

A. ROSHCHYNA, H. ZHYDKOVA, H. STARAVOITAVA

PROFILE ANALYSIS IN THE EVALUATION OF SENSORY PROPERTIES OF CANNED FISH

The article introduces results of estimating quality level of marketed in the Republic of Belarus. Quality of natural canned fish samples has been investigated by using profile analysis of sensor properties. Distinctive characteristics of sensor properties of natural canned fish samples taken for investigation from the same product line of domestic and foreign producers have been established.

УДК 579.676

*По данным ВОЗ в последние годы регистрируется значительное увеличение числа заболеваний, обусловленных потреблением продуктов питания, контаминированных листериями. В статье приведены результаты исследований по выявлению и идентификации *Listeria monocytogenes* из рыбы и рыбных продуктов: свежемороженая рыба, пресервы, филе холодного копчения, соленая рыба, креветки, крабовые палочки, полуфабрикаты из рыбы.*

ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ *LISTERIA MONOCYTOGENES* ИЗ РЫБЫ И РЫБНОЙ ПРОДУКЦИИ

РУП «Научно-практический центр
Национальной академии наук по продовольствию»,
г. Минск, Республика Беларусь

*Е.И. Козельцева, научный сотрудник лаборатории микробиологических исследований
Республиканского контрольно-испытательного комплекса
по качеству и безопасности продуктов питания;*

*И.М. Почицкая, кандидат сельскохозяйственных наук,
начальник Республиканского контрольно-испытательного комплекса
по качеству и безопасности продуктов питания;*

*И.Е. Лобазова, кандидат химических наук, заведующий лабораторией
микробиологических исследований Республиканского
контрольно-испытательного комплекса по качеству
и безопасности продуктов питания;*

*Э.А. Петрова, научный сотрудник лаборатории микробиологических исследований
Республиканского контрольно-испытательного комплекса
по качеству и безопасности продуктов питания*

По данным ВОЗ в последние годы регистрируется значительное увеличение числа заболеваний, обусловленных потреблением продуктов питания, контаминированных листериями [1]. *Listeria monocytogenes* считается одним из наиболее опасных видов пищевых патогенов, поскольку вызываемые этим микроорганизмом заболевания характеризуются самым высоким уровнем летальности.

Основной путь заражения человека листериозом – пищевой. Многочисленные эпидемические вспышки и спорадические случаи листериоза в разных странах мира были связаны с употреблением готовых пищевых продуктов. Поэтому листериоз стали рассматривать как одну из важнейших пищевых инфекций в мире [2, с.307].

Из литературных данных известно, что различные виды листерий выявляются в сыром молоке, мягких сырах, в свежем и замороженном мясе, в мясе птицы, полуфабрикатах для еды «быстрого приготовления», сырых овощах, а также в рыбе и широком спектре морепродуктов – замороженных креветках, лобстерах, консервированном и свежем крабовом мясе, копченой и соленой рыбе [3, 4, 5].

Следует отметить, что в настоящее время выявлены далеко не все пищевые продукты, которые могут служить потенциальными источниками заражения листериями, и изучены далеко не все возможные механизмы контаминации этих продуктов. Информации об обнаружении листерий в рыбном сырье и готовой продукции недостаточно, что обуславливает необходимость накопления данных по этой проблеме.

Целью данной работы является выделение и идентификация бактерий рода *Listeria* из рыбного сырья и готовой рыбной продукции. В качестве объектов исследования были выбраны 145 образцов рыбы и рыбных продуктов: свежемороженая рыба, пресервы, филе холодного копчения, соленая рыба, креветки, крабовые палочки, полуфабрикаты из рыбы.

На территории РБ проводится обязательный микробиологический контроль всех категорий пищевых продуктов на наличие в них *L. monocytogenes* по действующему межгосударственному стандарту ГОСТ 32031-2012 «Продукты пищевые. Методы выявления бактерий *Listeria monocytogenes*».

Следует отметить, что обнаружение листерий в рыбе и рыбной продукции усложняется следующими обстоятельствами: пониженной жизнеспособностью клеток, низкой скоростью размножения, присутствием посторонней микрофлоры, которая может превышать численность листерий на несколько порядков [6]. В связи с этим, особенно важным для выявления листерий является их накопление, которое проводится в два этапа.

На первом этапе подготовленную навеску исследуемого продукта в количестве 25г, вносили в жидкую среду для первичного обогащения со сниженной концентрацией селективных компонентов, в результате чего, поврежденные клетки листерий восстанавливали жизнеспособность и размножались до уровня, достаточного для их обнаружения.

В ходе проведения исследований нами было отмечено, что в качестве селективной среды накопления предпочтительно использовать бульон Фрейзера. Наличие эскулина и цитрата аммония железа позволяет подтвердить наличие листерий по почернению среды за счет гидролиза эскулина в присутствии ионов железа.

После инкубирования посевов при 30°C в течение 24 часов, проводили второй этап обогащения в жидкой среде Фрейзера с полной концентрацией селективных компонентов. Накопительную культуру культивировали 48 часов при 37°C и высевали на плотные селективные среды PALCAM и ALOA агар. Посевы просматривали через 24 и 48 часов.

Через 24 часа инкубирования, все виды бактерий рода *Listeria* образовывали на PALCAM-агаре мелкие зеленовато-серые или оливково-зеленые колонии иногда с черным ореолом. Однако последующая микроскопия выявила, что не все микроорганизмы являются грамположительными палочками, потемнение плотной среды также вызывали и грамположительные кокки. Только на вторые, третьи сутки у колоний листерий темнеет и углубляется центр, что позволяет отличить их от колоний посторонних микроорганизмов.

Среди 6 видов листерий (*L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. grayi*), только один вид - *Listeria monocytogenes*, является патогенным для человека, а остальные виды, в соответствии с современными представлениями, не являются опасными для здоровья людей.

Следует отметить, что характер роста листерий на плотных питательных средах не позволяет провести даже ориентировочную дифференциацию *Listeria monocytogenes*, от *Listeria spp*, поэтому следует проводить дальнейшую идентификацию по видовым признакам.

В последние годы, для выделения листерий, широко используются хромогенные среды, которые позволяют после этапа селективного обогащения дифференцировать патогенные листерии и отличить их от непатогенных.

Нами был использован агар Chromocult® *Listeria* Selective Agar (ALOA-агар по Ottaviani, Agosti) с селективными добавками (рис.1). Богатая основа среды обеспечивает оптимальные условия для роста листерий. Включение в среду ингибиторов подавляет рост сопутствующих грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также дрожжей и грибов. Рост *L.monocytogenes* и *L.innocua* не подавляется, тогда как рост других листерий (*L.ivanovii*) задерживается, или полностью ингибируется (*L.seeligeri*).

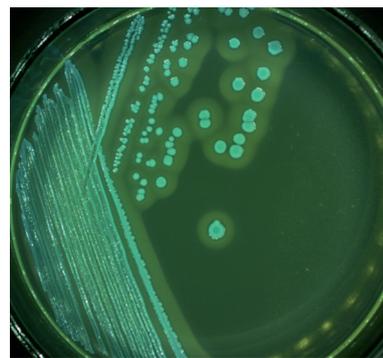


Рис. 1. Рост *L.monocytogenes* на агар Chromocult® *Listeria* Selective Agar (ALOA-агар по Ottaviani, Agosti)

Все листерии обладают активностью фермента β-D-глюкозидазы и образуют при взаимодействии с хромогенным субстратом сине-зеленые колонии. Дифференциация *L.monocytogenes* от других листерий основана на выявлении активности фермента фосфатидилинозит-фосфолипазы С (PI-PLC). Фосфолипазная активность выявляется по наличию зоны помутнения вокруг колоний *L.monocytogenes*. Отметим, что кроме *L.monocytogenes* только *L.ivanovii* проявляет фосфолипазную активность.

Для подтверждения принадлежности выделенных микроорганизмов к роду *Listeria*, определяли морфологию клеток, способность к окрашиванию по Граму, каталазную активность, подвижность при 25°C и 37°C.

Все без исключения штаммы были каталазоположительны, подвижны в полужидком агаре при температуре 25°C и неподвижны при 37°C, не ферментировали маннит.

Тестирование выделенных культур листерий по биохимическим признакам проводили с использованием наборов для идентификации «API *Listeria*» фирмы «BioMerieux» (Франция) (рис.2).

Следует отметить, что в некоторых случаях, интерпритация результатов тестов «API *Listeria*» может быть неоднозначной при дифференциации *L.monocytogenes* и *L.innocua*

Наибольшую информативность имели ферментативные тесты в отношении ксилозы, рамнозы и маннита, позволяющие проводить видовую дифференциацию *L.monocytogenes* от непотатенных листерий. *L.monocytogenes* не сбраживает ксилозу, маннит, арабинозу, сахарозу; ферментирует с образованием кислоты рамнозу, глюкозу и галактозу.

Наиболее значимым фактором вирулентности, связанным с бактериями *L.monocytogenes* является бета-гемолиз. Гемолиз наблюдался на чашках с кровяным агаром у гемолитических штаммов *L.monocytogenes* и *L.ivanovii*, причем, гемолитическая активность у *L.ivanovii*, была выражена более ярко, формируя широкие зоны лизиса диаметром 3 мм и более.

У двух выделенных штаммов *L.monocytogenes* гемолитическая активность была невелика, и просветление агара можно было увидеть только после снятия колонии с агара петлей.

Из отобранных образцов рыбы и рыбной продукции, было выделено 12 культур, которые по результатам родовой идентификации были отнесены к бактериям рода *Listeria*. Исследованные культуры, по комплексу изученных свойств, были отнесены к 3 видам: *L.monocytogenes*, *L.innocua*, *L.ivanovii*.

Из 12 контаминированных листериями образцов, 2 образца филе форели слабосоленой и 2 образца семги подкопченной содержали *L.monocytogenes*.

Известно, что листерии размножаются на поверхности тела рыб, используя в качестве источника питания эскулин

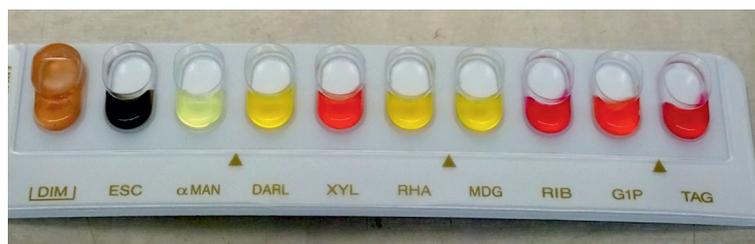


Рис.2 Набор «API *Listeria*»

рыбьей слизи [8]. В процессе тепловой обработки рыбного сырья листерии частично погибают, однако в производственных условиях существует ряд факторов способствующих выживанию и адаптации листерий к разнообразным неблагоприятным условиям. Так специфические условия холодного копчения и посола (соль, коптильный раствор, воздействие температуры), которые тормозят развитие других микроорганизмов, способствуют активному размножению листерий, поэтому достаточно часто листерии выделяют из рыбы холодного копчения и засоленной рыбы.

Таким образом, в результате проведенных исследований, нами было установлено, что патогенные листерии в основном выделяются из образцов готовой рыбной продукции, т.е. продукции, которая прошла технологическую обработку. В пробах мороженой рыбы, мороженого филе, патогенные листерии не были обнаружены. Скорее всего, обнаружение листерий в готовой рыбной продукции связано с развитием остаточной микрофлоры при нарушениях правил производства и хранения готовой продукции. Чтобы избежать микробной контаминации и попадания листерий в готовые продукты, производственные помещения, технологическое оборудование, инвентарь, должны подвергаться регулярной санитарной обработке.

Также следует отметить, что присутствие непатогенных видов листерий, таких как *Listeria innocua* может являться показателем неудовлетворительного санитарно-гигиенического состояния производства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Программа ВОЗ по наблюдению и контролю за пищевыми инфекциями и интоксикациями в Европе // Вестник ВОЗ. – 2004. – №80.
2. *Ефимочкина, Н.Р.* Микробиология пищевых продуктов и современные методы детекции патогенов / Н.Р. Ефимочкина. – М.: РАМН, Москва, 2013. – 518с.
3. *Болотский, М.Н.* Индикация *Listeria monocytogenes* в продовольственном сырье и продуктах животного происхождения методом ИФА / М.Н. Болотский // Ветеринарная патология. – 2007. – №2. – С.46–49.
4. *Макаров, В.В.* Эмерджентность, чрезвычайные ситуации и зоонозы / В.В. Макаров // В. В. Ветеринарная патология. – 2004. – № 3 (10). – С.36–45.
5. *Васильев, Д.А.* Листерия как новая пищевая инфекция / Д.А. Васильев, Н.И. Микишина // Вопросы ветеринарной микробиологии и эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы. Сб. научных трудов. – Ульяновск, 1990. – С. 52–59.
6. *Колбасов, Д.В.* Выявление патогенных листерий в рыбной продукции / Д.В. Колбасов, В. А. Цыбанова, Т.Е. Фирсова // Профилактика, диагностика и лечение инфекционных болезней, общих для людей и животных: материалы Международной научной конференции. – Ульяновск, 2009. – С.105–110.

Рукопись статьи поступила в редакцию 24.06.2016

E.I. KOZELTSAYA, I.M. POCHITSKAJA, I.E. LABAZAYA, E.A. PIATROVA

DISTINCTIVE FEATURES OF REVEALING AND IDENTIFICATION LISTERIA MONOCYTOGENES FROM FISH AND FISH PRODUCTION

The WHO is registered the substantial growth of diseases caused by consumption of a foodstuff, contaminated by *Listeria* in last years.

Data are resulted of researches on revealing and identification *Listeria monocytogenes* from fish and fish products frozen fish, a fillet of cold smoking, salty fish, shrimps, crab sticks, half-finished products from fish.