

СТАТЬИ

УДК 579.22

БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПАТОГЕННЫХ И УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Бейшеналиева С.Т., Кырбашова М.Т.

*Кыргызский государственный университет им. И. Арабаева, Бишкек,
e-mail: salkun-beishenaliyeva@mail.ru*

В данной статье рассматривали биохимические свойства патогенной и условно-патогенной микрофлоры пищевых продуктов. Исследование качества пищевых продуктов путем выявления в них неспецифической микрофлоры является актуальным для современной биологии и медицины. В пищевых продуктах содержатся белки, углеводы, витамины и другие питательные вещества, а это способствует не только сохранению, но и размножению различных микроорганизмов. Целью нашего исследования явилось изучение биохимических свойств выявленных неспецифических микроорганизмов пищевых продуктов. Для определения биохимических свойств исследуемых микроорганизмов их инкубировали при температуре 37°C на 18–24 ч. Цвет среды Кесслера изменился с красного на желтый. Это доказывает, что бактерии группы кишечных палочек ферментируют среду Кесслера с образованием газа. Установлено, что *Proteus vulgaris* образует индол. Показано, что семейства Enterobacteriaceae ферментируют углеводы с кислотообразованием и выделяют сероводород. Для межродовой и видовой биохимической дифференциации энтеробактерий определяли с помощью системы индикаторные бумажные тесты. Определена оксидазная активность группы Proteus, индикаторные бумажные тесты меняют свой цвет на синий. Установлено, что *Staphylococcus aureus* ферментирует лецитовителлин и активизирует естественную систему свертывания крови и вызывает плазмокоагуляцию.

Ключевые слова: неспецифическая микрофлора, пищевые продукты, биохимические свойства микроорганизмов

BIOCHEMICAL PROPERTIES OF PATHOGENIC AND OPPORTUNISTIC MICROORGANISMS OF FOOD PRODUCTS

Beyshenaliyeva S.T., Kyrbashova M.T.

Kyrgyz State University named after I. Arabaev, Bishkek, e-mail: salkun-beishenaliyeva@mail.ru

This article considered the biochemical properties of pathogenic and opportunistic microflora of food products. Currently, the study of food quality by identifying non-specific microflora in them is relevant for modern biology and medicine. Food contains proteins, carbohydrates, vitamins and other nutrients, and this contributes not only to the preservation, but also to the reproduction of various microorganisms. The purpose of our study was to study the biochemical properties of identified non-specific microorganisms in food products. To determine the biochemical properties of the studied microorganisms were incubated at a temperature of 37°C for 18–24 hours. The color of Kessler's medium changed from red to yellow. This proves that the bacteria of the E. coli group ferments Kessler's media to form gas. *Proteus vulgaris* has been found to form an indole. The Enterobacteriaceae family has been shown to ferment carbohydrates with acid formation and release hydrogen sulfide. For inter-generic and species biochemical differentiation of enterobacteria, the indicator paper tests were determined using the system. The oxidase activity of the Proteus group was determined, and the indicator paper test changes its color to blue. *Staphylococcus aureus* has been found to ferment lecithovitellin and activate the natural blood clotting system and cause plasma coagulation.

Keywords: non-specific microflora, food products, biochemical properties of microorganisms

В настоящее время исследование качества пищевых продуктов путем выявления в них неспецифической микрофлоры является актуальным для современной биологии и медицины. Размножение некоторых микроорганизмов приводит к непригодности пищевых продуктов к употреблению. Многие из производимых в мире продуктов не доходят до потребителя в связи с их порчей (в большинстве случаев микробами) [1–3].

Содержание в пищевых продуктах белков, углеводов, витаминов и других питательных веществ благоприятствует не только сохранению, но и размножению различных микроорганизмов [4, 5]. В молочнокислых и полученных путем брожения пищевых продуктах находятся в боль-

шом количестве микробы, которые придают им вкусовые качества и определенную консистенцию (специфическая микрофлора). Кроме того, в продуктах могут содержаться микроорганизмы или их споры, попавшие из внешней среды (неспецифическая микрофлора) [6–8].

В отдельных случаях пищевые продукты могут быть обсеменены сальмонеллами, шигеллами, стафилококками, клостридиями ботулизма, *E. coli*, *B. cereus*, *Cl. perfringens* и другими бактериями, приводящими к возникновению у людей пищевых токсикоинфекций и других заболеваний [9–11]. Поэтому актуально выявление и исследование культуральных, биохимических свойств микрофлоры пищи.

Целью нашего исследования явилось изучение биохимических свойств выявленных неспецифических микроорганизмов пищевых продуктов.

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось в бактериологической лаборатории Департамента профилактики заболеваний и госсанэпиднадзора Кыргызской Республики. Объекты исследования – выявленная патогенная и условно-патогенная микрофлора пищевых продуктов.

Во время исследования использовали биохимические методы микробиологии (бродильный метод, методы определения лецитоветилазы, индикаторные бумажные тесты) [12]. Определение бактерий группы кишечных палочек (БГКП) в пищевых продуктах производили бродильным методом посевом на среды Кесслера, – 37°C – 18–24 ч., высев на Эндо – 37°C – 24 ч. (ГОСТ 30518-97, ГОСТ 10444.15-94). Определение семейства Enterobacteriaceae производили с помощью системы индикаторные бумажные (СИБ) тесты – индолообразования (СТ 28560-90, ГОСТ 30726-2001). А идентификацию *Staphylococcus aureus* – определением лецитоветилазы (лецитиназа), реакцией плазмокоагуляция (ГОСТ 9225-84).

Результаты исследования и их обсуждение

Из молочных продуктов, кондитерских изделий и готовых кулинарных изделий выделены бактерии группы кишечных палочек. Характерные биохимические свойства бактерии группы кишечных палочек мы описываем ниже.

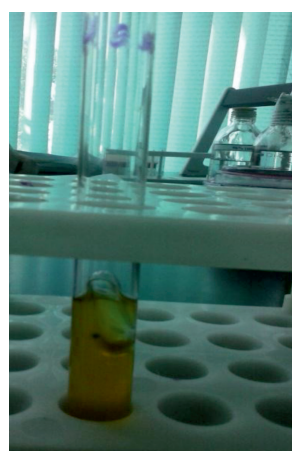
Для определения биохимических свойств БГКП 0,1 г продукта (разведение 1:10) высевали на 9 мл среды Кесслера с поплавками при температуре 37°C и инкубировали на 16–24 ч. После инкубации наблюдали выделение газа и изменение цвета среды. Цвет среды Кесслера изменился с красного на желтый. Это доказывает, что БГКП ферментировал среды Кесслера с образованием газа (рис. 1).

Затем, чтобы дальше исследовать биохимические свойства БГКП, производили посев на лактозную среду. После инкубации при температуре 37°C на 24 ч на лактозной среде наблюдали выделение пузырьков и изменение цвета среды. Как видно на рис. 2, изменился цвет среды с темно-зеленого на желтый, выделение пузырьков доказывает, что эти микроорганизмы, ферментируя лактозную среду, образуют кислоту и газы.

Чтобы определить биохимические свойства *E. coli*, 0,1 г продукта (разведение 1:10) высевали на 9 мл среды Кесслера с поплавками при температуре 44°C, инкубировали на 16–24 ч. После инкубации наблюдали выделение газа и изменение цвета среды. Цвет среды Кесслера изменился с красного на желтый. Это доказывает, что *E. coli* ферментировал среды Кесслера с образованием газа (рис. 1). Для дальнейшего исследования биохимических свойств *E. coli* производили посев на лактозную среду. После инкубации при температуре 37°C на 24 ч на среде лактоза наблюдали выделение пузырьков и изменение цвета лактозной среды. Цвет лактозной среды изменялся с темно-зеленого на желтый и выделялись газы. Эти свойства характерны для семейства Enterobacteriaceae (рис. 2).

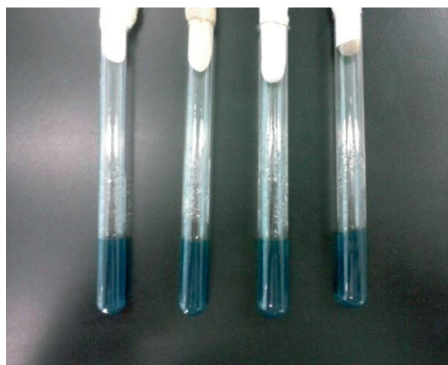


а)



б)

Рис. 1. Биохимические свойства семейства Enterobacteriaceae: а) отрицательный, б) положительный (ферментировали среды Кесслера с образованием газа)



а)



б)

Рис. 2. Биохимические свойства семейства *Enterobacteriaceae*: а) среда лактоза до посева, б) среда лактоза после посева

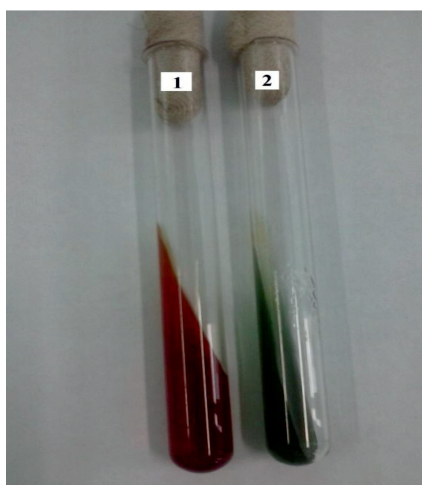


Рис. 3. Биохимические свойства *Proteus vulgaris*. Среда Клигlera (1) и Симонса (2) до посева

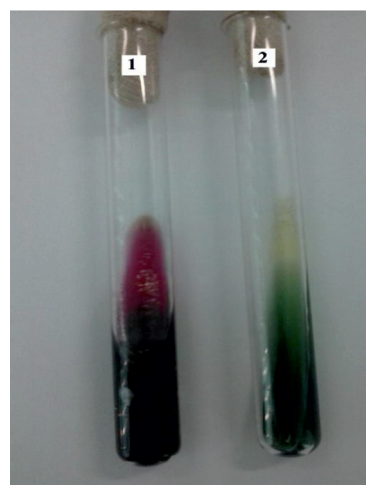


Рис. 4. Биохимические свойства *Proteus vulgaris*. Среда Клигlera (1) и Симонса (2) после посева

Для межродовой и видовой биохимической дифференциации энтеробактерий определяли с помощью системы индикаторные бумажные тесты (СИБ-тесты).

Биохимические свойства группы *Proteus* определяются с помощью СИБ-тестов. После инкубации наблюдали следующие изменения. Результат анализа регистрировался визуально. При определении оксидазной активности группы *Proteus* СИБ тест меняет свой цвет на синий. Это доказывает, что эти выросшие культуры на поверхности агара группы *Proteus*.

Из колонии группы *Proteus vulgaris* брали бактериологической петлей и посева-ли штрихом по косяку и уколом в столбик комбинированной среды для первичной биохимической идентификации микробов

на среду Клигlera (1) и Симонса (2) (Проба № 2118-2121, рис. 3). На рис. 4 видно, что идет почернение среды Клигlera, образование сероводорода, ферментация глюкозы с изменениями окраски столбика среды, кислотообразования. А среда Симонса не изменилась. Почернение среды Клигlera, появляющееся в средней или нижней части столбика, происходит при образовании выделенным микробом сероводорода, что свойственно представителям рода *Proteus vulgaris*, *P. mirabilis*.

При проведении дополнительного биохимического анализа *Proteus vulgaris* определяли индолообразование. Для выявления индола в пробирки разливали 6 мл среды и засеивали суспензией бактерий. Инкубировали при температуре 37°C в течение 18–24 ч.

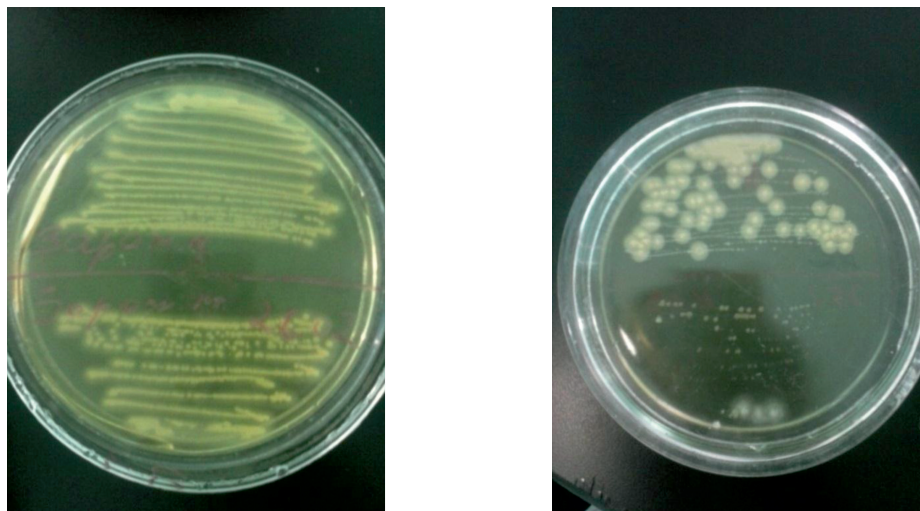


Рис. 5. Биохимическая идентификация *Staphylococcus aureus*

Затем для определения индола складывали по намеченной на ней линии вдвое и пинцетом опускали на дно пробирки. Контроль произвели СИБ-дисккой, помещенной в пробирку со стерильным натрия хлорида раствором 0,9%. Обе пробирки инкубировали при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. На пробе индолообразования подтверждено, что конец индола окрашивался в розово-малиновый цвет.

Staphylococcus aureus в анаэробных условиях ферментирует маннит. Биохимические свойства *Staphylococcus aureus* определяли с помощью лецитовеллитлазы и плазмокоагулазы. При определении лецитовеллитлазы (лецитиназа) посева на среду желточно-солевой агар – хлористый натрий является селективным фактором, он подавляет рост большинства представителей другой микрофлоры, главным образом грамотрицательной. Одним из компонентов яичного желтка является лецитовителлин. Лецитовителлин является субстратом для фермента лецитовителлитлазы (лецитиназы), относящегося к группе липаз и продуцируемого некоторыми стафилококками. На желточно-солевом агаре (рис. 5) колонии *Staphylococcus aureus* – S-формы, выпуклые, круглые и блестящие. Наличие пигмента легко определяется на глаз. Вокруг колонии *S. aureus* образовался радужный венчик. Это доказывает, что *S. aureus* обладает лецитовителлитлазной активностью.

Для окончательной идентификации *Staphylococcus aureus* определяли фермент плазмокоагулазы. В пробирку, содержащую цитратную плазму крови, вносили с петлей суточную агаровую культуру исследуемого штамма и штатив с пробирками инкубировали на 4 часа в термостат при 37°C . После

инкубации учитывали результат, в пробирке (рис. 6) появился студнеобразный сгусток. Под действием фермента плазмокоагулазы активируется естественная система свертывания крови (плазминоген протромбин). Появление студнеобразного сгустка любого размера считается положительным результатом реакции. Положительным результатом следует считать наличие плазмокоагуляции в первые 4 часа инкубации. Отсутствие свертывания плазмы в течение 18 ч расценивается как отрицательный результат. В качестве контроля рекомендуется ставить реакцию с заведомо коагулирующим и некоагулирующим штаммами, а также оставлять одну пробирку с плазмой незасеянной (рис. 6).



Рис. 6. Биохимические свойства *Staphylococcus aureus*. Реакция плазмокоагуляции

Выводы

1. Показано, что семейства *Enterobacteriaceae* ферментируют углеводы с кислотообразованием и выделяют сероводород.

2. Установлено, что *Staphylococcus aureus* ферментирует лецитовителлин и активирует естественную систему свертывания крови и вызывает плазмокоагуляцию.

3. Показано, что *Proteus vulgaris* обладает сахаролитической и протеолитической активностью.

Список литературы

1. Джей Дж.М., Лесснер М.Дж., Гольден Д.А. Современная пищевая микробиология. М.: БИНОМ. Лаб. знаний, 2012. 887 с.
 2. Васильев С.И. Основы промышленной безопасности. Ч. 1. Красноярск: Сиб. федер. ун-т, 2012. 502 с.
 3. Мудрецова-Висс К.А., Дедюхина В.П. Микробиология, санитария и гигиена. М.: ИД ФОРУМ: ИНФРА-М, 2010. 400 с.

4. Иващенко С.В. Пищевая микробиология. Саратов, 2016. 62 с.

5. Куранова Н.Г. Микробиология. Ч. 2. Метаболизм прокариот. М.: Прометей, 2017. 135 с.

6. Курбанова А.А. Вопросы разработки способов микробиологической устойчивости хлеба при относительно длительном хранении // Вестник Московского государственного университета. Серия: Естественные науки. 2012. № 4. С. 53–56.

7. Азизов Б.М., Чепегин И.В. Производственная санитария и гигиена труда. М.: НИЦ ИНФРА-М, 2015. 432 с.

8. Степаненко И.С., Холодок Г.Н., Кольцов И.П. Культуральные свойства клинически значимых микроорганизмов // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2014. № 3. С. 165–166.

9. Бондаренко В.М. Общий анализ представлений о патогенных и условно-патогенных бактериях // Журнал микробиологии. 1997. № 4. С. 20–26.

10. Глик Б. Молекулярная биотехнология. Принципы применения. М.: Мир, 2002. 589 с.

11. McFaddin J.F. Biochemical Tests for the Identification of Medical Bacteria, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA. 2000.

12. Асонов Н.Р. Микробиология. М.: Колос, 2011. 352 с.