

I. M. Pachytskya, E. S. Krasouskaya

SENSORY EVALUATION OF QUALITY DESCRIPTORS OF CARP FAMILY FISH

The results of sensory studies of fish of Carp family presented using the Quality Index Method. The main changes of descriptors during storage are defined that affect the quality, maps of the sensory evaluation are developed and dependencies of changes in the quality characteristics of fish of Carp family during storage in ice are built.

УДК 579.676

*В статье приведены сравнительные результаты по выявлению и идентификации *Listeria monocytogenes* с помощью тест-систем Singlepath® L.'моно. Отмечено, что применение тест-систем Singlepath® L.'моно позволяет сократить время исследования в 2-2,5 раза в сравнении с классическим микробиологическим методом.*

ВЫЯВЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ *LISTERIA MONOCYTOGENES* С ПОМОЩЬЮ ТЕСТ-СИСТЕМ SINGLEPATH® L.'MONO

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

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

*Е. И. Козельцева, научный сотрудник лаборатории микробиологических исследований
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*

Мясо и продукты его переработки служат одним из основных источников полноценного белка в питании человека. В то же время мясное сырье и продукты, изготовленные из них, являются благоприятной средой для развития микроорганизмов.

В зависимости от технологических процессов при производстве продуктов, происходит интенсивное развитие и накопление патогенных бактерий, которые могут вызывать инфекционные заболевания. В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что готовая пищевая продукция, играет ведущую роль в возникновении и распространении пищевых инфекций [1].

Listeria monocytogenes считается одним из наиболее опасных видов пищевых патогенов, поскольку вызываемые этими микроорганизмами заболевания характеризуются самым высоким уровнем летальности [2, с.293].

На территории Республики Беларусь микробиологический контроль пищевых продуктов на наличие в них *L.monocytogenes* проводится по действующему межгосударственному стандарту ГОСТ 32031-2012 «Продукты пищевые. Методы выявления бактерий *Listeria monocytogenes*» [3]. Несмотря на широкое внедрение в микробиологическую практику молекулярных методов, тра-

диционный бактериологический метод, основанный на применении специально подобранных селективных питательных сред и диагностических наборов, является основополагающим на этапе первичного выделения и идентификации пищевых патогенов. Однако существенный недостаток этого метода составляет длительность исследования, продолжающегося иногда до восьми суток.

Целью данной работы является сравнение классического метода выявления бактерий *Listeria monocytogenes* и метода с использованием тест-систем Singlepath® L.'mono по времени, затраченному на исследование. В качестве объектов исследования в нашей работе были выбраны образцы мяса и мясных продуктов.

В пищевых продуктах листерии обычно находятся в небольшом количестве и в смеси с другими микроорганизмами, поэтому для их выявления необходимо применение селективных сред обогащения, и использование четкой системы идентификации.

Выявление листерий в соответствии с ГОСТ 32031-2012 проводили в два этапа. На первом этапе подготовленную навеску исследуемого продукта в количестве 25 г вносили в жидкую среду для первичного обогащения со сниженной концентрацией селективных компонентов. После культивирования посевов при 30°C в течение 24 часов, проводили второй этап обогащения в среде с полной концентрацией селективных компонентов. Накопительную культуру термостатировали при 37°C 48 часов и высевали на плотные селективные среды. Посевы на селективных средах просматривали через 24 и 48 часов на наличие роста характерных для листерий колоний

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.

Для подтверждения принадлежности выделенных бактерий рода *Listeria* к виду *Listeria monocytogenes*, у выделенных микроорганизмов определяли ферментативные свойства, гемолитическую и лецитиназную активность. Окончательный результат при отрицательном результате был получен через пять суток, а при положительном — через шесть, восемь суток. Существенным недостатком данного метода является продолжительность, трудоемкость и часто неоднозначная интерпретация тестов, поэтому использование новых подходов для выявления патогенных листерий является весьма актуальным.

Из предложенных в ГОСТ 32031-2012 различных тестов и тест-систем для ускоренной идентификации бактерий *Listeria monocytogenes*, нами были использованы тест-системы Singlepath® L.'mono, выпускаемые компанией «Merck KGaA» (Германия). Действие тест-систем Singlepath® L.'mono основано на методе визуальной иммунохроматографии (разновидность ИФА)[4]. В присутствии антигена *L. monocytogenes* образуется антиген-антитело меченый комплекс, который мигрирует до зоны связывания в тестовой зоне (Т). Зона связывания содержит антитела к комплексу антиген-антитело, в результате чего образуется четкая красная линия. Полоса (С), в контрольной зоне содержит антитела, способные связывать меченые антитела из зоны нанесения материала. Благодаря фиксации меченых антител в контрольной зоне тоже образуется окрашенная полоска, подтверждающая работоспособность тест-системы. Тест считается положительным, если через 30 минут или ранее, красные линии образуются как в тестовой (Т), так и в контрольной зоне(С).

При отрицательном результате меченые антитела не задерживаются в тестовой зоне, мигрируют в контрольную зону, где связываются с иммобилизованными антителами, образуя только одну полосу в зоне (С).

Тест-системы Singlepath® L.'mono применяли для ускоренного скрининга и для идентификации колоний, выделенных при высеве на плотные питательные среды.

Для ускоренного скрининга исследования проводили по следующей схеме (рис. 2):



Рис. 1 Иммунохроматографический тест Singlepath® L.'mono. Слева — отрицательный ответ; справа — положительный ответ

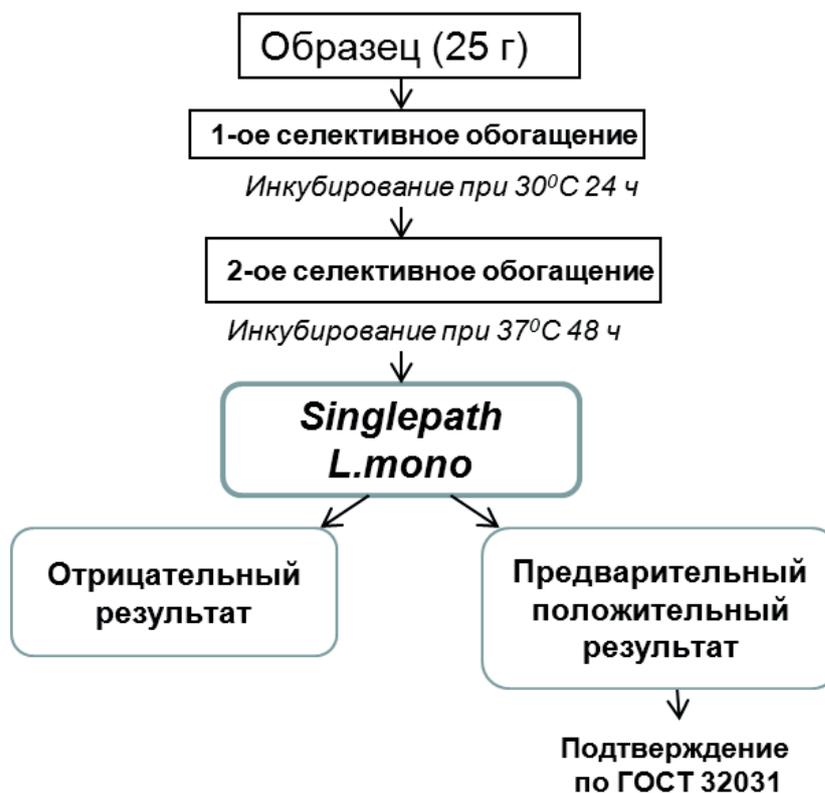


Рис. 2. Схема ускоренного выявления *L. monocytogenes* с использованием тест-систем Singlepath® L.'mono

В случае предварительного положительного результата, выделенные культуры идентифицировали по биохимическим, морфологическим и другим признакам по ГОСТ 32031-2012.

Отрицательный результат является окончательным и свидетельствует об отсутствии микроорганизма в анализируемом образце.

В наших исследованиях, использование тест-систем Singlepath® L.'mono для ускоренного скрининга позволило получить отрицательный результат через 72 часа, что обеспечивает существенное сокращение продолжительности исследования.

Следует отметить, что нижний предел чувствительности экспресс-тестов составляет 10^5 - 10^6 бактерий/см³, поэтому при скрининг-тестировании анализируемого образца, необходимо его предварительное обогащение в селективных питательных средах.

Экспресс-тесты Singlepath® L.'mono также можно использовать для идентификации характерных по морфологии колоний листерий. 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, что может занимать от двух до пяти суток.

Специфичность тест-системы устанавливали в опытах с культурами *Listeria ivanovii subsp. londoniensis* ATCC ВАА-139, *Listeria innocua* (serotype 1) ATCC 3®3090™, *Listeria monocytogenes* (serotype 6a) ATCC®, полученные из коллекции MicroBioLogics, Inc (США).

Для идентификации бактерий с помощью Singlepath® L.'mono отбирали характерные колонии, выросшие на селективных агаризованных средах, ресуспендировали в бульоне Фрейзера, инкубировали в течение 1 часа при температуре 37°C, остужали до комнатной и вносили в лунки тест-систем.

Идентификацию проводили по следующей схеме (рис. 3):



Рис. 3. Схема идентификации *L. monocytogenes* с использованием тест-систем Singlepath® L.'mono

Использование экспресс-тест Singlepath® L.'mono для идентификации *Listeria monocytogenes* позволяет сократить время исследования и получить достоверный результат за 96 часов.

Таким образом, применяемый в настоящее время классический метод выделения листерий с использованием питательных сред, отличается длительностью, что создает риски для производителей пищевой продукции, реализуемой, как правило, сразу после ее изготовления из-за ограниченных сроков годности.

В случае необходимости получения быстрого результата использование одного классического метода оказывается недостаточным. Наиболее удобным является использование комплексных схем выделения и идентификации листерий, включающих наряду с бактериологическими методами — иммунохроматографические тесты, что существенно сокращает продолжительность исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. *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.
2. *Ефимочкина, Н. Р.* Микробиология пищевых продуктов и современные методы детекции патогенов / Н.Р. Ефимочкина. — М: РАМН, Москва, 2013. — 518с.
3. «Продукты пищевые. Методы выявления бактерий *Listeria monocytogenes*». ГОСТ 32031-2012. — Введ. 01.04.2016. Минск: Госстандарт, 2016. — 28 с.
4. Методы выявления патогенных микроорганизмов с использованием иммунохроматографических экспресс-тестов производства Merck (Германия): методические рекомендации № 24ФЦ/976. — М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. — 23 с.

Рукопись статьи поступила в редакцию 23.01.2017

I. M. Pochitskaja, E. I. Kozeltsava, I. E. Labazava

REVEALING AND IDENTIFICATION LISTERIA MONOCYTOGENES BY MEANS OF TEST-SYSTEMS SINGLEPATH® L.'MONO

There results of detection and identification of *Listeria monocytogenes* by means of express-test Singlepath® L.'mono are presented in the article. The Singlepath® L.'mono allows to reduce research time in 2-2.5 times in comparison with classical method of detection.