

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ ДЛЯ БИОЗАЩИТЫ МЯСА ПТИЦЫ ОТ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ.

Молофеева Н.И., к.б.н., доцент, nadezhda.molofeeva.67@mail.ru

Мерчина С.В., к.б.н., доцент, sv2309@yandex.ru

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: мясо птицы, микробиологические показатели, физико-химические исследования, бактериофаги.

Работа посвящена изучению влияния сроков хранения на микробиологическую безопасность и качество продукции птицеводства при обработке их бактериофагами.

Введение. В настоящее время, с повышением уровня жизни, значительно возросли требования людей к безопасности, свежести и оригинальному вкусу пищевых продуктов; таким образом, проблемы обеспечения микробной безопасности продуктов, продления срока годности пищевых продуктов и сохранения свежего вкуса становятся все более важными. Огромное количество потребляемой мясной продукции приходится на мясо птицы, которое поступает на рынки с различных ферм и птицефабрик. Основной опасностью в питании человека является содержание в употребляемых им продуктах вредных веществ химической и биологической природы, поступающих в ходе применения различных препаратов, используемых в птицеводстве, а также образующихся в процессе порчи продукта [1].

К сожалению, появились методы, позволяющие скрыть от покупателя некачественную мясную продукцию. Продукты птицы являются наиболее часто потребляемым мясом среди населения и являются основными переносчиками бактериальных инфекций, поэтому изучение влияния сроков хранения на микробиологическую безопасность и качество продукции птицеводства на сегодняшний день является актуальной проблемой [2].

Материалы и методы исследования. В качестве объекта исследования были выбраны наиболее распространенные продукты птицеводства: грудка цыплят-бройлеров.

Ветеринарно-санитарную экспертизу тушек птицы и птицепродуктов осуществляли общепринятыми методами, используя нормативно-техническую документацию [3, 4].

Результаты исследований и их обсуждение. Продукты убоя птицы и продукция из мяса птицы, при использовании по назначению должны быть безопасны в течение установленного срока годности.

Одним из важнейших показателей качества продукта является микробиологическая безопасность. Подготовку проб мяса к микробному анализу проводили согласно международным стандартам. Для этого эксперимента филе грудки птицы (165 ± 10 г), хранившие при 4°C и случайным образом отбирали для обработки. Образцы были упакованы в оберточную упаковку. Для упаковки мясо было обернуто пищевой стрейч-пленкой из пищевого ПВХ.

Отбор проб смывов с частей тушек птицы проводили с целью исследования микробного загрязнения поверхности продукта.

Отбор проб смывов проводили методом swabирования (протирания) с использованием стерильных, ватных тампонов, свободных от ингибиторов

Тампон увлажняют жидкостью для смыва. Затем тампон помещают в пробирку с 10 мл жидкости для смыва [5].

Микробиологическая оценка включала оценку срока годности куриных грудок в охлажденном виде. Санитарные показатели определяли в первые сутки и включали АПК, количество колиформ, *стафилококков*, *S. aureus*, количество *E. coli* и *Salmonella*. Вторая микробиологическая цель заключалась в микробиологической оценке срока годности куриных грудок в течение шести и семи дней хранения в холодильнике при температуре 4°C . Кроме того, тестируемые образцы не должны содержать как *сальмонелл*, так и типичных энтеропатогенных бактерий *E. coli*. При этом срок хранения при охлаждении до 4°C не должен превышать 6 суток.

Гомогенную суспензию (10 %) каждого образца готовили путем асептического взвешивания 10 г образца и смешивания его со

стерильной 90 мл дистиллированной воды. Полученные гомогенаты образцов затем серийно разбавляли в 10 раз стерильной дистиллированной водой.

Затем по одному миллилитру каждого разведения помещали в стерильные чашки Петри с двумя отдельными чашками для каждого разведения. После этого затвердевшие чашки для посева инкубировали в течение 24 часов при 37°C. Колонии подсчитывали и записывали в виде log колониеобразующих единиц на грамм материала.

Выделение бактерий рода *Salmonella* из исследуемых образцов проводили по традиционной схеме.

Процесс предварительного обогащения включал суспендирование образца массой 25 г в 225 мл забуференной пептонной воды с последующей 24-часовой инкубацией при 37 °C. Предварительно обогащенный инокулят (0,1 мл) культивировали в 10 мл бульона Раппапорта для последовательной инкубации при 42°C в течение 16–18 часов. После этого петлю инокулята от РВБ наносили штрихами на ксилозо-лизин-дезоксихолатный агар и висмут-сульфит агар, среду Эндо среду Плоскирева, среду сальмонелла-шигелла агар.

Инкубацию проводили при 37°C в течение 24 часов. Подозрительными считались колонии черного цвета, окруженные ореолом [5].

В первый день исследования и на 6 день после хранения бактерии рода сальмонелла на выше указанных средах не выделены.

Подсчет колиформ определяли с помощью тех же десятикратных серийных разведений гомогенатов образцов, ранее подготовленных для АПК, но для выявления колиформ использовали желчный агар с фиолетово-красным желчью и инкубировали в течение 24 часов при 37 °C. Колонии подсчитывали и записывали в виде log колониеобразующих единиц на грамм пищи (КОЕ/г).

Грамотрицательные, оксидазоотрицательные, неспорообразующие палочки, каталазоположительные, ферментирующие глюкозу с образованием кислоты и газа, сбраживающие лактозу с образованием кислоты и газа при температуре (37±1) °C, не образующие индол принадлежащие в основном к родам - эшерихия (*Escherichia*), клебсиелла (*Klebsiella*), энтеробактер

(*Enterobacter*), цитробактер (*Citrobacter*), серрация (*Serratia*) в исследуемых образцах не были выделены.

Один из образцов куриной грудки в первый день после приобретения в сетях розничной торговли был контаминирован бактериями рода сальмонелла путем орошения и помещен для хранения в холодильник при температуре +4С.

Проведено органолептическое исследование образца в первый, на шестой и девятый день исследования. Условия и время хранения оказали заметное влияние на органолептические свойства образцов. По мере увеличения времени хранения органолептические показатели ухудшались.

В контрольной пробе, искусственно контаминированной бактериями рода *Salmonella*, поверхность покрыта слизью, беловато-желтоватого цвета с сероватым оттенком мышцы на разрезе - липкие, влажные, оставляют влажное пятно на фильтровальной бумаге, их консистенция дряблая, ощущается гнилостный запах, цвет бульона мутный с хлопьями с неприятным запахом.

Образцы, хранившиеся в качестве контрольной группы, становятся неприемлемыми уже на 5-й день и, таким образом, исключаются из органолептического анализа.

Бактерии рода *Salmonella* были обнаружены в искусственно контаминированном образце без предварительного обогащения.

Экспериментальные данные, полученные при обработке контаминированного образца бактерией рода *Salmonella* бактериофагом показали эффективность использования бактериофагов для деконтаминации пищевых продуктов [6].

Микробиологические исследования образца контаминированного сальмонеллами провели на 6 день хранения в условиях холодильника при температуре +4 °С. Бактерии рода сальмонелла были выделены по выше указанной схеме, только без предварительного обогащения.

С дифференциально-диагностических сред производили снятие подозрительных, схожих по морфологии с сальмонеллами колонии в масопептонный бульон и культивировали в термостате при 37°С в течении 24 часов.

Далее суточные бульонные культуры использовали для определения ферментативных свойств с помощью микросистемы ЭНТЕРОтест 16, который позволяет идентифицировать некоторые виды и рода энтеробактерий за 24 часа [6].

По проведенным микробиологическим исследованиям можно сделать вывод, что выделенные микроорганизмы по биохимическим свойствам можно идентифицировать как бактерии рода сальмонелла.

Один из образцов куриной грудки в первый день после приобретения в сетях розничной торговли был искусственно загрязнен орошением бактериями рода сальмонелла и обработан также орошением сальмонеллезным бактериофагом. Были проведены исследования на органолептические показатели и микробиологические исследования по выделению сальмонелл.

В контрольной пробе, искусственно загрязненной бактериями рода *Salmonella* и обработанные бактериофагом, органолептические и физико-химические показатели отвечают требованиям нормативной документации до 7 дней хранения в условиях холодильника, по внешнему виду и цвету поверхность тушки беловато-желтого цвета с розовым оттенком, по истечении срока хранения цвет не изменился; по внешнему виду подкожной клетчатки – бледно-желтоватого цвета; мышцы на разрезе – бледно-розового цвета, без слизи и кровоподтеков, слегка влажные не оставляют влажного пятна на фильтровальной бумаге, консистенция – на разрезе мышцы плотные, упругие, при надавливании пальцем ямка быстро выравнивается; запах в течение всего срока хранения оставался специфическим, свойственным мясу птицы.

Микробиологические исследования заключались в выделении сальмонелл в образце, загрязненной сальмонеллами и обработанном бактериофагом. Пытались выделить сальмонеллы по выше указанной схеме, без предварительного подрачивания и с подрачиванием на накопительных средах. Бактерии рода сальмонелла были нами выделены только с использованием сред накопления.

Заключение. Экспериментальные данные, полученные нами при обработке мяса птицы бактериофагом показали выраженную эффективность бактериофагов для деконтаминации продуктов птицеводства от микробных клеток, вызывающих порчу.

Библиографический список:

1. Молофеева, Н. И. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов *Escherichia coli* 0157 и их применение в диагностике : специальность 03.00.0703.00.23 : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Молофеева Надежда Ивановна. – Саратов, 2004. – 21 с.
2. Курьянова Н.Х. Проблемы биологической диагностики орнитобактериоза /Н.Х.Курьянова, Н.И.Молофеева, Д.А.Васильев //Научный вестник Технологического института - филиала ФГБОУ ВПО Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина, 2009. - С. 170.
3. Разработка метода индикации и идентификации *Aeromonas hydrophila* методом реакции нарастания титра фага / Н. Г. Куклина, Н. И. Молофеева, Н. Г. Барт [и др.] // Достижения молодых ученых в ветеринарную практику : материалы IV Международной научной конференции, посвященной 55-летию аспирантуры ФГБУ «ВНИИЗЖ», Владимир, 06 декабря 2016 года. – Владимир: Федеральное государственное учреждение "Федеральный центр охраны здоровья животных", 2016. – С. 117-124.
4. Молофеева, Н. И. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов *escherichia coli* 0157 и их применение в диагностике : специальность 03.00.0703.00.23 : диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Молофеева Надежда Ивановна. – Ульяновск, 2004. – 166 с.
5. Рыскалиева Б.Ж. Изучение тинкториальных, культуральных и биохимических свойств полученных штаммов бактерии *Pectobacterium carotovorum* / Б. Ж. Рыскалиева, Е. А. Ляшенко, Д. А. Васильев [и др.] // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения : Материалы IX Международной научно-практической конференции, посвященной 75-летию Ульяновского государственного аграрного университета имени П.А. Столыпина, Ульяновск, 20–21 июня 2018 года. Том 2018-Часть 2. – Ульяновск: Ульяновский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина, 2018. – С. 116-119.

6. Молофеева, Н. И. Биологическая характеристика фагов *Escherichia coli* O157 для создания диагностического препарата / Н. И. Молофеева, Д. А. Васильев, С. Н. Золотухин // Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности : Материалы Международной научно-практической конференции, Ульяновск, 23–25 апреля 2013 года / Редакционная коллегия: Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, А.В. Алешкин. Том 1. – Ульяновск: Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия им. П.А. Столыпина, 2013. – С. 87-91.

THE USE OF BACTERIOPHAGES FOR THE BIOSECURITY OF POULTRY MEAT FROM PATHOGENIC MICROORGANISMS.

Molofeeva N.I., Merchina S.V.
FSBEI HE Ulyanovsk SAU

Keywords: *poultry meat, microbiological indicators, physico-chemical studies, bacteriophages.*

The work is devoted to the study of the influence of shelf life on the microbiological safety and quality of poultry products when they are processed by bacteriophages.