



Пилипенко И. В.

CLOSTRIDIUM PERFRINGENS: ХАРАКТЕРИСТИКА, БИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ, ИНДИКАЦИЯ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

Приведены характеристика, основные свойства, биологическое действие *Clostridium perfringens* и основные пищевые продукты, которые могут быть контаминированы этими микроорганизмами. Охарактеризованы классические и современные методы определения *Clostridium perfringens*. Приведены результаты разработанного приоритетного ускоренного метода индикации *Clostridium perfringens* в пищевых продуктах. Подтверждена видоспецифичность разработанного метода.

Ключевые слова: *Clostridium perfringens*, характеристика, биологическое действие, ПЦР-определение, пищевые продукты, ускоренный метод.

1. Введение

Ухудшение техногенной обстановки, связанное с урбанизацией, климатогеографическими и экологическими условиями обитания человека, снижающее его иммунореактивность и воздействующее на микроэкосистемы индивидуума приводят к необходимости жесткого контроля санитарной безопасности пищевых продуктов и разработки современных ускоренных методов выявления микроорганизмов. При этом особое внимание следует обращать на патогенные и условно-патогенные микроорганизмы.

Поэтому характеристика, биологическое действие, современное состояние, перспективы развития и разработка ускоренных надежных методов контроля в пищевых продуктах и объектах окружающей среды регламентируемого в пищевых продуктах микроорганизма — *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*) — представляет научный и практический интерес

2. Объект, цель и задачи исследования

Объект исследования — методы определения *C. perfringens* в пищевом сырье и продуктах его переработки.

Цель исследования — разработка ускоренного метода индикации возбудителя пищевых отравлений человека и порчи пищевых продуктов микроорганизма-контаминанта *C. perfringens*.

Для достижения поставленной цели необходимо выполнить такие задачи:

1) охарактеризовать основные свойства, биологическое действие *C. perfringens*, регламентированного в сырье и пищевых продуктах;

2) привести основные методы определения этого микроорганизма в пищевых продуктах;

3) разработать индикативный, видоспецифический, ускоренный способ определения в пищевом сырье и продуктах его переработки микроорганизмов-контаминантов — *C. perfringens*.

3. Анализ литературных данных

Впервые способность *C. perfringens* вызывать вспышки бактериальных пищевых отравлений показали исследователи из Великобритании и США еще в 1945 году. Это анаэробная неподвижная спорообразующая палочковидная бактерия, широко распространенная в природе — в почве, растительности, пресной воде, морских отложениях и кишечнике животных [1]. Вызывает газовую гангрену и острое кишечное заболевание. Инфекционная доза — более 10^8 вегетативных клеток. Считается, что, по крайней мере, 7 % пищевых отравлений связаны с заражением пищевых продуктов *C. perfringens*; в США регистрируют ежегодно около 10000 алиментарных заболеваний, связанных с *C. perfringens*. Тяжесть заболевания различна, но в случае некротического энтерита высока вероятность смертельного исхода [2, 3].

C. perfringens в переводе с латинского — потрясающий, проламывающий, что характеризует их высокую биохимическую активность. *C. perfringens* широко распространен в природе и по частоте встречаемости занимает одно из первых мест среди клостридий. Из проб почв его выделяют в 90–100 % случаев. Обнаруживается в пыли и воздухе помещений, встречается в местах, загрязненных испражнениями. В воде встречается редко, его присутствие обычно рассматривают как загрязнение воды фекалиями и почвой.

Клетки *C. perfringens* — крупные, прямые толстые палочки с закругленными или тупыми концами размером $(0,9 \div 1,3) \times (4,0 \div 8,0)$ мкм. Размер клеток варьирует в зависимости от штамма клостридий, возраста и субстрата. Клетки располагаются группами параллельно друг другу, штакетообразно, парами, одиночно, реже — цепочкой. Могут образовывать капсулу в зависимости от условий внешней среды и наследственных свойств штамма. По тинкториальным свойствам — грамположительные, в старых культурах возможно мозаичное окрашивание — появляются клетки, окрашивающиеся грамотрицательно. Диагностическим признаком является неподвижность клеток. Споры овальные, центральные

или субтерминальные. В отличие от возбудителей ботулизма, клетка при спорообразовании не раздувается.

Вегетативные клетки малоустойчивы во внешней среде, быстро погибают под действием кислорода воздуха, солнечного света, кислот, щелочей, спиртов, дезинфицирующих веществ, чувствительны к действию высоких температур. При 80 °С они разрушаются через 20–30 мин [3, 4].

Развитие *C. perfringens* характеризуется короткой лаг-фазой — от 3 до 8 ч и накоплением большого количества биомассы. Он обладает выраженной протеолитической, сахаролитической и липолитической активностью. На средах с углеводами ведет себя как сахаролитический микроорганизм, ферментирует практически все сахара, за исключением маннита. При отсутствии углеводов переходит на протеолитический способ обмена. Благодаря липазной активности развивается в тканях, богатых жиром. Разлагает желатин [5–7].

Известно 6 серологических типов *C. perfringens*: А, В, С, D, Е и F, отличающиеся антигенной структурой и антигенными свойствами вырабатываемых ими токсинов. Образование токсина в пищевом тракте и в пищевых продуктах связано со споруляцией. Токсин термостабилен. Споры различных штаммов *C. perfringens* могут значительно отличаться друг от друга по термоустойчивости. Споры отдельных термоустойчивых штаммов выдерживают кипячение до 6 часов, менее термостойкие погибают через 15–60 мин. На обычных питательных средах споры образуются плохо.

Пищевые отравления вызывают главным образом штаммы А и D, хотя и другие серологические типы этого микроорганизма продуцируют токсины. Инкубационный период длится от 6 до 20 часов, но может быть и более продолжительным. Появляются спазмы в нижней части брюшной полости без рвоты. Температура не повышается. Постоянный симптом — диарея. Длительность заболевания от 1 до 3 суток. Летальный исход крайне редок. Диагностировать заболевание весьма трудно, так как *C. perfringens* входит в состав обычной кишечной микрофлоры здоровых людей [8, 9].

Источником заболевания чаще всего являются продукты животного происхождения, при производстве которых были нарушены режимы тепловой обработки. Обсеменение их происходит как при жизни животных (больных или бациллоносителей), так и при хранении сырья. При производстве консервов *C. perfringens* выявляют в основном сырье — мясе, рыбе, во всех видах овощей и фруктов, а также во вспомогательных материалах — всех видах пряностей, муке, крупах, зелени, смывах с оборудования, тары как в споровой, так и в вегетативной формах. Споры обнаруживают в моркови, огурцах, зелени и пряностях. Довольно часто *C. perfringens* выявляют в консервах до стерилизации, в основном, в вегетативной форме и значительно реже — до 2 % проб — в споровой. Источником инфекции могут быть и рыба, и морепродукты. В качестве причины вспышек заболевания также отмечены такие продукты, как овощные салаты, холодные мясные закуски, блюда из измельченного мяса, бобовые и макаронные блюда. В плодopеpаbаtывающей промышленности основную опасность представляет, по видимому, реконтаминация сырья.

В консервах *C. perfringens* следует рассматривать как возбудителя их бомбажной порчи и пищевых отравлений людей. Споры *C. perfringens* могут сохраниться

в овощных, фруктовых и томатных консервах, стерилизуемых при температуре 105 °С и ниже. Микроорганизм особенно активен в продуктах с низкой кислотностью (рН > 5,2), но может развиваться при рН до 3,5. Оставаясь жизнеспособными в стерилизованных консервах, клетки *C. perfringens* могут развиваться и продуцировать токсин. Оптимальная для их развития величина рН — 6,7–7,6, однако хорошо развиваются в консервах с рН ≥ 5,3, в некоторых видах консервов с рН 3,5–5,3. Их развитие и размножение сопровождается выраженным в различной степени бомбажом, накоплением летальных токсинов.

По экспериментальным данным, развитие вегетативных клеток наблюдалось в пюре из шавеля с рН 4,4, в шпинате с добавлением лимонной кислоты с рН 4,1, в томатах цельноконсервированных в солевом растворе с рН 4,5. Споры начинают прорастать в консервированных продуктах с более высоким рН — 4,2 и выше. В консервах с рН < 3,5 *C. perfringens* не развивается, в доброкачественных консервах как остаточная микрофлора встречается редко, может присутствовать в качестве сопутствующей микрофлоры при выявлении в консервированных продуктах микроорганизмов *C. botulinum*.

C. perfringens контаминирует и хорошо развивается в рыбных, мясных, мясорастительных, в некоторых видах молочных консервов, в зеленом горошке, томатах цельноконсервированных и др. Бомбаж проявляется через 2–15 суток хранения при комнатной температуре. Причиной отравления чаще бывает инфицированные консервы, подвергшиеся недостаточной тепловой обработке. Однако пищевые отравления токсинами *C. perfringens* чаще встречаются от потребления продуктов кулинарного изготовления — мясных, рыбных продуктов, супов и подлив, молока и молочных продуктов. Недостаточная тепловая обработка, длительное хранение кулинарных блюд при оптимальной для этих клостридий температуре (45 °С) на столах с подогревом, медленное остывание продуктов после термообработки, отсутствие подогрева продуктов перед употреблением могут привести к обильному развитию вегетативных клеток *C. perfringens*, а также к образованию спор и высвобождению токсина [3, 5, 6, 10]. Разноречивы данные относительно внешнего проявления порчи пищевых продуктов и консервов: по одним — наблюдаются изменения внешнего вида, консистенции, меняется цвет, образуется пена, газ, а консервные банки вспучиваются за счет газообразования и бомбажа, по другим — внешние изменения инфицированного продукта наблюдаются не всегда. По всей видимости, это связано с различными серологическими типами *C. perfringens*, а также генетическими различиями штаммов.

В промышленно стерильных консервах наличие *C. perfringens* не допускается. Разработку режимов стерилизации мясных, рыбных, овощных консервов проводят с использованием *C. sporogenes* — клостридий, термоустойчивость спор которых более высока, потому гибель спор *C. perfringens* гарантируется, если технологические параметры и санитарные требования при консервировании не нарушены.

Как следует из приведенных данных, *C. perfringens* является одним из факторов риска образования микробиологических токсинов в пищевых продуктах и возбудителем пищевых отравлений. Безопасность пищевых продуктов должна соответствовать гигиеническим

требованиям, отраженным в санитарно-эпидемиологических правилах и нормативах СанПиН 2.3.2.1078-01, а также в единых санитарно-эпидемиологических и гигиенических требованиях к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому контролю [10, 11]. В них для различных классификационных групп пищевых продуктов нормируется содержание сульфитредуцирующих клостридий, в группу которых входят как *C. perfringens*, так и нетоксические виды клостридий.

Стандартизованные методы анализа (ISO 7937, ГОСТ 10444.9 и др.) предусматривают бактериологическое культивирование. Идентификация родовой принадлежности *Clostridium* стандартными методами имеет значительную длительность инкубирования посевов — 72 часа [12], последующее подтверждение выросших микроорганизмов по культуральным, морфологическим и биохимическим признакам к сульфитредуцирующим клостридиям, позволяет лишь условно дать оценку безопасности исследуемого пищевого продукта. Для обнаружения энтеротоксина используется серологический анализ. Такой контроль необходим, поскольку связан с рисками присутствия в образцах пищевой продукции *C. perfringens*, однако, видовое обнаружение этого микроорганизма стандартными методами слишком длительно, что неприемлемо для скоропортящихся видов пищевых продуктов.

Проводимый контроль не носит превентивный характер и не может быть сквозным. В зависимости от вида продукции используют периодический контроль — раз в три месяца, раз в месяц, раз в смену. Очевидно, что подобные меры контроля не могут полностью предотвратить пищевые отравления токсигенными *C. perfringens* и не дают гарантии потребителю в безопасности пищевой продукции.

Классические методы выявления *C. perfringens* основаны на их биохимических свойствах, в частности на сульфитредуцирующей способности — метод выявления на среде Вильсон-Блера с добавлением антибиотиков полимиксина и неомидина, подавляющих рост сальмонелл, *C. sporogenes*, протей и других микроорганизмов, также вызывающих почернение среды.

Способность *C. perfringens* вырабатывать ферменты лецитиназу, гемолизины, коллагеназу и токсины, летальные для лабораторных животных, использована для диагностики *C. perfringens* на желточных средах и средах с кровью. Как ориентировочный экспресс-метод выявления *C. perfringens* И. П. Персианова рекомендуют использование посева исследуемого материала на лакмусовое молоко. *C. perfringens* вызывает бурную ферментацию молочного сахара, при этом лакмус становится желтым, молоко свертывается при 37 °С через 6...8 часов; при повышенной температуре (46...47 °С) — через 4...5 часов. В верхней части пробирки образуется ноздреватый сгусток красновато-сиреневого цвета, полностью отделенный от просветленной сыворотки. Наиболее точные методы идентификации *C. perfringens* основаны на реакции нейтрализации токсинов антиоксической сывороткой [3].

В настоящее время появились основанные на молекулярно-биологических методах исследования ускоренные способы обнаружения *C. perfringens*. В частности, флуоресцентные методы для определения жизнеспособных бактерий подсчетом их микроколоний были разработаны учеными дальнего и ближнего зарубежья [13–15].

Ускоренные методы выявления санитарно-показательных и патогенных микроорганизмов с использованием подложек «RIDA(R)COUNT», производства Chisso Corporation (Япония) разработаны ФГУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии». Подложки представляют собой готовую систему для нанесения исследуемого образца на питательную среду, содержащую стандартный набор питательных веществ и хромогенный субстрат. Однако и эти методы имеют определенные ограничения — не могут целенаправленно выделить отдельные виды микроорганизмов, потому что они неспецифичны. Кроме того, разработанные подложки разных типов предназначены для выявления и подсчета количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов при культивировании в аэробных условиях, либо других групп микроорганизмов, однако не предполагают определение *C. perfringens*. Экспрессные методы микробиологического анализа санитарной обработки на пищевых производствах, основанные на люминометрии с использованием люминометра System SURE II — портативного прибора для быстрой оценки микробиологической безопасности, позволяющие в течение короткого времени (15 секунд) в количественных единицах получить данные о наличии или отсутствии органических загрязнений, напрямую связанных с количеством микроорганизмов [16], — также не позволяют определить *C. perfringens*.

Чтобы сократить время для специфического выявления и количественного учета жизнеспособных *C. perfringens* в сравнении с классическими методами, S. Shimizu с соавторами использовали свечение при гибридизации в комбинация с культивированием на фильтре (FISHFC) [17]. Оптимальные требования культивирования кроме состава среды для образования микроколоний были: анаэробные условия, температура 37 °С и продолжительность инкубации 6 часов. При этих условиях микроколонии достигали достаточных для гибридизации размеров. Как отмечают авторы, разработанный FISHFC-метод был реализован за 9 ч по сравнению с 3–5 днями, требуемыми для определения *C. perfringens* стандартными методами, причем результаты этих двух методов различались не значительно.

Проведенный аналитический обзор показал, что определенный прорыв в диагностике связан с развитием методов, использующих полимеразную цепную реакцию (ПЦР-методы).

4. Разработка ускоренного метода определения *C. perfringens*

Автором данной работы разработан ускоренный ПЦР-способ определения санитарной безопасности пищевых продуктов путем обнаружения *C. perfringens* в пищевом сырье и продуктах его переработки. Способ включает в себя следующие процедуры: отбор пробы для анализа, выделение ДНК из полученных проб, проведение ПЦР, анализ продуктов ПЦР, оценка безопасности образцов пищевых продуктов.

В соответствии с разработанным способом из основной биомассы образца выделяли клетки содержащихся в нем различных микроорганизмов, отделяли их от основной биомассы образца и, выделив клетки микроорганизмов, проводили их лизис в присутствии ингибитора ДНКазы. В частности, образцы целого

неповрежденного пищевого продукта (огурцы, морковь, томаты, сарделли, порционные куски мяса и др.) массой 100 г помещали в стерильный пакет, заливали 50 мл дистиллированной воды и хорошо перемешивали в течение 10–15 минут. Смывную воду сливали и подвергали центрифугированию при 300 об/мин на протяжении 10 минут. Далее из средней части центрифугата отбирали 40 мл образца и повторно центрифугировали при 10000 об/мин на протяжении 10 минут. Далее из нижней части центрифугата отбирали 0,5 мл содержащей концентрат микроорганизмов пробы для анализа. Для проведения ПЦР-анализа в первую очередь выделяли ДНК микроорганизмов, при этом из многих существующих методов выделения ДНК использовали метод теплового лизиса при обязательном внесении ингибитора ДНКазы в процессе выделения ДНК.

Для проведения ПЦР-анализа размораживали реактивы на льду и готовили реакционную смесь с использованием праймеров, специфических к гену 16S рибосомальной РНК *C. perfringens*, добавляли 25 мкл пробы и помещали содержимое в ПЦР машину – 9600 GeneAmp (PerkinElmer). Задавали режим амплификации, а после окончания ПЦР пробы охлаждали до 4 °С.

Анализ продуктов ПЦР можно проводить различными методами. При использовании ПЦР-анализа в реальном времени детекцию и количественный анализ можно проводить для ампликонов с размером 209 н. п. В случае использования электрофореза, продукты амплификации вначале качественно идентифицировали в 2 % агарозном геле с бромистым этидием. Для проведения анализа 15 мкл продуктов ПЦР подвергали электрофорезу на 2,0 % агарозном геле и визуализировали окрашиванием геля 0,5 мг/мл этидия бромид. Определяли наличие пятен размером 209 н. п. путем сравнения их положения с маркером, которые фотографировали (рис. 1).

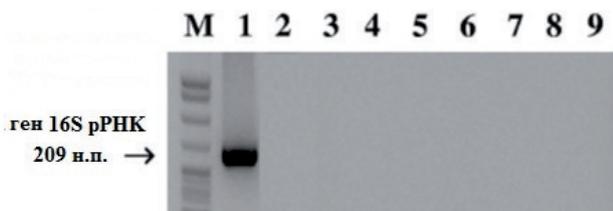


Рис. 1. Результаты амплификации гена 16S рРНК

C. perfringens (209 н. п.) методом ПЦР в сравнении с ПЦР геномной ДНК других бактерий (5×10^5 клеток): полоса 1 — *Clostridium perfringens*; полоса 2 — *Clostridium butyricum*; полоса 3 — *Clostridium sporogenes*; полоса 4 — *Lactobacillus plantarum*; полоса 5 — *Bacillus licheniformis* sp.; полоса 6 — *Bacillus subtilis*; полоса 7 — *Bacillus subtilis*; полоса 8 — *Bifidobacterium adolescentis*; полоса 9 — *Bacillus cereus*; полоса М — содержат ДНК маркеры

Для детекции ампликонов размером 209 н. п. использовали маркеры в диапазоне 200–220 н. п. Количественное содержание продуктов ПЦР в геле измеряли путем обработки фотографии при помощи программы ImageJ. Качественные результаты ПЦР-анализа оценивали, сравнивая размер полученных ампликонов с размером маркеров. В случае отсутствия ампликонов с размерами 209 н. п., полученные результаты следует считать негативными. Такие результаты свидетельствуют об отсутствии ДНК *C. perfringens* в исследуемых образцах.

5. Апробация результатов исследования метода определения *C. perfringens*

Разработанный метод был проверен на штаммах различных видов микроорганизмов (качественная оценка продуктов ПЦР-анализа) и в оценке безопасности образцов пищевых продуктов (количественная оценка продуктов ПЦР-анализа). Некоторые из полученных результатов приведены в табл. 1. Продолжительность исследования составляла 3–5 часов.

Таблица 1

Результаты, иллюстрирующие видоспецифичность разработанного способа

Вид микроорганизма	Штамм	Результат ПЦР-исследования
<i>Clostridium perfringens</i>	ККМОП-2	+
<i>Clostridium perfringens</i>	ККМОП-6	+
<i>Clostridium perfringens</i>	МЛКЗ-3	+
<i>Clostridium perfringens</i>	ККМОП-21	+
<i>Clostridium sporogenes</i>	25	–
<i>Clostridium butyricum</i>	ККМОП-1	–
<i>Lactobacillus plantarum</i>	В-7004	–
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	ККМБ-1	–
<i>Lactobacillus casei</i> sp. <i>casei</i>	В-7017	–
<i>Bacillus licheniformis</i> sp.	В-7088	–
<i>Bacillus subtilis</i>	В-7025	–
<i>Bacillus subtilis</i>	В-7018	–
<i>Bacillus cereus</i>	ККМОП -1	–
<i>Salmonella typhimurium</i>	ТА100	–
<i>Salmonella typhimurium</i>	ТА98	–
<i>Proteus vulgaris</i>	ККМОП -1	–
<i>Enterococcus faecalis</i>	МЛКЗ-7	–
<i>Escherichia coli</i>	МЛКЗ-2	–

Как следует из результатов (табл. 1) по продуктам ПЦР-анализа с использованием праймеров, специфических к гену 16S рибосомальной РНК *C. perfringens*, можно делать вывод о наличии в пробе *C. perfringens*, а при обнаружении заданной праймерами длины ампликона и определении количества копий геномной ДНК *C. perfringens* – судить о степени санитарной безопасности продуктов.

6. Выводы

В результате проведенных исследований:

1. Охарактеризованы основные свойства микроорганизмов *C. perfringens*, их распространенность в окружающей среде, обуславливающую контаминирование сырья и пищевых продуктов. Приведены устойчивость, возможность сохранения, описано биологическое действие *C. perfringens*, вызывающее необходимость считать его критерием санитарной безопасности продуктов, регламентировать и контролировать в сырье и пищевых продуктах.

2. Дана оценка основным методам определения *C. perfringens* в пищевых продуктах как продолжительным или недостаточно специфичным, что позволило разработать

индикативный видоспецифический способ определения этого микроорганизма в пищевом сырье и продуктах его переработки. Разработанный ПЦР-способ позволяет в десятки раз ускорить определение *C. perfringens* в сравнении с традиционными методами исследования, получить достоверный качественный либо количественный результат и охарактеризовать регламентируемую степень санитарной безопасности продуктов, что особенно важно для скоропортящегося сырья и продуктов длительного хранения.

Литература

- Adcock, P. W. Rapid Confirmation of *Clostridium perfringens* by Using Chromogenic and Fluorogenic Substrates [Text] / P. W. Adcock, C. P. Saint // Applied and Environmental Microbiology. — 2001. — Vol. 67, № 9. — P. 4382–4384. doi:10.1128/aem.67.9.4382-4384.2001
- McClane, B. A. The complex interactions between *Clostridium perfringens* enterotoxin and epithelial tight junctions [Text] / B. A. McClane // Toxicon. — 2001. Vol. 39, № 11. — P. 1781–1791. doi:10.1016/S0041-0101(01)00164-7
- Персианова, И. П. Микробиология консервирования и микробиологический контроль консервного производства [Текст] / И. П. Персианова, Л. Н. Герасименко, Л. А. Стоянова. — Одесса: «Внешрекламсервис», 2010. — 310 с.
- Мазохинной-Поршнякова, Н. Н. Анализ и оценка качества консервов по микробиологическим показателям [Текст] / под ред. Н. Н. Мазохинной-Поршняковой. — М.: Пищ. пром-сть, 1977. — 471 с.
- Блэкберн, Клив де В. Микробиологическая порча пищевых продуктов [Текст]: пер. с англ. / под ред. Клива де В. Блэкберна. — СПб.: Профессия, 2008. — 784 с.
- Melngaila, A. Microbiological risk analysis in public catering establishments [Text]: Summary of Doctoral Thesis ... the Doctor's degree of Engineering Sciences: in sub-sector of Food Microbiology / A. Melngaila; Latvia University of Agriculture. — Jelgava, 2008. — 68 p.
- Пилипенко, Л. Н. Консервирование пищевых продуктов. Микробиология, энергетика, контроль [Текст]: монография / Л. Н. Пилипенко, Я. Г. Верхивкер, И. В. Пилипенко. — Одесса: «ВМВ», 2015. — 232 с.
- De Jong, A. E. I. Comparison of media for enumeration of *Clostridium perfringens* from foods [Text] / A. E. I. de Jong, G. P. Eijhuse, E. J. F. Brouwer-Post, M. Grand, T. Johansson, T. Kärkkäinen, J. Marugg et al. // Journal of Microbiological Methods. — 2003. — Vol. 54, № 3. — P. 359–366. doi:10.1016/S0167-7012(03)00069-1
- Jose, S. G.-A. Sporulation and enterotoxin production by *Clostridium perfringens* Type A at 37 and 43 °C [Text] / S. G.-A. Jose, R. G. Labbe, A. R. Manuel // Applied and Environmental Microbiology. — 1992. — Vol. 58, № 4. — P. 1411–1414.
- Про затвердження Інструкції про порядок санітарно-технічного контролю консервів на виробничих підприємствах, оптових базах, в роздрібній торгівлі та на підприємствах громадського харчування [Електронний ресурс]: Постанова Головного державного санітарного лікаря України від 07.11.2001 № 140. — Режим доступу: \www/URL: http://www.uazakon.com/big/text694/pg1.htm. — 01.02.2015.
- СанПиН 2.3.2.1078-01. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов [Электронный ресурс]. — Введен 01.09.2002. — Режим доступа: \www/URL: http://blanker.ru/doc/sanpin-2-3-2-1078-01. — 04.02.2015.
- ГОСТ 29185-91. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества сульфитредуцирующих клостридий [Электронный ресурс]. — Режим доступа: \www/URL: http://vsegost.com/Catalog/19/1911.shtml. — 01.02.2015.
- Rodrigues, U. M. Rapid selective enumeration of bacteria in foods using a microcolony epifluorescence microscopy technique [Text] / U. M. Rodrigues, R. G. Kroll // Journal of Applied Bacteriology. — 1988. — Vol. 64, № 1. — P. 65–78. doi:10.1111/j.1365-2672.1988.tb02430.x
- Wang, X. Rapid and automated enumeration of viable bacteria in compost using a micro-colony auto counting system [Text] / X. Wang, N. Yamaguchi, T. Someya, M. Nasu // Journal of Microbiological Methods. — 2007. — Vol. 71, № 1. — P. 1–6. doi:10.1016/j.mimet.2007.06.019
- MP 02.011-06. Ускоренные методы выявления санитарно-показательных и патогенных микроорганизмов с использованием подложек «RIDA(R)COUNT», производство Chisso Corporation, Япония [Электронный ресурс]. — Режим доступа: \www/URL: http://www.fsetan.ru/library/doc/mr-02011-06-uskorenyie-metodyi-vyyavleniya-sanitarno-pokazatelnyih-i-patogennyih-mikroorganizmov-s-ispolzovaniem-podlozhek-ridarcount-proizvodstva-chisso-corporation-yaponiya/. — 05.02.2015.
- Сатина, О. И. Быстрые и экспресс методы микробиологического анализа [Электронный ресурс] / О. И. Сатина. — Режим доступа: \www/URL: http://www.vniipp.ru/s11.pdf. — 07.02.2015.
- Shimizu, S. Fluorescent in situ hybridization in combination with filter cultivation (FISHFC) method for specific detection and enumeration of viable *Clostridium perfringens* [Text] / S. Shimizu, M. Ootsubo, Y. Kubosawa, I. Fuchizawa, Y. Kawai, K. Yamazaki // Food Microbiology. — 2009. — Vol. 26, № 4. — P. 425–431. doi:10.1016/j.fm.2009.02.002

CLOSTRIDIUM PERFRINGENS: ХАРАКТЕРИСТИКА, БІОЛОГІЧНА ДІЯ, ІНДИКАЦІЯ В ХАРЧОВИХ ПРОДУКТАХ

Приведені характеристика, основні властивості, біологічна дія *Clostridium perfringens* і основні харчові продукти, які можуть бути контаміновані цими мікроорганізмами. Охарактеризовані класичні і сучасні методи визначення *Clostridium perfringens*. Приведені результати розробленого пріоритетного прискореного методу індикації *Clostridium perfringens* в харчових продуктах. Підтверджена видоспецифічність розробленого методу.

Ключові слова: *Clostridium perfringens*, характеристика, біологічна дія, ПЛР-визначення, харчові продукти, прискорений метод.

Пилипенко Інна Васильевна, кандидат технічних наук, доцент, кафедра біотехнології, консервованих продуктів і напоїв, Одеська національна академія харчових технологій, Україна, e-mail: l.pylypenko@mail.ru.

Пилипенко Інна Василівна, кандидат технічних наук, доцент, кафедра біотехнології, консервованих продуктів і напоїв, Одеська національна академія харчових технологій, Україна.

Pylypenko Inna, Odessa National Academy of Food Technologies, Ukraine, e-mail: l.pylypenko@mail.ru