

УДК 619:616.98:579.842.14

## ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ МЕТОДІВ ВИДІЛЕННЯ САЛЬМОНЕЛ З ПРОДУКТІВ ПТАХІВНИЦТВА

Дворська Ю.Є., к.в.н., доцент

Фотіна Т.І., д.в.н., професор

Фотіна Г.А. к.в.н., доцент

jdvorska@mail.ru, Сумський НАУ

**Анотація.** В статті представлені і проаналізовані результати експериментальних досліджень щодо вивчення та порівняльної оцінки ефективності схем виділення сальмонели із продукції птахівництва за міжнародними стандартами та за допомогою експрес-методу Рідаскрін Сальмонела.

**Ключові слова:** продукція птахівництва, стандарти, ізоляція, мікроорганізми, реізоляти, інкубація, експрес-методи, культивування, контамінація, сальмонела.

**Актуальність проблеми.** Харкові токсикоінфекції - гострі інфекційні захворювання, що викликаються умовно-патогенними бактеріями, які продукують екзотоксини. При попаданні мікроорганізмів в харчові продукти в них накопичуються токсини, які можуть викликати отруєння людини. У більшості країн, де є системи звітності щодо випадків хвороб харчового походження, протягом минулих десятиліть зареєстровано значне збільшення поширеності захворювань, що викликаються мікроорганізмами в продуктах харчування. До числа цих мікроорганізмів відносяться *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes* або такі, як *E. coli* O157.

Серед харчових токсикоінфекцій сальмонельоз становить одне з наважливіших загальнобіологічних і соціально значущих захворювань, тому для боротьби з ним поєднують свої знання та працю фахівці ветеринарної і гуманної. Особливістю сучасної епідеміології сальмонельозу є збільшення кількості харчових спалахів токсикоінфекцій, пов'язаних, насамперед, з вживанням м'яса птиці і продуктів птахівництва. В багатьох країнах саме такий шлях зараження є домінуючим [4].

В Україні відзначається захворюваності зростання сальмонельозом по порівняно з минулим роком. Так, масове захворювання сальмонельозом жителів столиці після вживаннямня в їжу курей- гриль спостерігалось на початку червня поточного року, результаті цього випадку постраждало 46 чоловік, з них 4 - діти.

**Завдання дослідження.** Завданням дослідження була оцінка ефективності методів контролю контамінації м'яса птиці, що регламентовані міжнародними стандартами, на предмет якісної і кількісної оцінки реізоляції *Salmonella* spp. та порівняння ефективності експрес-методу «Рідаскрін Сальмонела» як з точки зору методології та і отриманих результатів.

**Матеріал і методи дослідження.** Дослідження проводили на базі лабораторії кафедри ветсанекспертизи, мікробіології, зоогієни та безпеки і якості продуктів тваринництва факультету ветеринарної медицини СНАУ. Поставлену задачу вирішували шляхом випробування способів виділення мікроорганізмів роду *Salmonella* з харчових продуктів шляхом офіційно зареєстрованих культуральних методи ізоляції сальмонел із харчових продуктів та із застосуванням експрес-методу виявлення сальмонел в продуктах харчування Рідаскрін Сальмонелла (R-Biofarm, Germany).

В роботі використовували культури штамів *Salmonella enteritidis* та *Salmonella typhimurium*, що були ізольовані нами попередньо із продуктів птахівництва, оптичний стандарт мутності ДНКІБШМ, м. Київ. Стерильний м'ясний фарш, який був виготовлений із курячих стегенець, придбаних в мережі роздрібної торгівлі. Із ясного фаршу готували наважки масою 150 г. В кожную із наважок вносили суспензії сальмонел кожного підвиду окремо з наступними розрахунковими концентраціями:  $1 \times 10^{-1}$  –  $1 \times 10^3$  КУО/г породукту. Ідентифікацію ізольованих культур мікроорганізмів здійснювали, використовуючи визначник Берджі (1997).

**Результати дослідження.** На першому етапі нами була проведена робота щодо аналізу та порівняльної оцінки ефективності схем виділення сальмонели із продукції птахівництва, які застосовуються в зарубіжній і вітчизняній лабораторній практиці, розробки доступної і ефективної для практичних досліджень методики виявлення сальмонел в продукції птахівництва

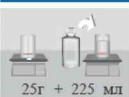
Схема виявлення сальмонел в продуктах харчування за допомогою тест-системи «РИДАСКРИН® Сальмонелла».



Протокол



1



**Збагачення**

- зразок масою 25 г (мл) помістити в МПБ (1:9)
- інкубувати при  $35 - 37 \pm 1^\circ\text{C}$  впродовж 16-20 годин

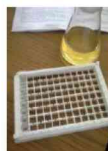


2



**Зв'язування бактерій роду *Salmonella* зразка**

- додати в лунки по 100 мкл розчинів: позитивний, негативний контроль та зразок після збагачення
- інкубувати при  $35 - 37 \pm 1^\circ\text{C}$  впродовж 30 хвилин (накрити плівкою)



3



**Перше промивання**

- звільнити лунки від вмісту (обережно: зразки можуть містити патогенні бактерії!)
- промити 7 разів, кожен раз з 300 мкл буферного розчину



4



**Вторинне збагачення бактерій роду *Salmonella* spp.**

- додати 250 мкл бульону з *Salmonella*
- інкубувати впродовж 4 годин при  $35 - 37 \pm 1^\circ\text{C}$  (накрити плівкою) (5.5 годин згідно протоколу AFNOR або кислотомістяться та кислотоутворюючих зразків).



5



**Перенесення зразків/ Підтвердження**

- зберегти бульон збагачення з *Salmonella*, якщо необхідно
- пряме підтвердження позитивного результату на селективному агарі
- звільнити лунки (або на вибір: промити 3 - 5 разів) обережно: бульон може містити патогенні бактерії!)



6



**Додавання кон'югату**

- додати 100 мкл кон'югату
- інкубувати при  $35 - 37 \pm 1^\circ\text{C}$  впродовж 30 хвилин (накрити плівкою)



7



**Друге промивання**

- звільнити лунки
- промити 7 разів, використовуючи кожен раз по 300 мкл буферного розчину



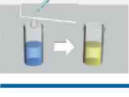
8



**Додавання субстрату та облік результатів**

- додати 100 мкл субстрату/ хромогену
- інкубувати 15 хвилин при кімнатній температурі в темному місці
- зміна кольору з рожевого на синій свідчить про наявність *Salmonella*

9



**Додавання стоп-розчину та облік результатів**

- додати 100 мкл стоп-розчину
- зміна кольору з синього до жовтого свідчить про наявність *Salmonella*
- облік оптичної щільності (ОЩ) при 450/ довжина волни порівняння 620

Негативний контроль	Позитивний контроль	
< 0.150 од ОЩ	≥ 1.000 од ОЩ	
Негативний контроль	Сумнівна проба	Позитивна проба
< 0.185 од ОЩ	≥ 0.185 to < 0.200 од ОЩ	≥ 0.200 од ОЩ

В світовій практиці використовують два офіційно зареєстрованих культуральних методи ізоляції сальмонел із харчових продуктів: згідно міжнародних стандартів (ДСТУ EN 12824:2004 "Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод виявлення *Salmonella*" (державний стандарт України, гармонізований з ISO 6579) та ДСТУ ISO 6579:2006 "Мікробіологія

харчових продуктів і кормів для тварин. Методика виявлення *Salmonella* spp" (державний стандарт України, гармонізований з ISO 6579) [1,2,3].

Обидва методи регламентують посів дослідної проби в спеціальні рідкі середовища збагачення з метою накопичення бактеріальної маси, наступний пересів культур на поверхню щільного поживного середовища та подальшу ідентифікацію типових колоній мікроорганізмів за біохімічними тестами.

Експрес-методи виявлення патогенних бактерій із продуктів харчування мають ряд переваг, включаючи скорочення терміну проведення досліджень з декількох днів до 23-24 годин. Схема проведення досліджень надано нижче.

З метою порівняльної оцінки ефективності схем виділення сальмонел з продукції птахівництва за міжнародними стандартами та експрес-методом ІФА «Рідаскрин Сальмонела» ми провели дослідження контамінованого сальмонелою м'ясного фаршу. Результати досліджень надано в таблиці 1.

Вищезазначені методи дозволяють провести лише якісний аналіз продуктів харчування на наявність мікроорганізмів роду *Salmonella*.

Таблиця 1

**Результати виділення сальмонел із експериментально контамінованого м'ясного фаршу**

Доза зараження (КУО/г)	Дослідження через 24 години після зараження		Дослідження через 48 години після зараження	
	ISO enteriditis/typhymurium	Рідаскрин enteriditis/typhymurium	ISO enteriditis/typhymurium	Рідаскрин enteriditis/typhymurium
1,0	-/-	+/-	+/-	+/-
1,0	-/-	+/-	+/-	+/-
1,0	-/-	+/-	+/-	+/-
10,0	+/-	+/-	+/+	+/+
10,0	+/-	+/-	+/+	+/+
10,0	+/-	+/-	+/+	+/+
100,0	+/+	+/+	+/+	+/+
100,0	+/+	+/+	+/+	+/+
100,0	+/+	+/+	+/+	+/+
1000,0	+/+	+/+	+/+	+/+
1000,0	+/+	+/+	+/+	+/+
1000,0	+/+	+/+	+/+	+/+

**Висновки**

1. Культуральні методи виділення *Salmonella* spp., з харчових продуктів за ДСТУ EN 12824:2004 та ДСТУ ISO 6579:2006 достатньо ефективні, мають високу чутливість, а рівень відкриваємості проб складав 106,1 – 124,3. Показник реізоляції бактерій (%) прямопропорційно залежний від дози контамінації м'ясного фаршу і має тенденцію до збільшення при підвищенні дози зараження харчового продукту.
2. Виділення *Salmonella* spp. із продуктів птахівництва за експрес-методом «Рідаскрин Сальмонела» має переваги в швидкості проведення досліджень при найменших дозах зараження – через 24 години культивування при дозі зараження 1,0 КУО/г, має вищі рівні реізоляції сальмонели з урахуванням дози кампілобактерій, що внесена в продукт (млн/см<sup>3</sup>): на 4,0%; 4,0%; 5,9%; 5,9%; 4,9% в порядку зростання дози контамінації, відповідно.

**Література**

1. Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод виявлення *Salmonella*" (державний стандарт України, гармонізований з ISO 6579) : ДСТУ EN 12824:2004. – К.: Держспоживстандарт України, 2005 р., 28 с. – (Національний стандарт України).
2. Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Загальні настанови мікробіологічних досліджень (ISO 7218:1996, IDT) : ДСТУ ISO 7218:2008. – [Чинний від 2011-01-01]. – К.: Держспоживстандарт України, 2008. – 11 с. – (Національний стандарт України).

3. ISO 6579: 2002 "Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp."
4. Олійник Лідмила Вікторівна. Система моніторингу, контролю і профілактики токсикоінфекцій сальмонельозної та ешерихіозної етіології: Автореф. дис. д-ра вет. наук: 16.00.09 / Львівська національна академія ветеринарної медицини ім. С.З.Гжицького. — Львів, 2004. — 33с.

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕТОДОВ ВИДЕЛЕНИЯ САЛЬМОНЕЛЛ ИЗ ПРОДУКТОВ ПТИЦЕВОДСТВА**

Дворская Ю.Е., к.в.н., доцент

Фотина Т.И., д.в.н., профессор

Фотина А.А., к.в.н., доцент, [jdvorska@mail.ru](mailto:jdvorska@mail.ru), Сумский НАУ

**Анотация.** В статье представлены и проанализированы результаты экспериментальных исследований по изучению та сравнительной оценке эффективности схем выделения сальмонелл из продукции птицеводства по международным стандартам и с помощью экспресс-метода Ридаскрин Сальмонелла.

**Ключевые слова:** продукция птицеводства, стандарты, изоляция, микроорганизмы, реиолаты, инкубация, экспресс-метод, культивирование, контаминация, сальмонелла.

**COMPARISON OF SALMONELLA ISOLATION METHODS FROM POULTRY PRODUCTS**

Dvorska J.E., PhD., Assoc.Prof

Fotina T.I., DcS., Prof.

Fotina H.A., PhD., Assoc.Prof [jdvorska@mail.ru](mailto:jdvorska@mail.ru)

Sumy National Agrarian University

**Summary.** Data on salmonella isolation from poultry products with international cultural methods and using Ridascreen Salmonella test systema are presented and analysed in this paper.

**Key words:** poultry products, standart, isolation, microorgasisms, reisolates, incubation, express-methods, cultivation, contamination, salmonella.

УДК: 619:616.98:579.873.21

**ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ M. BOVIS В МОЛОЦІ, КЕФІРІ, СМЕТАНІ**

**Дзьомбак Д. В.,** молодший науковий співробітник

[ddv80@list.ru](mailto:ddv80@list.ru)

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків*

**Анотація.** В статті наведені результати досліджень з вивчення життєздатності мікобактерій бичачого виду при перебуванні їх в пробах молока, кефіру та сметани.

**Ключові слова:** мікобактерії туберкульозу бичачого виду, життєздатність, вірулентність, мінливість.

**Актуальність проблеми.** Відомо, що хвора на туберкульоз велика рогата худоба в період інтенсивної лактації з молоком може виділяти *M. bovis* [1, 2]. При згодовуванні незнезараженого молока телятам у них через 3 – 6 місяців відмічали позитивні реакції та туберкулін для ссавців, а при діагностичному забої цих тварин в мезентеріальних лімфатичних вузлах були виявлені характерні для туберкульозу ураження [3]. Що стосується життєздатності збудника туберкульозу в молоці то літературні дані різних авторів з цього приводу є суперечливими, а дослідження з визначення строків виживання *M. bovis* в молоці та молочних продуктах за останні 20 – 25 років в Україні не проводились.

**Завдання дослідження.** Визначити стоки зберігання життєздатності *Mycobacterium bovis* в пробах молока, кефіру, сметани.

**Матеріал і методи дослідження.** При проведенні досліджень використовували референтний штам Vallee збудника туберкульозу бичачого виду. Для контамінації тест-об'єктів використовували