

with the basics of ranking antimicrobial drugs in veterinary laboratories / Makavchik S.A. // Veterinary. - 2022. - No. 2. - S. 9-12.

5. Makavchik, S.A. Bacterial diseases of cattle caused by multidrug-resistant microorganisms (diagnosis, treatment and prevention): abstract of dissertation.... Doctors of Veterinary Sciences: 06.02.02, 06. 02.03 / Makavchik Svetlana Anatolyevna - 2021 -39 p.

6. Makavchik, S.A. Etiological structure of causative agents of mastitis in cows and their sensitivity to antibacterial drugs in the North-West region / Makavchik S.A., Sukhinin A.A., Krotova A.L., Selivanova L.V., Prikhodko E. .AND. //Issues of legal regulation in veterinary medicine. - 2020. - No. 1. - S. 66-71.

7. Mironova A.V., Korshukova O.A. Virulence factors of enterococci // Health. Medical ecology. The science. 2015. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/factory-virulentnosti-enterokokkov-1> (date of access: 02/23/2023).

8. Smirnova L.I., Makavchik S.A. Clinical veterinary microbiology - St. Petersburg: publishing house VVM, 2022.p. 228.: ill.

9. Ruchko, E.N. Antibiotic resistance genes as a problem of the XXI century/ Ruchko EN, Pleshakova VI// In the collection: Fundamental and applied research in priority areas of bioecology and biotechnology. Collection of materials of the V All-Russian scientific-practical conference with international participation. Ch. editor E.I. Antonova. Cheboksary, 2022.- S. 90-93.

10. Manson JM, Keis S, Smith JM, Cook GM. Characterization

of a vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* (VREF) isolate from a dog with mastitis: further evidence of a clonal lineage of VREF in New Zealand. J Clin Microbiol. 2003 Jul;41(7):3331-3. doi: 10.1128/JCM.41.7.3331-3333.2003. PMID: 12843085; PMCID: PMC165302.

11. Pomba C, Couto N, Moodley A. Treatment of a lower urinary tract infection in a cat caused by a multi-drug methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* and *Enterococcus faecalis*. J Feline Med Surg. 2010 Oct;12(10):802-6. doi: 10.1016/j.jfms.2010.04.006. Epub 2010 Jul 6. PMID: 20609607.

12. Soheili S, Ghafourian S, Sekawi Z, Neela V, Sadeghifard N, Ramli R, Hamat RA. Wide distribution of virulence genes among *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* clinical isolates. ScientificWorldJournal. 2014;2014:623174. doi: 10.1155/2014/623174. Epub 2014 Jul 15. PMID: 25147855; PMCID: PMC4124215.

13. Song SJ, Lauber C, Costello EK, Lozupone CA, Humphrey G, Berg-Lyons D, Caporaso JG, Knights D, Clemente JC, Nakielnny S, Gordon JI, Fierer N, Knight R. Cohabiting family members share microbiota with one another and with their dogs. Elife. 2013 Apr 16;2:e00458. doi: 10.7554/eLife.00458. PMID: 23599893; PMCID: PMC3628085.

14. EUCAST. EUCAST Expert Rules for Antibiotic Susceptibility Testing. Available at: https://www.eucast.org/expert.org/expert_rules_and_intrinsic_resistance/

15. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). MIC distributions and ECOFFs <https://mic.eucast.org/search/>.

УДК 579.869:637.5.075

DOI: 10.52419/issn2782-6252.2023.2.49

***BROCHOTHRIX THERMOSPACTA* КАК МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ПОКАЗАТЕЛЬ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ СРОКОВ ГОДНОСТИ МЯСНОЙ ПРОДУКЦИИ**

Смирнова Любовь Ивановна, канд.ветеринар.наук, доцент

Рыжакова Анастасия Михайловна, студент

Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, Россия

РЕФЕРАТ

Микробная порча пищевых продуктов приводит к значительным потерям с негативными социальными и экономическими последствиями. Чтобы лучше контролировать загрязнение и микробиологическую порчу пищевых продуктов, введен в действие новый ГОСТ Р 70354-22. Мясо и мясные продукты. Общие требования и порядок проведения испытаний для обоснования сроков годности (дата издания 29.09.2022 г). Большое значение придаётся выявлению и определению количества дополнительного микробиологического показателя *Brochothrix thermosphacta* в мясе, мясных и мясосодержащих продуктах, упакованных с применением вакуума или модифицированной газовой атмосферы. *Brochothrix sp.* может стать доминирующим видом порчи мяса в упаковке с МГА и вакуумной упаковке при наличии достаточного количества кислорода. *Brochothrix* вызывает ослизнение и появление липкости поверхности мяса, неприятные запахи. В ГОСТ Р 70354-22 изложен метод выявления и подсчёта количества бактерий *Brochothrix sp.* Для их культивирования предложена плотная селективная среда СТАА, позволяющая выделить, идентифицировать и определить количество *Brochothrix sp.* в пробах. Была испытана методика, изложенная в ГОСТ Р 70354-2022. Проведена дифференциация бактерий рода *Brochothrix* от сходных по культуральным свойствам бактерий рода *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Lactobacterium*, предложены тесты для дифференциации.

Ключевые слова: ГОСТ Р 70354-2022, *Brochothrix thermosphacta*, микробиологическая порча; мясо; мясо птицы; микроорганизм; качество.

ВВЕДЕНИЕ

С 01.01.2023 г введен в действие новый ГОСТ Р 70354-2022. Мясо и мясные продукты. Общие требования и порядок проведения испытаний для обоснования сроков годности (дата издания 29.09.2022 г)[1]. В соответствии с программой испытаний, регламентированной в ГОСТ Р 70354

-2022, при обосновании сроков годности мяса и мясных продуктов контролируют микробиологические, органолептические, физико-химические показатели и показатели пищевой ценности. При контроле микробиологических показателей определяют микробиологические критерии безопасности, а также дополнительные микробиологические

ские показатели, приведенные в данном ГОСТ в таблице 2. В этой таблице для охлажденного мяса, в том числе предназначенного для детского питания, полуфабрикатов мясных и мясосодержащих и других мясных продуктов, упакованных с применением вакуума или модифицированной газовой атмосферы, установлены дополнительные допустимые уровни микробиологических показателей. Это количество молочнокислых микроорганизмов (МКБ), дрожжей, плесеней, бактерий рода *Pseudomonas*, а также бактерий рода *Brochothrix*, допустимый уровень которых не должен превышать 1×10^4 КОЕ/г.

Brochothrix thermosphacta - это грамположительный, неподвижный, факультативно анаэробный палочковидный прокариотический микроорганизм, в мазке брохотриксы располагаются одиночно, беспорядочно, а также в виде коротких или длинных нитевидных цепочек[1].

При классификации изначально брохотриксы включали в род *Microbacterium*, затем их отнесли к семейству Lactobacillaceae, в настоящее время *Brochothrix* вместе с *Listeria* включены в семейство Listeriaceae. Род *Brochothrix* включает только два известных вида, *B. thermosphacta* и менее известный вид *B. campestris*.

Brochothrix thermosphacta является одним из наиболее распространенных микроорганизмов, вызывающих порчу свежего и вяленого мяса, рыбы и рыбопродуктов. Он устойчив к условиям с высоким содержанием соли и низким pH, способен расти при температурах охлаждения мяса и при этом образует органолептически неприятные соединения, резко снижающие потребительскую ценность мясной продукции. *Brochothrix* может стать доминирующим видом порчи мяса в модифицированной атмосферной упаковке и вакуумной упаковке при наличии достаточного количества кислорода. Хотя при аэробной микробиологической порче в качестве возбудителей преобладают психрофильные псевдомонады, *B. thermosphacta* также может играть важную роль в сокращении срока годности мяса, хранящегося в упаковке с модифицированной газовой атмосферой, особенно при использовании бактериостатических агентов, таких как сульфиты[2].

Brochothrix thermosphacta не является патогенным, однако он признан экономически важным микроорганизмом, вызывающим порчу мяса. Важно то, что он растёт в самых разных видах мяса и мясных продуктах и производит конечные продукты метаболизма с неприятным запахом и слизью, которые делают поражённое мясо невкусным[3]. При росте и размножении *Brochothrix thermosphacta* использует глюкозу и глутамат, при этом не происходит гниения, но образующиеся метаболиты обладают крайне неприятным сырным, кислым, молочным, потным и маслянокислым запахом[2].

В Приложении «В» к ГОСТ изложен метод выявления и подсчёта количества бактерий *Brochothrix sp.* Для их культивирования предложена плотная селективная среда «Стрептомицинталлия ацетат агар (СТАА)» В этой среде должен содержаться глицерин, дрожжевой экстракт, пеп-

тон, сернокислый магний, а также сульфат стрептомицина и токсичный ацетат таллия. После количественного посева на поверхность этой среды в чашках Петри производят культивирование 48 часов в термостате при температуре от 22 до 25°C[4].

Цель работы: Провести микробиологическое исследование для выявления, идентификации и количественного учёта бактерий *Brochothrix sp.* согласно требованиям ГОСТ Р 70354-2022, используя пробы мяса говядины, а также птицепродуктов, выявить дополнительные критерии дифференциации *Brochothrix thermosphacta* от сходных по культурально-биохимическим свойствам микроорганизмов

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Была изучена документальная база, научная литература, в торговой сети были приобретены пробы мяса: филе говядины, охлажденного крупнокускового и филе индейки в упаковке с модифицированной газовой атмосферой, из которых произвели первичный посев для выявления *Brochothrix* на среду СТАА. Среда СТАА - селективна за счёт содержания сульфата стрептомицина и ацетата таллия.

Посев проб проводили после приобретения и хранения в течение 7 суток в условиях бытового холодильника по изложенной в ГОСТ методике [1]. От профламбированных проб вырезали образцы (10 г), гомогенизировали и далее готовили их методом десятикратных разведений до 1:1000000. Затем произвели посев на СТАА. Чашки со средой инкубировали при 25°C в течение трех дней в закрытом пластиковом пакете, затем просматривали и оценивали рост бактерий качественно и количественно. Для подтверждения принадлежности к виду *Brochothrix thermosphacta* выбирали 5 колоний в каждом посеве, визуально и при пятикратном увеличении под лупой изучали их культуральные свойства, в том числе величину, цвет, характер края и поверхности, профиль и структуру колоний, проводили тесты на оксидазу и каталазу, КОН-тест, а также исследовали морфологию и тинкториальные свойства бактерий.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам культивирования первичных посевов десятичных разведений проб мяса говядины и индейки мы наблюдали рост на поверхности специальной среды одновременно колоний различных видов бактерий, в том числе небольшого количества характерных мелких, круглых, блестящих, серо-белых колоний брохотрикса. В ГОСТ Р 70354-2022 указано, что количество брохотриксов в пробе мяса охлажденного крупнокускового не должно превышать $1 \cdot 10^4$ КОЕ/г. По результатам исследования в пробах говядины и индейки количество брохотриксов не превышало эту величину.

Результаты дифференциальной диагностики бактерий представлены в таблице 1.

Исследуемые бактерии были оксидазоотрицательны и каталазоположительны. В мазках, окрашенных по Граму, наблюдали тонкие, длинные грамположительные палочки, располагающиеся небольшими угловатыми цепочками, а также одиночно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таблица 1.

Дифференциация бактерий, образовавших колонии на среде СТАА

Род	Характеристика колоний	Морфология	КОН-тест	Тест на оксидазу	Тест на каталазу
<i>Brochothrix thermosphacta</i>	Мелкие, выпуклые, блестящие, с ровным краем, серовато-белые и бежевые	Тонкие, длинные, полиморфные палочки. Располагаются «угловатыми» цепочками	Гр+	–	+
<i>Lactobacterium sp.</i>	Мелкие и средние, плоско-приподнятые, с ровным краем, полупрозрачные, серо-белые	Мелкие палочки, расположенные одиночно, беспорядочно и небольшими цепочками	Гр+	–	–
<i>Pseudomonas sp.</i>	Средней величины, плоские, плёнчатые и складчатые, полупрозрачные, серо-белые	Мелкие палочки, располагаются одиночно, беспорядочно	Гр–	+	+
<i>Acinetobacter</i>	Мелкие и средние, белые, блестящие, с ровным краем, плоские	Кокковидные палочки, располагаются одиночно и попарно	Гр–	–	+

Микробиологический показатель *Brochothrix thermosphacta* определяемый при помощи методики, описанной в ГОСТ Р 70354-2022, является одним из показателей качества и свежести мяса и мясных продуктов. Данная методика позволяет выделить брохотрикс также и в мясе птицы, что не указано в ГОСТ. Также мы выяснили, что при выявлении и подсчёте на среде СТАА *Brochothrix thermosphacta* необходимо дифференцировать от психрофильных *Pseudomonas sp.*, молочнокислых бактерий и других микроорганизмов, которые также растут на данной среде. Также стоит отметить, что выявление брохотрикса в мясе птицы открывает новые возможности для предотвращения экономического ущерба в птицеперерабатывающей промышленности и может быть рекомендовано в качестве показателя для установления реальных сроков годности птице-

продуктов, упакованных в МГА.

ЛИТЕРАТУРА

1. ГОСТ Р 70354-2022. Мясо и мясные продукты. Общие требования и порядок проведения испытаний для обоснования сроков годности: утвержден и введен в действие: Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 15 сентября 2022г. № 938-ст: дата введения 2023-01-01.
2. Микробиологическая порча пищевых продуктов / К. де В. Блекберн (ред.).- Пер. с англ. – СПб.: Профессия, 2008. – с. 275-276
3. Gerhard Feiner, in Meat Products Handbook, 2006, p.607-608
4. Смирнова Л.И. Микробиологическая безопасность объектов внешней среды и пищевых продуктов: Учебное пособие / Л.И.Смирнова, А.А.Сухинин, Е.И. Приходько. – СПб: 2013.- С.298

BROCHOTHRIX THERMOSPFACTA AS A MICROBIOLOGICAL INDICATOR IN DETERMINING THE EXPIRATION DATE OF MEAT PRODUCTS

Lubov I. Smirnova, PhD of Veterinary Sciences, Docent

Anastasia M. Ruzhakova, student

Saint-Petersburg State University of Veterinary Medicine, Russia

Microbial spoilage of food products leads to significant losses with negative social and economic consequences. In order to better control contamination and microbiological spoilage of food products, a new GOST P 70354-22 has been introduced. Meat and meat products. General requirements and procedure for testing to justify expiration dates (publication date 09/29/2022). Great importance is attached to the identification and quantification of the additional microbiological indicator *Brochothrix thermosphacta* in meat, meat and meat-containing products packed using vacuum or modified gas atmosphere. *Brochothrix sp.* may become the dominant type of meat spoilage in MHA packaging and vacuum packed in the presence of sufficient oxygen. *Brochothrix* causes mucus and stickiness of the meat surface, unpleasant odors. *Brochothrix* also causes mucus and stickiness on the meat surface. GOST P 70354-22 describes a method for detecting and counting the number of bacteria *Brochothrix sp.* For their cultivation, a dense selective medium STAA was proposed. It allows you to isolate, identify and determine the amount of *Brochothrix* in samples. The technique described in GOST P 70354-2022 was tested. According to the results of cultivating primary crops, we observed the growth of characteristic small, round, shiny, gray-white colonies of *Brochothrix* on the surface of a special medium. The studied bacteria were oxidase-negative and catalase-positive.

Key words: STATE STANDARD R 70354-2022, *Brochothrix thermosphacta*, microbiological spoilage; meat; poultry meat; microorganism; quality.

REFERENCES

1. GOST R 70354-2022. Meat and meat products. General requirements and procedure for testing to justify expiration dates: approved and put into effect: Order of the Federal Agency for Technical Regulation and Metrology dated September 15, 2022. No. 938-st: introduction date 2023-01-01.
2. Microbiological spoilage of food products / K. de V.

- Blackburn (ed.). - Per. from English. - St. Petersburg: Profession, 2008. - p. 275-276
3. Gerhard Feiner, in Meat Products Handbook, 2006, p.607-608
4. Smirnova L.I. Microbiological safety of environmental objects and foodstuffs: Textbook / L.I. Smirnova, A.A. Sukhinin, E.I. Prikhodko. - St. Petersburg: 2013.- P.298