

**ТРАДИЦИОННЫЕ МЕТОДЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ  
ИДЕНТИФИКАЦИИ *VACILLUS CEREBUS***

**Феоктистова Е.А., студентка 2 курса экономического факультета  
Чекалин А.М., студент 4 курса экономического факультета  
Научный руководитель – Маллямова Э.Н., к.п.н., доцент  
ФГБОУ Ульяновский ГАУ**

*Ключевые слова: Bacillus cereus, бактерии, разведения, питательные среды, посевы, продукты питания*

*Работа посвящена описанию традиционных методов, используемых для идентификации бактерий Bacillus cereus, основанных на бактериологических исследованиях, включающих высев на селективные и хромогенные питательные среды.*

Бактерии вида *Bacillus cereus* являются возбудителем пищевого отравления, которое проявляется двумя кластерами симптомов. Рвотный вид болезни в основном характеризуется тошнотой и рвотой, которые появляются уже через полчаса после употребления зараженной пищи и клинически неотличимы от интоксикаций золотистым стафилококком. При этой классической пищевой интоксикации рвотный токсин цереулид предварительно образуется при вегетативном росте *B. cereus* в пищевых продуктах и потребление бактерий не является необходимым. Действительно, есть несколько сообщений о вспышках, когда в пище был обнаружен только цереулидный токсин, но никакие бактерии не были выделены. Тем не менее, обычно считается, что, по крайней мере,  $10^3$ – $10^5$  КОЕ *B. cereus* на 1 г пищи необходимы для получения цереулида в провоцирующих заболевании концентрациях. Обычно рвотная форма заболевания является самоограничивающейся и симптомы исчезают через 6–24 ч. Тем не менее, сообщается о некоторых тяжелых и смертельных вспышках, в основном связанных с печеночной недостаточностью. В связи с повсеместным характером возбудителя и его образованием высокоустойчивых спор *B. cereus* часто встречается в различных видах пищи [1].

Традиционным методом обнаружения *B. cereus* является подсчет на основе агаровых пластин, для которого руководящие принципы предусмотрены ISO 7932: 2004, который был в последний раз пересмотрен почти 15 лет назад. Необходимо несколько трудоемких операций, таких как: гомогенизация образца, многочисленные центрифугирования и серийные препараты для разбавления, все это проводится в асептических условиях, чтобы избежать любого загрязнения. Этапы нанесения на питательные среды должны выполняться в двух экземплярах для каждого разбавления. Затем посеvy необходимо инкубировать при 30 °С в течение 24-48 ч. Наконец, колонии должны быть перенесены на среду агара Brain Heart Infusion (BHI). Кроме того, требуется дополнительный подтверждающий анализ для того, чтобы дифференцировать бактерии группы *B. cereus*. Этот последний этап занимает еще от 2 до 24 ч. Установлено, что методология трудоемкая, дорогая и требует обученного персонала, способного обеспечить правильную процедуру. Кроме того, с помощью этих методологий невозможно обнаружить поврежденные или жизнеспособные, но не культивируемые (VBNC) клетки [2].

Метод ISO 7932:2004 определяет горизонтальный тест для перечисления предполагаемых клеток *B. cereus*. Этот метод состоит из последовательного разбавления образцов и высева на селективный агар (MYP). Необходима инкубация колоний при 30 °С в течение 18–24 ч. На среде MYP колонии *B. cereus* имеют розово-фиолетовый цвет, окруженный характерным ореолом, что позволяет их идентифицировать. Наконец, тест на гемолиз проводится на бактериальных колониях для подтверждения штаммов *B. cereus*. Этот метод подтверждает только предполагаемые клетки *B. cereus*, потому что не все штаммы *B. cereus* являются гемолитическими [3].

Совсем недавно были валидированы альтернативные методы, основанные на стандарте NF EN ISO 7932 для перечисления предполагаемых бактерий *B. cereus* в пищевых продуктах. В методах AFNOR BKR 23-06-02-10 и AFNOR AES-10/10-07/10 используется селективная хромогенная среда COMPASS и BACARA, соответственно. После гидролиза хромогенного субстрата колонии *B. cereus* появляются в зеленом цвете (COMPASS) или оранжевом цвете в окружении непрозрачного гало (BACARA). Эти селективные агары ингибируют большую часть

фоновой микрофлоры и позволяют легко идентифицировать. Их специфика, селективность и точность сопоставимы с эталонным методом. Кроме того, они экономят время и не предполагают этапа подтверждения [4].

#### Библиографический список:

1 The *Bacillus cereus* group: *Bacillus* species with pathogenic potential / M. Ehling-Schulz, D. Lereclus, T. M. Koehler // *Microbiology spectrum*. – 2019. – Т. 7. – №. 3. – С. 7.3. 6.

2 *Bacillus cereus* non-haemolytic enterotoxin activates the NLRP3 inflammasome / D. Fox, A. Mathur, Y. Xue et al. // *Nature communications*. – 2020. – Т. 11. – №. 1. – С. 1-16.

3 Untargeted Phylogenetic Group III of Multi-drug-Resistant *Bacillus cereus* Isolated Using Fraser Medium from Retail Chickens in Ho Chi Minh City T. Nakayam, T. Yamaguchi, S. Yamamoto et al. // *Current Microbiology*. – 2021. – Т. 78. – №. 8. – С. 3115-3123.

4 *Bacillus cereus* Invasive Infections in Preterm Neonates: an Up-to-Date Review of the Literature / R. Lotte, A. Chevalier, L. Boyer et al. // *Clinical Microbiology Reviews*. – 2022. – Т. 35. – №. 2. – С. e00088-21.

### TRADITIONAL METHODS USED TO IDENTIFY *BACILLUS CEREUS*

Feoktistova E.A., Chekalin A.M.

**Keywords:** *Bacillus cereus*, bacteria, dilutions, nutrient media, crops, food

*The work is devoted to the description of traditional methods used to identify *Bacillus cereus* bacteria based on bacteriological studies involving seeding on selective and chromogenic culture media.*