / K. Inoue, K. Miki, K. Tamura, R. Sakazaki // Journal of clinical microbiology. – 1996. – Vol. 34, № 7. – P. 1811–1812.
9. Brener Don J. Bergey's manual of Systematic Bacteriology / Don J. Brener, Noel R. Krieg, Jems T. Staley. – USA: Springer, 2005. – Second Edition. – Vol. 2, part B. – P. 651–655.

10. Mikro-La-Test®: Identifikacija mikroorganizmov [Elektronnaja versija]. – Erba Lachema s.r.o. (Chehija). – 27 s. – Rezhim dostupa: [https://www.erbalachema.com/attachments/MikroLaTest\\_RU.pdf](https://www.erbalachema.com/attachments/MikroLaTest_RU.pdf).

### **Значение пирролидонилпептидазы в идентификации сальмонелл и цитробактерий, изолированных из пищевых продуктов и кормов**

**О. В. Тимченко**

Освещены данные о частоте синтеза фермента пирролидонилпептидазы энтеробактериями, которые выделенные с пищевых продуктов и кормов для животных, в результате чего установили его значение для идентификации. В ветеринарной бактериологии Украины выявление фермента L-пирролидонилпептидазы не является широко распространенным. Но результаты наших экспериментальных исследований указывают, что его обнаружение имеет большее значение для идентификации культурально и биохимически похожих, антигенно родственных энтеробактерий, таких как сальмонеллы и цитробактерии. Исследования показали, что цитробактерии обладают пирролидонилпептидазной активностью в 100 % случаев независимо от вида исследуемого материала: пищевые продукты или корма. И наоборот, сальмонеллы его совсем не производят. Вместе с этим получили данные о частоте синтеза пирролидонилпептидазы других представителей энтеробактерий: *Klebsiella spp.* и *Serratia spp.* продуцируют в 100 % случаев, *Enterobacter spp.* (11,5 %), *Hafnia spp.*, *E. coli*, *Proteus spp.* и *Shigella spp.* не обладают пирролидонилпептидазной активностью.

**Ключевые слова:** значение, идентификация, пирролидонилпептидаза, корма, сальмонеллы, цитробактерии, пищевые продукты.

### **Meaning of pyrrolidonylpeptidase in the identification of *Salmonella* and *Citrobacter* isolated from food and feed**

**O. Timchenko**

This article presents data on the frequency of synthesis of the enzyme pyrrolidonylpeptidase by enterobacteria isolated from food and animal feed, thereby establishing its importance for the identification of enterobacteria. In microbiology, many rapid tests are used to differentiate and identify enterobacteria (Api-test, Enter-test, etc.). They include reagents, which determine the presence of the enzyme L-pyrrolidonyl peptidase. Most of the laboratories in Ukraine, these test systems are almost not used, because of their expensive cost, as their composition includes many tests that are not provided for in GOST and ISO. But when interpreting the results of studies, there are often doubts, since salmonella are similar to other representatives of the Enterobacteriales family, such as *Citrobacter spp.*, and without the help of ELISA, ELFA, PCR and other analyzers it is difficult to ensure the correct result. Analyzers and consumables for them are not always available in conventional laboratories. In veterinary bacteriology of Ukraine detection of the enzyme L-pyrrolidonyl peptidase is not widespread since the identification of enterobacteria is carried out in accordance with the requirements of ISO, EN, DSTU, GOST and methodological developments, in which the definition of this enzyme is not described.

Enterobacteria were isolated from 886 specimens, of which 659 were food products and 227 samples for animal feed. For comparison of field crops, reference strains of enterobacteria were used, which were provided to us from the State Scientific Control Institute of Biotechnology and Microorganisms and the Institute of Microorganisms L. Gromashevsky: *Salmonella typhimurium* 144, *Salmonella adobrac* 1, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Shigella flexneri* GICK 266a, *Klebsiella pneumoniae* NCTC 5055, *Serratia marcescens* HДА-1, *Enterobacter aerogenes* GICK 2531, *Proteus vulgaris* GICK 160209. Since the bacteria evolve adapting to the environmental conditions during their existence, therefore, for the solution of the problem, we artificially contaminated food products (pork, beef and chicken meat, raw dumplings, cold-smoked fish) and animal feeds with strains of microorganisms (1 ml 10<sup>4</sup> per 50 g) which were kept in a thermostat at a temperature of 30 °C for 20–24 hours.

Identification of the enzyme pyrrolidonyl peptidase was carried out using a PYR test (from Erba Lachema, Czech Republic). To this end, a suspension of the daily agar culture was applied to a strip moistened with distilled water impregnated with reagent № 1 – pyrrolidonyl. The strips with cultures were placed in sterile Petri dishes and incubated at 37 °C for 10 min. Further, the reagent № 2 of a color developer (dimethylaminocinnamaldehyde solution) was applied and the color change was observed at room temperature after 1–2 minutes. Under the action of the bacterial peptidase enzyme, pyrrolidonyl-b-naphthylamide is cleaved to b-naphthylamide, and after application of the solution with dimethylaminocinnamaldehyde, the color of the strip changes to red or red-orange.

But the results of our experimental studies indicate that the detection of the pyrrolidonyl peptidase enzyme is of great importance for identification in Enterobacteriaceae, namely *Salmonella* and *Citrobacter*. Studies have shown that *Citrobacter* possess L-pyrrolidonylpeptidase in 100 % of cases, regardless of the type of material: food or feed. In contrast, the *Salmonella* does not completely produce it. Also obtained data on the frequency of synthesis of pyrrolidonyl peptidase from other representatives of enterobacteria: *Klebsiella spp.* and *Serratia spp.* produce in 100 % of cases, (11,5 %), *Hafnia spp.*, *E. coli*, *Proteus spp.* and *Shigella spp.* do not have pyrrolidonyl peptidase activity.

Therefore, we propose to test for the enzyme L-pyrrolidonyl peptidase (in the absence of analyzers for the detection of *Salmonella*) as a supplement to DSTU EN 12824, DSTU ISO 6579 and DSTU IDF 93A and other standards for the detection and identification of *Salmonella spp.* and *Citrobacter spp.*, which are similar to each other with biochemical properties and antigenic structure.

**Key words:** significance, identification, pyrrolidonylpeptidase, feed, *Salmonella*, *Citrobacter*, food.

Надійшла 19.10.2016 р.