

УДК 579.63

## БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОХЛАЖДЕННОЙ РЫБЫ

*Панцырева Е.С., Бурова Н.С.*, студенты 4 курса факультета ветеринарной медицины

Научные руководители – *Сулдына Е.В.*, аспирант; *Васильев Д.А.*, доктор биологических наук, профессор

ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»

**Ключевые слова:** *охлажденная рыба, бактериология, бактериологическое исследование, БГКП, стафилококки.*

**Аннотация.** *Работа посвящена проведению бактериологического исследования охлажденной рыбы и определению ее общего микробного числа. При проведении бактериологии на основании роста микроорганизмов на питательных средах и окраски мазков по Грамму нами были выявлено присутствие в рыбе бактерии группы кишечной палочки и стафилококков.*

Рыбное хозяйство нашей страны всегда играло важную роль в обеспечении населения основными продуктами питания. В рыбе и рыбопродуктах представлены все необходимые аминокислоты в оптимально сбалансированных количествах, а также полиненасыщенные жирные кислоты, незаменимые для жизнедеятельности человека. Однако в ряде случаев рыба и морепродукты являются источником заражения человека, домашних и диких плотоядных животных [3-7].

**Целью** наших исследований стало проведение бактериологического исследования охлажденной рыбы и определение ее общей микробной обсемененности.

Исследования проводились на кафедре микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина».

Для исследования было взято 3 пробы охлажденной рыбы, приобретенные в крупных сетевых магазинах Ульяновской области. Рыба была взята с соблюдением правил отбора проб [2].

Исследования проводились по общепринятым микробиологическим методам [1].

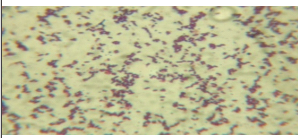
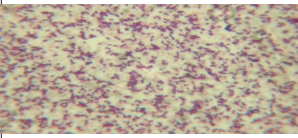
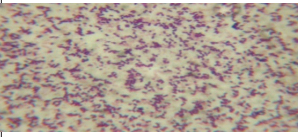
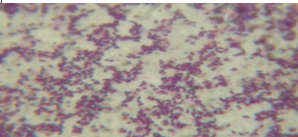
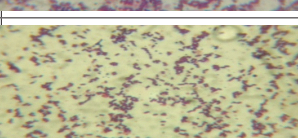
**Результат исследований.** С помощью обезжиренного стерильного предметного стекла сделали отпечатки с поверхности и внутренней части исследуемых проб. Мазки-отпечатки, окрашивали по Грамму и микроскопировали.

На поверхности пробы №1 обнаружили единичные G+ кокки, в глубоких слоях исследуемого материала микроорганизмов в 5 полях зрения не обнаружили.

В пробах №2 и 3 ничего не обнаружено.

Для определения общего микробного числа сделали разведение каждой пробы: 1/10, 1/100, 1/1000. По 1 мл из разведений добавили в расплавленный, остуженный до 45-50 °С агар и перелили на чашки Петри, инкубировали 24 ч при t 37°С. Описали выросшие колонии, подсчитали общее микробное число, с разных типов колоний сделали мазки и покрасили по Граму (табл.1).

**Таблица 1 – Характеристика роста микроорганизмов из исследуемых проб на МПА**

Проба	Колония	Мазок	Фото
1 1:10	Колония белого цвета, маленькая, края ровные, не прозрачная	Кокки G+ палочки, бациллы рас. Цепочками	
1 1:100	Белого цвета, ровные края, не прозрачные	Кокки	
2 1:10	Белого цвета, маленькие, не прозрачная, края ровные	Палочки G+	
2 1:100	Бежевого цвета, края ровные, не прозрачная, большие	бациллы	
3 1:10	Белого цвета, края ровные, не прозрачные, среднего размера	Кокки	

Подсчитали выросшие в толще и на поверхности МПА колонии. Для получения микробного числа количество выросших колоний в каждой чашке Петри умножили на соответствующее разведение рыбы, полученные результаты сложили и разделили на количество чашек.

Общее микробное число:

1 проба: 1:10 = 0; 1:100 = 135; 1:1000 = 39 итого: 274,6 кое/мл

2 проба: 1:10 = 31; 1:100 = 3; 1:1000 = 4 итого: 12,6 кое/мл

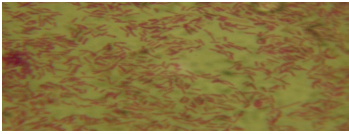
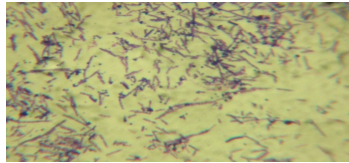

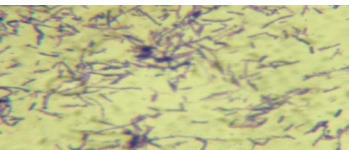
3 проба: 1:10 = 35; 1:100 = 4; 1:1000 = 3 итого: 12,5 кое/мл

Для определения родовой принадлежности и частичной идентификации микроорганизмов были сделаны посевы на среды:

- Эндо (определение наличия БГКП)
- желточно-солевой агар – ЖСА (определение наличия стафилококка)
- газонем на МПА с разведения  $10^{-5}$  (наблюдение за общей картиной наличия микроорганизмов в пробирке)
- висмут – сульфит агар – ВСА (обнаружение сальмонелл)
- среда Кесслера (определение бактерий группы кишечных палочек)

Чашки с посевами поместили в термостат и культивировали 24 часа при температуре 37°C.

**Таблица 2 - Характеристика роста микроорганизмов из исследуемых проб на среде Эндо**

Описание колонии	G+/-	Форма	Фото
1 проба 1:1000 Мелкие, прозрачные, розовые	G+	палочки	
2 проба 1:10 Матовые, мелкие, прозрачные	G-	палочки	
2 проба 1:1000 Большие, розовые с мол.ареалом, круглые	G-	палочки	
3 проба 1:10 Мелкие, прозрачные, не ровные с выпуклым центром, глянцевые	G-	палочки	

Таким образом, при проведении бактериологического исследования охлажденной рыбы на основании роста микроорганизмов на питательных средах и окраски мазков по Грамму нами были выявлено присутствие бактерии группы кишечной палочки и стафилококков.

**Библиографический список:**

1. Методические указания МУК 4.2.2884-11. Методы микробиологического контроля объектов окружающей среды и пищевых продуктов. М.: ФЦ Роспотребнадзора. 2011.- 24 с.
2. ГОСТ 7631-73. Рыба, продукты из рыбы, морские млекопитающие и беспозвоночные. Правила приемки. Методы органолептической оценки качества. Методы отбора проб для лабораторных испытаний.
3. Разработка системы фаготипирования листерий / Е.Н. Ковалева, Д.А. Васильев, Е.В. Сульдина // Инфекция и иммунитет. – 2014. – сентябрь, специальный выпуск – С. 87-88.
4. Выделение бактериофагов бактерий рода *Listeria* / Д.А. Васильев, Е.Н. Ковалева, Е.В. Сульдина // Инфекция и иммунитет. – 2014. – сентябрь, специальный выпуск – С. 69-70.
5. Основные биологические свойства листериозных бактериофагов / Е.В. Сульдина, Д.А. Васильев, Е.Н. Ковалева // Материалы VI Международной научно-практической конференции «Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения». Часть III / Ульяновск, ГСХА им. П.А.Столыпина. - 2015. – С.125-127.
6. Фаготипирование листерий / Е.В. Сульдина, Е.Н. Ковалева, Д.А. Васильев // Материалы Всероссийского симпозиума с международным участием «Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов». Москва, МГУ имени М.В. Ломоносова. Биологический факультет. – М.: МАКС Пресс. - 2014. – С.223
7. Васильев, Д.А. Разработка параметров количественного определения бактерий видов *Listeria monocytogenes* и *Listeria ivanovii* на основе мультиплексной пцр в режиме «реального времени» / Д.А. Васильев, Е.Н. Ковалева, Е.В. Сульдина, А.В. Мاستиленко // Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 55-летию ВНИИВВиМ «Актуальные вопросы контроля инфекционных болезней животных». Покров. - 2014. - С. 91-96.
8. Сульдина Е.В. Применение метода молекулярно-генетического анализа для видовой идентификации мяса / Е.В. Сульдина, О.Л. Колбасова, С.В. Мерчина // Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии Мате-

- риалы V-й Всероссийской (с международным участием) студенческой научной конференции. Ульяновск. - 2012. - С. 227-231.
9. Сульдина Е.В. Применение метода Real-time PCR для видовой идентификации мясного сырья в мелкоизмельченных полуфабрикатах и готовых мясных продуктах / Е.В. Сульдина, О.Л. Колбасова, С.В. Мерчина // Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии Материалы V-й Всероссийской (с международным участием) студенческой научной конференции. Ульяновск. - 2012. - С. 236-240.
  10. Сульдина Е.В. Определение видовой принадлежности мясного сырья в мелкоизмельченных полуфабрикатах и готовых мясных продуктах методом ДНК-диагностики / Е.В. Сульдина, О.Л. Колбасова, С.В. Мерчина // Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии Материалы V-й Всероссийской (с международным участием) студенческой научной конференции. Ульяновск. - 2012. - С. 231-235.
  11. Сульдина Е.В. Определение видовой принадлежности мяса методом полимеразной цепной реакции в режиме «Реального» времени / Е.В. Сульдина, О.Л. Колбасова, С.В. Мерчина // Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии Материалы V-й Всероссийской (с международным участием) студенческой научной конференции. Ульяновск. - 2012. - С. 241-244. Золотухин С.Н. Изучение чувствительности *E.coli* к колифагам / С.Н. Золотухин, Н.И. Молофеева, Д.А. Васильев // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. Ульяновск. - 2001. - № 11. - С. 59.
  12. Золотухин С.Н. Чувствительность патогенных энтеробактерий, выделенных при диареях молодняка животных к антибиотикам и специфическим бактериофагам / С.Н. Золотухин, А.С. Мелехин, Д.А. Васильев, Л.С. Каврук, Н.И. Молофеева, Л.П. Пульчеровская, Б.М. Коритняк, Е.А. Бульканова // Профилактика, диагностика и лечение инфекционных болезней, общих для людей и животных. Ульяновск. - 2006. - С. 233-236.
  13. Золотухин С.Н. Выделение и селекция клонов бактериофагов патогенных энтеробактерий / С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев, Л.С. Каврук, Н.И. Молофеева, Л.П. Пульчеровская, Б.М. Коритняк, Е.А. Бульканова, Н.А. Феоктистова, Е.Н. Пожарникова, А.С. Мелехин, Н.Г. Барт, Н.П. Катмакова // Профилактика, диагностика и лечение инфекционных болезней, общих для людей и животных. Ульяновск. - 2006. - С. 227-230.
  14. Курьянова Н.Х. Проблемы биологической диагностики орнитобактериоза / Н.Х. Курьянова, Н.И. Молофеева, Д.А. Васильев // Научный вестник Московского государственного горного университета. Москва. - 2009. - С. 170.
  15. Золотухин С.Н. Штаммы бактериофагов малоизученных патогенных энтеробактерий и их практическое применение / С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев,

- Л.С. Каврук, Л.П. Пульчеровская, Н.И. Молофеева, Б.М. Коритняк, А.Ю. Кузнецов, Е.А. Бульканова, Е.Н. Пожарникова, Н.А. Феоктистова, А.С. Мелехин, С.В. Ленев // Научные разработки и научно-консультационные услуги Ульяновской ГСХА. Информационно-справочный указатель. Ульяновск. - 2006. - С. 45-49.
16. Потатуркина-Нестерова Н.И. Атомно-силовая микроскопия как метод исследования в микробиологии / Н.И. Потатуркина-Нестерова, И.С. Немова, А.В. Даньшина // Современные проблемы науки и образования. - 2012. - № 3. - С. 316.
17. Елистратова Л.Л. Современное состояние проблемы демодекоза / Л.Л. Елистратова, Н.И. Потатуркина-Нестерова, А.С. Нестеров // Фундаментальные исследования. - 2011. - № 9-1. - С. 67-69.13. Потатуркина-Нестерова Н.И. Изменение вирулентных свойств урогенитальных энтерококков в условиях межмикробных взаимоотношений / Н.И. Потатуркина-Нестерова, И.С. Немова, М.Н. Артамонова, Е.Б. Хромова, О.Е. Хохлова, Н.В. Трофимова, О.В. Теплякова, И.А. Кочергина // Современные проблемы науки и образования. - 2013. - № 1. - С. 8.
18. Белозерова Е.А. Влияние хронического поступления солей меди, цинка и свинца на микробиологический баланс толстой кишки в условиях эксперимента / Е.А. Белозерова, Н.И. Потатуркина-Нестерова, Е.С. Климов. -Токсикологический вестник. - 2007. - № 4. - С. 26-30.
19. Яцишина С.Б. Применение мультиплексной ПЦР для идентификации вирулентных форм возбудителя сибирской язвы / С.Б. Яцишина, И.Л. Обухов, Л.С. Саленко, Б.И. Шморгун и др. // Сб. тезисов Генодиагностика инфекционных заболеваний. Всеросс. науч.-практич. Конференция. – 2002.

## **THE SANITARY - MICROBIOLOGICAL RESEARCH OF FISH**

Pantsyreva E.S., Burova N.S., Suldina E.V., Vasilyev D.A.

**Keywords:** *chilled fish, bacteriology, bacteriological examination, coliforms, Staphylococcus.*

**Summary.** *The work is dedicated to conducting bacteriological examination of chilled fish and determination of its total count. During the bacteriology based microbial growth on nutrient media and smear Gram staining we have revealed the presence in fish coliforms and staphylococci.*