

Table 2
Typical peaks shown by different representatives of *Enterobacteriaceae* family

Representatives of <i>Enterobacteriaceae</i> family	Peaks of <i>Enterobacteriaceae</i>		Representatives of <i>Enterobacteriaceae</i> family	Peaks of <i>Enterobacteriaceae</i>	
	4363±1 Da	6092±1 Da		4363±1 Da	6092±1 Da
<i>Arsenophonus</i>	-	-	<i>Morganella</i>	n/d	-
<i>Biostraticola</i>	n/d*	-	<i>Obesumbacterium</i>	n/d	-
<i>Brenneria</i>	-	-	<i>Pantoea</i>	-	-
<i>Buchnera</i>	n/d	-	<i>Pectobacterium</i>	-	-
<i>Budvicia</i>	-	-	<i>Phaseolibacter</i>	n/d	-
<i>Buttiauxella</i>	-	-	<i>Photorhabdus</i>	-	-
<i>Cedecea</i>	-	-	<i>Plesiomonas</i>	-	-
<i>Citrobacter</i>	-	-	<i>Pragia</i>	-	-
<i>Cosenzaea</i>	n/d	-	<i>Proteus</i>	-	-
<i>Cronobacter</i>	-	-	<i>Providencia</i>	-	-
<i>Dickeya</i>	4363	-	<i>Rahnella</i>	-	-
<i>Edwardsiella</i>	-	-	<i>Raoultella</i>	4364	-
<i>Enterobacter</i>	4364	-	<i>Saccharobacter</i>	n/d	-
<i>Erwinia</i>	4362	-	<i>Salmonella</i>	4363	6092
<i>Escherichia</i>	4364	-	<i>Samsonia</i>	-	-
<i>Ewingella</i>	4364	-	<i>Serratia</i>	-	-
<i>Gibbsiella</i>	n/d	-	<i>Shigella</i>	n/d	-
<i>Hafnia</i>	-	-	<i>Shimwellia</i>	4364	-
<i>Klebsiella</i>	4363	-	<i>Sodalis</i>	-	-
<i>Kluuyvera</i>	-	-	<i>Tatumella</i>	-	-
<i>Leclercia</i>	-	-	<i>Thorsellia</i>	n/d	-
<i>Leminorella</i>	-	-	<i>Trabulsiella</i>	4363	6093
<i>Lonsdalea</i>	n/d	-	<i>Wigglesworthia</i>	n/d	-
<i>Mangrovibacter</i>	n/d	-	<i>Xenorhabdus</i>	4364	-
<i>Moellerella</i>	-	-	<i>Yersinia</i>	-	-
			<i>Yokenella</i>	4364	-

n/d – no database

Table 3
Proteomic characteristics of *Salmonella* serotypes

Mass (m/z)	Serotype characteristics (according to R. Dieckmann и B. Malorny)	<i>Salmonella</i> isolate identification with «MALDI Autoflex III Biotyper»
6,008	<i>Virchow</i>	<i>Salmonella</i> Virchow pork № 31 <i>Salmonella</i> Dublin «Rassvet»
6,022	<i>Choleraesuis</i>	<i>Salmonella</i> Choleraesuis pork «Bashkiriya» <i>Salmonella</i> Choleraesuis «Il» <i>Salmonella</i> Choleraesuis «Len» <i>Salmonella</i> Choleraesuis «Mordovia» <i>Salmonella</i> Choleraesuis «Vladimir»
6,036	<i>Enteritidis</i>	<i>Salmonella</i> Enteritidis «Ru 3» chick <i>Salmonella</i> Enteritidis «Gleb» chicks <i>Salmonella</i> Enteritidis meat for dumplings «Pel»
7,097	<i>Typhimurium</i>	<i>Salmonella</i> Typhimurium «feedstuff № 16»

9. Protein and polymer analyses up to m/z 100 000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry / K. Tanaka, H. Waki, Y. Ido [et al.] // Rapid Commun. Mass Spectrom. – 1988. – Vol. 2, № 8. – P. 151–153.

10. Rapid identification and typing of listeria species by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry / S.B. Barbuddhe, T. Maier, G. Schwarz [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. – 2008. – Vol. 74, № 17. – P. 5402–5407.

11. Ryzhov V., Fenselau C. Characterization of the protein subset desorbed by MALDI from whole bacterial cells // Analyt. Chem. – 2001. – Vol. 73, № 4. – P. 746–750.

12. Whole-cell matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry for rapid identification of bacteria cultured in liquid media / N. Zhou, N. Wang, B. Xu [et al.] // Science China Life Sciences. – 2011. – Vol. 54, № 1. – P. 48–53.

УДК 619:614.31:637:579.842.14

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ РОДА САЛЬМОНЕЛЛА

Г.С. Скитович¹, К.В. Серова², Н.Б. Шадрова³, О.В. Прунтова⁴

¹ старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: skitovich@arriah.ru

² ведущий ветеринарный врач, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: serova@arriah.ru

³ старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: shadrova@arriah.ru

⁴ руководитель Испытательного центра, доктор биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: pruntova@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

В статье представлены результаты оценки продуктивности и селективности хромогенных питательных сред (висмут-сульфитный агар и ксилозо-лизиновый дезоксихолатный агар) зарубежного и отечественного производств. Коэффициент продуктивности ксилозо-лизинового дезоксихолатного агара зарубежного и отечественного производств составил более 0,58, селективность не менее 2 Ig. Коэффициент продуктивности висмут-сульфитного агара зарубежного производства был выше продуктивности висмут-сульфитного агара отечественного производства и составил более 0,19. Селективность данных сред одинакова и равна 5 Ig. На основании полученных результатов для проведения исследований по выявлению бактерий рода *Salmonella* в пищевых продуктах рекомендовано использование висмут-сульфитного агара импортного производства, ксилозо-лизинового дезоксихолатного агара отечественного или зарубежного производств.

Ключевые слова: *Salmonella*, питательные среды, селективность, продуктивность.

UDC 619:614.31:637:579.842.14

COMPARATIVE EVALUATION OF MEDIA USED FOR DETECTION OF *SALMONELLA* SPP.

G.S. Skitovich¹, K.V. Serova², N.B. Shadrova³, O.V. Pruntova⁴

¹ Senior Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: skitovich@arriah.ru

² Leading Veterinarian, FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: serova@arriah.ru

³ Senior Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: shadrova@arriah.ru

⁴ Head of Testing Centre, Doctor of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: pruntova@arriah.ru

SUMMARY

The paper demonstrates evaluation results for productive and selective capacities of domestic and imported chromogenic nutrient media (Bismuth sulphite agar and xylose lysine deoxycholate agar (XLD agar)). The productivity ratio of imported and domestic XLD agar amounted to over 0.58 and selectivity ratio – to less than 2 Ig. The productivity ratio of imported Bismuth sulfate agar was higher than the productivity of the domestic one and amounted to over 0.19. The selective properties of the both media are similar and amount to 5 Ig. Based on the evidence found, imported Bismuth sulfate agar and domestic or imported XLD agar can be recommended for use in the experiments for detection of *Salmonella* spp in food products.

Key words: *Salmonella*, nutrient media, selective capacity, productivity.

ВВЕДЕНИЕ

Инфекции, вызываемые бактериями рода *Salmonella*, по-прежнему остаются одной из основных проблем здравоохранения. Несмотря на то, что в настоящее время разработано большое количество ускоренных методов обнаружения микроорганизмов, в том числе геном бактерий можно обнаружить с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), методом, подтверждающим выявление сальмонелл при оценке пищевой безопасности пищевых продуктов, является бактериологический анализ. Традиционное выделение бактерий при росте на питательных средах с последующим определением их биологических свойств остается основой идентификации пищевых патогенов. Это позволяет точно определить вид бактерии и тестировать антимикробную восприимчивость, что имеет решающее значение для борьбы с болезнями [2, 6].

В пищевых продуктах, контаминированных сальмонеллами, последние могут присутствовать в относительно низких количествах, обычно распределяясь неравномерно. Они могут быть повреждены в ходе переработки пищевых продуктов или под действием внутренних для данного продукта факторов, таких как температура продукта, pH, влажность, и, кроме того, сальмонеллам обычно сопутствует большое количество близкородственных бактерий, конкурирующих с ними за питательные вещества [9]. Все это затрудняет выделение бактерий рода *Salmonella* из проб пищевых продуктов с помощью культуральных методов. Были разработаны разнообразные селективные среды, которые применяются для визуализации простых биохимических функций, таких как отсутствие ферментации лактозы и производства сероводорода, чтобы определить бактерии рода *Salmonella* в образцах. Данные среды характеризуются низкой специфичностью и требуют достаточно много времени, чтобы исключить колонии значимых организмов от сопутствующих с аналогичными биохимическими функциями [4].

Попытки усовершенствовать состав питательных сред с целью распознавания колоний целевых микроорганизмов от других представителей сопутствующей микробиоты привели к разработке питательных сред с включением хромогенных субстратов. По сравнению с обычными селективными средами, хромогенные питательные обладают более высокой специфичностью, но более низкой чувствительностью из-за увеличения числа ложноотрицательных результатов [7, 8]. Например, хромогенный Rambach агар является высокоспецифичной средой для сальмонелл, но не обнаруживает *Salmonella enterica* серовар Turphi [9]. В результате оптимальная среда для выделения всех серотипов *Salmonella* еще не разработана. Это означает, что необходимо использовать параллельно не менее двух сред для посева на чашки.

Неспособность сбрасывать лактозу, продуцирование сероводорода и подвижность являются характерными признаками сальмонелл, используемыми во многих существующих средах для выделения. Одной из таких сред является ксилозо-лизиновый дезоксихолатный агар (XLD). Тем не менее, примерно 1% сальмонелл способны сбрасывать лактозу, причем описаны пищевые отравления человека, вызванные этими штаммами. Чтобы не пропустить лактозо-положительные штаммы, для посева на чашки рекомендуют использовать лактозо-независимую среду [5]. В нашем случае использовали висмут-сульфитный агар (VSA).

Целью работы была оценка питательных сред XLD и VSA импортного и отечественного производства по следующим микробиологическим критериям качества: типичность морфологических, культуральных характеристик микроорганизма на исследуемых средах, чувствительность (продуктивность среды) и селективность питательных сред для выявления бактерий рода *Salmonella*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реактивы и питательные среды: дистиллированная вода по ГОСТ ISO/TS 11133-1-2014; набор красителей для окрашивания мазков по Граму (Merck, Германия); иммерсионное масло; натрий хлористый по ГОСТ 4233; 70%-ный раствор этилового спирта; мясо-пептонный агар (МПА, отдел подготовки питательных сред ФГБУ «ВНИИЗЖ»); триптозо-соевый агар (TSA, Scharlau, Испания); ксилозо-лизиновый дезоксихолатный агар (XLD (имп.), Merck, Германия); ксилозо-лизиновый дезоксихолатный агар (XLD (отеч.), Оболенск, РФ); висмут-сульфитный агар (VSA (имп.), Merck, Германия); висмут-сульфитный агар (VSA (отеч.), Оболенск, РФ). Все питательные среды были приготовлены согласно инструкции изготовителя. Перед использованием все среды подвергали полному качественному контролю и использовали в течение срока хранения готовых питательных сред.

Серовариантный состав сальмонелл определяли с использованием поли- и моновалентных сывороток фирмы Sifn.

Контрольные штаммы: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028; *Salmonella dublin* 373 ВГНКИ; *Salmonella enteritidis* 7 ВГНКИ; *Enterococcus faecalis* NCTC 13379/ATCC 51299; *Escherichia coli* NCTC 12241/ATCC 25922.

Изоляты. В работе использовали 25 изолятов бактерий рода *Salmonella*, выделенных из различных пищевых продуктов и кормов при проведении микробиологических исследований за период 2006–2015 гг.

Восстановление лиофилизированной культуры. Ампулу с лиофилизированной культурой вскрывали согласно инструкции, вносили в нее 0,4–0,6 мл физиологического раствора (0,9%), перемешивали до получения однородной микробной взвеси и высевали на скошенную поверхность МПА и МПБ с 1% глюкозой. Посевы инкубировали при 35–37°C в течение 18–20 ч. Далее отдельную типичную колонию 1-го пассажа переносили в пробирку с питательным бульоном, перемешивали и пересевали в 2 пробирки с МПБ с 1% глюкозой и на скошенную поверхность МПА. Выросшую на питательном агаре культуру проверяли на соответствие культуральных, морфологических и биохимических свойств.

Восстановленную культуру использовали для проведения внутрилабораторного контроля питательных сред.

Приготовление исходного и рабочего разведений. С помощью денситометра приготовили исходные разведения контрольных штаммов, равные 10⁸ КОЕ/см³, что соответствует 0,5 единицы по МакФарланду. Далее десятикратными разведениями доводили концентрации микроорганизмов до необходимых для работы.

Определение селективности питательных сред. Для испытаний питательных сред на селективность в чашки со средами TSA, VSA (имп.), VSA (отеч.), XLD (имп.), XLD (отеч.) инокулировали по 0,1 мл суспензий нецелевых микроорганизмов (*Enterococcus faecalis*

Таблица 1

Рост нецелевых микроорганизмов на эталонной среде TSA и селективных питательных средах для выявления бактерий рода *Salmonella* (n=3)

Нецелевые микроорганизмы	Питательные среды					
	TSA	VSA (имп.)	VSA (отеч.)	XLD (имп.)	XLD (отеч.)	
<i>Enterococcus faecalis</i> , КОЕ/г	10 ⁷	>300	7±2,7	14±5,9	3±5,7	34±9,1
	10 ⁶	>300	0	0	0	3±5,7
	10 ⁵	>300	0	0	0	0
	10 ⁴	>300	0	0	0	0
	10 ³	195±22,2	0	0	0	0
	10 ²	21±15,1	0	0	0	0
<i>E. coli</i> , КОЕ/г	10 ⁷	>300	44±12,1	21±3,5	295±42,2	215±23,6
	10 ⁶	>300	6±5,7	0	144±51,3	156±32,1
	10 ⁵	>300	0	0	6±5,7	23±20,8
	10 ⁴	>300	0	0	0	3±5,7
	10 ³	223±56,4	0	0	0	0
	10 ²	16±11,3	0	0	0	0

NCTC 13379/ATCC 51299, *Escherichia coli* NCTC 12241/ATCC 25922), содержащих от 10² до 10⁷ КОЕ. Чашки инкубировали в термостате в течение 24–48 ч при температуре (37±1)°C. После этого проводили визуальный контроль и количественный подсчет выросших колоний. Все эксперименты проводили в трех повторностях. Параллельно осуществляли контроль концентрации приготовленных инокулюмов путем посева на плотную неселективную питательную среду МПА.

Фактор селективности (S_F) вычисляли по формуле:

$$S_F = D_O - D_{S'} \quad (1)$$

где D_O — наибольшее разбавление, при котором отмечается рост по меньшей мере 10 колоний на эталонной среде, выраженное в lg;

D_S — наибольшее разбавление, демонстрирующее сопоставимый рост на испытываемой среде, выраженное в lg.

Определение продуктивности питательных сред. Продуктивность питательных сред определяли по наибольшему разведению, обеспечивающему формирование колоний или визуально видимый рост во всех засеянных чашках. В чашки со средами TSA, VSA (имп.), VSA (отеч.), XLD (имп.), XLD (отеч.) инокулировали по 0,1 мл суспензий целевых микроорганизмов. Инкубировали в термостате в течение 24–48 ч при температуре (37±1)°C. Инокуляты трех сероваров *Salmonella* использовали с концентрацией 10² КОЕ/см³. После этого проводили визуальный контроль и количественный подсчет выросших колоний. Все эксперименты проводили в трех повторностях.

Коэффициент продуктивности рассчитывали по формуле:

$$P_R = \frac{N_S}{N_O} \quad (2)$$

где N_S — общее количество колоний, полученных на данной питательной среде при испытании;

N_O — общее количество колоний, полученных на определенной эталонной среде.

Статистическая обработка результатов. При статистической обработке данных и результатов исследований использовали методы, рекомендованные И.П. Ашмариним, Н.Н. Васильевым и В.А. Амбросовым [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка селективности питательных сред. Для определения селективных свойств питательных сред отечественного и импортного производств использовали штаммы как целевого микроорганизма, проявляющего характерный рост на исследуемой селективной среде, так и нецелевых микроорганизмов, рост которых на селективных средах должен частично или полностью подавляться.

В качестве эталона питательной среды в опыт была взята среда TSA. В качестве испытываемых питательных сред использовали XLD (имп.), XLD (отеч.), VSA (имп.), VSA (отеч.).

Таблица 2

Селективность питательных сред для выявления бактерий рода *Salmonella*

Питательная среда	Фактор селективности, (lg) при культивировании следующих нецелевых микроорганизмов	
	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>E. coli</i>
VSA (имп.)	5	5
VSA (отеч.)	5	5
XLD (имп.)	5	3
XLD (отеч.)	4	2

Таблица 3
Рост контрольных штаммов бактерий рода *Salmonella* на эталонной среде и селективных питательных средах (n=3)

Среда	<i>S. typhimurium</i> , КОЕ/см ³		<i>S. enteritidis</i> , КОЕ/см ³		<i>S. dublin</i> , КОЕ/см ³	
	10 ³	10 ²	10 ³	10 ²	10 ³	10 ²
TSA	986±80,21	60±26,46	870±141,06	103±15,27	566±92,91	40±26,46
VSA (имп.)	946±37,86	83±30,55	243±153,73	20±10,00	300±194,68	36±25,17
VSA (отеч.)	н/р*	н/р	16±15,27	н/р	63±58,59	6±5,77
XLD (имп.)	833±95,04	70±17,32	686±100,16	80±10,00	546±90,74	46±20,82
XLD (отеч.)	926±45,09	133±53,86	696±35,12	90±40	426±90,18	23±15,27

н/р — нет роста.

Таблица 4
Проверка правильности выбранной концентрации на питательной среде МПА

Разведение инокулюмов с исходной концентрацией 10 ⁸ КОЕ/см ³	<i>S. typhimurium</i> , КОЕ/см ³			<i>S. enteritidis</i> , КОЕ/см ³			<i>S. dublin</i> , КОЕ/см ³		
	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
Повтор 1	270	20	0	150	20	0	150	0	0
Повтор 2	230	30	0	130	80	0	170	10	0
Концентрация инокулюмов	2,5×10 ⁸ КОЕ/см ³			3,2×10 ⁸ КОЕ/см ³			1,4×10 ⁸ КОЕ/см ³		

Таблица 5
Продуктивность селективных питательных сред для выявления бактерий рода *Salmonella*

Питательные среды	Коэффициент производительности селективных сред при посеве следующих целевых микроорганизмов, посевная концентрация 10 ² КОЕ/см ³		
	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. dublin</i>
VSA (имп.)	1,38	0,19	0,90
VSA (отеч.)	0	0	0,15
XLD (имп.)	1,16	0,78	1,15
XLD (отеч.)	2,21	0,87	0,58

Общеизвестно, что VSA — строго селективная среда для выявления сальмонелл [2]. Полученные результаты, представленные в табл. 1, подтверждают, что из всех

испытываемых питательных сред рост нецелевой микрофлоры в максимальной концентрации (10⁶ КОЕ/см³) ингибировал VSA отечественного производства, содержащий в своем составе в качестве ингибитора висмут сульфит. VSA импортного производства сдерживал рост микрофлоры в концентрации 10⁵ КОЕ/см³.

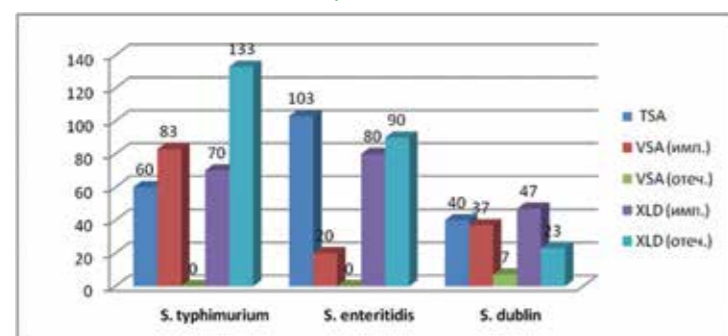
Ингибитором банальной микрофлоры в составе XLD является бриллиантовый зеленый. По полученным данным, XLD как импортного, так и отечественного производства существенно уступает по ингибирующим свойствам VSA, так как подавляет рост нецелевых микроорганизмов в концентрации 10³ КОЕ/см³. Причем среда XLD (отеч.) по результатам исследования показала селективность ниже, чем среда XLD (имп.).

На основании полученных результатов для каждой испытываемой среды по формуле 1 был подсчитан фактор селективности. Результаты представлены в табл. 2.

В соответствии с ГОСТ ISO 11133-2-2011 фактор селективности нецелевых микроорганизмов на селективной среде должен быть не менее двух [3]. По результатам проведенных экспериментов, почти на всех исследуемых средах для выявления бактерий рода

Рис. 1. Рост контрольных штаммов бактерий рода *Salmonella* на селективных питательных средах, посевная концентрация 10² КОЕ/см³

По шкале ординат отложены значения КОЕ/см³ для штаммов *Salmonella* в посевной концентрации 10² КОЕ/см³.



Salmonella фактор селективности был больше или равен 2 lg, что подтверждает их селективные свойства. Причем наиболее высокой селективностью (фактор селективности 5 lg) обладали среды VSA как импортного, так и отечественного производства. Самый низкий фактор селективности (2 lg) был определен для среды XLD (отеч.) при культивировании нецелевого микроорганизма *E. coli*.

Продуктивность питательных сред. Продуктивность питательных сред определяли по наибольшему разведению, обеспечивающему формирование колоний или визуально видимый рост во всех засеянных чашках. В работе были использованы инокуляты трех сероваров *Salmonella* в концентрации 10² и 10³ КОЕ/см³. Посев проводили аналогично, как и при определении селективности питательных сред. Результаты представлены в табл. 3.

По результатам, полученным в ходе исследования, наименее продуктивной средой для контрольных штаммов *Salmonella* оказалась селективная питательная среда VSA отечественного производства. Так, на данной среде серовар *Typhimurium* при посевной концентрации 10² и 10³ КОЕ/см³ не показал признаков роста, серовар *Enteritidis* в концентрации 10² КОЕ/см³ также не вырос. Рост сероваров *Salmonella* на среде XLD (имп.) практически не различался, что говорит о высокой чувствительности данной среды (рис. 1).

Параллельно осуществлялся контроль приготовленных инокулюмов путем посева на плотную неселективную питательную среду МПА (табл. 4).

Полученные результаты, представленные в табл. 4, свидетельствуют о том, что все исходные суспензии контрольных штаммов были приготовлены правильно и соответствуют 0,5 единицы по МакФарланду.

Для каждой селективной питательной среды был определен коэффициент продуктивности (табл. 5).

Коэффициент производительности (P_r) целевых микроорганизмов на селективных средах должен быть не менее 0,1 [3]. По результатам исследований видно, что при использовании *Salmonella* Dublin в качестве целевого штамма все среды имели P_r более 0,15. Самым низким P_r характеризуется среда VSA (отеч.), так как рост на данной среде сероваров *Typhimurium* и *Enteritidis* отсутствует.

Исследование ростовых свойств селективных питательных сред с использованием изолятов бактерий рода *Salmonella*. Время появления роста изолятов бактерии рода *Salmonella* на агаре XLD и VSA регистрировали уже через 12 ч инкубации появлением отчетливого, видимого невооруженным глазом роста культуры.

Все исследуемые в данной работе серовары выделяют сероводород, поэтому на агаре VSA растут в виде черных колоний, что является следствием образования сульфида железа в первые 24 ч культивирования. Восстановление ионов висмута до металлического блеска вокруг колоний через 48 ч культивирования. На VSA (отеч.) через 48 ч культивирования наблюдали более слабый рост колоний по сравнению с VSA (имп.), со слабо выраженным металлическим блеском (рис. 2).

В состав агара XLD входят лизин, ксилоза, лактоза, сахароза, феноловый красный и другие компоненты. Индикация сальмонелл проводится по черной окраске колоний, обусловленной продукцией сероводорода, который образуется только в благоприятных щелочных условиях при ферментации лизина и отсутствии (или малой интенсивности) ферментации ксилозы, лак-

тозы, сахарозы. На XLD (имп.) и XLD (отеч.) через 24 ч *Salmonella* выросла в виде розовых колоний с черным центром. Через 36 ч эти колонии уже выглядели как черные с розовым ореолом. Причем на XLD (имп.) колонии были мельче (рис. 3).

На исследуемых средах был проанализирован рост 25 изолятов *Salmonella*. Все изоляты были выделены из различных пищевых продуктов. Используя стерильные пипетки, на чашки с питательными средами инокулировали исследуемые образцы в концентрации 10² КОЕ/г. Все чашки инкубировали 24–48 ч при (37±1)°С. Бактериальный рост был оценен количественно на основании подсчета колоний (табл. 6).

Суммарный анализ роста изолятов на питательных средах оценен следующим образом: от одной до 50 колоний — слабый рост; 50–100 колоний — умеренный рост; больше чем 100 колоний — сильный рост. Полученные результаты представлены в табл. 7.

Число колоний бактерий *Salmonella* было значительно больше на XLD (имп.) и XLD (отеч.), чем на других средах. На среде XLD (имп.) 23 изолята показали умеренный и сильный рост, что указывает на большую специфичность данной среды. Меньше всего изолятов выросло на VSA (отеч.), причем основное количество изолятов показало на данной среде умеренный рост.

Рис. 2. Культура *Salmonella enterica* серовар *Dublin* на среде VSA отечественного и импортного производства после инкубации в течение 48 ч



Рис. 3. Культура *Salmonella enterica* серовар *Typhimurium* на среде XLD отечественного и импортного производства после инкубации в течение 24 ч



Таблица 6
Качество роста изолятов бактерий рода *Salmonella* на плотных питательных средах

№ п/п	Наименование изолята	Количество колоний, посевная концентрация микроорганизмов 1×10^2 КОЕ/см ³ (n=3)				
		TSA (ср.)	XLD (имп.)	XLD (отеч.)	VSA (имп.)	VSA (отеч.)
1	<i>S. typhimurium</i> говядина № 4975	146±23,09	120±30,01	190±10,01	153±30,55	150±43,59
2	<i>S. typhimurium</i> комбикорм № 7	96±35,12	97±15,28	113±28,87	147±15,28	97±25,17
3	<i>S. typhimurium</i> пищ. продукты № 1904	80±10,01	70±10,01	83±28,87	113±40,42	87±81,45
4	<i>S. typhimurium</i> ребрышки свин. охл.	235±65,06	177±5,77	213±75,72	230±34,64	197±83,27
5	<i>S. typhimurium</i> комбикорм № 16	160±26,46	110±20,01	157±23,09	150±20,01	77±40,42
6	<i>S. choleraesuis</i> Нижегородская обл.	127±15,28	103±46,19	100±26,46	83±41,63	63±35,12
7	<i>S. choleraesuis</i> пищ. прод. Респ. Коми	243±41,63	83±35,12	70±20,01	0	0
8	<i>S. choleraesuis</i> Краснодарский край	147±35,12	137±25,17	103±15,28	133±47,26	83±20,82
9	<i>S. choleraesuis</i> Краснодар. край (19-3)	153±32,15	153±20,82	163±32,15	133±32,14	150±62,45
10	<i>S. choleraesuis</i> № 2 Тамбовская обл.	157±20,82	97±43,54	153±5,77	187±15,28	177±20,82
11	<i>S. choleraesuis</i> Владимирская обл.	120±17,32	103±5,77	113±40,42	93±15,28	30±43,59
12	<i>S. choleraesuis</i> Ульяновская обл.	287±96,09	147±32,15	110±65,57	0	0
13	<i>S. choleraesuis</i> Вологодская обл.	157±35,12	160±43,58	80±20,01	97±35,12	20±34,64
14	<i>S. choleraesuis</i> Республика Татарстан	193±35,12	60±20,01	77±15,28	0	0
15	<i>S. choleraesuis</i> Башкирия	243±90,74	167±25,17	203±11,55	187±81,46	0
16	<i>S. choleraesuis</i> Самарская обл.	233±45,09	0	0	0	0
17	<i>S. choleraesuis</i> Ленинград. обл.	157±50,33	190±17,32	217±83,27	137±58,59	0
18	<i>S. choleraesuis</i> Мордовия	174±55,07	0	0	0	0
19	<i>S. dublin</i> Владимирская обл.	120±17,32	130±34,64	170±52,92	0	0
20	<i>S. dublin</i> Владимирская. обл.	170±36,06	137±20,82	163±11,55	97±40,41	0
21	<i>S. dublin</i> Мордовия	173±20,82	93±55,07	80±17,32	13±23,09	0
22	<i>S. enteritidis</i> Московская обл.	113±66,59	67±20,82	107±51,32	6±11,55	0
23	<i>S. enteritidis</i> Краснодарский край	80±10,01	60±5,77	67±53,54	0	0
24	<i>S. enteritidis</i> от морской свинки	110±40,14	80±36,06	60±10,01	100±43,59	0
25	<i>S. enteritidis</i> пищ. продукты	123±55,07	77±15,27	43±17,32	0	0

Таблица 7
Количество изолятов бактерий рода *Salmonella*, выросших на селективных средах (%)

Результат, кол-во колоний	XLD (имп.)	XLD (отеч.)	VSA (имп.)	VSA (отеч.)
1-50	0	1 (4)	2 (8)	2 (8)
51-100	10 (40)	7 (28)	5 (20)	5 (20)
>100	13 (52)	15 (60)	10 (40)	4 (16)
Итого	23	23	17	11

Таким образом, было установлено, что на всех исследуемых питательных средах бактерии рода *Salmonella* растут в виде характерных колоний, на VSA — черные колонии с металлическим блеском и прокрашиванием среды, на XLD — в виде черных колоний, окруженных розовым ореолом без изменения цвета среды.

Лучшей селективностью обладают среды VSA как импортного, так и отечественного производства, фактор селективности в данном эксперименте был равен 5. Питательная среда XLD (отеч.) была слабо селективной, фактор селективности при культивировании нецелевого микроорганизма (в опыте — *E. coli*) равен 2.

Наибольший коэффициент производительности для целевых штаммов (сальмонелл) установлен для среды XLD (имп.) и XLD (отеч.). Самый низкий коэффициент производительности по результатам работы был определен для VSA (отеч.).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для проведения микробиологических испытаний пищевых продуктов по выявлению бактерий рода сальмонелла на этапе пересева для идентификации микроорганизмов необходимо применять как минимум две твердые питательные среды.

По результатам проведенной работы можно сделать вывод, что для рутинного выявления бактерий рода *Salmonella* наиболее эффективной средой является среда XLD, причем среда XLD отечественного производства не уступает по чувствительности и продуктивности среде XLD импортного производства. Для выявления лактозо-положительных сероваров бактерий рода *Salmonella* из сред, представленных в данной работе, предпочтительнее использовать среду VSA. Причем среда VSA отечественного производства уступает в качестве аналогичной среде импортного производства.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ашмарин И.П., Васильев Н.Н., Амбросов В.А. Быстрые методы статистической обработки и планирование экспериментов. — Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1974. — 76 с.
- Бхуниа А.К. Патогенные микроорганизмы пищевых продуктов. — СПб.: Профессия, 2014. — 344 с.
- ГОСТ ISO 11133-2-2011. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству культуральных сред. Часть 2. Практические руководящие указания по эксплуатационным испытаниям культуральных сред. — М.: Стандартинформ, 2013. — 32 с.
- Микробиологический анализ мяса, мяса птицы и яиц/под ред. Дж.К. Мид; пер. с англ. — СПб.: Профессия, 2008. — 384 с.
- BBL™ XLD Agar. Quality control procedures. — Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, 2007. — L007426, Rev. 09. — URL: <http://www.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/L007426%2809%29%280907%29.pdf>.
- Detection of *Salmonella* serovars from clinical samples by enrichment broth cultivation-PCR procedure / G.G. Stone [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 1994. — Vol. 32, № 7. — P. 1742–1749.
- Manafi M. New developments in chromogenic and fluorogenic culture media // Int. J. Food Microbiol. — 2000. — Vol. 60, № 2–3. — P. 205–218.
- Park S.-H., Ryu S. Kang D.-H. Development of an improved selective and differential medium for isolation of *Salmonella* spp. // J. Clin. Microbiol. — 2012. — Vol. 50, № 10. — P. 3222–3226.
- Van der Zee H. Media for isolation of *Salmonella* // Progress in Industrial Microbiology. Handbook of Culture media for Food Microbiology / ed. J.E.L. Corry, G.D.W. Curtis, R.M. Baird. — Amsterdam, Netherlands: Elsevier, 2003. — Vol. 37. — P. 195–208.