

27. Hassan M., Kjos M., Nes I.F., Diep D.B., Lotfipour F. Natural antimicrobial peptides from bacteria: characteristics and potential applications to fight against antibiotic resistance. // The Authors Journal of Applied Microbiology. - 2012. – Vol. 113. – No. 4. – P. 723-736.

28. Escobar-Páramo P, Gougat-Barbera C, Hochberg ME. Evolutionary dynamics of separate and combined exposure of *Pseudomonas fluorescens* SBW25 to antibiotics and bacteriophage. // Evol Appl. 2012 Sep;5(6):583-92

ANTIBACTERIAL RESISTANCES OF THE BACTERIAL PATHOGENS: EVOLUTION MECHANISMS AND CLINICAL IMPORTANCE

Fursova N.K., Kartsev N.N., Ivashov S.V., Svetoch E.A.

Key words: *antibacterial resistance, horizontal gene transfer, evolution of the resistance*

The study presents the review of the publications and the experimental data concerning prevalence of the antibacterial resistance among human bacterial pathogens, evolution of their molecular mechanisms, and clinical importance of the phenomena. Impact of bacteriophages into the process of horizontal gene transfer between bacteria is discussed.

УДК 619:616.98:579.842.14

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ БАКТЕРИОФАГОВ ДЛЯ ОБРАБОТКИ ПТИЦЫ ЗАРАЖЕННОЙ САЛЬМОНЕЛЛЕЗОМ

*Храмов М. В. *, кандидат медицинских наук,
Костенко Ю. Г. **, доктор ветеринарных наук, профессор,
Воложанцев Н.В., кандидат биологических наук,
Перельгин В.В., кандидат биологических наук,
Веревкин В.Н., кандидат биологических наук,
Светоч Э.А. доктор ветеринарных наук, профессор
*ФБУН «ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии»
Роспотребнадзора
** ГНУ ВНИИМП им. В. М. Горбатова РАСХН*

Ключевые слова: *Сальмонеллез, бактериофаги, мясо птицы, фаговый препарат*
Работа посвящена проблеме пищевого сальмонеллеза и деконтаминации мяса птицы от сальмонелл.

Сальмонеллез является одной из опасных инфекций пищевого происхождения и широко распространен практически во всех регионах земного шара. [1,2] Ежегодно 1,4 млн человек заболевает сальмонеллезом в США, регистрируется и подтверждается порядка 40000 случаев заражения, а умирает 380-400 человек в год. [2]

В России согласно официально опубликованным данным, в 2009 г. заболеваемость сальмонеллезом составила 35,2 человека на 100 тыс. населения. В частности, в Кемеровской области в 2010 г. этот показатель был намного выше - 67,2 человека на 100 тысяч населения.

[3].

Экономический ущерб от сальмонеллеза среди людей весьма значителен. По некоторым расчетам, в США общие расходы на борьбу с данным заболеванием ежегодно составляют порядка 3 млрд. долларов.

Связь между домашней (и промышленного производства) птицей и сальмонеллезом имеет длительную историю. Более 50 лет назад, пуллороз и птичий тиф были основной причиной падежа домашней птицы (кур и индеек), что сдерживало развитие птицеводства. [4]. Впоследствии возникла другая проблема, связанная с увеличением выделения из продуктов и мяса домашней птицы неспецифичных к ней сероваров сальмонелл, которые вызвали заболевание человека.

В Израиле, где количество сальмонеллеза человека резко снизилось с 1995, (особенно вызываемого *Enteritidis* и *Typhimurium*), появился новый клон *S. Infantis*, который выделяется от человека и птицы. [1]

Люди заболевают в основном при употреблении пищевых продуктов. Согласно последним данным, в 2009 г. в странах Европы причиной заболеваний людей были в основном одни и те же сероварианты сальмонелл: *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. virchow*, *S. Infantis*. [2].

В России при заболевании сальмонеллезом доминировал серовариант *S. enteritidis*, но в последние годы появились сведения о возрастающей роли сальмонелл группы D, в частности, *S. infantis*. В Кемеровской области в 2010 г. основным возбудителем сальмонеллеза у

Таблица 1 - Выявление сальмонелл в охлажденном мясе и фарше (пробы образцов из торговой сети Германии)

Объекты исследований	Количество исследований	Выявлено сальмонелл	
		Кол-во случаев	%
Говядина, телятина	322	4	1,2
Свинина	385	13	3,4
Фарш из говядины	283	4	1,4
Фарш из свинины	340	13	3,8

Таблица 2 - Выявление сальмонелл в мясной продукции РФ в 2010-2011 гг.

Наименование продукции	Количество исследований	Выявлено сальмонелл, %
Мясо охлажденное в отрубях	350	2
Полуфабрикаты мясные бескостные крупнокусковые	550	1
мелкокусковые	400	3
Полуфабрикаты мясные рубленые	500	3

Таблица 3 - Выявление сальмонелл в мясе птицы в 2010-2011 гг.

Регионы взятия проб	Кол-во исследований	Выявлено сальмонелл, %
Китай	1152	38,9-65,3
Вьетнам	494	47,8
Колумбия	1003	26,7
Россия		
Москва, Сергиев-Посад, Дубна, Тула, Тверь, Рязань, Владимир	237	30
С.-Петербург, Тихвин, Псков, Новгород	176	39,2
Краснодар, Сочи, Ейск, Тимашевск	42	23,8

людей была *S. enteritidis*, на которую пришлось 95,7% общей заболеваемости. [3]. Результаты исследований по выявлению сальмонелл в мясе и мясных продуктах, проведенных в некоторых странах, представлены в таблицах 1, 2 и 3. [5, 6, 7,8].

В мясе птицы сальмонеллы выявляются значительно чаще по сравнению с «красным» мясом. В таблице 3. представлены результаты исследований мяса птицы на наличие сальмонелл в ряде стран и разных регионах России.

Исходя из потребительских качеств пищевой продукции сальмонеллез представляет большую опасность для здоровья населения. При этом необходимо иметь достоверные сведения об устойчивости возбудителя к воздействию факторов внешней среды в процессе изготовления и хранения мясной продукции. Существуют различные профилактические и контрольные меры в отношении сальмонеллезной инфекции однако ощущается явный дефицит информации об их эффективности, особенно в сфере здравоохранения. (15, 70, 133, 134). Так в замороженном мясе сальмонеллы сохраняют свою жизнеспособность месяцами, и только через 3-4 месяца хранения при $-18 -20^{\circ}\text{C}$ их количество начинает интенсивно снижаться, однако полной потери жизнеспособности не отмечается даже через 12 месяцев хранения. [9, 10]. Ионизирующее облучение дозой до 10 кГр подавляет рост сальмонелл, не изменяя качество продукта. Ультрафиолетовые лучи действуют бактерицидно в пределах длины волны от 200 до 313 нм, вызывая фотохимические изменения внутриклеточных структур бактерий. Бактерицидный эффект постоянного УФ-облучения с интенсивностью потока 0,0159 Вт/см² при длине волны 254 нм и расстоянии 30-40 см от облучателя по отношению к сальмонеллам, содержащимся на гладкой поверхности, достигается при экспозиции 20-25 мин (19,00-23,85 Вт с/см²). [9].

Требованиями ИСО 6579:2002 (ГОСТ Р 52814), СанПин 2.3.2 1078-01 не допускается наличие сальмонелл в 25 г мяса и других видов мясного сырья (в том числе мяса птицы и мяса механической обвалки), а также прочей мясной продукции.

В настоящее время, в связи со значительной частотой выявления сальмонелл в мясе, возникает острая необходимость разработки современных методов, обеспечивающих резкое снижение опасности заражения мясного сырья и изготовленной из него продукции.

В середине прошлого века в мире было широко распространено применение кормовых антибиотиков для снижения риска заболеваний животных и птицы, в том числе и сальмонеллезом, однако в настоящее время их использование запрещено. Широкое применение в процессе переработки мяса, особенно тушек птицы для деконтаминации в отношении сальмонелл, нашли различные химические средства. Например, хлорирование воды, используемой для промывания и охлаждения тушек. С января 2010 г. в России (а в ряде европейских стран еще раньше) было запрещено использование хлора для этих целей.

Несмотря на то, что в мировой практике для обработки поверхности мяса животных и особенно тушек птицы используется множество антимикробных препаратов, в том числе на основе органических кислот, уровень выявления сальмонелл в мясном сырье остается высоким даже в развитых странах. Такое положение указывает на то, что даже при соблюдении на предприятиях санитарно-гигиенических требований обработка поверхности тушек птицы в процессе переработки является малоэффективной и необходимы новые подходы к решению этой проблемы.

Так, в Дании уже около 10 лет реализуется комплексная программа, охватывающая все аспекты производства мяса птицы, начиная с контроля яйца при закладке в инкубатор, выращивания и откорма птицы и завершая ее переработкой. Реализация мероприятий, предусмотренных программой, позволила за 10 лет снизить выявление сальмонелл с 12 до 1%. [8].

Имеются и другие, менее затратные, пути решения проблемы сальмонеллеза, одним

из которых, по-нашему мнению, является использование бактериофагов.

Поисковые исследования, проведенные в ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора, по изучению возможности применения бактериофагов для обработки птицы перед ее отправкой на перерабатывающее предприятие показали эффективность и перспективность такого подхода.

В ФБУН ГНЦ ПМБ созданы лабораторные образцы композиций сальмонеллезных бактериофагов и рецептурные формы препаратов на их основе, которые являются активными против *Salmonella Enteritidis*.

В состав препаратов включены литические для *S. Enteritidis* бактериофаги, выделенные из образцов сточных вод и фекальных масс птицефабрик. Препараты бактериофагов не токсичны для лабораторных животных, что проверено путем подкожного и внутрибрюшинного введения их беспородным белым мышам и цыплятам.

Разработан рецептурный состав препарата бактериофагов для применения в производстве цыплят бройлеров, предполагающий высокий уровень сохранения биологических свойств бактериофагов на стадиях приготовления препарата, а также в процессе его хранения и применения. Рецептурная форма препарата состоит из частиц стандартного коммерческого комбикорма, которые содержат на своей поверхности инкапсулированные в полимерной матрице бактериофаги.

Эффективность фагового препарата была продемонстрирована на модели экспериментального сальмонеллеза у бройлерных цыплят. В экспериментах использовали две группы суточных цыплят по 30 голов в каждой. Одна группа – экспериментальная: цыплята имели свободный доступ к кормовым гранулам, содержащим 2'108 бляшко-образующих единиц (БОЕ) на 1 г, в течение 25 дней, начиная с первого дня жизни. Вторая группа – контрольная: цыплята получали обычный корм, не содержащий бактериофаги. На 2-е сутки цыплят обеих групп заражали культурой штамма *S. Enteritidis* (6,9'107 КОЕ, per os через специальную иглу-канюлю). За цыплятами наблюдали в течение 25 суток.

Таблица 4 - Эффективность комплексного фагового препарата в составе корма при экспериментальной сальмонеллезной инфекции у бройлерных цыплят.

Группа цыплят	Кол-во голов	Вес цыплят		Обнаружение <i>S. Enteritidis</i> в органах цыплят (кол-во голов)	
		1-й день	25-й день	Селезенка	Печень
1. Опыт (фаговый препарат в составе корма 2'108 БОЕ/г в течение 25 дней)	30	45 г	745 г	2	1
2. Контроль	30	45 г	779 г	29	18

Из данных, представленных в табл. 4, следует, что в контрольной группе цыплят, не получавших фаговый препарат, инфицированность сальмонеллами составляет 96,7 % (у 29 из 30 цыплят из внутренних органов выделяется культура *S. Enteritidis*). В то же время, в экспериментальной группе цыплят, получавших комплексный фаговый препарат в составе корма, культура *S. Enteritidis* выделена только у двух особей. В этом случае процент инфицирования сальмонеллезом составляет 6,7 %. Полученные результаты свидетельствуют об эффективном действии комплексного фагового препарата в составе корма для элиминации *Salmonella Enteritidis* у цыплят.

Таким образом, композиция нетоксичных, литических бактериофагов активных про-

тив сальмонелл серотипа Enteritidis, используемая в качестве кормовой добавки, может быть эффективным средством для борьбы с носительством *Salmonella Enteritidis* у промышленной птицы.

Библиографический список

1. Anon. 2009. *Salmonella* Infantis – Israel: relative increased morbidity. Israel Ministry of Health, Department of Epidemiology circular, January 2009 (in Hebrew). English translation and edited at www.promedmail.org Archive Number 20090310.0987
2. WHO Global Foodborne Infections Network Country Datbank – A resource to link Human and non-human sources of Salmonella. Reference: Vleira AR et al 2009, ISVEE Conference, Durban, Sout Africa.
3. Обеспечение биологической безопасности пищевых продуктов, острые кишечные инфекции. Государственный доклад «О санитарно-эпидемиологической обстановке в Российской Федерации в 2009 году», с. 138-145, 153-155, 309-313, 18. rospotrebnadzor.ru, 2010 г.
4. Poppe, C. 2000. *Salmonella* infections in the domestic fowl. pp. 107 – 132. In C. Wray and A. Wray (eds). *Salmonella* in Domestic Animals. CABI Publishing, Wallingford, Oxford, U.K.
5. Schmidt U. Vorkomen und Verhalten von Salmonellen in Hackfleisch von Schwein. *Fleischwirtschaft*, 1988, 68 (1), s. 43-46.
6. Джеймс М. Джей, Мартин Дж., Лёсснер, Дэвид А. Гольден. Современная пищевая микробиология. М., Бином. Лаборатория знаний, 2011, с. 481.
7. Pointon A. Свод правил по гигиене мяса и мясной продукции. Доклад на международном семинаре. М., ГНУ ВНИИМП им. В. М. Горбатова, 2011 г.
8. Walid Alalію Распространение сальмонелл в мясе птицы в странах открытого рынка. Международная научно-практическая конференция «Балтийский форум ветеринарной медицины 2011», Санкт-Петербург, 2011 г.
9. Bolder, N.M. 2007. Microbial challenges of poultry meat production. *World's Poult. Sci. J.* 63:401-422.
10. FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization). 2009. *Salmonella* and *Campylobacter* in chicken meat. Meeting Report. Microbiological Risk Assessment Series 19. <http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/mra19/en/index.html>
11. NACMCF (National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods). 1997. Generic HACCP application in broiler slaughter and processing. *J. Food Prot.* 60:579-604.
12. National Chicken Council. 1992. Good Manufacturing Practices. Fresh Broiler Products. NCC, Washington, DC.
13. Костенко Ю. Г., Бутко М. П., Ковбаенко В. М., Выпегжанин А. Ф. с соавт. Руководство по ветеринарно-санитарной экспертизе и гигиене производства мяса и мясных продуктов. М., 1994, РИФ «Антика», 607 с.
14. Костенко Ю. Г., Батаева Д. С., Краснова М. А., Храмов М.В. Проблема сальмонеллеза при производстве мясной продукции и пути ее решения. Все о мясе, 2011, № 5, с. 50-51