

УДК 637:616.98:579.869.1

UDC 637:616.98:579.869.1

УСКОРЕННЫЙ КОНТРОЛЬ МИКРОБНЫХ КОНТАМИНАЦИЙ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ, КОРМОВ И ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ ТЕСТ-СИСТЕМ «RIDA-COUNT»

THE ACCELERATED CONTROL OF MICROBIC CONTAMINATIONS OF FOOD PRODUCTS, FORAGES AND OBJECTS OF THE ENVIRONMENT WITH APPLICATION OF "RIDA-COUNT" TESTS - SYSTEMS

Бровкина Анна Николаевна
к.в.н., докторант
*Государственное научное учреждение
Всероссийский научно-исследовательский
институт ветеринарной санитарии, гигиены и
экологии РАСХН, Москва, Россия*

Brovkina Anna Nikolaevna
Cand.Vet.Sci., competitor for doctor's degree
*The state scientific institute the All-Russia scientific
research institute of veterinary sanitary, hygiene and
ecology, The Russian academy of agricultural
sciences, Moscow, Russia*

Показана возможность ускоренного контроля микробных контаминаций пищевых продуктов, продовольственного сырья и кормов для животных с применением тест-систем «Rida-count»

The opportunity of the accelerated control of microbic contaminations of food products, food raw materials and forages for animals with application of "Rida-count" tests - systems is shown

Ключевые слова: МИКРОБНЫЕ КОНТАМИНАЦИИ, ТЕСТ-СИСТЕМ «RIDA-COUNT», ХРОМОГЕННЫЕ КОЛОНИИ МИКРООРГАНИЗМОВ, АДАПТАЦИЯ МЕТОДА

Keywords: MICROBIC CONTAMINATIONS, TESTS - SYSTEMS " RIDA-COUNT ", CHROMOGENIC COLONIES OF MICROORGANISMS, ADAPTATION OF THE METHOD

В настоящее время значительное внимание уделяется совершенствованию методов определения возбудителей бактериальной природы на основе ускоренных способов бактериологического анализа (1).

Для получения достоверных результатов при проведении бактериологического анализа продовольственного сырья, пищевых продуктов и кормов для животных удобными для использования в лабораторных и полевых условиях являются тест-системы «Rida-count» (2). Данные тест-системы представляют собой специфичные среды предназначенные для идентификации и количественного учета различных групп микроорганизмов путем подсчета выросших колоний, нанесенные на подложку, закрытую съемной прозрачной мембраной, обеспечивающей стерильность подложки. Пластины «Rida-count» представляют собой полностью готовую к использованию систему. Ассортимент выпускаемых тест-систем достаточно разнообразен и постоянно пополняется.

Проводили изучение возможности использования тест-систем «Rida-count» при оценке микробиологических показателей качества продовольственного сырья, готовой продукции, кормов для животных и

смыслов с различных объектов, а также уровня микробиологической чистоты различных поверхностей.

Объектами исследований являлись: пробы продовольственного сырья, продуктов питания, кормов для животных, воды бассейнов и открытых водоемов, почвы.

В опытах использовали искусственно контаминированные образцы и нативные образцы пищевых продуктов, продовольственного сырья, кормов и объектов внешней среды.

Индикацию проводили с использованием тест-систем «Rida-count Salmonella/Enterobacteriaceae», «Rida-count E. coli» производства «*r-biopharm*», Германия, В качестве разбавителя использовали 0,85% физиологический раствор, 0,1% пептоновую воду. Для доведения pH среды до оптимальных значений (pH 6,6 – 7,4) при анализе образцов с pH менее 6,6 или более 7,4 использовали 1 н раствор NaOH или 1 н раствор HCl.

Образцы плотной консистенции перед исследованием гомогенизировали.

При проведении исследований с помощью тест-систем «Rida-count», образцы воды концентрировали фильтрованием, осадок ресуспендировали с мембранного фильтра 0,85% физиологическим раствором. На подложку, пропитанную хромогенной питательной средой, наносили ресуспендированный осадок в объеме 1 мл, закрывали прозрачной пленкой.

Аналиты инкубировали в термостате при 35°C в течение 24 часов. Результаты учитывали по наличию или отсутствию роста характерных хромогенных колоний. Колонии можно изолировать для дальнейшей идентификации.

Проведенные исследования показали, что методы и тест-системы ускоренного бактериологического анализа позволяют с высокой специфичностью выявлять возбудителей острых кишечных инфекций в пищевых продуктах, кормах и объектах внешней среды. Данные, полученные при искусственной контаминации образцов сырья (мясо птицы, говядина, свинина, баранина, рыба) и пищевых продуктов (мясные полуфабрикаты, молочные продукты, яйца) показали, что диагностикумы

давали положительный результат только в гомологичных системах (диагностикум и контаминант одного и того же вида возбудителя). Перекрестных реакций не наблюдалось (Таблица 1.)

Аналогичные результаты по специфичности получены при искусственной контаминации образцов кормов для животных (корма для рыб, твердые гранулированные полнорационные корма для КРС, птицы, свиней), а также смывов с твердых поверхностей, моделирующих поверхности различных типов (кафель, дерево, металл, пластик).

Таблица 1.

Результаты определения специфичности индикации возбудителей кишечных инфекций в искусственно контаминированных образцах продовольственного сырья и пищевых продуктов

Культуры микроорганизмов (10 ⁵ м. к./мл)	Методы с использованием «RIDA-COUNT»	
	Salmonella	Escherichia
Escherichia coli HB 101	-	+
Escherichia coli штамм K88	-	+
Escherichia coli штамм 0139	-	+
Salmonella thyphi 1	+	-
Salmonella anatum	+	-
Salmonella enteritidis	+	-
Klebsiella pneumonia 53(4/53)	-	-
Klebsiella pneumonia 72(4/72)	-	-
Yersinia pseudotuberculosis II (12/2)	-	-
Yersinia pseudotuberculosis III (12/3)	-	-
Yersinia enterocolitica O3 (12/4)	-	-
Yersinia enterocolitica O9 (12/5)	-	-
Pseudomonas aeruginosa H-1 (1/25)	-	-
Pseudomonas aeruginosa PAO-1 (1/32)	-	-
Pseudomonas putida1301 (1/54)	-	-
Pseudomonas fluorescens 4125 (1/18)	-	-
Proteus mirabilis (0/6)	-	-
Proteus vulgaris (0/7)	-	-
Morganella morganii 01 (3/41)	-	-
Morganella morganii 045 (3/44)	-	-

“+” – положительный результат реакции

“-” - отрицательный результат реакции

Результаты исследований, полученные при искусственной контаминации образцов кормов для животных (корма для рыб, гранулированные полнорационные корма для КРС, птицы, свиней) в таблице 2.

Таблица 2.

Результаты определения возбудителей кишечных инфекций в искусственно контаминированных образцах кормов для животных

Культуры микроорганизмов (10 ⁵ м. к./мл)	Методы с использованием «RIDA COUNT»	
	Salmonella	Escherichia
Escherichia coli НВ 101	-	+
Escherichia coli штамм К88	-	+
Escherichia coli штамм 0139	-	+
Salmonella thyphi 1	+	-
Salmonella anatum	+	-
Salmonella enteritidis	+	-
Klebsiella pneumonia 53(4/53)	-	-
Klebsiella pneumonia 72(4/72)	-	-
Yersinia pseudotuberculosis II (12/2)	-	-
Yersinia pseudotuberculosis III (12/3)	-	-
Yersinia enterocolitica O3 (12/4)	-	-
Yersinia enterocolitica O9 (12/5)	-	-
Pseudomonas aeruginosa H-1 (1/25)	-	-
Pseudomonas aeruginosa PAO-1 (1/32)	-	-
Pseudomonas putida1301 (1/54)	-	-
Pseudomonas fluorescens 4125 (1/18)	-	-
Proteus mirabilis (0/6)	-	-
Proteus vulgaris (0/7)	-	-
Morganella morganii 01 (3/41)	-	-
Morganella morganii 045 (3/44)	-	-

“+” – положительный результат реакции

“-” - отрицательный результат реакции

Микробиологический контроль различных видов поверхностей (кафель, дерево, металл, пластик) проводили методом «отпечатка» на предварительно увлажненную стерильным физиологическим раствором тест-систему «Rida-count». Затем подложку с питательной средой закрывали верхней стерильной прозрачной пленкой и инкубировали в течение 24 часов при температуре 37°С.

При исследовании смывов в различных поверхностях использовали систему для забора и транспортировки анаэробов и аэробов «Portagerm». После забора образца аппликатором с тестируемой поверхности, тампон помещали в пробирку с транспортной средой. Затем, микрофлору с тампона ресуспендировали в стерильном физиологическом растворе, встряхивая на вортексе. 1 мл полученной пробы высевали на сухую исходную пластину «Rida-count».

Результаты исследований, полученные при искусственной контаминации различных поверхностей (кафель, дерево, металл, пластик) и смывов в таблице 3.

Таблица 3

Результаты определения возбудителей кишечных инфекций в искусственно контаминированных образцах различных поверхностей и СМЫВОВ

Культуры микроорганизмов (10 ⁵ м. к./мл)	Методы с использованием «RIDA COUNT»	
	Salmonella	Escherichia
Escherichia coli HB 101	-	+
Escherichia coli штамм K88	-	+
Escherichia coli штамм 0139	-	+
Salmonella thyphi 1	+	-
Salmonella anatum	+	-
Salmonella enteritidis	+	-
Klebsiella pneumonia 53(4/53)	-	-
Klebsiella pneumonia 72(4/72)	-	-
Yersinia pseudotuberculosis II (12/2)	-	-
Yersinia pseudotuberculosis III (12/3)	-	-
Yersinia enterocolitica O3 (12/4)	-	-
Yersinia enterocolitica O9 (12/5)	-	-
Pseudomonas aeruginosa H-1 (1/25)	-	-
Pseudomonas aeruginosa PAO-1 (1/32)	-	-
Pseudomonas putida 1301 (1/54)	-	-
Pseudomonas fluorescens 4125 (1/18)	-	-
Proteus mirabilis (0/6)	-	-
Proteus vulgaris (0/7)	-	-
Morganella morganii 01 (3/41)	-	-
Morganella morganii 045 (3/44)	-	-

“+” – положительный результат реакции

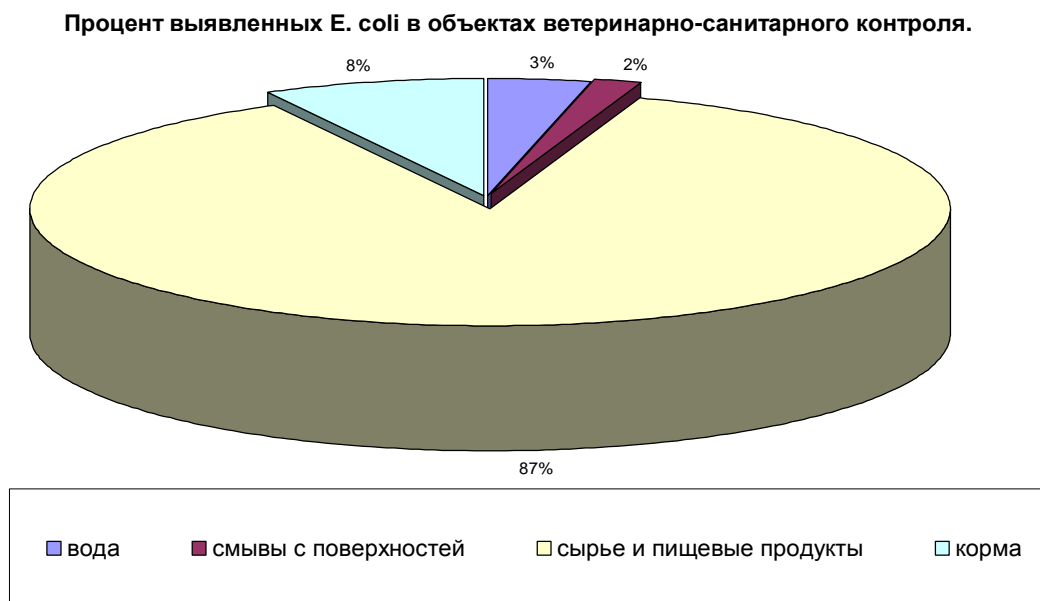
“-” - отрицательный результат реакции

Проверку чувствительности используемых методов индикации проводили в соответствующих реакциях с десятикратными разведениями в стерильном физиологическом растворе чистых культур гомологичных микроорганизмов: *Salmonella thyphi*, *Salmonella anatum*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* НВ, *Escherichia coli* штамм К88, *Escherichia coli* штамм 0139 от 10^9 до 10 м.к./мл.

Чувствительность метода при индикации возбудителей в образцах продовольственного сырья, пищевых продуктов, сырья, кормов для животных, объектов окружающей среды и смывов с поверхностей позволяла выявлять единичные клетки при проведении этапа обогащения в течение 24 часов.

С использованием указанных методов при проведении мониторинговых исследований были выявлены контаминации *E. coli* и *Salmonella spp.* в различных объектах ветеринарно-санитарного контроля.

При этом было проанализировано: 564 образца пищевых продуктов, 800 образцов продовольственного сырья (мясо сырое, охлажденное, замороженное; рыба сырая, охлажденная, замороженная), 144 образца кормов для животных, 200 образцов воды (вода открытых водоемов, вода бассейнов, вода питьевая), 315 смывов с различных поверхностей. Как видно из диаграммы (рис. 1) для отдельных объектов процент контаминации превышал 50%. Эти данные были подтверждены классическим бактериологическим анализом, а также идентификацией подозрительных колоний на приборе «VITEC2».



Процент выявленных бактерий рода Salmonella в объектах ветеринарно-санитарного надзора

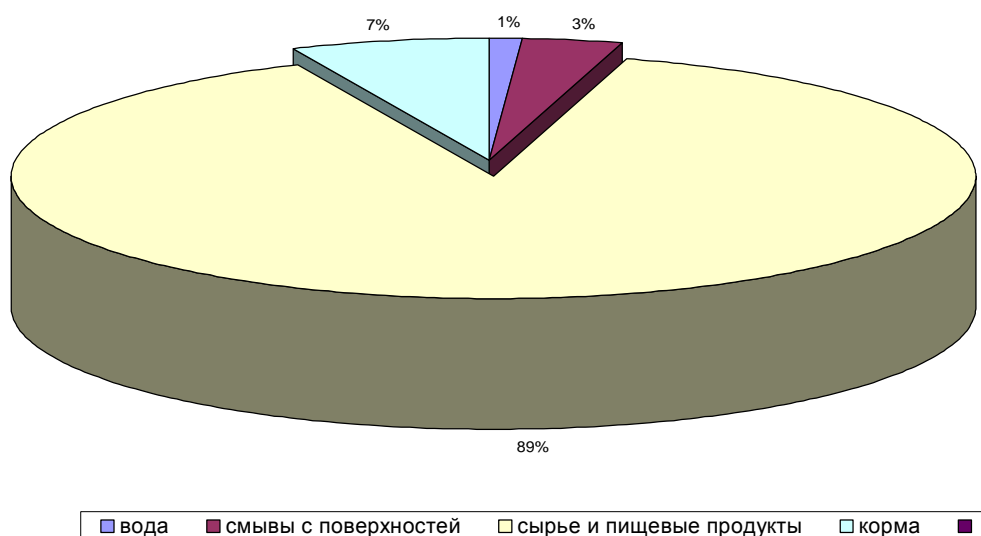


Рис. 1. Результаты мониторинговых исследований по содержанию эшерихий и сальмонелл в объектах ветеринарно-санитарного контроля.

По результатам испытаний показано, что использование тест-систем «Rida-count» затруднено при исследовании пищевых продуктов с высоким содержанием жира, а также вязких и специфически окрашенных пищевых продуктов. Исследование пищевых продуктов с перечисленными выше

характеристиками требует специальной пробоподготовки, заключающейся в получении гомогенных разведений. Учет результатов в этих случаях проводили с пересчетом количества выросших колоний в зависимости от разведения. В ряде случаев (при исследовании окрашенных продуктов - томатный, вишневый и другие соки, а также объекты, содержащие специфические красители) проведение анализа было невозможно из-за сложности оценки роста хромогенных колоний.

Показана корреляция результатов, полученных при использовании тест-систем «Rida-count» с бактериологическим методом и анализами с помощью прибора «VITEC2compact».

К основным преимуществам тест-систем «Rida-count» по сравнению с классическими методами можно отнести: простоту и удобство применения, сокращение времени проведения испытаний, компактный размер, высокое качество, повышение эффективности работы, и, как следствие, точность и воспроизводимость результатов. Кроме того, необходимо отметить значительный срок хранения данных тест-систем.

Список использованной литературы:

1. Айдинов Г.Т. / Совершенствование лабораторного обеспечения эпиднадзора за вирусными заболеваниями// Материалы 9 съезда Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов //М., 2007.- том 1, С.122.
2. Галкин А.В. / Эффективный микробиологический контроль доступен каждому мясоперерабатывающему предприятию// Ежеквартальный журнал-каталог «Молочная река»// М., 2009. - № 3.