

УДК 637.54:637.075

DOI 10.48612/vch/2tna-t5ff-trgg

К ВОПРОСУ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* В ПРОДУКТАХ УБОЯ ПТИЦЫ**С. С. Козак**

«Всероссийский научно-исследовательский институт птицеперерабатывающей промышленности» – филиал ФГБНУ ФНЦ «ВНИТИП» РАН
141552, Московская обл., Российская Федерация

Аннотация. В настоящее время в РФ при микробиологическом контроле мяса птицы, субпродуктов и полуфабрикатов из мяса птицы при выявлении *S. aureus* руководствуются ГОСТ 54674-2011. На рынке РФ присутствует ряд питательных сред, которые могут повысить эффективность микробиологических исследований в лаборатории при выявлении *S. aureus* в продуктах убоя птицы. Так, для выявления *S. aureus* по ГОСТ 31746 используют бульон Жиолитти-Кантони (БЖК), по ГОСТ 22718 – агар с маннитоловой солью (MSA), однако указанные питательные среды не представлены в ГОСТ 54674-2011. В связи с этим данное исследование посвящено изучению возможности использования БЖК и MSA при выявлении *S. aureus* в продуктах убоя птицы. Полученные результаты исследований свидетельствуют о возможности использования БЖК и MSA для выделения *S. aureus* в мясе птицы, субпродуктах и полуфабрикатах из мяса птицы. При сравнительных исследованиях выявления *S. aureus* все тестируемые образцы, как контрольные, так и опытные, были правильно распознаны с использованием БЖК и MSA с питательными средами, применяемыми согласно ГОСТ Р 54674-2011 (солевой бульон, агар Байрд-Паркера). Визуальный учет характера роста культур после инкубации с использованием БЖК и MSA предположительно указывает на наличие *S. aureus*, что в определенной степени повышает эффективность лабораторных исследований. Включение БЖК и MSA в новую редакцию ГОСТ «Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы выявления *Staphylococcus aureus*» позволит обеспечить возможность выбора и доступности питательных сред при проведении микробиологических исследований по выявлению *S. aureus* в продуктах убоя птицы.

Ключевые слова: продукты убоя птицы, мясо мехобвалки, выявление *S. aureus*, питательные среды.

Исследование выполнено в рамках работ по госзаданию № НИОКР 122031400350-5.

Введение. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) представляет собой бактерию, имеющую важное значение для общественного здравоохранения [5], [13], является болезнетворной бактерией, которая способна вызывать множество серьезных заболеваний. Всего в мире известно около 27 видов стафилококков. Среди них самым опасным для человека является *S. aureus*. Он является важным бактериальным патогеном, продуцирующим различные белки и токсины, которые способствуют его способности колонизировать и вызывать заболевания [11].

Санитарно-показательное значение *S. aureus* обусловлено его широким распространением в окружающей среде, способностью вызывать гнойно-воспалительные процессы в организме, кроме того он вызывает пищевые отравления (причина одной трети всех острых пищевых отравлений) [10], [6].

Многие различные продукты могут быть хорошей средой для роста *S. aureus* и могут быть причиной пищевых отравлений [14], включая молоко и сливки, выпечку с кремовой начинкой, сливочное масло, ветчину, сыры, сосиски, мясные консервы и продукты, салаты, готовые блюда и начинки для сэндвичей. Образующиеся при этом токсины обладают термостабильностью, устойчивостью к протеолитическим ферментам, не влияют на органолептические и вкусовые качества продуктов [7], [10].

Источниками загрязнения сырья и пищевых продуктов *S. aureus* могут являться больной человек и животные с нагноившимися поражениями кожи, острыми заболеваниями верхних дыхательных путей. Определенную опасность представляет и мясо, полученное при вынужденном убое животных и птицы [8], [9], [12].

В РФ при выявлении *S. aureus* мяса птицы, субпродуктов и полуфабрикатов из мяса птицы руководствуются ГОСТ 54674-2011 [1]. На рынке РФ присутствует ряд питательных сред, которые могут повысить эффективность микробиологических исследований при выявлении *S. aureus* в продуктах убоя птицы. Так, для выявления *S. aureus* по ГОСТ 31746 [2] используют бульон Жиолитти-Кантони (БЖК), по ГОСТ 22718 [3] – агар с маннитоловой солью (MSA). Указанные питательные среды не представлены в ГОСТ 54674-2011. В связи с этим исследовали возможность их использования при выявлении *S. aureus* в продуктах убоя птицы, что и явилось целью данной работы.

Материалы и методы. Работа выполнялась в испытательном лабораторном центре ВНИИПП. В исследованиях использовали тест-штамм *Staphylococcus aureus* штамм 906 (SA-902), который предварительно перед исследованиями проверили на наличие типичных культурных, морфологических и биологических свойств.

В качестве модельных образцов использовали мясо механической обвалки птицы (ММО) свободное от *S. aureus*. Для этого ММО помещали в стерильные емкости и при давлении 1 атм. дважды автоклавировали по 1 ч с интервалом в 24 ч. При выполнении исследований было сформировано две группы образцов: опытные – ММО, контаминированное SA-902 (1 г фарша + 30-40 ± 2 КОЕ/г); контрольные – ММО, не контаминированное SA-902. Образцы расфасовали в пластиковые банки с крышкой, идентифицировали, герметизировали парафином и хранили при 0-2 °С (24 ч).

Исследования проводили согласно ГОСТ Р 54674-2011 [1], ГОСТ 31746-2012 [2], ГОСТ ISO 22718-2018 [3], ГОСТ 7702.2.0-2016 [4].

Результаты и их обсуждение. Согласно ГОСТ Р 54674-2011 для выявления *S. aureus* в мясе птицы, субпродуктах и полуфабрикатах из мяса птицы предлагается только солевой или сахарный бульон. Для использования в качестве селективной культуральной среды представляет интерес БЖК. Среда содержит пируват натрия, глицин и другие компоненты необходимые для роста *S. aureus*, добавки для ингибирования роста сопутствующей флоры. Рост микрококков подавляется за счет создания анаэробных условий при инкубировании посевов. Учет результатов с использованием БЖК после инкубации предположительно указывает на наличие коагулазо-положительных стафилококков (стафилококки, вследствие редукции теллурита калия в металлический теллурид, изменяют цвет среды с соломенно-желтого на черный), к которым относится *S. aureus*. В связи с этим на первом этапе выполнения работы исследовали возможность использования БЖК для селективного обогащения *S. aureus*. Для этого инокулировали БЖК путем добавления к 9 мл бульона 1 мл микробной взвеси SA-902, содержащей 40-90 МТ/мл. Для создания анаэробных условий в пробирки на поверхность среды аккуратно наливали вазелиновое масло. Посевы инкубировали при температуре 37 °С в течение 24-48 часов (рис. 1).



Рис. 1. Рост SA-902 на БЖК

Почернение свидетельствовало о редуцировании теллурита калия в среде, что предположительно указывало на наличие коагулазо-положительных стафилококков, к которым относится *S. aureus*.

Для получения изолированных колоний при выявлении взвеси *S. aureus* согласно ГОСТ Р 54674-2011 используют агаризованные селективно-диагностические среды: агар Байрд-Паркера, агаризованную среду с кроличьей плазмой и бычьим фибриногеном, яично-желточный солевой агар и яично-желточный азидный агар. Для этих целей представляет интерес использование MSA, который предназначен для выделения и подсчета патогенных стафилококков. Принцип действия MSA основан на его составе и реакциях, которые он вызывает у различных бактерий. MSA содержит экстракт говядины и протеозо-пептон, которые обеспечивают необходимые факторы роста, микроэлементы и азот, витамины, минералы и аминокислоты, необходимые для роста бактерий.

MSA содержит высокую концентрацию хлорида натрия (7,5 %), что делает его селективной средой. Эта высокая концентрация соли создает среду, которая избирательно подавляет рост многих бактерий, за исключением стафилококков. Известно, что стафилококки способны переносить и расти в условиях с высоким содержанием соли. Следовательно, MSA способствует росту стафилококков, подавляя рост других бактерий, способствуя их изоляции.

MSA позволяет дифференцировать бактерии на основе их способности ферментировать сахар маннит. Маннит, который является единственным источником ферментируемых углеводов присутствующим в МСК, играет решающую роль в среде. Бактерии, способные ферментировать маннит, производят кислоту в качестве побочного продукта. Это подкисление среды вызывает изменение цвета из-за индикатора pH (фенолового красного), присутствующего в MSA, что делает колонии желтыми и создает желтую зону вокруг них.

Непатогенные стафилококки и другие бактерии, которые не могут ферментировать маннит, не вызывают такого изменения цвета и поэтому растут на агаре в виде небольших красных колоний.

Изменения цвета, наблюдаемые как в колониях, так и в среде, обусловлены наличием индикатора pH (фенолового красного). Феноловый красный имеет красный цвет при pH 8,4 и становится желтым при pH 6,8. При ферментации маннита образуется кислота, что снижает pH, вызывая изменение цвета фенолового красного в среде с красного на желтый. Агар – отвердитель, присутствующий в MSA, придает среде гелеобразную консистенцию, что обеспечивает рост и наблюдение за бактериальными колониями.

Для исследования возможности использования MSA для выделения *S. aureus* из БЖК бактериологической петлей проводили посев на чашки с MSA и инкубировали при 30-35 °С в течение 18-72 часов. На возможное присутствие *S. aureus* указывало присутствие желтых/белых колоний, окруженных желтой зоной (рис. 2).



Контроль среды MSA

Рост SA-902 на MSA

Рис. 2. Контроль среды MSA и рост *S. aureus* на MSA

Далее провели сравнительные испытания БЖК и MSA со средами (солевой бульон, агар Байрд-Паркера), применяемыми согласно ГОСТ Р 54674-2011 [9] при исследовании опытных и контрольных образцов фарша на наличие SA-902. Результаты исследований представлены в таблице.

Таблица – Результаты выявления SA-902 в контрольных и опытных образцах фарша

Наименование образцов	Наименование метода и использованных сред			
	ГОСТ Р 54674-2011		БЖК, MSA	
	Положительно	Отрицательно	Положительно	Отрицательно
20 контрольных образцов	0	20	0	20
20 опытных образцов	20	0	20	0

Подтверждение принадлежности выявленных микроорганизмов к *S. aureus* проводили по ГОСТ Р 54674-2011.

Согласно результатам исследований все тестируемые образцы, как контрольные, так и опытные, были правильно распознаны с помощью питательных сред БЖК, MSA и питательных сред, применяемых согласно ГОСТ Р 54674-2011. При использовании обоих методов 20 опытных образцов были идентифицированы как «Положительно», 20 контрольных образцов – как «Отрицательно».

Выводы. Полученные результаты исследований свидетельствуют о возможности использования БЖК и MSA для выделения *S. aureus* в мясе птицы, субпродуктах и полуфабрикатах из мяса птицы. Визуальный учет характера роста культур после инкубации с использованием БЖК и MSA предположительно указывает на наличие *St. aureus*, что в определенной степени повышает эффективность лабораторных исследований. Включение БЖК и MSA в новую редакцию ГОСТ «Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы выявления *Staphylococcus aureus*» позволит обеспечить возможность выбора и доступности питательных сред при проведении микробиологических исследований по выявлению *S. aureus* в продуктах убой птицы.

Литература

1. ГОСТ 54674-2011 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы выявления *Staphylococcus aureus* : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 13 декабря 2011 г. No 832-ст : дата введения 2013-01-01. – Москва : Стандартинформ, 2019. – 8 с.

2. ГОСТ 31746-2012 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества коагулазоположительных стафилококков и *Staphylococcus aureus* : введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2013 г. Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 29 ноября 2012 г. № 1773-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 31746—2012 : дата введения – 2013 – 07 – 01. – Москва : Стандартинформ, 2013. – 24 с.
3. ГОСТ ISO 22718-2018 Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Обнаружение *Staphylococcus aureus* : принят Евразийским советом по стандартизации, метрологии и сертификации по результатам голосования в АИС МГС (протоколом от 27 июля 2018 г. № 110-П) : дата введения 2021-01-01. – Москва : Стандартинформ, 2020. – 14 с.
4. ГОСТ 7702.2.0-2016. Продукты убоя птицы, полуфабрикаты из мяса птицы и объекты окружающей производственной среды. Методы отбора проб и подготовка к микробиологическим исследованиям : введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2018 г. Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 8 сентября 2016 г. № 1091-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 7702.2.0—2016 : дата введения. 2018-01-01. – Москва : Стандартинформ, 2016. – 25 с.
5. К вопросу обоснования некоторых требований проекта технического регламента таможенного союза «о безопасности мяса птицы и продуктов его переработки» / И. В. Мокшанцева, С. С. Козак, И. Л. Стефанова [и др.] // Новое в технике и технологии переработки птицы и яиц : сборник научных трудов. – Ржавки, 2015. – С. 101–110.
6. Козак С. С. Актуальность совершенствования методов выявления *Staphylococcus aureus* в мясе птицы, субпродуктах и полуфабрикатах из мяса птицы / С. С. Козак // Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства : материалы международной научно-практической конференции. – Йошкар-Ола, 2024. – С. 253-256.
7. О нормативных документах, регулирующих убой и переработку животных в зарубежных странах / И. Серегин, А. Абдуллаева, Ю. Козак [и др.] // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2024. – № 3. – С. 20-27.
8. Подзорова Ю. А., Ветеринарно-санитарная оценка продуктов убоя кур-несушек с желточным перитонитом / Ю. А. Подзорова, С. С. Козак, И. Г. Серегин // Ветеринария. – №5. – 2016. – С. 59–61.
9. Проблемы производственного ветеринарно-санитарного контроля сырья и продукции на предприятиях мясной промышленности / И. Серегин, Ю. Козак, В. Семенов [и др.] // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2021. – № 9. – С. 64–72.
10. Пруссова, В. Н. Микробиологический мониторинг за пищевыми продуктами по обоснованию сроков годности и условий хранения / В. Н. Пруссова М. С. Кива, В. В. Клименко // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2013. – № 2-3(52). – С. 94-97.
11. Delbes C., Alomar J., Chougui N. et al. *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin production during the manufacture of uncooked, semihard cheese from cows' raw milk // J. Food Prot. 2006. 69. P. 2161-2167.
12. Kozak Yu., Kozak S., Seregin I. [et al] Microbiological indicators of poultry meat of forced slaughter // В книге: Перспективы развития аграрных наук AGROSCIENCE-2022. Материалы Международной научно-практической конференции. Чебоксары. 2022. С. 46.
13. Odetokun I.A., M. A. Adetona, R. O. Ade- Yusuf [et al] *Staphylococcus aureus* contamination of animal-derived foods in Nigeria: 2a systematic review, 2002–2022 // Food saf. and Risk 10, 6 (2023).
14. Thuraya A.M. Isolation of *Staphylococcus aureus* from some Semi Preserved Sudanese Food // Research Journal of Microbiology. 2014. V9. P. 246-250.

Сведения об авторе

Козак Сергей Степанович, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, руководитель ИЛЦ, «Всероссийский научно-исследовательский институт птицеперерабатывающей промышленности» – филиал ФГБНУ ФНЦ «ВНИТИП» РАН, 141552, г.о. Солнечногорск, р.п. Ржавки, стр. 1, Московская область, Россия; e-mail: viirpkozak@gmail.com, тел. +7-499-110-28-04.

ON THE USE OF NUTRIENT MEDIA FOR THE DETECTION OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IN POULTRY SLAUGHTER PRODUCTS

S. S. Kozak

*«All-Russian Scientific Research Institute of Poultry Processing Industry» – Branch of FSBSI FSC ARRTPI RAS
141552, Moscow region, Russian Federation*

Abstract. Currently in the Russian Federation the microbiological control of poultry meat, offal and semi-finished products from poultry meat is guided by GOST 54674-2011 when detecting *S. aureus*. There are a number of nutrient media on the Russian market that can increase the effectiveness of microbiological studies in the laboratory when detecting *S. aureus* in poultry slaughter products. So, to detect *S. aureus* according to GOST 31746, Giolitti-

Cantoni broth is used, according to GOST 22718 – agar with mannitol salt (MSA), however, these nutrient media are not presented in GOST 54674-2011. In this regard, this study is devoted to the study of the possibility of using Giolitti-Cantoni broth and MSA in the detection of S. aureus in poultry slaughter products. The obtained research results indicate the possibility of using Giolitti-Cantoni broth and MSA to isolate S. aureus in poultry meat, offal and semi-finished products from poultry meat. In comparative studies of S. aureus detection, all tested samples, both control and experimental, were correctly recognized using Giolitti-Cantoni broth and MSA with nutrient media used in accordance with GOST R 54674-2011 (salt broth, Baird-Parker agar). Visual consideration of the nature of crop growth after incubation using Giolitti-Cantoni broth and MSA presumably indicates the presence of S. aureus, which to a certain extent increases the effectiveness of laboratory studies. The inclusion of Giolitti-Cantoni broth and MSA in the new edition of GOST «Poultry meat, offal and semi-finished products from poultry meat. Methods for detecting Staphylococcus aureus» will allow for the choice and availability of nutrient media when conducting microbiological studies to detect S. aureus in poultry slaughter products.

Keywords: poultry slaughter products, mechanically deboned meat, S. aureus detection, nutrient media.

References

1. GOST 54674-2011 Myaso pticy, subprodukty i polufabrikaty iz myasa pticy. Metody vyyavleniya Staphylococcus aureus : utverzhden i vveden v dejstvie Prikazom Federal'nogo agentstva po tekhnicheskomu regulirovaniyu i metrologii ot 13 dekabrya 2011 g. No 832-st : data vvedeniya 2013-01-01. – Moskva : Standartinform, 2019. – 8 s.
2. GOST 31746-2012 Produkty pishchevye. Metody vyyavleniya i opredeleniya kolichestva koagulazopolozhitel'nykh stafilokokkov i Staphylococcus aureus : vveden v dejstvie v kachestve nacional'nogo standarta Rossijskoj Federacii s 1 iyulya 2013 g. Prikazom Federal'nogo agentstva po tekhnicheskomu regulirovaniyu i metrologii ot 29 noyabrya 2012 g. № 1773-st mezhgosudarstvennyj standart GOST 31746—2012 : data vvedeniya – 2013 – 07 – 01. – Moskva : Standartinform, 2013. – 24 s.
3. GOST ISO 22718-2018 Produktiya parfyumerno-kosmeticheskaya. Mikrobiologiya. Obnaruzhenie Staphylococcus aureus : prinyat Evrazijskim sovetom po standartizacii, metrologii i sertifikacii po rezul'tatam golosovaniya v AIS MGS (protokolom ot 27 iyulya 2018 g. № 110-P) : data vvedeniya 2021-01-01. – Moskva : Standartinform, 2020. – 14 s.
5. GOST 7702.2.0-2016. Produkty uboaya pticy, polufabrikaty iz myasa pticy i ob"ekty okruzhayushchej proizvodstvennoj sredy. Metody otbora prob i podgotovka k mikrobiologicheskim issledovaniyam : vveden v dejstvie v kachestve nacional'nogo standarta Rossijskoj Federacii s 1 yanvarya 2018 g. Prikazom Federal'nogo agentstva po tekhnicheskomu regulirovaniyu i metrologii ot 8 sentyabrya 2016 g. № 1091-st mezhgosudarstvennyj standart GOST 7702.2.0 – 2016 : data vvedeniya. 2018-01-01. – Moskva : Standartinform, 2016. – 25 s.
6. K voprosu obosnovaniya nekotorykh trebovanij proekta tekhnicheskogo reglamenta tamozhennogo soyuza «o bezopasnosti myasa pticy i produktov ego pererabotki» / I. V. Mokshanceva, S. S. Kozak, I. L. Stefanova [i dr.] // Novoe v tekhnike i tekhnologii pererabotki pticy i yaic : sbornik nauchnykh trudov. – Rzhavki, 2015. – S. 101–110.
7. Kozak S. S. Aktual'nost' sovershenstvovaniya metodov vyyavleniya Staphylococcus aureus v myase pticy, subproduktakh i polufabrikatakh iz myasa pticy / S. S. Kozak // Aktual'nye voprosy sovershenstvovaniya tekhnologii proizvodstva i pererabotki produkcii sel'skogo khozyajstva : materialy mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii. – Joshkar-Ola, 2024. – S. 253-256.
8. O normativnykh dokumentakh, reguliruyushchikh uboj i pererabotku zhivotnykh v zarubezhnykh stranakh / I. Seregin, A. Abdullaeva, YU. Kozak [i dr.] // Veterinariya sel'skokhozyajstvennykh zhivotnykh. – 2024. – № 3. – S. 20-27.
9. Podzorova YU. A., Veterinarno-sanitarnaya ocenka produktov uboaya kur-nesushek s zheltochnym peritonitom / YU. A. Podzorova, S. S. Kozak, I. G. Seregin // Veterinariya. – №5. – 2016. – S. 59–61.
10. Problemy proizvodstvennogo veterinarno-sanitarnogo kontrolya syr'ya i produkcii na predpriyatiyakh myasnoj promyshlennosti / I. Seregin, YU. Kozak, V. Semenov [i dr.] // Veterinariya sel'skokhozyajstvennykh zhivotnykh. – 2021. – № 9. – S. 64–72.
11. Prussova, V. N. Mikrobiologicheskij monitoring za pishchevymi produktami po obosnovaniyu srokov godnosti i uslovij khraneniya / V. N. Prussova M. S. Kiva, V. V. Klimenko // Zdorov'e. Medicinskaya ehkologiya. Nauka. – 2013. – № 2-3(52). – S. 94-97.
12. Delbes C., Alomar J., Chougui N. et al. Staphylococcus aureus growth and enterotoxin production during the manufacture of uncooked, semihard cheese from cows' raw milk // J. Food Prot. 2006. 69. P. 2161-2167.
13. Kozak Yu., Kozak S., Seregin I. [et al] Microbiological indicators of poultry meat of forced slaughter // В книге: Перспективы развития аграрных наук AGROSCIENCE-2022. Материалы Международной научно-практической конференции. Чебоксары. 2022. С. 46.
14. Odetokun I.A., M. A. Adetona, R. O. Ade- Yusuf [et al] Staphylococcus aureus contamination of animal-derived foods in Nigeria: 2a systematic review, 2002–2022 // Food saf. and Risk 10, 6 (2023).
15. Thuraya A.M. Isolation of Staphylococcus aureus from some Semi Preserved Sudanese Food // Research Journal of Microbiology. 2014. V9. P. 246-250.

Information about author

Kozak Sergey Stepanovich, Doctor of Biological Sciences, Chief Researcher, Head of the Research and Development Center, «All-Russian Scientific Research Institute of Poultry Processing Industry» – Branch of FSBSI FSC ARRTPI RAS, 141552, Solnechnogorsk, Rzhavki, 1, Moscow region, Russia; e-mail: viipkozak@gmail.com, tel. +7-499-110-28-04.