

УДК 619:578

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ФАКУЛЬТАТИВНО-АЭРОБНЫХ СПОРООБРАЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ РОДА *VACILLUS* В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ ЖИВОТНОГО И РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ИХ ФАГОИДЕНТИФИКАЦИЯ

Баторшина А., Садухина А. - 4 курс, экономический факультет, специальность «Товароведение и экспертиза товаров»

Научные руководители – к.б.н., доцент Н.А. Феоктистова, д.б.н., профессор Васильев Д.А. ФГБОУ ВПО «Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия»

*В статье дан обзор литературы по распространению факультативно-аэробных спорообразующих бактерий рода *Bacillus* в пищевых продуктах животного и растительного происхождения и их идентификация при помощи бактериофагов.*

*Бациллы, *Bacillus*, пищевые продукты, бактериофаги, контаминация, отравления, бактерии.*

Различные виды спорообразующих бактерий рода *Bacillus* (Conn F. 1872) широко распространены в окружающей среде и нередко рассматривались как возбудители разнообразных видов порчи пищевых продуктов [12].

Спорообразующие бактерии стали важным объектом исследований в связи с развитием консервной промышленности. Было выполнено много работ по изучению устойчивости и выживаемости бактериальных спор при различных методах консервирования продуктов. Различные виды аэробных спорообразующих бактерий, особенно термофильные формы, вызывают порчу консервированных продуктов, например сгущенного молока, а также различных кондитерских изделий. Бактерии вида *Bacillus coagulans*, особенно их термофильные формы, обладающие способностью развиваться в кислой среде, вызывают порчу томатов [15].

Из спорообразующих микроорганизмов значительную долю остаточной микрофлоры мясных и мясо-растительных консервов обычно составляют термофильные бациллы (*Bacillus polymyxa*, *Bacillus asterosporus*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus thermoliquefaciens*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus aerothermophilus*), а также, мезофильные бациллы (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mesentericus* (Meyer, A.

and O. Gottheil, 1901) и др. имеющие очень термоустойчивые споры [8, 12].

Два вида бактерий рода *Bacillus* входят в группу микроорганизмов, вызывающих плоскокислую порчу консервов - *Bacillus coagulans* (*Bacillus thermoacidurans*) и *Bacillus stearothermophilus*. Споры вышеназванных микроорганизмов были найдены в консервированных овощах и молочных консервах, при благоприятных условиях они могут прорасти и привести к порчи продуктов. Развитие в консервированных продуктах бактерий видов *Bacillus coagulans* (*Bacillus thermoacidurans*) и *Bacillus stearothermophilus* приводит к изменению pH, бомбаж консервов не происходит, как при контаминации содержимого бактериями вида *Clostridium thermosaccharolyticum* [14].

Бактерии вида *Bacillus stearothermophilus* (Donk P.J., 1920) относительно широко распространены в окружающей среде – выделяются из почвы, горячих источников, песка пустынь, арктических вод, продуктов питания. Оптимальная температура роста 65 °С [3, 14].

Бактерии вида *Bacillus coagulans* (Hammer V.W., 1915) редко выделяются из почвы, однако являются частыми контаминантами продуктов, отличающихся повышенной кислотностью среды (консервированные томатный сок, силос, лечебные кремы и антациды) [7, 12].

Весьма распространенными формами спорообразующих бактерий, вызывающих порчу консервированных продуктов, являются также бактерии видов *Bacillus subtilis* (Ehrenberg C.G., 1835) и *Bacillus mesentericus*. Эти виды бактерии широко распространены в почве и воздухе, постоянно загрязняют пищевые продукты, а также материалы и сырье, используемые для их выработки. Описаны случаи порчи консервов с бомбажем банок, при которых отмечалось массовое распространение бактерий видов *Bacillus subtilis* и *Bacillus mesentericus*. По наблюдениям многих авторов, процент порчи консервированных продуктов находится в прямой зависимости от обсемененности их спорообразующими бактериями перед стерилизацией, особенно часто это обнаруживается в овощных консервах, загрязненных почвенной микрофлорой. Среди них нередко преобладают солестойкие (галофильные) и кислотоустойчивые формы с выраженными ферментативными свойствами [1,4].

Промышленно-стерильными считают консервы, содержащие жизнеспособные клетки негазообразующих непатогенных и нетоксигенных аэробных бацилл вида *Bacillus subtilis*. В промышленно-стерильных консервах не должно содержаться патогенных и токсигенных микроорганизмов, а также возбудителей порчи консервов: термофильных бацилл, газообразующих мезофильных бацилл. Допустимое коли-

чество клеток микроорганизмов в 1 г консервируемого продукта, не нарушающее его микробиологической стабильности в процессе хранения и не представляющее опасности для здоровья человека, составляет $1:10^1$ - $1:10^3$.

При порче пищевых продуктов происходит ферментативный распад белковых и липидных компонентов с образованием вредных соединений. Поэтому использование в пищевой и консервной промышленности некоторых добавок, например агара и желатина, способствует в ряде случаев порче ряда кулинарных изделий и продуктов [15].

Аэробные спорообразующие бактерии неоднократно являлись причиной порчи консервируемых продуктов крови. Отмечены случаи смертельных исходов при использовании испорченной консервированной крови и плазмы главным образом бактериями видов *Bacillus subtilis* и *Bacillus mesentericus*. В этих случаях основная роль в порче подобных продуктов принадлежит таким ферментам, как гемолизины.

Бактерии видов *Bacillus subtilis* и *Bacillus mesentericus* являются возбудителями болезней печеного хлеба и макарон. Разрушение структуры хлеба и разложение содержащихся в нем веществ связано с продуцированием этими видами бактерий активных протеолитических и амилолитических ферментов. Спорозоным бактериям, особенно их термофильным формам, отводится значительная роль в процессах самосогревания зерна [1].

Некоторые виды спорообразующих бактерий, обладающие выраженными протопектиназными и протеолитическими свойствами, обладают фитопатогенным действием. Ткани пораженных растений и плодов подвергаются мацерации, болезнь выражается в побурении или загнивании.

Бактерии вида *Bacillus mesentericus* - фитопатогенные бактерии, поражающие различные растения: лен, тыкву, кукурузу, свеклу, плоды апельсина, абрикоса, кабачков и других растений, клубни картофеля, семенники капусты, корочки хлопчатника. Также известно, что бактерии вида *Bacillus mesentericus* могут вызвать бактериоз початков кукурузы, при искусственном заражении ими происходило типичное побурение. Из загнивших плодов томатов были выделены штаммы спорообразующих бактерий относящихся к видам *Bacillus subtilis* и *Bacillus mesentericus* [14].

Другой группой спорообразующих бактерий, вызывающих поражения растений, являются бактерии видов *Bacillus macerans* (Schardinger F., 1905), *Bacillus polymyxa* (Prazmowski, A., 1880). Эти виды бактерий вызывают бактериоз льна. Описаны поражения картофеля, моркови,

лука, огурцов и других растений и плодов, вызываемые бактериями видов *Bacillus macerans*, *Bacillus polymyxa*. Ведущим фактором в этиопатогенезе этих поражений являются ферменты, разлагающие пектин и протопектин [9,10,15].

Распространенными возбудителями порчи различных пищевых и кулинарных изделий, а также молочных продуктов являются часто встречающиеся в природе спорообразующие бактерии, объединяемые в вид *Bacillus cereus*. В литературе описаны случаи пищевых отравлений, вызванных этими бактериями, которые, как правило, не смертельны. Пищевые расстройства и токсические явления, развивающиеся после потребления в пищу подвергшихся порче продуктов, связывают с действием ферментов группы фосфолипаз. Бактерии этого вида постоянно обнаруживаются при анализах пищевых продуктов, особенно полуфабрикатов и готовых кулинарных изделий. Источником загрязнений микроорганизмами являются воздух и различные предметы окружающей среды. При хранении пищевых продуктов в отсутствие холода всегда создаются благоприятные условия для развития и массового размножения бактерий [13].

Трансформация спор бактерий вида *Bacillus cereus* в вегетативные формы и их размножение протекают при температуре 10-49 °С и рН 4,9-9,3. При хранении пищи в холодильнике (0-4 °С) бактерии вида *Bacillus cereus* не размножаются. Их размножению также препятствует кислая среда и высокая концентрация сахара. Схожими с *Bacillus cereus* характеристиками обладают еще несколько бактерий этого рода, в том числе *Bacillus thuringensis*, *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis* [12].

Пищевое отравление, вызываемое бактериями вида *Bacillus cereus*, имеет как общеклинические проявления: тошноту и абдоминальные боли, так и превалирующие симптомы, на основании которых в настоящее время выделяют две формы заболеваний: диарейную и токсикозоподобную (рвотную).

Диарейная форма практически идентична проявлениям пищевого отравления, вызванного бактериями вида *Clostridium perfringens*. Клиническая картина развивается через 24 ч после употребления загрязненного продукта. Диарея (частая, водянистая, с большим количеством слизи) наблюдается в течение 6-15 ч без присоединения рвоты. Температура тела, как правило, не повышается. Диарейная форма развивается при поступлении в организм больших количеств бактерий вида *Bacillus cereus* - более 10⁶ микробных клеток, которые продуцируют энтеротоксин диарейного типа.

Токсикозоподобная (рвотная) форма пищевого отравления имеет

чрезвычайно короткий инкубационный период - 0,5 -6,0 ч и характеризуется тошнотой и рвотой, длящейся до 24 ч. Симптоматика данного типа отравления очень похожа на бактериальный токсикоз, вызванный бактериями вида *Staphylococcus aureus*. В «виновном» продукте и рвотных массах регистрируется специфический термостабильный токсин. Возникновение конкретной формы пищевого отравления зависит от внешних условий размножения бактерий, определяющих возможность проявления токсигенного потенциала бактерий вида *Bacillus cereus*. Диагностика пищевого отравления, вызванного *Bacillus cereus*, основана на изоляции и идентификации аналогичных штаммов и оценке общего количества бактерий в материалах от больного и в подозреваемом пищевом продукте [14].

Диарейный тип пищевого отравления чаще возникает при употреблении некачественных мяса, молока, овощей и рыбы. Токсикозоподобная (рвотная) форма заболевания связана, как правило, с контаминацией крупяных, картофельных и макаронных блюд, салатов, пудингов, соусов. Во всех случаях интенсивному накоплению бактерий и стимулированию токсинообразования способствует нарушение температурных условий и сроков хранения готовых к употреблению блюд и скоропортящихся продуктов. Особенно интенсивное размножение бактерий вида *Bacillus cereus* происходит при температуре выше 15 °С [13].

Бактерии вида *Bacillus licheniformis* (Weigmann H., 1898), входят в условную группу *Bacillus subtilis – mesentericus*, они были выделены из проб хлеба, пораженного каторофельной болезнью хлеба. Бактерии вида *Bacillus licheniformis* выделяют также при септицемиях, перитонитах, офтальмологических гнойных осложнениях, выкидышах, а также пищевых отравлениях, связанных с потреблением в пищу молочных и мясных продуктов, в том числе детского питания, овощей. Клиника отравлений, вызванных бактериями вида *Bacillus licheniformis* счень схожа с симптомами пищевого токсикоза, вызванного бактериями вида *Bacillus cereus* (Frankland, G.C. and Frankland P.F., 1887) [5, 11, 16].

По литературным данным к гнилостным бактериям, встречающимися в силосе, относятся такие виды, как *Bacillus megatherium*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides* [14].

Среди аэробных спорообразующих бактерий типично патогенным для человека и животных является только возбудитель сибирской язвы. Остальные виды этих бактерий вирулентными свойствами для теплокровных, по-видимому, не обладают. Имеющиеся сообщения о выделении различных видов спороносных бактерий при разнообразных инфекционных поражениях или болезнях не могут служить до-

стоверным основанием для заключений о патогенности этих бактерий для животных и человека. Вызываемые культурами некоторых видов спороносных бактерий воспалительные поражения могут рассматриваться как результат неспецифического действия активного комплекса ферментов. Энтомопатогенные штаммы данной группы бактерий также практически безвредны для человека и животных [16].

Литературных данных о практическом применении бактериофагов для индикации и идентификации непатогенных бацилл в объектах санитарного надзора мы не встречали. На базе НИИЦМиБ УГСХА были проведены исследования пищевых продуктов, содержащих постороннюю микрофлору и искусственно контаминированных бактериями видов *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* и *Bacillus mesentericus* в концентрациях от 10^1 до 10^5 м.к./г. Экспериментальным путем было доказано, что используя разработанные нами методики фагоиндикации (реакция нарастания титра фага) и фагоидентификации (методом «стекающей капли») бактерий видов *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* и *Bacillus mesentericus* можно обнаружить их в концентрации 10^2 м.к./мл в жидких пищевых продуктах и в концентрации 10^3 м.к./мл в пищевых продуктах твердой консистенции без выделения чистой культуры при наличии посторонней микрофлоры за 24 часа, а время идентификации данных бацилл сократить до 25 часов.

Применяя фаговые биопрепараты на основе бациллярных бактериофагов в различных методиках (реакция нарастания титра фага, реакция адсорбции фагов, фаготетразоловый метод, пробирочный метод, метод «стекающей капли») можно осуществлять контроль параметров технологического процесса изготовления продуктов питания, анализировать качественный и количественный состав выделенных из сырья бацилл, являющихся причиной картофельной болезни хлеба, порчи продуктов питания, пищевых отравлений, вызванных непатогенными бактериями рода *Bacillus*, разрабатывать контрольные меры для их ликвидации. Вышеуказанные методики, в отличие от классических и усовершенствованных бактериологических занимают значительно меньше времени (максимально 25 часов), что, чрезвычайно важно, для исключения рисков их возникновения или уменьшения возможности присутствия до приемлемого уровня.

Список использованной литературы

1. Т. А. Галкина, А. А. Бондарчук, М. Пасечник Выделение протеолитических ферментов из *Bacillus mesentericus* и изучение их свойств - *Mikrobiol. Zh.* (1977) 39: 286-9.

2. Bergey's manual of determinative bacteriology. – 8th ed. – Baltimore: Williams and Wilkins Co. 1974. – 1258 p.

3. Donk, P.J. 1920. Journal of Bacteriology 5:373–374.

4. Ehrenberg, C.G. 1835. Physikalische Abhandlungen der Koeniglichen Akademie der Wissenschaften zu Berlin aus den Jahren 1833–1835, pp. 145–336; Cohn, F. 1872. Beitrage zur Biologie der Pflanzen 1875 1:127–224.

5. Frankland, G.C. and P.F. Frankland. 1887. Royal Society London, Philosophical Transactions, Series B, Biological Sciences 178:257–287.

6. Gordon R. The genus Bacillus. // In: Handb. Microbiol. Cleveland (Ohio), 1973. – V.1. – P.71-88.

7. Hammer, B.W. 1915. Iowa Agricultural Experimental Station Research Bulletin 19:119–131.

8. Meyer, A. and O. Gottheil. 1901 in Gottheil, O. Zentralblatt fur Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. Abteilung II. 7:680–691.

9. Prazmowski, A. 1880. Inaugural Dissertation. Hugo Voigt, Leipzig. pp. 1–58; Mace, E. 1889. Traite Pratique de Bacteriologie, 1st ed. J.-B. Balliere. Paris. pp. 1–711.

10. Schardinger, F. 1905. Zentralblatt fur Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. Abteilung II. 14:772–781.

11. Weigmann, H. 1898. Zentralblatt fur Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. Abteilung II. 4:820–834; Chester, F.D. 1901. A Manual of Determinative Bacteriology. The Macmillan Co., New York, pp. 1–401.

12. http://www.worldlingo.com/ma/enwiki/ru/Bacillus_licheniformis

13. <http://www.diclib.com/cgi-bin/>

14. <http://smikro.ru/>

15. <http://www.splammo.net/bact102/102bacillus.html>

16. <http://ru-patent.info>