

PARAMETERS OF STATEMENT OF REACTION PHAGE TITER RISE TO DISPLAY BACTERIA OF THE GENUS PROTEUS IN ENVIRONMENTAL OBJECTS

N.A. Feoktistova, M.A. Yudina, D.A. Vasiliev, S.N. Zolotukhin

Keywords: *Display, bacteria of the genus Proteus, objects veterinary sanitary inspection*

The paper describes the results of studies on the selection of parameters setting reaction phage titer rise to indicate the kind of Proteus bacteria in the environment. With RNF Proteus bacteria were detected in the feces and meat at a concentration of 10³ microbial cells / g The detection of bacteria of the genus Proteus bacteriological method required a higher concentration of them, estimated 10⁴ microbial cells / g above. While the same study increased from 22 hours to 96 hours.

УДК 602.3:579.8

Научные исследования проводятся при финансовой поддержке государства в лице Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках реализации федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (соглашение от №8267 от 10.08.2012).

МОНИТОНИНГ ПШЕНИЧНОЙ МУКИ НА НАЛИЧИЕ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КАРТОФЕЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ ХЛЕБА

М.А. Юдина, ассистент

*ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»
тел. 8(8422) 55-95-47, feokna@yandex.ru*

*Н.А. Феоктистова, кандидат биологических наук, доцент
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»
тел. 8(8422) 55-95-47, feokna@yandex.ru*

*Д.А. Васильев, доктор биологических наук, профессор
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»
8(8422) 55-95-47, dav_ul@mail.ru*

Ключевые слова: *идентификация, бактериофаги, Bacillus subtilis, Bacillus mesentericus, картофельная болезнь хлеба, пшеничная мука.*

В работе описаны результаты мониторинга проб пшеничной муки на наличие возбудителей картофельной болезни хлеба с использованием специфичных бактериофагов Bacillus subtilis, Bacillus mesentericus методом «стекающая капля».

Введение. В настоящее время индикация и идентификация бактерий *B. subtilis* и

B. mesentericus на предприятиях, занимающихся производством хлеба и хлебобулочных изделий, проводятся бактериологическими методами. Задача изыскания простого и доступного метода индикации и идентификации названных микроорганизмов – актуальная тема для исследований, результаты которых позволят повысить эффективность применения микробиологического контроля и контрольных мер по системе ХАССП на перерабатывающих предприятиях, а также сделать данный этап исследований значительно дешевле [2, 3, 5, 6].

Применение тест-системы для индикация и идентификация бактерий *B. subtilis* и *B. mesentericus* на основе бактериофагов позволит контролировать чистоту зерна и муки при приемке на пекарнях и хлебокомбинатах [7].

Бактериофаг - вирус способный инфицировать бактериальную клетку, репродуцировать в ней, образуя многочисленное потомство, и вызывать ее лизис, сопровождающийся выходом фаговых части в среду обитания бактерий [7].

Материалы и методы исследований: 2 штамма бактерий *Bacillus mesentericus* (*Bacillus mesentericus* 32 и *Bacillus mesentericus* 10) и 2 штамма бактерии *Bacillus subtilis* (*Bacillus subtilis* 12 и *Bacillus subtilis* 26), полученных из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы Ульяновской ГСХА. Данные штаммы обладали типичными для данных видов биологическими свойствами. Бактериофаг Bm-10 и Bm-11 серии УГСХА (*Bacillus mesentericus*), бактериофаг Bs-2 и Bs-13 серии УГСХА (*Bacillus subtilis*).

Мука пшеничная высшего и первого сортов разных товаропроизводителей: ЗАО «Алейскзернопродукт им. С.Н. Старовойтова», ОАО «Вологодский комбинат хлебопродуктов», ОАО «ВКХП», ОАО «Мельник», ОАО «Мукомольный комбинат «Воронежский», ОАО «Истра-хлебопродукт», ОАО «Бобруйский комбинат хлебопродуктов», ООО «Белый Город», ООО «Росэкспорт», ОАО «Рязаньзернопродукт», ООО «Сибирский Мельник», ОАО «Алтай-Батюшка», ОАО «Симбирск-мука».

Подготовку и посев проб муки пшеничной высшего и первого сортов 12-ти производителей, подлежащих исследованию, проводили в соответствии ГОСТ 26669-85 «Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов» [1]. Методы окраски по Граму, Ольгу, Ауески [4].

Результаты и их обсуждение.

Для этого пробы муки весом 10 г вносили в стерильные колбы объемом 100 мл, заливали стерильным МПБ из расчета 10 мл бульона на 1 г исследуемой пробы, последовательно делали разведения продукта в соотношении 1:100, 1:1000 и 1:10000. Полученные смеси встряхивали в шуттель-аппарате в течение 15 минут, прогревали при температуре 75 °С в течение 45 минут для подавления роста энтеробактерий, затем ставили в термостат на 24 часа при 37 °С. Затем надосадочную жидкость исследовали в соответствии со схемой фагоидентификации, представленной ниже.

На поверхность МПА в чашках Петри пастеровской пипеткой наносили 3-4 капли бульонной 18-часовой культуры выделенных микроорганизмов. Нанесённую культуру равномерно распределяли по поверхности среды стерильным шпательем. Чашки ставили в термостат для подсушивания на 15-20 минут. Чашку делили бактериологическим карандашом на три сектора. На поверхность засеянной среды, в зоне первого сектора, пастеровской пипеткой легким прикосновением капли наносили фаг Bm-10 (Bs-2 УГСХА),

на второй сектор аналогично наносили фаг Vm-11 УГСХА (Bs-13 УГСХА), на третий сектор в качестве контроля наносили стерильный МПБ. Наклоняли чашку, чтобы капли стекли в виде дорожки. Чашки оставляли для подсушивания в боксе на 15-20 минут и помещали в термостат на 18 часов при 37 °С. Результат исследований считали положительным, если на месте нанесения фагов на газоне сплошного роста культуры образовывалась прозрачная зона лизиса с вторичным ростом фагорезистентных микроорганизмов или без него, а также рост негативных колоний фага. Экспериментальным путем было установлено, что 6 проб было контаминировано бактериями *Bacillus mesentericus* и *Bacillus subtilis*. Из литературных источников известно, что качество муки можно считать хорошим, если в ней содержание спорообразующих аэробных бактерий (САБ) – возбудителей картофельной болезни хлеба не более 200 БОЕ/г (БОЕ – бляшкообразующих единиц).

В результате проведенных исследований (табл. 1, рис. 1) было установлено, что 6 проб муки контаминировано бактериями *Bacillus mesentericus* и *Bacillus subtilis* в различных концентрациях.

Известно также, что мука, содержащая до 10 БОЕ/г САБ, считается слабо, до 100 БОЕ/г умеренно, более 1000 БОЕ/г сильно зараженной [4]. В наших исследованиях только 1 проба муки была сильно зараженной (ОАО «Мельник»).

Таблица 1. Результаты исследований муки пшеничной высшего и первого сорта на наличие возбудителей картофельной болезни хлеба (КБХ) методом фагоидентификации

Объекты	Разведения первой пробы				Разведения второй пробы				Разведения третьей пробы			
	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴
ОАО «Алтай-Батюшка»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ОАО «Симбирск-мука»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ЗАО «Алейскзернопродукт им. С.Н. Старовойтова»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ОАО «ВКХП»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ОАО «Мельник»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ОАО «Мукомольный комбинат «Воронежский»»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ОАО «Истра-хлебопродукт»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ОАО «Бобруйский комбинат хлебопродуктов»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ООО «Белый Город»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

ООО «Росэкспорт»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ООО «Сибирский Мельник»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ОАО «Рязаньзернопродукт»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

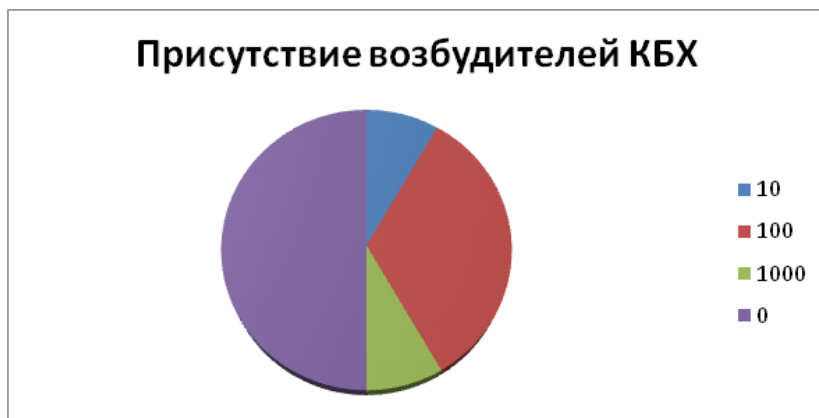


Рис. 1. - Наличие возбудителей картофельной болезни хлеба в исследованных пробах по наличию зон лизиса на газоне культур

Одна проба муки была слабо зараженной (ЗАО «Алейскзернопродукт им. С.Н. Старовойтова») и четыре пробы муки были умеренно зараженными (ОАО «Алтай-Батюшка», ООО «Росэкспорт», ОАО «Бобруйский комбинат хлебопродуктов», ОАО «Истра-хлебопродукт»).

Для подтверждения полученных результатов нами были проведены исследования по изучению биохимических свойств выделенных нами и идентифицированных как возбудители КБХ бактерий. Результаты исследований отражены в таблицах 2-3. Изучение морфологических свойств выделенных бактерий. Сравнили полученные результаты, с результатом окрашивания мазков, приготовленных из культур референс-штаммов *Bacillus subtilis* 6633 и *Bacillus mesentericus* 66 (табл. 2). Все выделенные нами бактерии – это грамположительные тонкие палочки, располагаются одиночно, в виде нитей или цепочек. Они содержат овальные споры, не превышающие в поперечнике ширины микробной клетки. Капсулу не образуют. Окрашивали мазки по Граму, Ольгу, Ауески.

Таблица 2. Сравнительная таблица окраски выделенных бацилл и референс-штаммов *B. subtilis* 6633 и *Bacillus mesentericus* 66

Номер пробы	Методы окраски		
	По Граму	По Ольту (капсула)	По Аюески (споры)
<i>Bacillus subtilis</i> 6633	+	-	+
<i>Bacillus mesentericus</i> 66	+	-	+
ОАО «Алтай-Батюшка» 1 тип колоний	+	-	+
ОАО «Алтай-Батюшка» 2 тип колоний	+	-	+
ЗАО «Алейскзернопродукт им. С.Н. Старовойтова»	+	-	+
ОАО «Мельник» 1 тип колоний	+	-	+
ОАО «Мельник» 2 тип колоний			
ОАО «Бобруйский комбинат хлебопродуктов» 1 тип колоний	+	-	+
ОАО «Бобруйский комбинат хлебопродуктов» 2 тип колоний	+	-	+
ООО «Росэкспорт» 1 тип колоний	+	-	+
ООО «Росэкспорт» 2 тип колоний	+	-	+

Для дальнейших исследований отбирались колонии, которые на плотной питательной среде образовывали колонии мучного цвета, мелко складчатые, на мясопептонном бульоне растущие в виде морщинистой пленки. Для дальнейших исследований по биохимическим свойствам [8] и дополнительным тестам (согласно отработанной нами схеме), были отобраны все выделенные штаммы бацилл. Изучение биохимических свойств выделенных бактерий (табл. 3), а также проведенные нами исследования на дополнительных тестах свидетельствует, что 9 из 10 исследованных проб пищевых продуктов оказались загрязнены бактериями вида *Bacillus subtilis* и *Bacillus mesentericus*. В результате проведенных исследований нами были выделены методом фагоидентификации из шести проб муки пшеничной 12 культур спорообразующих бактерий, которые мы классифицировали по биологическим свойствам (на основании тестов, описанных в литературных источниках и результатах изучения биохимических свойств штаммов *Bacillus subtilis* 6633 и *Bacillus mesentericus* 66, полученных из музея НИИЦМиБ ФГБОУ ВПО «УГСХА им. П.А. Столыпина»), и отнесли их к виду *Bacillus subtilis* 6 культур и к виду *Bacillus mesentericus* также 6 культур.

Таблица 3. Сравнительная таблица биохимических свойств референс- штаммов *Bacillus subtilis* 6633, *Bacillus mesentericus* 66 и выделенных бацилл

Культура	Название теста														
	Глюкоза	Лактоза	Сахароза	Сорбит	Адонит	Манноза	D-Арабиноза	Триптофандезаминаза	Фенилаланиндезаминаза	Лизиндекарбоксилаза	Аргининдегидролаза	Уреаза	Маннит	желатин	молоко
<i>Bacillus subtilis</i> 6633	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>Bacillus mesentericus</i> 66	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
ОАО «Алтай-Батюшка» 1 тип колоний	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
ОАО «Алтай-Батюшка» 2 тип колоний	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+

Продолжение таблицы 3

Культура	Название теста														
	Глюкоза	Лактоза	Сахароза	Сорбит	Адонит	Манноза	D-Арабиноза	Триптофандезаминаза	Фенилаланиндезаминаза	Лизиндекарбоксилаза	Аргининдегидролаза	Уреаза	Маннит	желатин	молоко
ЗАО «Алейск-зернопродукт им. С.Н. Старовойтова»	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+

ОАО «Мельник» 1 тип колоний	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
ОАО «Бобруйский комбинат хлебопродуктов» 2 тип колоний	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
ООО «Росэкспорт» 1 тип колоний	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
ООО «Росэкспорт» 2 тип колоний	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
ОАО «Мельник» 2 тип колоний	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+

Примечания:

“+” - ферментация сахара с образованием кислоты, газа и т.д.

“-” - отрицательный результат.

Заключение. Установлено, 50 % проб муки, присутствующей на продовольственном рынке г. Ульяновска в той или иной степени контаминирована возбудителями картофельной болезни хлеба. Процентное соотношение выделенных из этих проб культур составляет 1: 1 *Bacillus subtilis* и *Bacillus mesentericus*, соответственно.

Споровые бактерии, попадая в организм человека, способны вызывать очень серьезные нарушения функционирования иммунной системы, желудочно-кишечного тракта, печени, органов дыхания, нервной системы. Поэтому, даже если споровые бактерии не вызывают органолептически выраженной картофельной болезни хлеба, все же их наличие в готовых изделиях нежелательно.

Библиографический список

1. ГОСТ 26669-85 «Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов».

2. Афанасьева, О.А. Микробиологический контроль хлебопекарного производства / О.А. Афанасьева. - М.: Пищевая промышленность, 1976. - С. 113.

3. Витавская, А.В. Биологическая защита хлеба от картофельной болезни хлеба / А.В. Витавская, Г.Н. Дудикова, К.А. Тулемисова. – Алматы, 1998. – С. 432.

4. Егоров, В.В. Практикум по микробиологии / В.В. Егоров. – М.: Изд-во МГУ, 1986. - С. 35-42.

5. Крючков, А.Г. Основные принципы и методология агроэкологического районирования зерновых культур в степи Южного Урала / А.Г. Крючков. // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук – 2006. – С. 704.

6. Медведев, П.В. Оценка уровня зараженности зерна пшеницы различных природно-географических зон Оренбургской области возбудителями картофельной болезни

хлеба / П.В. Медведев, А.С. Степанов, В.А. Федотов // Вестник ОГУ, № 2 (108) – Оренбург, 2010. – С. 114-118.

7. Феоктистова, Н.А. Оценка качества пшеничной муки на наличие возбудителей картофельной болезни хлеба / Н.А. Феоктистова, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // материалы IV Международной научно-практической конференции «Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения», 22-24 ноября 2012. – Ульяновск: УГСХА, 2012. - Т. 1. – С.320-327.

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

MONITORING WHEAT FLOUR FOR THE PRESENCE OF POTATO DISEASE BREAD

Yudina M.A., Feoktistova N.A., Vasiliev D.A.

Keywords: *identification, bacteriophages, Bacillus subtilis, Bacillus mesentericus, potato disease of bread wheat flour.*

This paper describes the results of the monitoring of wheat flour samples for the presence of potato disease bread using specific bacteriophages Bacillus subtilis, Bacillus mesentericus by «dripping».

УДК 619:615.32:614.31:637:636.4.053

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КРОВИ СВИНОМАТОК ПРИ ПАТОЛОГИЯХ ПЕЧЕНИ

Н. К. Хлебус, магистр ветеринарии

УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия»,

г. Горки, Республика Беларусь,

тел. (+375 2233) 7-96-63, natali_chleb@tut.by

С. В. Петровский, кандидат ветеринарных наук

УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной

медицины», г. Витебск, Республика Беларусь,

тел. (+375 0212) 37-26-60, vsavm_sergey@tut.by

Т. А. Зданович, студентка

УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной

медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

тел. (+375 0212) 37-26-60, heavensent1991@rambler.ru,

Ключевые слова: *гепатит, гепатоз, свиноматки, биохимические синдромы цитоллиза и печёночно-клеточной недостаточности*