

Сравнение классических и экспресс-методов выявления бактерий при микробиологическом контроле говядины

В.В.Можаева, А.С.Смолькина

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», Санкт-Петербург, Российская Федерация

В настоящее время для микробиологических исследований продуктов питания используются разнообразные методы выявления бактерий IV группы патогенности.

Цель данной работы – провести микробиологические исследования говядины классическими методами в сравнении с применением современных экспресс-анализаторов.

Выполнялся микробиологический контроль говядины на присутствие бактерий группы кишечной палочки, сальмонелл и листерий. В качестве экспресс-анализаторов использовали: для выявления бактерий группы кишечной палочки – экспресс-анализатор bioMerieux TEMPO TC (Франция), для выявления бактерий рода листерий – иммунофлуоресцентный экспресс-анализатор Mini Vidas (bioMerieux, Франция), а также экспресс-тест для идентификации вида листерий Api Listeria (bioMerieux, Франция) и для выявления бактерий рода сальмонелл использовали экспресс-анализатор RABIT (Don Whitley Scientific, United Kingdom), а также экспресс-тест для идентификации вида сальмонеллы RapiD 20E (bioMerieux, Франция).

В ходе микробиологических исследований 12 проб говядины классическими методами и с помощью современных экспресс-анализаторов в трех из них были обнаружены бактерии группы кишечной палочки, *Salmonella typhimurium* и *Listeria monocytogenes*.

Ключевые слова: бактерии группы кишечной палочки, листерия, сальмонелла, экспресс-анализатор, говядина

Для цитирования: Можаева В.В., Смолькина А.С. Сравнение классических и экспресс-методов выявления бактерий при микробиологическом контроле говядины. Бактериология. 2018; 3(1): 50–54. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-1-50-54

Comparison of the classic methods of bacterial detection and express analyzers during the microbiological control of beef

V.V.Mozhaeva, A.S.Smolkina

St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Currently for microbiological researches both classical, and modern methods of identification of bacteria of fourth group of pathogenicity are used.

The purpose of this work was to conduct microbiological researches of beef by classical methods in comparison with use of modern express analyzers. Microbiological control of beef for the presence of bacteria of E. coli group, Salmonella and Listeria was performed.

The following express-analyzers were used in the work: bioMerieux TEMPO TC (France) – for the identification of E.coli bacteria group; Mini Vidas and Api Listeria (bioMerieux, France) – for the identification of Listeria; RABIT (Don Whitley Scientific, United Kingdom) and RapiD 20E (bioMerieux, France) – for the identification of Salmonella.

Escherichia coli group bacteria, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* have been found both by classical, and by modern express methods in 3 of 12 probes of beef during microbiological research.

Keywords: colibacillus bacteria, listeria, salmonella, express analyzer, beef

For citation: Mozhaeva V.V., Smolkina A.S. Comparison of the classic methods of bacterial detection and express analyzers during the microbiological control of beef. Bacteriology. 2018; 3(1): 50–54. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2018-1-50-54

Для корреспонденции:

Смолькина Алина Сергеевна, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Адрес: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, 5

Телефон: (812) 388-3631

E-mail: alina.smolkina@bk.ru

Статья поступила 17.01.2018 г., принята к печати 30.03.2018 г.

For correspondence:

Alina S. Smolkina, candidate of veterinary sciences, associate professor of veterinary and sanitary examination, St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine

Address: 5 Chernigovskaya str., St. Petersburg 196084, Russian Federation

Phone: (812) 388-3631

E-mail: alina.smolkina@bk.ru

The article was received 17.01.2018, accepted for publication 30.03.2018

Говядина является одним из главных животноводческих продуктов питания для населения нашей планеты. Она обладает высокими вкусовыми и потребительскими качествами. Но в процессе убоя скота, первичной обработки, транспортировки туш, хранения и реализации мясо может обсеменяться микрофлорой, что приводит к его порче и наносит вред здоровью людей. Вместе с сапрофитной микрофлорой в мясо попадают патогенные и токсигенные микроорганизмы, которые способны вызывать инфекционные болезни и пищевые отравления. Поэтому мясо подвергается строгому ветеринарно-санитарному и санитарно-микробиологическому контролю со стороны ветеринарной службы [1].

В настоящее время для микробиологических исследований продуктов питания используются как классические, так и современные методы выявления бактерий IV группы патогенности. Классические методы требуют меньше денежных затрат, но более трудоемки. В среднем на выявление любого рода бактерий данной группы требуется 5–6 дней. В то же время при использовании современных экспресс-анализаторов эти исследования занимают не более двух суток.

Цель работы: провести микробиологические исследования говядины классическими методами в сравнении с применением современных экспресс-анализаторов.

Материалы и методы

Исследования проводились в ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» на кафедре ветеринарно-санитарной экспертизы, а также в ФГБУ «Ленинградская межобластная ветеринарная лаборатория» в лаборатории пищевой микробиологии и ветеринарно-санитарной экспертизы.

Объектом наших исследований послужили 12 проб говядины, в которых выявляли БГКП (бактерии группы кишечной палочки), бактерии родов *Listeria* и *Salmonella*.

В работе также использовали: экспресс-анализатор bioMerieux TEMPO TC (Франция) – для выявления БГКП; экспресс-анализатор Mini Vidas (bioMerieux, Франция) и экспресс-тест Api Listeria (bioMerieux, Франция) – для выявления бактерий рода *Listeria*; экспресс-анализатор RABIT (Don Whitley Scientific, United Kingdom) и экспресс-тест RapID 20E (bioMerieux, Франция) – для выявления бактерий рода *Salmonella*.

Результаты и обсуждение

Определение бактерий группы кишечной палочки

Для выявления БГКП использовали жидкую питательную среду Кесслера, дифференциально-диагностическую среду Эндо, 3-сахарный агар Олькеницкого. Схема исследования и его отдельные этапы показаны на рис. 1–3 [2].

При использовании современного метода выявления БГКП с помощью экспресс-анализатора «bioMerieux TEMPO TC» применяли специальные питательные среды на базе традиционных, (прилагались к комплекту), а также карты TEMPO. Результат учитывали по флуоресцирующим меткам.

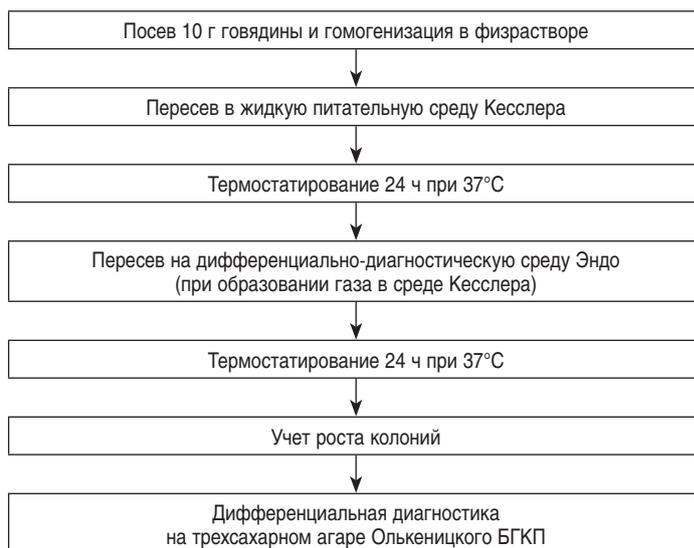


Рис. 1. Схема выявления БГКП.



Рис. 4. Схема выделения бактерий рода *Listeria*.



Рис. 8. Схема выявления бактерий рода *Salmonella*.

Определение бактерий рода *Listeria*

Для выделения бактерий рода *Listeria* использовали следующие среды: питательный бульон для листерий (ПБЛ), жидкую питательную среду ПБЛ-II, плотную питательную среду Оттавиани–Агости. Выделение данных бактерий проводили по схеме, изображенной на рис. 4 [3].

При росте колоний оливкового цвета с прозрачным ореолом, показанных на рис. 5, проводили биохимическое исследование при помощи экспресс-теста «bioMerieux Api listeria» (Франция), изображенного на рис. 6. Он позволяет за 4 ч идентифицировать листерий. Данный экспресс-тест состоит из лунок, которые содержат специфические тесты. В каждую ячейку вносили выросшую колонию, заливали парафиновым маслом и отправляли в термостат. Далее проводили идентификацию листерий при помощи таблицы, которая прилагалась к набору данного экспресс-теста.

Также в качестве экспресс-анализатора использовали анализатор фирмы bioMerieux иммунофлюоресцентный miniVidas (Франция) для выявления *Listeria monocytogenes*,

который изображен на рис. 7. Для этого использовали стрипы, которые состоят из лунок и конусовидных пробирок. После все необходимые компоненты ставили в анализатор и наблюдали результаты на мониторе.

Определение бактерий рода *Salmonella*

Для выявления бактерий рода *Salmonella* использовали такие среды, как забуференная пептонная вода (ЗПВ), две жидкие питательные среды: среда Мюллера–Кауфмана и среда Раппопорта–Вассилиадиса, две плотные дифференциально-диагностические среды: среда XLD и среда висмут-сульфит агар [4]. Схема исследования на данный показатель микробиологического контроля представлена на рис. 8.

При обнаружении колоний черного цвета, которые представлены на рис. 9, проводили биохимическое исследование при помощи экспресс-теста bioMerieux RapiD 20E (Франция),

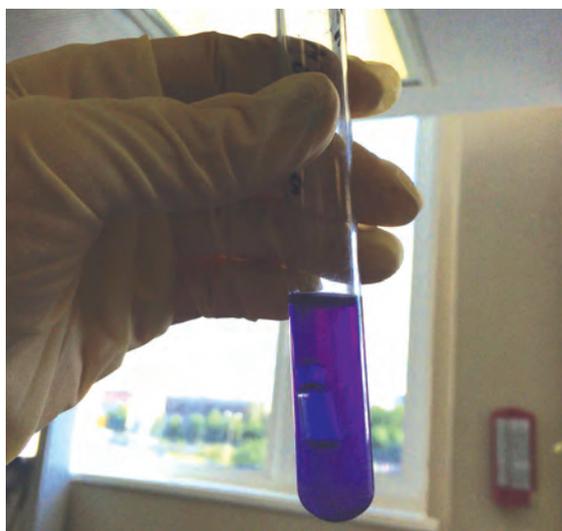


Рис. 2. Учет газообразования на среде Кесслера.

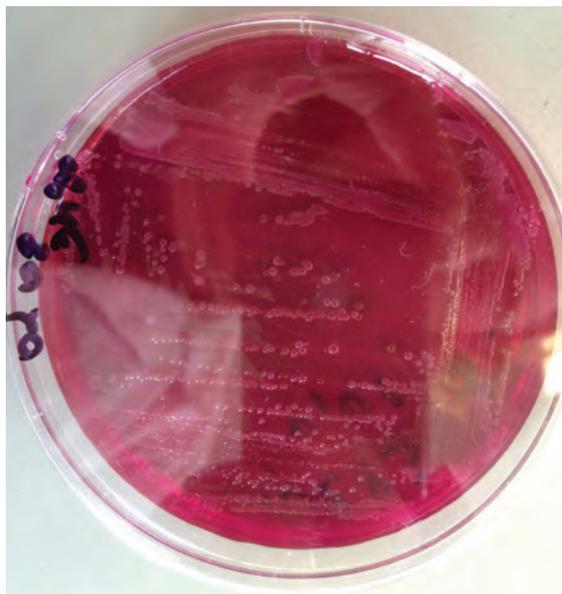


Рис. 3. Учет роста колоний на среде Эндо.



Рис. 5. Рост колоний на хромогенном агаре Оттавиани–Агости.



Рис. 6. Экспресс-тест bioMerieux Api listeria (Франция).



Рис. 7. Экспресс-анализатор bioMerieux TEMPO TC (Франция) (слева), экспресс-анализатор bioMerieux miniVidas (Франция) (справа).

Таблица. Результаты микробиологического исследования говядины

№ проб	Обнаружение БГКП	Обнаружение бактерий рода <i>Salmonella</i>	Обнаружение бактерий рода <i>Listeria</i>
1–4, 6–8, 10, 11	Не выявлено	Не выявлено	Не выявлено
5	Не выявлено	Выявлено	Не выявлено
9	Не выявлено	Не выявлено	Выявлено
12	Выявлено	Не выявлено	Не выявлено

представленного на рис. 10. Данный тест может проводиться для идентификации не только сальмонелл, но и других микроорганизмов. В каждую ячейку вносили колонию, заливали парафиновым маслом и отправляли в термостат на 4 ч при 37°C. По истечении времени проводили идентификацию бактерии с помощью таблицы, которая прилагалась к набору данного экспресс-теста.

Для экспресс-метода использовали анализатор компании Don Whitley Scientific RABIT (Rapid Automated Bacterial Impedance Technique) (Великобритания), изображенный на рис. 11. Для данного метода проводится подготовка проб: делали первичный посев в забуференную пептонную воду и отправляли в термостат на 24 ч при 37°C. Далее вносили образец в измерительную ячейку, добавляли питательную среду и ставили в инкубаторный модуль. В этом модуле уже имелись измерительные ячейки с контролями, стоящие в первом ряду. После чего на мониторе появлялся график, который шел в сравнении с первым рядом ячеек с уже известными бактериями.

Результаты микробиологических исследований 12 проб говядины представлены в таблице.

В ходе микробиологического исследования говядины в пробе №12 были выявлены БГКП, в пробе №9 – бактерии вида *Listeria monocytogenes*, в пробе №5 – бактерии вида *Salmonella typhimurium*.

Классический метод для выявления БГКП требует около 3 сут, а при помощи экспресс-анализатора bioMerieux TEMPO TC (Франция) требуется 24 ч для получения окончательного результата.

Для проведения классического метода на выявление бактерий рода *Listeria* требуется около 5 дней, а при использовании экспресс-анализатора bioMerieux miniVidas (Франция) – всего 2 сут.

Для выделения классическим методом бактерий рода *Salmonella* необходимо около 4 дней, а при экспресс-методе с помощью экспресс-анализатора Don Whitley Scientific RABIT (Rapid Automated Bacterial Impedance Technique) (Великобритания) – всего 48 ч.

Применение в работе современных экспресс-анализаторов имеет ряд преимуществ перед классическими методами:

- автоматизация аналитических этапов;
- просты и удобны в использовании;
- позволяют получать результаты быстрее на несколько суток;
- позволяют обеспечить быстрый выпуск продовольственного сырья.

Проведя всесторонний анализ исследований 12 проб говядины, были обнаружены микроорганизмы в трех пробах как при классических методах, так и с помощью современных экспресс-анализаторов.



Рис. 9. Рост колоний на среде XLD.



Рис. 10. Экспресс-тест RapID 20E (Франция).



Рис. 11. Экспресс-анализатор Don Whitley Scientific RABIT (Rapid Automated Bacterial Impedance Technique) (Великобритания).

Литература

1. Можаяева ВВ, Смолькина АС. Санитарно-микробиологический контроль говядины. Материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны». СПб., 2017, с. 147-148.
2. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий): ГОСТ 31747-2012. Госстандарт России. Изд. офиц. М.: Стандартинформ, 2013, 15 с.
3. Продукты пищевые. Методы выявления бактерий *Listeria monocytogenes*: ГОСТ 32031-2012. Госстандарт России. Изд. офиц. М.: Стандартинформ, 2014, 25 с.
4. Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*: ГОСТ 31659-2012. Госстандарт России. Изд. офиц. М.: Стандартинформ, 2014, 19 с.

References

1. Mozhaeva VV Smolkina AS. The sanitary-microbiological control of beef. The International Scientific Conference materials of students, graduate students and junior scientists "The knowledge of Young Generation needed for veterinary

medicine and agro-industrial complex development". St. Petersburg, 2017, p. 147-148.

2. Food products. The detection methods of coliform bacteria. GOST: 31747-2012. Russian State Standard. Official publication. Moscow: Standardinform, 2013, 15 p.
3. Food products. The detection methods of *Listeria monocytogenes* bacteria. GOST: 32031-2012. Russian State Standard. Official publication. Moscow: Standardinform, 2015, 25 p.
4. Food products. The detection methods of *Salmonella* bacteria. GOST: 31659-2012. Russian State Standard. Official publication. Moscow: Standardinform, 2014, 19 p.

Информация о соавторе:

Можаяева Виктория Витальевна, магистрант факультета ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»
Адрес: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, 5
Телефон: (812) 388-3631
E-mail: dolce-2015@yandex.ru

Information about co-author:

Victoria V. Mozhaeva, master student of faculty of veterinary and sanitary examination, St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine
Address: 5 Chernigovskaya str., St. Petersburg 196084, Russian Federation
Phone: (812) 388-3631
E-mail: dolce-2015@yandex.ru

МЕЖДУНАРОДНАЯ МЕДИЦИНСКАЯ ПЕЧАТЬ

Основное различие между людьми и другими млекопитающими – кожа

Команда исследователей из Университета Ватерлоо и Университета Гвельфа провела самый полный обзор млекопитающих на сегодняшний день и обнаружила, что человеческий микробиом – совокупность бактерий, грибов и вирусов, естественных обитателей нашей кожи – значительно меньше, чем у других млекопитающих. Наша кожа – самый большой орган тела и главный барьер для внешней среды. Исследование показало, что микробные сообщества на коже млекопитающих могут со временем меняться параллельно со своими хозяевами, что называется филосимбиозом. Предполагается дополнительно изучить вопрос о том, происходила ли совместная эволюция сообщества микроорганизмов кожи и их хозяев, что является одним из механизмов, который может объяснить их наблюдения за филосимбиозом.

Ross AA, Müller KM, Weese JS, Neufeld JD.

Comprehensive skin microbiome analysis reveals the uniqueness of human skin and evidence for phyllosymbiosis within the class Mammalia.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2018 Jun 5. pii: 201801302. doi: 10.1073/pnas.1801302115.

Генетически модифицированные бактерии как новое средство лечения запоров

Сообщество бактерий желудка и кишечника (микробиом кишечника) уникально для каждого человека. Поэтому пробиотики-дженерики не работают во всех случаях.

Генетически модифицированные специалистами Клинического центра индивидуальной медицины Майо (США) бактерии производили большое количество химического триптамина. Это вещество помогает пищевым продуктам проходить через кишечник с потенциально меньшим риском побочных эффектов, чем другие лекарства от запоров. Триптамин может активировать рецепторы в кишечнике мыши, реагирующие на серотонин, вызывая повышенную секрецию жидкости в толстой кишке, что ускоряет движение пищи через пищеварительную систему. «Синтетические» бактерии стимулируют транспортировку пищи через пищеварительную систему независимо от диеты и микробиома.

Дополнительные доклинические исследования и испытания на людях, вероятно, будут продолжаться не менее трех лет.

Genetically engineered bacteria shows promise as new treatment for constipation [WWW Document], n.d.

URL <https://www.news-medical.net/news/20180614/Genetically-engineered-bacteria-shows-promise-as-new-treatment-for-constipation.aspx> (accessed 6.14.18).