

УДК 579.672

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МЕТОДОВ ВЫДЕЛЕНИЯ *LISTERIA MONOCYTOGENES* ИЗ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ И ПИЩЕВОГО СЫРЬЯ

*Е.В. Сульдина, ассистент, А.С. Гранкина, магистрант,
Д.А. Васильев, д.б.н., профессор,
тел. 8(8422)55-95-47
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ*

Ключевые слова: метод, чувствительность, выделение, *Listeria monocytogenes*.

Работа посвящена сравнительной оценке двух методов выделения листерий из продуктов питания и пищевого сырья. В ходе исследования было установлено, что ускоренный метод более чувствителен и быстрее в исполнении.

Исследования проводятся в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ, выполняемых по заданию МСХ РФ в 2019 году.

На сегодняшний день существуют различные методы идентификации *Listeria monocytogenes* в пищевом сырье и продуктах питания. Все они отличаются по времени проведения исследования, стоимости, чувствительности [1-8].

Например, ограничения и надежность методов обнаружения на основе ПЦР частично зависят от количества бактериальных клеток-мишеней, особенно количества копий молекул-мишеней, присутствующих в образце. Низкие уровни загрязнения в образцах пищевых продуктов затрудняют обнаружение целевых патогенов и занимают много времени, ПЦР выявляет 10^3 КОЕ, фаговая индикация аналогично. Поэтому нами были отработаны две методики бактериологического выделения *Listeria monocytogenes*, которые мы сравнили между собой по 2-м основным факторам: чувствительности и времени.

В таблице 1 представлены результаты сравнения затраченного времени на выделение листерий из пищевого сырья с помощью двух методов, апробованных нами. В ходе исследования мы выяснили, что способ выделения листерий по патенту № 2068880 сокращает время на исследование в 2,5 раза.

Так же в ходе работы мы установили, что по методу, предложенному Стандартом, нам удалось выделить предположительные культуры листерий в 2 пробах из 10.

Чувствительность данного метода составила от 10000 КОЕ в 1 мл.

При использовании способа выделения листерий из пищевых продуктов по патенту № 2068880, культуры, предположительно относящиеся к роду листерий, мы обнаружили в 5 пробах из 10 .

Чувствительность второго метода составила 10 КОЕ в 1мл.

Таблица 1 – Сравнение методов по времени постановки

ГОСТ 32031-2012 Продукты пищевые. Методы выявления бактерий <i>Listeria monocytogenes</i>	Время и темпера- тура	Способ выделения листерий из пищевых продуктов // патент № 2068880 (автор Васильев Д.А.)	Время и темпе- ратура
Первичное обогащение (полуконцентрирован- ный бульон Фразера)	30°C 48 часов	Изучаемый пищевой продукт + среда накопления	28°C 24 часа
Вторичное обогащение (бульон Фразера)	(37±1) °C 48 часов	1 мл полученной бактери- альной суспензии + 5 мл 0,3% раствора КОН (растворен- ного в 5% NaCl) высевают параллельно на две плотные селективные среды (Оксфорд и хромогенный агары)	(37±1) °C 24 часа
Пересев посевного ма- териала, параллельно на две плотные селек- тивные среды (Оксфорд и хромогенный агары)	(37±1) °C (24±3) ч.	Всего 48 часов	
Всего 120 часов			
Подращивание выделенных культур для дальнейшего типирования в течение 24 часов			
Итого 144 часа		Итого 72 часа	

Таким образом, можно сделать вывод, что второй метод более чувствителен по сравнению с первым в 1000 раз и в 2,5 раза быстрее по времени.

Для точного типирования выделенных культур, предположительно, относящихся к виду *Listeria monocytogenes*, мы использовали метод ПЦР в режиме реального времени и ПЦР с электрофоретической детекцией, заменив им стандартные биохимические исследования. Это позволило сократить типирование культур до вида *Listeria monocytogenes* со 168 часов до 2,5-3 часов.

Исходя из сравнения двух методов, можно сказать, что способ «Выделение листерий из пищевых продуктов // патент № 2068880» занимает гораздо меньше времени (всего на исследование до типирования культур до вида было затрачено 48 часов, затем подращивание культуры в течение 24 часов и идентификация *Listeria monocytogenes* с помощью ПЦР метода – 2,5 часа). Всего данный метод занимает 74,5 часа при чувствительности 10^1 КОЕ в 1 мл.

Библиографический список:

1. Васильев Д. А. и др. Разработка параметров количественного определения бактерий видов *Listeria monocytogenes* и *Listeria ivanovii* на основе мультиплексной ПЦР в режиме «реального времени» //Актуальные вопросы контроля инфекционных болезней животных. – 2014. – С. 91-96.
2. Сульдина Е. В., Васильев Д. А. Количественное определение патогенных листерий в пищевом сырье и продуктах питания //Инновации в пищевой технологии, биотехнологии и химии. – 2017. – С. 202-204.
3. Сульдина Е. В., Васильев Д. А., Обухов И. Л. Бактериофаги бактерий *Listeria spp.* и их биологические свойства //Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2018. – №. 3 (43).
4. Сульдина Е. В., Васильев Д. А. Разработка параметров количественного определения патогенных листерий в пищевом сырье и продуктах питания методом Real-Time PCR //Молекулярная диагностика 2017. – 2017. – С. 412-413.
5. Сульдина Е. В., Ковалева Е. Н., Васильев Д. А. Основные биологические свойства листериозных бактериофагов //Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. – 2015. – С. 125-127.
6. Сульдина Е. В. и др. Выделение листериозных бактериофагов и изучение их основных биологических свойств //Аграрный научный журнал. – 2015. – №. 3. – С. 37-41.
7. Сульдина Е. В., Васильев Д. А. Оптимизация эффективности мультиплексной ПЦР-тест-системы для детекции *L. monocytogenes* и *L. ivanovii* //Молекулярная диагностика 2017. – 2017. – С. 425-426.

8. Гранкина А., Сульдина Е. В. Идентификация штаммов листерий коллекции 1960-1970 гг. методом ПЦР // Молодежь и наука XXI века. – 2017. – С. 66-71.

COMPARATIVE EVALUATION OF THE SENSITIVITY OF THE METHODS OF EXTRACTING LISTERIA MONOCYTOGENES FROM FOOD AND DIETARY RAW MATERIALS

Suldina E.V., Grankina A.S., Vasilyev D.A.

Key words: *method, sensitivity, isolation, Listeria monocytogenes.*

The work is devoted to a comparative evaluation of two methods for isolating Listeria from food and food raw materials. The study found that the accelerated method is more sensitive and faster in execution.