14. Permskij kraj / Ministerstvo prirodnyh resursov i ehkologii Rossijskoj Federacii (Perm region / Ministry of natural resources and ecology of the Russian Federation), EHlektronnyj resurs, URL: http://www.mnr.gov.ru/maps/?region=59, data obrashcheniya: 23.03.2016.

15. Prigozhin I. AiF-Prikam'e (AiF-Kama Region), Data publikacii: 25.02.2015 16:44:00, EHlektronnyj resurs, Oficial'nyj internet - portal Argumenty i fakty Perm.AIF, Rezhim dostupa: http. www. perm.aif.ru/society/details/1455192, data obrashcheniya: 12.01.2017.

УДК 619:637.075

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРОПИЛЕНГЛИКОЛЯ НА ПРИРОСТ БИОМАССЫ САЛЬМОНЕЛЛ И МИКРОБОВ-АССОЦИАНТОВ

Е. О. Чугунова, д-р биол. наук, доцент,
ФГБОУ ВО Пермский ГАТУ,
г. Пермь, ул. Петропавловская, 23
E-mail: chugunova.elen@yandex.ru

Аннотация. В статье изучен вопрос влияния пропиленгликоля в составе забуференной пептонной воды на размножение сальмонелл и ряд микробов-ассоциантов. Цель выполнения данной работы – выбор агента, позволяющего полностью или частично угнетать рост сопутствующей микрофлоры и не оказывать отрицательного воздействия на клетки сальмонелл. Работа проведена в лаборатории освоения агрозоотехнологий Пермского ГАТУ в период с января по июнь 2018 года, с использованием бактериологического метода исследования. Материалом для испытаний служили музейные штаммы *Salmonella* spp., *Escherichia coli, Shigella flexneri, Proteus vulgaris, Staphilococcus aureus* и *Listeria monocytogenes*, полученные из ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России. В результате установили, что биомасса золотистого стафилококка после инкубации в забуференной пептонной воде с содержанием пропиленгликоля была на 17,53 % меньше, чем в контроле; протея и кишечной палочки – на 20 %; листерий – на 34,21 %, шигелл – более чем на 50 %. При этом отмечено положительное влияние пропиленгликоля на размножение клеток бактерий рода *Salmonella*, в частности, бактериальная масса сальмонелл, накопление которых происходило в присутствии пропиленгликоля, оказалась на 38,57 % больше, чем контрольных образцов.

Ключевые слова: Salmonella spp., микробы-ассоцианты, забуференная пептонная вода, пропиленгликоль.

Введение. Одним из приоритетных направлений ветеринарной санитарии является выпуск безопасных по микробиологическим показателям продуктов животного происхождения [1, 2]. Пищевые отравления бактериального характера делят на две группы: пищевые токсикоинфекции – это заболевания, которые вызываются микроорганизмами в сочетании с продуктами их жизнедеятельности (токсинами); пищевые токсикозы (интоксикации), вызываемые микробными токсинами, которые накапливаются в продукте в результате обильного размножения микробов. В данном случае отравление может вызвать токсин без участия микроба. Возбудителями пищевых токсикоинфекций, в первую очередь, являются бактерии рода *Salmonella*, которые не редко контаминируют туши, а чаще мясные продукты и полуфабрикаты [3]. В настоящее время сальмонеллезы остаются большой проблемой, несмотря на значительную изученность данного вопроса, потому что работа с сальмонеллами имеет ряд трудностей, связанных с их высокой изменчивостью [4].

Выделение сальмонелл из испытуемого образца пищевого продукта представляет многоступенчатый процесс, в ходе которого происходит восстановление угнетенных бактерий, деление микробных клеток, получение чистой культуры сальмонелл и идентификация возбудителя [3, 5]. Среды, применяемые для предварительного размножения сальмонелл, лишены избирательности в отношении отдельных родов и видов микроорганизмов,

поэтому, наравне с увеличением биомассы сальмонелл, идет размножение и ассоциативной микрофлоры. В связи с этим выбор средства, обладающего ингибирующими свойствами в отношении посторонней микрофлоры и одновременно нейтрального в отношении сальмонелл, является актуальной практической задачей.

Цель работы – подобрать агент, позволяющий полностью или частично угнетать рост сопутствующей микрофлоры и не оказывать отрицательного воздействия на клетки сальмонелл.

Задачи:

1) экспериментально определить влияние неселективной питательной среды на размножение сальмонелл и микробов-ассоциантов;

2) подобрать агент, ингибирующий сопутствующие микроорганизмы;

3) изучить влияние ингибитора на биомассу сальмонелл и посторонней микрофлоры.

Методика. Работа выполнена в лаборатории освоения агрозоотехнологий Пермского ГАТУ в период с января по июнь 2018 года.

Материалом для исследования служили музейные штаммы *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Proteus vulgaris*, *Staphilococcus aureus* и *Listeria monocytogenes*, полученные из ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, которые были поделены на группы контрольных и опытных образцов.

Метод исследования – бактериологический, при этом этап неселективного обогащения контрольных образцов осуществляли в строгом соответствии с ГОСТ 31659-2012 Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella* [5]. Опытные образцы сальмонелл и ассоциантов для неселективного обогащения инокулировали в модифицированную забуференную пептонную воду (МЗПВ). Для исследований использовали бактериальную взвесь, содержащую 100 микробных тел (МТ) сальмонелл и сопутствующих микроорганизмов, которую готовили с помощью оптического прибора Densi-La-Meter (Erba Lachema, Чехия) (табл. 1).

Математическая обработка и расчет достоверности результатов подготовлены с помощью программы Statistica 6.0.

Таблица 1

Соответствие оптической плотности количеству микроорганизмов (выписка из инструкции к прибору Densi-La-Meter)

№ п/п	Оптическая плотность, ед. McF	Количество микроорганизмов, млн/мл
1	0,5	1x108
2	1,0	3x108
3	2,0	6x108
4	3,0	9x108
5	4,0	12x108
6	5,0	15x108

Результаты. На первом этапе исследований определили ряд микроорганизмов, которые использовали в качестве сопутствующей микрофлоры. В качестве микробов-ассоциантов были выбраны штаммы протея, эшерихий, золотистого стафилококка и листерий, характеризующие показатель микробной безопасности продукции [6, 7]. В качестве пятого микроорганизма из состава сопутствующей микрофлоры выбрали шигеллы из-за их морфологической и биологической схожести с сальмонеллами [8, 9, 10].

Суточные культуры данных микроорганизмов и бактерий рода *Salmonella* инокулировали в ЗПВ, инкубировали в течение (18±2) часа при температуре 37 ºС, и далее посредством прибора Densi-La-Meter измеряли прирост бактериальной массы, результат выражали в единицах МакФарланда (ед. McF) и количестве бактериальных клеток (млн/мл) (табл. 2).

Таблица 2

Прирост бактериальной массы *Salmonella* spp. и микробов-ассоциантов после обогащения в ЗПВ

Вид микроорганизмов	Оптическая плотность, ед. McF	Количество микроорганизмов, млн/мл
Salmonella spp.	0,879±0,15	$2,637x10^8$
P. vulgaris	0,613±0,064	$1,226x10^8$
E. coli	0,975±0,046	$2,925x10^8$
S. aureus	0,713±0,035	$2,139x10^8$
L. monocytogenes	0,038±0,052	$0,076x10^8$
Sh. flexneri	0,663±0,052	$1,989x10^8$

По результатам измерения оптической плотности растворов установили, что как сальмонеллы, так и ассоцианты, в процессе инкубации бактериальных взвесей в ЗПВ размножились в геометрической прогрессии. Минимальный показатель роста отмечен в отношении бактерий штамма *L. monocytogenes,* которые увеличили свою бактериальную массу до 0,076х10^8 млн/мл.

Далее приступили к выбору агента, способного полностью или частично угнетать рост посторонней микрофлоры, при этом не влиять на жизнеспособность сальмонелл. В качестве последнего был выбран пропиленгликоль, т.к. известно, что только сальмонеллы обладают способностью к его ферментации [11-13]. Для определения необходимой концентрации пропиленгликоля в ЗПВ разные его количества, начиная от 5,0 до 20 $см^3$, вводили в пептонную воду, инокулировали *Salmonella* spp., и после инкубации оценивали степень мутности жидкой питательной среды (табл. 3).

Таблица 3

Оптическая плотность ЗПВ и МЗПВ после инкубации взвеси *Salmonella* spp.

Серотип сальмонелл	МЗПВ				ЗПВ
	Количество пропиленгликоля, $см^3$				
	5,0	10,0	15,0	20,0	
S. Typhimurium	+++	++	+	–	+++
S. Dublin	+++	++	+	–	+++
S. Choleraesuis	+++	++	+	–	+++
S. Enteritidis	+++	++	+	–	+++
S. Gallinarum-Pullorum	+++	++	+	–	+++
S. Infantis	+++	++	+	–	+++
S. Hamburg	+++	++	+	–	+++
S. Virchow	+++	++	+	–	+++

Примечание: +++ - очень мутная среда; ++ - мутная; + - слабо выраженная мутность; – - прозрачная среда.

Таким образом, наиболее подходящая для развития сальмонелл доза вводимого в среду пропиленгиколя оказалась в диапазоне от 5 до 10 $см^3$. Далее работали в указанных пределах и концентрацию пропиленгликоля подбирали с шагом 0,1 $см^3$. В итоге оптимальное количество пропиленгликоля оказалось равно 7,0 $см^3$. Указанную концентрацию выбранного агента использовали для дальнейших исследований по изучению влияния МЗПВ на рост сальмонелл и посторонней микрофлоры. После инкубации образцов установили, что в МЗПВ возможен рост как сальмонелл, так и сопутствующих микроорганизмов (табл. 4).

Таблица 4

Оптическая плотность МЗПВ после инокуляции *Salmonella* spp. и микробов-ассоциантов и инкубации образцов

Вид микроорганизмов	Оптическая плотность, ед. McF	Количество микроорганизмов, млн/мл
Salmonella spp.	1,568±0,56[2]	4,704х10^8
P. vulgaris	0,488±0,064[1]	0,976х10^8
E. coli	0,775±0,046[1]	2,325х10^8
S. aureus	0,588±0,035[1]	1,176х10^8
L. monocytogenes	0,025±0,046	0,05х10^8
Sh. flexneri	0,3±0,0[1]	0,6х10^8

Примечание: [1]– при P<0,001; [2]– при P<0,01

По совокупности полученных данных проведен сравнительный анализ воздействия пропиленгликоля на биомассу взятых в опыт бактерий (рис. 1).

На рисунке видно, что бактериальная масса сальмонелл, накопленных в ЗПВ (контроль), оказалась в два раза меньше, чем после инкубации в МЗПВ (опыт). Одновременно отметили угнетение прироста биомассы сопутствующих микроорганизмов. В частности, оптическая плотность образцов, контаминированных *P. Vulgaris*, снизилась с 0,613 до 0,488 ед. McF, что соответствует разнице в количестве 0,25х10^8 микробных тел и составляет более 20 %. Подобный результат получили при работе с культурой *E. coli*, при этом установили уменьшение количества клеток с 2,925х10^8 до 2,325х10^8, а, следовательно, уровень угнетения эшерихий составил более 20 %. Оптическая плотность опытных образцов *S. aureus* была на порядок ниже, чем контрольных, при этом ингибиция клеток золотистого стафилококка оказалась равна 17,5 %. Необходимо отметить, что листерии очень

требовательны к питательным средам, поэтому как в контрольных, так и в опытных образцах пептонной воды число *L. monocytogenes* по итогам инкубации было невелико и составило $0,076x10^8$ и $0,05x10^8$ соответственно. Высокую чувствительность по отношению к пропиленгликолю показали клетки *Sh. flexneri,* биомасса которых в опыте оказалась на 50 % меньше, чем в контроле.

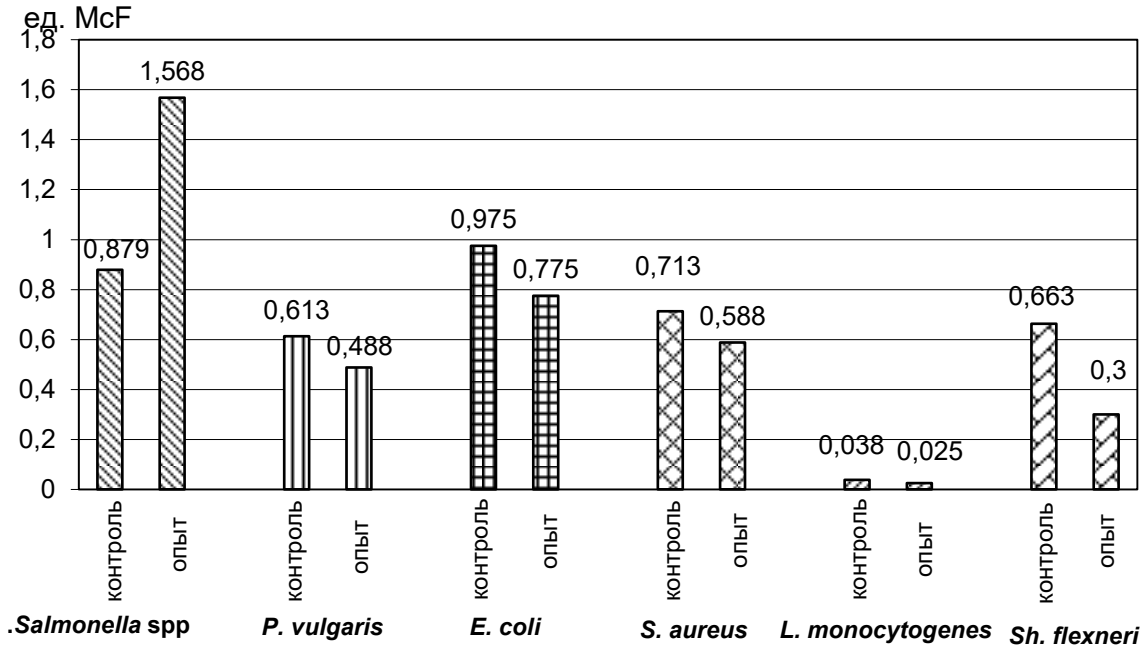

Рис. 1. Оптическая плотность контрольных и опытных образцов пептонной воды после инкубации с сальмонеллами и микробами-ассоциантами, ед. McF

В заключение необходимо отметить, что пропиленгликоль способствует выделению сальмонелл из испытуемых образцов мяса, мясных продуктов и полуфабрикатов, в которых, кроме искомых микроорганизмов, могут присутствовать и микробы-ассоцианты. С одной стороны, пропиленгликоль являясь двухатомным спиртом и обладая свойствами спиртов, в разной степени угнетает размножение микробов-ассоциантов, что благоприятно сказывается на увеличении популяции сальмонелл. С другой стороны, является питательным субстратом для самих сальмонелл, обладающих исключительной способностью к его ферментации.

Выводы. Биомасса сальмонелл в опытных образцах пептонной воды составила 1,568±0,56 ед. McF ($4,704x10^8$), а в контроле – 0,879±0,15 ед. McF ($2,637x10^8$), т.е. оптическая плотность опытных образцов на 38,57 % больше, чем контрольных проб.

В результате подобного обогащения с использованием испытуемой и контрольных сред накопления с микробами-ассоциантами установили, что биомасса *Staphilococcus aureus* после инкубации в МЗПВ была на 17,53 % меньше, чем в контроле; *Escherichia coli* и *Proteus vulgaris* на 20 %; *Listeria monocytogenes* на 34,21 %, *Shigella flexneri* более чем на 50 %.

Литература

1. Тулякова, Т.В. Фурсова Н.А., Шибанов Е.И. Безопасность продовольственного сырья – важнейшая составляющая безопасности пищевых продуктов // Пищевая промышленность. М.: Пищевая промышленность. 2013. № 5. С. 33.

2. Продовольственная безопасность – необходимое условие национальной безопасности России / Т.В. Тулякова [и др.] // Пищевая промышленность. 2015. № 11. С. 16-18.

3. Микробиологический контроль мяса животных, птицы, яиц и продуктов их переработки: справочник / С.А. Артемьева [и др.]. Москва: Колос, 2002. 288 с.

4. Руководство по ветеринарно-санитарной экспертизе и гигиене производства мяса и мясных продуктов / Ю.Г. Костенко [и др.]; ред.: М.П. Бутко, Ю.Г. Костенко. 2-е изд., испр. и доп. Москва: Антиква, 1994. 607 с.

5. ГОСТ 31659-2012 Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*. Москва: Стандартинформ, 2014. 24 с.

6. О безопасности пищевой продукции [Электронный ресурс]: Технический регламент Таможенного союза № 021 // СПС КонсультантПлюс. Законодательство. Загл. с экрана (дата обращения 12.06.018).

7. СанПиН 2.3.2.1078-01. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов // Бюллетень нормативных и методических документов Госсанэпиднадзора. Москва, 2002. 145 с.

8. Hardt W., Galбn J. A secreted Salmonella protein with homology to an avirulence determinant of plant pathogenic bacteria // P Natl Acad Sci USA. 1997. Vol. 94. Pp. 9887-9892.

9. Holmes B., Humphry P.S. Identification of Enterobacterioceae with the Minitek System // J. Appl Bacteriol. 1988. Vol. 64 (2). Pp. 151-161.

10. Simple and rapid methods for detecting *Salmonella* Enteritidis in raw eggs International / K.-H. Seo [et al.] // J. Food Microbiol. 2003. Vol. 87. Pp. 139-144.

11. Greenwald R., Henderson R.W., Yappaw S. Use of Rambach Propylene Glycol Containing Agar for identification of *Salmonella* spp. [Ehlektronnyj resurs] // J. Clin. Microbiol. 1991. Vol. 29 (10). Pp. 2354-2356. Retrieved from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC270331/ – Zaglavie s ehkrana (accessed 20.03.2012).

12. Rambach A. New Plate Medium for Facilitated Differentiation of *Salmonella* spp. from *Proteus spp.* and Other Enteric Bacteria // Appl. Environ. Microbiol. 1990. Vol. 56 (1). Pp. 301-303.

13. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater / ed.: A.E. Greenberg, R.R. Trussel, L.S. Clesceri. Washington: APHA, 1985. 1268 p.

INVESTIGATION OF PROPYLENE GLYCOL INFLUENCE ON BIOMASS GROWTH OF SALMONELLA SPP. AND MICROBIAL ASSOCIENTS

E. O. Chugunova, Dr. Bio. Sci., Associate Professor
Perm State Agro-Technological University
23, Petropavlovskaya St., Perm, 614990, Russia
E-mail: chugunova.elen@yandex.ru

ABSTRACT

The article deals with the issue of influence of propylene glycol as a component of buffered peptone water on the reproduction of *Salmonella* spp. and certain microbial associents. The aim of research is to select an agent that completely or partially inhibit the growth of concomitant microflora without a negative effect on *Salmonella* cells. The research was carried out in the Laboratory of Agrozootechnologies Development of the Perm State Agro-Technological University from January to June, 2018. Bacteriological method of investigation was used in the research. Material for the tests was the archival strains of *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* obtained from the FSBI «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation. Eventually, it was established that biomass of *Staphylococcus aureus* after incubation in buffered peptone water with propylene glycol was by 17.53% less than in the control samples; *Proteus vulgaris* and *Escherichia coli* – by 20%; cells of *Listeria monocytogenes* – by 34.21%, *Shigella flexneri* – more than 50% less. In this case, the positive effect of propylene glycol on the reproduction for *Salmonella* spp. was noted. Particularly, bacterial mass of *Salmonella* spp. accumulated by buffered peptone water with propylene glycol was by 38.57% greater than the control samples.

Keywords: Salmonella spp., microbial associents, buffered peptone water, propylene glycol

References

1. Tulyakova, T.V. Fursova N.A., Shibanov E.I. Bezopasnost' prodovol'stvennogo syr'ya – vazhneishaya sostavlyayushchaya bezopasnosti pishchevykh produktov (Safety of food raw materials - the most important component of food safety), Pishchevaya promyshlennost', M., Pishchevaya promyshlennost', 2013. No. 5, pp. 33.

2. Prodovol'stvennaya bezopasnost' – neobkhodimoe uslovie natsional'noi bezopasnosti Rossii (Food security - a necessary condition for national security of Russia), T.V. Tulyakova [i dr.], Pishchevaya promyshlennost', 2015, No. 11, pp. 16-18.

3. Mikrobiologicheskii kontrol' myasa zhivotnykh, ptitsy, yaits i produktov ikh pererabotki: spravochnik (Microbiological control of animal's meat, poultry, eggs and products of their processing: Reference Book), S.A. Artem'eva [i dr.], Moskva, Kolos, 2002, 288 p.

4. Rukovodstvo po veterinarno-sanitarnoi ekspertize i gigiene proizvodstva myasa i myasnykh produktov (Guidance on veterinary and sanitary examination and production hygiene of meat and meat products), Yu.G. Kostenko [i dr.], red.: M.P. Butko, Yu.G. Kostenko, 2-e izd., ispr. i dop., Moskva, Antikva, 1994, 607 p.

5. GOST 31659-2012 Produkty pishchevye. Metod vyyavleniya bakterii roda Salmonella (GOST 31659-2012 Food products. Method for the detection of *Salmonella* spp.), Moskva, Standartinform, 2014, 24 p.

6. O bezopasnosti pishchevoi produktsii [Elektronnyi resurs]: Tekhnicheskii reglament Tamozhennogo soyuza № 021 (About food safety [Electronic resource]: Technical Regulation of the Customs Union), SPS Konsul'tantPlyus. Zakonodatel'stvo. Zagl. s ekrana, data obrashcheniya 12.06.018.

7. SanPiN 2.3.2.1078-01. Gigienicheskie trebovaniya bezopasnosti i pishchevoi tsennosti pishchevykh produktov (SanPiN 2.3.2.1078-01. Hygienic requirements for safety and nutritional value of food products), Byulleten' normativnykh i metodicheskikh dokumentov Gossanepidnadzora, Moskva, 2002, 145 p.

8. Hardt W., Galбn J. A secreted Salmonella protein with homology to an avirulence determinant of plant pathogenic bacteria, P Natl Acad Sci USA, 1997, Vol. 94, pp. 9887-9892.

9. Holmes B., Humphry P.S. Identification of Enterobacterioceae with the Minitek System, J. Appl Bacteriol, 1988, Vol. 64 (2), pp. 151-161.

10. Simple and rapid methods for detecting *Salmonella* Enteritidis in raw eggs International, K.-H. Seo [et al.], J. Food Microbiol, 2003, Vol. 87, pp. 139-144.

11. Greenwald R., Henderson R.W., Yappaw S. Use of Rambach Propylene Glycol Containing Agar for identification of *Salmonella* spp. [Ehlektronnyj resurs], J. Clin, Microbiol, 1991, Vol. 29 (10), pp. 2354-2356, Retrieved from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC270331/, Zaglavie s ehkrana (accessed 20.03.2012).

12. Rambach A. New Plate Medium for Facilitated Differentiation of *Salmonella* spp. from *Proteus spp.* and Other Enteric Bacteria, Appl. Environ. Microbiol, 1990, Vol. 56 (1), pp. 301-303.

13. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, ed.: A.E. Greenberg, R.R. Trussel, L.S. Clesceri, Washington, APHA, 1985, 1268 p.

УДК 636.043

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПИТАТЕЛЬНОСТИ РАЦИОНОВ СОБАК, ОСНОВАННЫХ НА ГОТОВЫХ СУХИХ КОРМАХ «CHAPPI», «PEDIGREE» И ПРИГОТОВЛЯЕМОМ КОРМЕ ИЗ НАТУРАЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ

С. М. Шляпников, канд. с.-х. наук, доцент,
ФКОУ ВО «Пермский институт ФСИН России»,
ул. Карпинского, д. 125, г. Пермь, Россия, 614012
E-mail: shlyapnikovyperm@mail.ru

Аннотация. В статье представлены результаты скармливания рационов для собак, базирующихся на готовых сухих кормах, а также приготовляемом корме, которые сопоставлялись между собой с целью установления среди них рациона, в наибольшей степени соответствующего потребностям организма служебных собак. Научно-хозяйственный опыт проводился на находившихся в условиях вольерного содержания и одинакового ухода собаках породы немецкая овчарка питомника ФКОУ ВО «Пермский институт ФСИН России», из которых по методу групп-аналогов были сформированы три группы. При этом контрольная группа содержалась на состоявшем из приготовляемого корма традиционном рационе, первая опытная – на корме «Chappi», а вторая опытная – на корме «Pedigree». Впервые в условиях Пермского края при содержании на городке служебных собак изучалось влияние данных рационов на физиологическое и функциональное состояние собак. Было установлено, что для обеспечения потребностей организма служебных собак живой массой 30 кг, а также их оптимальной кондиции и высокой работоспособности в наибольшей степени соответствовал рацион на базе корма, приготавливаемого из натуральных продуктов. На протяжении 90 дней опыта собаки контрольной группы имели положительную динамику живой массы (среднесуточный прирост 4,56 г), незначительные изменения скорости (-0,076 м/с) и высокий средний балл по качеству шерсти (4,97). В то же время у животных опытных групп наблюдались отрицательные динамика живой массы (-11,67 г/сут. – «Chappi», -1,89 г/сут. – «Pedigree») и скорости (-2,830 м/с – «Chappi», -0,953 м/с – «Pedigree»), а также более низкий средний балл по качеству шерсти (3,23 – «Chappi», 4,67 – «Pedigree»).

Ключевые слова: собака, кормление, сухой корм, питательность, рацион, физиологическое и функциональное состояние.