

УДК 663.18

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕКОНТАМИНАЦИИ СЫРА ФАГАМИ

*Н.А. Феоктистова, кандидат биологических наук, доцент,
8(8422) 55-95-47, feokna@yandex.ru*

*Д.А. Васильев, доктор биологических наук, профессор,
8(8422)55-95-47, dav_ul@mail.ru*

*И.М. Абдрахманов, аспирант, 8(8422) 55-95-47,
abdrahmanov.ilhur@yandex.ru*

*Г.З. Балтаева, студентка ФВМиБ,
8(8422) 55-95-47, jandaneziz@gmail.com
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ*

Ключевые слова: фаги, деконтаминация, сыр, *Vacillus cereus*, *Vacillus megaterium*, биопрепарат, метод, применение.

*В статье представлены материалы исследований по оценке эффективности применения бактериофагов FBC – 28 УЛГАУ, Vmeg–16 УЛГАУ, в эксперименте по деконтаминации сыра Сулугуни, искусственно контаминированного бактериями *Vacillus cereus* и *Vacillus megaterium*. Установлено, что через 24 часа от начала эксперимента титр каждого из бактериофагов достигал максимальных значений. Подтверждено, что исчезновение фаговых частиц с поверхности сыра происходило через 72 часа от начала эксперимента (через 48 часов после полной элиминации бактерий-мишеней).*

Введение. Бактерии *Vacillus cereus* и *Vacillus megaterium* способны культивироваться при минимальных температурах роста в пределах 4–5 °С и при максимальных - 48–50 °С. Показано также, что они способны расти при значениях pH, выходящих за рамки 4,9–9,3 [1]. Вышеназванные микроорганизмы, благодаря своим свойствам, являются одним из этиологических факторов биологического разрушения продуктов питания, в том числе молока и продуктов, изготовленных из него. Наличие у бацилл спор препятствует инактивации, протеолитическая активность приводит к различным порокам [2].

Если в хранении растительного сырья уже активно используются биологические средства защиты, на основе активных штаммов антагонистов патогенной микрофлоры, то исследования по обработке пищевой продукции из сырья животного происхождения только начинаются [3]. Применение фаговых биопрепаратов позволяет проводить

обработку, не создается угрозы нарушения экологического равновесия в биосфере, и имеют высокую специфичность, то есть, разрушив клетки хозяина, бактериофаг перестает работать [4].

Цель работы – провести исследования по оценке эффективности применения бактериофагов FBC – 28 УЛГАУ, Vmeg–16 УЛГАУ, в эксперименте по деконтаминации сыра Сулугуни, искусственно контаминированного искусственными бактериями *Bacillus cereus* и *Bacillus megaterium*.

Материалы и методы. Бактериофаги FBC – 28 УЛГАУ, Vmeg–16 УЛГАУ и бактерии *Bacillus megaterium* 182 и *Bacillus cereus* 18 были получены музея кафедры МВЭ и ВСЭ ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ.

Головки сыра (18 образцов, средний вес 270 г, из расчета по 3 шт. на каждые сутки эксперимента) искусственно контаминировали в суспензии, содержащей 18 часовые культуры бактерий *Bacillus cereus* и *Bacillus megaterium* в титре $n \times 10^9$ КОЕ/мл методом погружения на 10 мин. Контаминированные головки сыра подсушивали на стерильных лоточках в течение 1 ч для адаптации бактерий на поверхности мягкого сыра. Эксперимент проводился в бактериологическом боксе кафедры МВЭ и ВСЭ ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ при соблюдении правил техники безопасности по методикам, отработанным сотрудниками [5-8].

Методика фаг-опосредованного биопроцессинга: головки сыра погружали на 30 с в стерильный фильтрат фаголизатов FBC – 28 УЛГАУ и Vmeg–16 УЛГАУ с титром каждого фага не ниже $n \times 10^8$ БОЕ/мл (МОИ = 1:10). Образцы складывали в пластиковые контейнеры для хранения при температуре $4 \pm 2^\circ\text{C}$. В исследованиях использовали гомогенизатор, шуттель-аппарат, термостат, холодильник, центрифугу, весы электронные. трихлорметан, МПА, МПБ, МУР- агар, лабораторную посуду.

Результаты исследований и их обсуждение. Эффективность деконтаминации проверяли следующим образом: 10 граммовый кусочек сыра, отрезанный от каждого образца, гомогенизировали в 90 мл МПБ, после чего 0,1 мл полученной смеси наносили на чашки Петри с МПА. Учет количества перечисленных выше бактерий проводили после термостатирования в течение 24 ч, при температуре $36 \pm 1^\circ\text{C}$ на МУР- агаре.

Количество бактериофагов на поверхности образцов сыра определяли по следующей схеме: в суспензию с гомогенизированными кусочками сыра, полученными по методике описанной выше, добавляли трихлорметан (хлороформ) в соотношении 1:10. После этого пробы шуттелировали 30 мин, а затем центрифугировали со скоростью 5000 об/мин. Надосадочную жидкость отбирали в стерильную пробирку и

высевали на чашки Петри по методу Грация []. Посевы культивировали в условиях термостата при температуре 36 ± 1 °С. Результаты исследований представлены в таблице 1. «I» - обозначен опыт, «II» - контроль.

Таблица 1 - Показатели, характеризующие контаминацию опытных и контрольных проб сыра Сулугуни

Параметры <i>Bacillus megaterium</i>		Название микроорганизмов		Органолептические показатели качества объекта исследований
		<i>Bacillus cereus</i>		
I	До обработки, КОЕ/г	$n \times 10^2$	$n \times 10^2$	Слабо выраженный сырный, чистый, кисломолочный
II		$n \times 10^2$	$n \times 10^2$	Слабо выраженный сырный, чистый, кисломолочный
I	Через 24 часа после обработки, КОЕ/г	роста не обнаружено	роста не обнаружено	Слабо выраженный сырный, чистый, кисломолочный
II		$n \times 10^2$	$n \times 10^2$	Слабо выраженный сырный, чистый, кисломолочный
I	Через 48 часа после обработки, КОЕ/г	роста не обнаружено	роста не обнаружено	Слабо выраженный сырный, чистый, кисломолочный
II		$n \times 10^2$	$n \times 10^2$	Слабо выраженный сырный, кисломолочный, определяются ноты затхлости
I	Через 72 часа после обработки, КОЕ/г	роста не обнаружено	роста не обнаружено	Слабо выраженный сырный, чистый, кисломолочный
II		$n \times 10^2$	$n \times 10^2$	Слабо выраженный сырный, кисломолочный, затхлый запах

В эксперименте нами было установлено, что деконтаминация образцов мягкого сыра Сулугуни (разрушение бактерий *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium* на поверхности объекта исследований), была зафиксирована через 24 часа от начала эксперимента. Было определено, что в это время титр каждого из бактериофагов, достигал высоких значений. Сделанные нами смывы с поверхности сырных головок и вы-

сеянные на мясо-пептонный агар, подтверждают, что через 72 часа от начала эксперимента произошло полное исчезновение фаговых частиц с поверхности сыра (через 48 часов после полной элиминации бактерий-мишеней - *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*).

Выводы. Установлено, что бактериофаги FBC – 28 УЛГАУ, Vmeg–16 УЛГАУ эффективно уничтожают бактерии *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium* с поверхности сыра Сулугуни в титре не ниже $n \times 10^8$ БОЕ/мл (MOI = 1:10) через 24 часа. Через 48 часов после полной элиминации бактерий-мишеней фаги не выделялись с поверхности продукта.

Библиографический список:

1. Isolation and characterization of a Siphoviridae phage infecting *Bacillus megaterium* from a heavily trafficked holy site in Saudi Arabia / B.A. Othman, Ahmed Askora, Amel S. M. Abo-Senna // FOLIA MICROBIOLOGICA. – 2015. – Vol. 60. - № 4. – P. 289-295.
2. Isolation and Characterization of *Bacillus cereus* Bacteriophages from Foods and Soil / Oh Hyejin, Seo Dong Joo, Jeon Su Been // FOOD AND ENVIRONMENTAL VIROLOGY. 2018. – Vol. 9. - № 3. – P. 260-269.
3. Fagerlund, A. Toxin production in a rare and genetically remote cluster of strains of the *Bacillus cereus* group / A. Fagerlund, J. Brillard, R. Fürst, M.H. Guinebretière, P.E. Granum // BMC Microbiol. – 2007. – Vol. 7. – P. 43.
4. Биопрепараты как фактор повышение экспортного потенциала растениеводческой продукции / Д.В. Кабалина, В.В. Лисовой, Т.В. Першакова //Никоновские чтения. – 2017. – №. 22. – с. 262-263.
5. Kutter, E. Bacteriophages: biology and applications / E. Kutter, A. Sulakvelidze. - Boca Raton, FL : CRC Press, 2005. - 510 p.
6. Изучение биологических свойств бактериофагов рода *Proteus* / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2017 - № 3(39). – С. 99-105.
7. Характеристика бактериофагов бактерий *Enterobacter* spp. для оценки возможностей их использования в составе терапевтического препарата / Е.В. Сульдина, Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, А.В. Мاستиленко // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2018 - № 1(41). – С. 109-115.
8. Бактериофаги *Pectobacterium carotovorum*: выделение, параметры культивирования и биологические свойства/ Б.Ж. Рыскалиева, Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, Е.А. Ляшенко // Естественные и технические науки. – 2019. - № 8 (134). – С. 33-38.

ASSESSMENT OF EFFICIENCY OF CHEESE DECONTAMINATION BY PHAGES

Feoktistova N.A., Vasilyev D.A., Abdrakhmanov I.M., Baltayeva G.Z.

Keywords: *phage, decontamination, cheese, Bacillus cereus, Bacillus megaterium, biopreparation, method, application.*

The article presents the results of studies to assess the effectiveness of the use of bacteriophages FBC - 28 ULGAU, Bmeg-16 ULGAU, in the experiment on the decontamination of Suluguni cheese artificially contaminated with bacteria Bacillus cereus and Bacillus megaterium. It was found that 24 hours from the beginning of the experiment, the titre of each bacteriophage reached maximum values. Microbiologically, it was confirmed that the disappearance of phage particles from the cheese surface occurred 72 hours from the beginning of the experiment (48 hours after the complete elimination of the target bacteria).