

*Список літератури*

1. ЗД-08.15.31 Загальний документ «Оцінка відповідності. Основні вимоги до проведення перевірки кваліфікації» (відповідно до ISO/IEC 17043:2010) [Електрон. ресурс] : ред. 01 від 29.07.15 ; затв. наказом НААУ № 200-Я від 29.07.15 / Нац. агентство з акредитації України ; розробив І. В. Гогоман ; перевірів В. В. Красюк. — 2015. — 69 с. — Режим доступу : URL : <http://naau.org.ua/wp-content/uploads/2015/06/ZD-08.15.31-ISO-IEC-17043-2010.pdf>. — Назва з екрану.

**INTERLABORATORY TRIAL AS AN ELEMENT OF ACCREDITATION  
DEPARTMENT WITH THE STUDY OF AVIAN DISEASES BY ISO 17025**

***Stegniy B. T., Gerilovich A. P., Muzyka D. V.,  
Tkachenko S. V., Rula O. M., Stegnyy A. B., Koshelev V. V.,  
Maiboroda O. V., Krivoshei Y. V., Peshenko K. L.***

*National Scientific Center "Institute of experimental and clinical veterinary medicine", Kharkiv, Ukraine*

*This article provides information about the participation of the NSC «IECVM» 9 rounds of professional testing of avian influenza, Newcastle disease, infectious bursal disease, infectious laryngotracheitis, metapneumovirus infections, salmonellosis poultry derived from reference centers in Europe for viral and bacterial diseases of poultry (GD - Animal Health Service, Deventer, the Netherlands, and Animal & Plant Health Agency (OIE, FAO & EU Reference Laboratory for Avian Influenza and Newcastle Disease), Weybridge, United Kingdom). A typing of influenza viruses and paramyxoviruses, determine their agglutinating activity and determine the presence of antibodies to these pathogens of viral and bacterial infections. The results of professional testing proved that all the studies performed by the department for the study of avian diseases NSC «IECVM» is correct and in line with international standards. In all rounds of professional testing obtained satisfactory results and relevant evidence.*

**Keywords:** *professional interlaboratory testing, avian influenza, Newcastle disease, infectious bursal disease, infectious laryngotracheitis, metapneumovirus infection, salmonellosis of poultry*

**УДК 619:616.98:579.62.082.35**

**БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЦИТРОБАКТЕРІЙ В УМОВАХ МІКРОСИМБІОЗУ  
ІЗ ЗОЛОТИСТИМ СТАФІЛОКОКОМ І САЛЬМОНЕЛОЮ (У ХАРЧОВИХ ПРОДУКТАХ)**

***Тімченко О. В.***

*Одеський філіал Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, м. Одеса, Україна, e-mail: tango\_tango@i.ua*

***Білушко В. В.***

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, Україна, e-mail: bw.pochta@gmail.com*

*У статті наведені дані щодо збереження біологічних властивостей (гемоліз, дезоксирибонуклеаза, лецитиназа) та прояв їх за короткий проміжок часу в умовах змішаних культур із сальмонелою та золотистим стафілококом, у порівнянні з їх монокультурами. Отримані результати досліджень розширюють уяву щодо ролі асоціацій цитробактерій у етіології токсикоінфекцій людей та тварин.*

**Ключові слова:** *цитробактерії, біологічні властивості, асоціація*

До теперішнього часу залишається актуальним питання щодо розуміння існування бактерій, як соціальних співтовариств, які формують багаточисельні асоціації. За даними літератури [1, 2], у харчових продуктах, забруднених різними сапрофітами, ешеріхіями, протеєм, стрептококами тощо, ріст золотистих стафілококів пригнічується. Габідулін З. Г. (2002) та Туйгунова В. Г. (2013) у своїх роботах вказували, що у 27,2–33,8 % випадків бактерії роду *Citrobacter* виявляли у асоціативній мікробіоті з *St. aureus*, протеєм та ентерококами. Рідше в асоціації з ентеробактеріями (18,4 %), клебсієлами (14,7 %) та ешеріхіями (11 %).

Антагоністичні відносини між мікроорганізмами широко поширені і є одним із факторів формування мікробних асоціацій. Вони характеризуються тим, що один вид мікроорганізмів, так чи інакше пригнічує або затримує ріст і розмноження інших мікроорганізмів [1, 2, 3]. У науковій літературі існує поняття про синергізм інфекційних агентів, що означає їх взаємодію і посилення патогенності один одного [4, 5]. Присутність різних видів бактерій на поверхні, у доквіллі, всередині організму обумовлює необхідність і закономірність спільного пошуку, добування та засвоєння поживних речовин середовища. На початок агресії збудників впливає, як на імунний стан тварин, людей, санітарні умови місця перебування, так і на стан популяцій мікроорганізмів [3].

**Метою роботи** було вивчити біологічні властивості асоціативних культур *C. freundii*, *St. aureus* та *S. typhimurium* у порівнянні до їх монокультур, зокрема, час прояву лецитиназної, гемолітичної та дезоксирибонуклеазної активностей.

**Матеріали та методи.** Були проведені дослідження культур в асоціації мікроорганізмів цитробактерій, золотистого стафілококу та сальмонел у концентрації 10<sup>4</sup> КУО на 1 см<sup>3</sup> суспензії. Суміш мікроорганізмів наносили на та в тест-об'єкти зі шматочків сирого м'яса птиці вагою по 20,0 – 22,0 г (у чотирьох повтореннях на підгрупу культур у групі).

Для виконання задачі сформували наступні групи змішаних культур: 1 складалась з польових культур сальмонел, золотистого стафілококу та цитробактерій; 2 група – зі змішаних культур із музейних штамів сальмонели (*S. typhimurium* 144), золотистого стафілококу (*St. Aureus* ATCC 25923) та *C. freundii* епізоотичної культури; 3 група служила контролем, складалась з монокультур польових *S. typhimurium*, *St. aureus* та *C. freundii* і штамів сальмонели та золотистого стафілококу. Тест-об'єкти досліджували за аналогічною схемою і висівалися окремо.

У першій та другій групах провели дослідження асоціацій по підгрупах мікроорганізмів такого складу: 1 – *S. typhimurium* + *St. aureus* + *C. freundii*; 2 – *S. typhimurium* + *C. freundii*; 3 – *St. aureus* + *C. freundii*; 4 – *S. typhimurium* + *St. aureus*.

**Результати досліджень** наведені у таблицях 1 і 2.

**Таблиця 1** – Результати індикації асоціативних культур, культивованих протягом 48 год за температури 37 °С, (n=4)

Штам	Асоціація 1, підгрупи				Асоціація 2, підгрупи				Контролі, підгрупи				
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	5
<i>S. typhimurium</i> , еп.к-ра	4	4	-	4	-	-	-	-	4	-	-	-	-
<i>St. aureus</i> , еп.к-ра	3	-	4	3	-	-	-	-	-	4	-	-	-
<i>C. freundii</i> , еп.к-ра	4	4	4	-	4	4	4	-	-	-	4	-	-
<i>St. aureus</i> штам ATCC 25923	-	-	-	-	3	-	3	4	-	-	-	4	-
<i>S. typhimurium</i> штам 144	-	-	-	-	4	4	-	4	-	-	-	-	4

Примітки: 3, 4 – кількість виділених культур мікроорганізмів; «-» – культури не внесені до підгруп

Із таблиці 1 видно, що в першій та другій групах асоціацій, де були присутні цитробактерії, по 1 культурі золотистого стафілокока ріст був пригнічений, у порівнянні з сальмонелами та цитробактеріями, які вирости у всіх підгрупах двох асоційованих груп. Контрольні ізоляти вирости всі.

Біохімічні властивості виділених бактерій як у змішаних, так і в монокультурах були типовими для представника свого роду. Сальмонели добре росли в усіх групах протягом 24 год. А фактори агресії цитробактерій та золотистих стафілококів проявлялись по-різному (таблиця 2).

**Таблиця 2** – Результати порівняння біологічних властивостей культур *C. freundii* та *St. aureus* в умовах їх асоціації з сальмонелою (M±m)

Штам	Асоціація 1, підгрупи				Асоціація 2, підгрупи				Контролі (монокультури)
	Час прояву активностей, год								
	1	2	3	4	1	2	3	4	
лецитинази									
<i>St. aureus</i> , еп.к-ра	24±0	-	24±0	24±0	-	-	-	-	36±8****
<i>C. freundii</i> , еп.к-ра	26,5±4,6****	21±1,2*	19,5±0,6*	-	19±0,7*	21,5±1,7*	21,5±1,7*	-	36±8****

## Розділ 2. Ветеринарна вірусологія та мікробіологія

<i>St. aureus</i> , ATCC 25923	-	-	-	-	22,7±1,6*	-	22±2,4*	36±8****	24±0
дезоксирибонуклеази									
<i>St. aureus</i> , еп.к-па	28,7±5,7****	-	37±5,7****	36,7±8,5****	-	-	-	-	45,5±2,9**
<i>C. freundii</i> , еп.к-па	26±4,9****	27,5±4****	24±0	-	27,5±4****	24±0	24±0	-	43±3,3**
<i>St. aureus</i> , ATCC 25923	-	-	-	-	28,7±5,7****	-	36,7±8,5****	39,5±6,6****	39,5±6,6****
гемолізу									
<i>St. aureus</i> , еп.к-па	20±2,4***	-	20,5±1,5*	21,3±10,7*	-	-	-	-	20±1,6**
<i>C. freundii</i> , еп.к-па	21,5±1,7*	22±1,3*	21,5±1,7*	-	17±3,5****	17±2***	17,5±2,2***	-	21,5±1,7**
<i>St. aureus</i> , ATCC 25923	-	-	-	-	20±2,4***	-	21,3±1,6**	18,5±0,6*	18,5±0,6*
плазмокоагулази									
<i>St. aureus</i> , еп.к-па	10±2,5*	-	9±2****	8±2,4*	-	-	-	-	7±0,7**
<i>St. aureus</i> , ATCC 25923	-	-	-	-	8,7±2,2*	-	8,7±2,2*	9,5±1,7*	9,5±1,7****
Примітки: * P>0,999 (0,001); ** P>0,99 (0,01); *** P>0,98 (0,02); **** P>0,95 (0,05)									

Із таблиці 2 видно, що час прояву лецитиназної, ДНК-азної, гемолітичної активностей у золотистого стафілокока та цитробактерій коротший у ізолятів асоціативних груп, а ніж у монокультур цих мікроорганізмів. Культури епізоотичних *St. aureus* проявляли лецитиназну активність в асоціаціях протягом 24±0 год, у порівнянні з монокультурою (36±8 год). *C. freundii* – протягом 19±0,7 – 26,5±4,6 год, а контроль – 36±8 год. Дезоксирибонуклеазну активність золотисті стафілококи у змішаних культурах (28,7±15,4 – 39,5±6,6 год) проявляли швидше за монокультури (39,5±6,6 – 43±3,3 год). Аналогічно, і цитробактерії ДНКазу проявляли у змішаних культурах за 24,0±4,8 – 27,5±4 год, а моно – за 45,5±2,9 год.

Культури *St. aureus* в асоціаціях проявляли гемоліз у період від 20±10,3 год до 21,3±10,7 год, триваліше за монокультури (20±1,6 год). Протягом від 17±2 год до 22±1,3 год руйнували еритроцити цитробактерії у асоціації з золотистими стафілококами та сальмонелами, схожі результати отримали при дослідженні монокультур *C. freundii* (21,5±1,7 год). Реакцію плазмокоагуляції у епізоотичних стафілококів у асоціаціях з цитробактеріями і сальмонелами спостерігали протягом (8±4,7 – 18±7,9 год) ніж у монокультурах (7±0,7 год). Отримані результати свідчать про пригнічення золотистих стафілококів ентеробактеріями.

**Висновки.** 1. Культури *C. freundii* у асоціаціях з сальмонелами та *St. aureus* швидше продукують ферменти патогенності, а саме гемоліз, ДНКазу, лецитиназу, порівняно з монокультурами.

2. Культури цитробактерій в умовах мікросимбіозу з *S. typhimurium* та *St. aureus* здатні до повноцінного культивування.

### Список літератури

1. Минор Т.Е., Март Е.Х. Стафилококк в пищевых продуктах [Текст] - М.: Пищевая промышленность. 1980. - 232с.
2. Яловенко Л. В. Гигиеническая характеристика кондитерського производства и профилактика обсеменения кремовых изделий патогенными стафилококками [Текст] / Яловенко Л. В. : автореф. на здобуття ступеня канд. мед. наук. – К., 1982. -20 с.
3. Мікроорганізми: теорія харчового ланцюга / В.А. Прискока, В.О. Загребельний, Ю.М. Новожицька, О.М. Неволько та ін. / Київ, ДНДІЛДВСЕ, 2015. -64с.
4. Bovine viral diarrhea viral infections in feeder calves with respiratory disease: interactions with *Pasteurella* spp., parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus / R.W. Fulton [et al.] //Journal Veterinary Research. 2000. Vol. 64. P.151-159.
5. Ellis J.A. The immunology of the bovine respiratory disease complex // Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice. 2001. Vol.17. P.535 - 550.

**BIOLOGICAL PROPERTIES OF CYTROBACTER UNDER CONDITIONS  
SYMBIOSIS WITH THE STAPHYLOCOCCUS AUREUS AND SALMONELLA (THE FOOD)****Timchenko O. V.***Odessa branch of the State Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary Expertise, Odessa, Ukraine***Bilushko V. V.***National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine*

*Purpose - the study of about the conservation of biological properties (hemolysis, deoxyribonuclease, lecithinase) and their expression in a short period of time in mixed cultures Salmonella and Staphylococcus aureus, compared with their monocultures.*

*Materials and methods. Studies have been conducted in association microbial cultures cytrobakter, Salmonella and Staphylococcus aureus at a concentration of 104 CFU per 1 cm<sup>3</sup> of suspension. The mixture was applied to microorganisms and test objects with pieces of raw poultry weighing 20.0–22.0 g (four reps on crop subgroup in the group).*

*For the task group formed following mixed cultures: one consisted of field crops Salmonella, Staphylococcus aureus and tsytrobakteriy; Group 2 - Mixed cultures of museum strains of Salmonella (S. typhimurium 144), Staphylococcus aureus (St. aureus ATCC 25923) and C. freundii epizootic culture; Group 3 served as the control, consisted of monoculture field S. typhimurium, St. aureus and C. freundii strains of Salmonella and Staphylococcus aureus and test objects investigated by anolohichnoyu scheme and vysivalysya separately.*

*In the first and second groups conducted a study on the association of the subgroups of microorganisms: 1 - S. typhimurium + St. S. aureus + freundii; 2 - S. typhimurium + C. freundii; 3 - St. S. aureus + freundii; 4 - S. typhimurium + St. aureus.*

*Results. The culture of St. aureus in association showed hemolysis during 20 h ± 10,3 to 21,3 ± 10,7 hours, longer for monoculture (20 ± 1,6 hours). Over 17 ± 2 h to 22 h ± 1,3 tsytrobakteriyi destroying red blood cells in association with Staphylococcus aureus and salmonella, similar results were obtained in the study monocultures C. freundii (21,5 ± 1,7 h). The reaction in the plasma-epizootic staphylococci in asotsiyaatsiyah tsytrobakteriyamy of salmonella and observed for (8 ± 4,7 - 18 ± 7,9 hours) than in monoculture (7 ± 0,7 h). The results suggest inhibition of Staphylococcus aureus enterobacteria.*

*Conclusions. 1. C. freundii culture in association with salmonella and St. aureus pathogenicity quickly produce enzymes such as hemolysis, DNA-polymerase, letsytynazu compared with monocultures.*

*2. The culture of Cyto bacter microsymbiotsenosis in terms of S. typhimurium and St. aureus able to complete cultivation.*

**Keywords:** *citrobacter, biological properties, association*