УДК 579.6

ВЫДЕЛЕНИЕ YERSINIA ENTEROCOLITICA ИЗ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Родионова А.В., магистрант 2 года обучения ФВМиБ Сульдина Е.В., ассистент ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: Yersinia enterocolitica, пищевые продукты, выделение,

В работе приведены результаты исследований по выделению бактерий вида Yersinia enterocolitica из проб поды, почвы, пищевого сырья и продуктов растительного происхождения.

Yersinia enterocolitica - это желудочно-кишечный патоген, вызывающий иерсиниоз, заболевание, характеризующееся диареей, илеитом и брыжеечным лимфаденитом. Ү. enterocolitica передается фекальнооральным путем при употреблении загрязненной пищи или воды. Было разработано несколько фенотипических и генотипических методов для надежного выявления *Y. enterocolitica* в пищевых продуктах [1, 2, 3, 4]. Тем не менее, источник инфекции многих зарегистрированных пищевых вспышек остается неясным. Обнаружение этого патогена в продуктах питания является сложной задачей, так как он имеет сходство с другими кишечными бактериями. Присутствие других микроорганизмов в образцах пищи делает выявление, этого медленно растущего патогенна, еще более трудным. Поэтому в настоящее время основной упор делается на разработку чувствительных, быстрых и надежных методов, позволяющих быстро и экономически эффективно характеризовать образцы пищевых продуктов [5].

Целью исследований стало выделение Yersinia enterocolitica из окружающей среды и пищевых продуктов животного и растительного происхождения.

Материалы и методы исследования. Пробы почвы, воды, пищевых продуктов растительного и животного происхождения — 20 штук.

Для бактериологического исследования использовали питательные среды: мясопептонный бульон (TM Media, Rajasthan, India); мясопептонный агар (TM Media, Rajasthan, India); И-бульон, селективный И-агар; среда Гисса с манитом (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ); среда Гисса с глюкозой (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ); среда Гисса с мальтозой (ФБУН ГНЦ ПМБ,

РФ); среда Гисса с сахарозой (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ); среда Гисса с лактозой (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ); среда Гисса с ксилозой (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ); среда Гисса с рамнозой (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ); среда Гисса с сорбитом (ФБУН ГНЦ ПМБ. РФ):

Микро-ГРАМ-НИЦФ набор реагентов для окраски микроорганизмов по методу Грама ТУ 9398-002-39484474-2002 (ЗАО НИЦФ, РФ).

Термостат ТС-80М-2, автоклав ГК-100-3, шкаф сушильно стерилизационный ШСС-80п УХЛ 42, холодильник бытовой "Бирюса" СПО 4М1-16-4M1, дистиллятор, микроскоп «Биомед-6» с видеофотонасадкой.

Для проведения боксовых работ использовали комплект посуды, включающий колбы мерные, пипетки, чашки Петри, цилиндры мерные, флаконы различного объёма, пробирки, стекла покровные, стекла предметные, шпатели и др.

При работе с культурами использовали стандартные бактериологические методы выделения, идентификации и индикации бактерий.

Результаты исследований. Пробы продуктов растительного происхождения отбирали в количестве 25 г, измельчали предварительно прокипяченными ножницами на мелкие кусочки и вносили в колбы со 100 мл И-бульона, закрывали стерильными резиновыми пробками и тщательно встряхивали в течение 15 минут. После чего инкубировали колбы при температуре 32±1 °C в течении 24 часов.

После чего, культуры полученные в И-бульоне пересевали петлей, частыми широкими штрихами в отдельные чашки Петри с Ирсиния агаром по всей поверхности агара и инкубировали 24 часа при температуре 28 ° C. Через сутки наблюдали рост на чашках Петри. Только содержимое 4 колб образовывали рост колоний диаметром от 0,5-1 мм, темно-зеленого цвета, округлые, глянцевые, цвет среды при этом не



Рисунок 1 рост пробы 3 на рост пробы 7 на Ирсиния агаре



Рисунок 2 -Ирсиния агаре

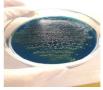


Рисунок 3 рост пробы 8 на Ирсиния агаре



Рисунок 4 рост пробы 16 на Ирсиния агаре



Рисунок 5 – рост пробы 18 на Ирсиния агаре

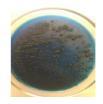


Рисунок 6 – рост пробы 2 на Ирсиния агаре

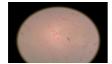


Рисунок 7 — микроскопическая картина культуры из пробы 3



Рисунок8 – микроскопическая картина культуры из пробы 7



Рисунок 9 – микроскопическая картина культуры из пробы 8

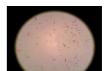


Рисунок 10

– микроскопическая картина культуры из пробы 16

изменялся. Результаты представлены на рисунках 1-4. Другие пробы либо не давали роста вообще, либо образовываемые колонии не имели сходства с ростом *Yersinia enterocolitica* на Ирсиния агаре.

Далее типичные для Yersinia enterocolitica колонии с Ирсиния агара красили по Граму параллельно отсевая в бульон. Засеянные пробирки инкубировали при 37 $^{\circ}$ С в течении 24 часов для дальнейшего изучения морфологических, тинкториальных и биохимических свойств.

Культуры в мазках окрашенных по Грамму были представлены грамотрицательными палочками. Результаты представлены на рисунках 7-10.

Для изучения биохимических свойств производили посевы на среды Гисса. Все штаммы ферментировали глюкозу, сахарозу, маннит, сорбит, мальтозу и не ферментировали лактозу. Результаты представлены в таблице 1.

Для более широкого определения биохимических свойств проводили энтеротест для подтверждения принадлежности штаммов к Yersinia enterocolitica. В набор Энтеротест 24 входят 40 отдельных стрипов, каждый из которых содержит 24 биохимических теста для идентификации одного штамма. В таблице 2 и на рисунках 11-12 представлены результаты теста. В качестве контроля использовали стерильный бульон.

Таблица 1 – Результаты ферментирования углеводов

Углеводы	Проба №3	Проба №7	Проба №8	Проба №16
Лактоза	-	-	-	-
Глюкоза	+	+	+	+
Маннит	+	+	+	+
Сахароза	+	+	+	+
Сорбит	+	+	+	+
Мальтоза	+	+	+	+

Таблица 2 – Результаты проведения энтеротеста

i de mila e i de ynordie in persona e in epersona							
Тест	Проба №3	Проба №7	Проба №8	Проба №16			
		l					
Индол	-	-	-	-			
Сероводород	-	-	-	-			
Лизин	+	+	+	+			
Орнитин	+	+	+	+			
Уреаза	+	+	+	+			
Аргинин	+	+	+	+			
Цитрат Сим- монса	+	+	+	+			
Маллонат	+	+	+	+			
		1					
Фенилаланин	-	-	-	-			
В-галактосидаза	+	+	+	+			
Инозитол	-	-	-	-			
Адонитол	-	-	-	-			
Целлобиоза	+	+	+	+			
Сахароза	+	+	+	+			
Трегалоза	+	+	+	+			
Маннитол	+	+	+	+			
Ацетоин	-	-	-	-			
Эскулин	+	+	+	+			
Сорбитол	+	+	+	+			
Рамноза	-	-	-	-			
	Индол Сероводород Лизин Орнитин Уреаза Аргинин Цитрат Симмонса Маллонат Фенилаланин В-галактосидаза Инозитол Адонитол Целлобиоза Сахароза Трегалоза Маннитол Ацетоин Эскулин	Индол - Сероводород - Лизин + Орнитин + Уреаза + Аргинин + Цитрат Симмонса + Маллонат + Фенилаланин - В-галактосидаза + Инозитол - Адонитол - Целлобиоза + Трегалоза + Маннитол + Ацетоин - Эскулин + Сорбитол +	Индол - - Сероводород - - Лизин + + Орнитин + + Уреаза + + Аргинин + + Цитрат Сим-монса + + Маллонат + + Фенилаланин - - В-галактосидаза + + Инозитол - - Адонитол - - Целлобиоза + + Трегалоза + + Маннитол + + Ацетоин - - Эскулин + + Сорбитол + +	Индол - - - Сероводород - - - Лизин + + + Орнитин + + + Уреаза + + + Аргинин + + + Цитрат Сим- монса + + + Маллонат + + + В-галактосидаза + + + Инозитол - - - Адонитол - - - Целлобиоза + + + Сахароза + + + Трегалоза + + + Маннитол + + + Ацетоин - - - Эскулин + + + Сорбитол + + +			

Колон- ка	Тест	Проба №3	Проба №7	Проба №8	Проба №16
D	Мелибиоза	-	-	-	-
С	Рафиноза	-	-	-	-
В	Дульцит	-	-	-	-
А	Глюкоза	+	+	+	+

Продолжение таблицы 2



Рисунок 11 - Контроль

Рисунок 12 – Результаты энтеротеста

Таким образом, нами исследовано 20 проб поды, почвы, пищевого сырья и продуктов растительного происхождения. На основании проведенных культуральных, морфологических и биохимических свойств установлено, что 4 выделенных штамма из проб №3, №7, №8, №16 принадлежат к бактериям вида Yersinia enterocolitica.

Библиографический список:

- Peng Z. et al. Prevalence, antimicrobial resistance and phylogenetic characterization of Yersinia enterocolitica in retail poultry meat and swine feces in parts of China //Food control. 2018. T. 93. C. 121-128. DOI: 10.1016/j.foodcont.2018.05.048.
- Jamali H. et al. Prevalence, characterization, and antimicrobial resistance of Yersinia species and Yersinia enterocolitica isolated from raw milk in farm bulk tanks
 //Journal of dairy science. 2015. T. 98. №. 2. C. 798-803. DOI: 10.3168/
 jds.2014-8853.
- 3. Verbikova V. et al. Prevalence, characterization and antimicrobial susceptibility of

Yersinia enterocolitica and other Yersinia species found in fruits and vegetables from the European Union //Food Control. – 2018. – T. 85. – C. 161-167. DOI: 10.1016/j.foodcont.2017.08.038.

- Fois F. et al. Prevalence, bioserotyping and antibiotic resistance of pathogenic Yersinia enterocolitica detected in pigs at slaughter in Sardinia //International journal of food microbiology. – 2018. – T. 283. – C. 1-6. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.06.010.
- 5. Drake F. N. et al. Identification and Antimicrobial Susceptibility of Yersinia enterocolitica Found in Chitterlings, Raw Milk and Swine Fecal Samples //ADVANCES IN MICROBIOLOGY. 2018. T. 8. №. 10. C. 804-820.

ISOLATION OF YERSINIA ENTEROCOLITICA FROM THE ENVIRONMENT AND FOOD

Rodionova A.V., Suldina E.V.

Keywords: *Yersinia enterocolitica, food, excretion.*

The paper presents the results of studies on the isolation of bacteria of the Yersinia enterocolitica species from samples of hearth, soil, food raw materials and plant products.