

Автореферат
Д 40

Безопасность

Одесский технологический институт пищевой промышленности
им. М.В.Ломоносова

На правах рукописи
Для служебного пользования
Экземпляр № 00092

Джалилова Разият Салаутдиновна

УДК 664.004.12:576.8.093.1

Совершенствование микробиологического контроля
консервированных и других пищевых продуктов на
наличие бациллы цереус

Специальности: 05.18.13 - технология консервированных
пищевых продуктов
03.00.07 - микробиология

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание учёной степени
кандидата технических наук

Одесса - 1987

ДСП. Вх. №	2
Осн.	л. 1
25	02
	87 г.

Работа выполнена в Одесском технологическом институте
пищевой промышленности им.М.В.Ломоносова,
научно-исследовательском институте по производству
питательных сред МЗ СССР /г.Махачкала/

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
КИРИЛЕНКО О.А.

Официальные оппоненты: доктор технических наук, профессор
КУДРЯШЕВА А.А.
кандидат биологических наук
ФЛУЕР Ф.С.

Ведущая организация - Всесоюзный научно-исследовательский
институт консервной и овощесушильной
промышленности /г.Видное, Моск. обл./

Защита состоится " 18 " апреля 1987 г. в 14⁰⁰ часов
на заседании специализированного совета Д 068.35.01 при
Одесском технологическом институте пищевой промышленности
им. М.В.Ломоносова, 270039, г.Одесса, ул.Свердлова, 112

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Одесского
технологического института пищевой промышленности
им. М.В.Ломоносова

Автореферат разослан " 12 " марта 1987 г.

Учёный секретарь
специализированного совета

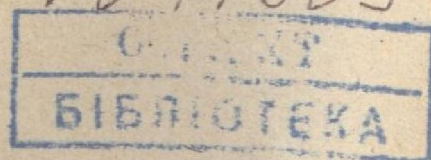
к.т.н., доцент

Е.Г.Кротов

ОНАХТ 29.09.10
Совершенствование ми



v017809



ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В материалах XXVII съезда КПСС, наряду с увеличением объёма производства продуктов питания, поставлена задача выпуска продукции высокого качества.

В связи с этим, актуальными являются исследования, посвящённые совершенствованию микробиологического контроля как основы повышения качества консервированных продуктов, пищевых концентратов и других пищевых продуктов промышленного производства, выпуск которых с каждым годом увеличивается.

В состав остаточной микрофлоры консервов, пищевых концентратов, сухих детских молочных смесей и ряда других пищевых продуктов входит спорообразующий микроорганизм *бацилла цереус* /Кириленко О.А., Егорова З.Е., 1981 ; Герасименко Л.Н. с соавт., 1982 ; Херсум А.С., Халланд Е.Д., 1983 ; Свруцкая И.Я. с соавт., 1984 ; Becker H.A. et al., 1984 и др./.

Одновременно имеются сообщения о вспышках пищевых отравлений, возникших от употребления продуктов, обсеменённых данным микроорганизмом /Пивоваров Ю.П., Сидоренко Г.И., 1970 ; Каткова И.Ф., 1973 ; Савченко Р.Д., 1974 ; Portnoy B.L. et al., 1976 ; Giannelis R.A., Brasile L., 1979 и др./, что говорит о потенциальной патогенности *бациллы цереус*.

При микробиологическом контроле консервированных продуктов на наличие *бациллы цереус* используют желточный агар с трифенилтетразолиум-хлоридом /ГОСТ 10444.10-75/. Для исследования пищевых продуктов и патологического материала рекомендован солевой полимиксиновый агар Ю.П. Пивоварова /Методические указания ИОС-5476, М.-1971/, а также ряд питательных сред, разработанных зарубежными авторами /Допован К.О., 1958 ; Никодемус И., 1963 ; Mosse I D.A.A. et al., 1967 ; фирма "Оксид", 1982/. Однако указанные среды нестандартны, трудоёмки в приготовлении, готовятся в лабораторных условиях с использованием дорогостоящего пищевого сырья, требуют добавления перед применением желточной эмульсии и других компонентов, имеют длительный срок выявления *бациллы цереус* и недостаточно селективны.

Следовательно, разработка рецептуры стандартных сухих питательных сред и использование их при микробиологическом контроле консервированных и других пищевых продуктов на наличие *бациллы цереус*, являются актуальными в теоретическом и практическом плане.

Цель и задачи исследования. Цель работы - совершенствование микробиологического контроля консервированных и других пищевых продуктов на наличие бациллы цереус.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

разработать рецептуру и технологию промышленного изготовления сухих питательных сред для выделения и идентификации бациллы цереус из консервированных и других пищевых продуктов;

провести комплекс биологических испытаний разработанных сред и изучить влияние состава их на основные морфологические, культуральные, биохимические, антигенные свойства и патогенность бациллы цереус;

экспериментально изучить эффективность выявления бациллы цереус на предложенных средах при посеве консервов, пищевых концентратов и других пищевых продуктов;

испытать качество сред в специализированных ведущих учреждениях консервной, пищевой и медицинской промышленности.

Научная новизна работы. Научно обоснован состав и разработаны сухие питательные среды для выделения бациллы цереус, которые отличаются простотой применения и не требуют добавления перед употреблением желточной эмульсии и других компонентов.

Разработана технология промышленного изготовления сред, существенным моментом которой является получение сухой питательной лецитинсодержащей основы сушкой в "псевдокипящем" слое.

Доказано, что при длительном культивировании на разработанных средах бацилла цереус сохраняет основные биологические свойства - морфологические, культуральные, биохимические, антигенные и патогенность.

Важным научным достижением является совершенствование микробиологического контроля продуктов питания, так как посев их на разработанный селективный агар позволяет на 18% повысить высеваемость и на 24 часа сократить срок выявления бациллы цереус.

Новая питательная среда для выделения бациллы цереус из пищевых продуктов и патологического материала /селективный агар/ признана изобретением - получено положительное решение ВНИИПЭ от 29.10.1985 г. о выдаче авторского свидетельства по заявке 3834488/28-14/003869.

Перечисленные положения выдвигаются на защиту.

Практическая ценность. На предложенные среды разработаны "Инструкция по изготовлению и контролю питательной среды для выделения бациллы цереус из консервированных продуктов /лецитин-агар/, сухой" и "Инструкция по изготовлению и контролю питательной среды для выделения бациллы цереус из пищевых продуктов и патологического материала /селективный агар/, сухой".

Получены экспериментально-производственные серии лецитин-агара и селективного агара на предприятии НИИ по производству питательных сред МЗ СССР /г.Махачкала/.

Среды успешно апробированы в ведущих специализированных учреждениях консервной и овощесушильной промышленности - Всесоюзном научно-исследовательском институте консервной и овощесушильной промышленности /г.Видное, Моск.обл./, Всесоюзном научно-исследовательском проектно-конструкторском институте "Консервпромкомплекс" /г.Одесса/, на кафедре сангигиены 2-го Московского ордена Ленина Государственного медицинского института им.Н.И.Пирогова.

Согласно отзывов научных учреждений, среды обладают высокой чувствительностью, селективностью и обеспечивают выявление бациллы цереус через 16-20 часов.

Разработанные среды просты в применении, не требуют добавления желточной эмульсии и других компонентов, что будет способствовать совершенствованию микробиологических исследований в практических лабораториях консервных, пищеконцентратных заводов, санэпидстанций, научно-исследовательских институтов микробиологического профиля и кафедр микробиологии и сангигиены учебных вузов.

Результаты диссертационных исследований с июня 1985 года используются в лаборатории микробиологии ВНИИПК "Консервпромкомплекс" и на кафедре биохимии и микробиологии ОТИП им.М.В.Ломоносова при анализе консервированных продуктов и пищевых концентратов на наличие бациллы цереус.

Промышленный выпуск лецитин-агара и селективного агара планируется на предприятии НИИ по производству питательных сред МЗ СССР /г.Махачкала/ в 1988-1989 гг.

Апробация работы. Основные положения диссертации докладывались и обсуждались на заседаниях Ученого совета НИИ по производству питательных сред МЗ СССР /г.Махачкала/, на заседаниях кафедры биохимии и микробиологии ОТИП им.М.В.Ломоносова, на институтских и межинститутских научных конференциях молодых ученых и спе-

циалистов Дагестана /г.Махачкала, 1982, 1984, 1985, 1986 гг./, на республиканской научной конференции "Актуальные вопросы этиологии, патогенеза, диагностики, эпидемиологии и профилактики вирусных инфекций" /г.Одесса, 29-30 мая 1986 г./.

Публикации. Результаты научных исследований нашли отражение в 4 публикациях, в том числе, получено I положительное решение ВНИИГПЭ о выдаче авторского свидетельства.

Структура и объём диссертации. Работа изложена на 135 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания методов исследования, изложения результатов исследования, их обсуждения и выводов. В тексте диссертации приведено 20 таблиц, 5 фотографий. В списке использованной литературы 95 работ отечественных авторов и 99 зарубежных источников. Имеется 5 приложений.

Мы искренне благодарны зав.лабораторией биохимии НИИ по производству питательных сред МЗ СССР /г.Махачкала/ к.б.н. Султанову Заману Зубаировичу за постоянную консультативную помощь в период выполнения данной диссертационной работы.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и методы исследования. В качестве белковой основы разрабатываемых сред испытывали: пептон ферментативный производства Семипалатинского мясокомбината /ГОСТ 13805-82/, панкреатический гидролизат казеина /Регламент производства № 323-84/, кислотный гидролизат казеина /ТУ 42.14.108-7/, панкреатический гидролизат "Белкозина" /ОСТ 49207-84/, питательный агар рыбный и питательный агар кормовых дрожжей /ТУ 42.14.206-81/, экстракт кормовых дрожжей агаризованный /Изменения № I к Регламенту производства агара с эозин-метиленовым синим, сухого № 93-77/.

В качестве субстрата для выявления целитиназной активности бациллы цереус использовали α - α -лецитин /ТУ 6-09-10-28/ и яичное масло /ТУ 6-09-4610-78/.

Для подавления роста микроорганизмов-ассоциантов испытывали поверхностно-активные вещества - амфолан, ниртан, сульфанола, цетилпиридиний-хлорид; красители - бриллиантовый зелёный, малахитовый зелёный; неорганические и органические соли - таллий уксуснокислый, литий хлористый, калий теллурозокислый, натрий хлорис-

тый, литий сернокислый ; химиотерапевтические препараты - "Невиграмон", "5-НОК".

Для оценки качества сред использовали 49 музейных и свежесыведенных штаммов бациллы цереус. Проверку дифференцирующих и ингибирующих свойств разработанных сред осуществляли при помощи 57 штаммов грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов-ассоциантов бациллы цереус в пищевых продуктах и патологическом материале.

Физико-химические и биологические показатели сред определяли в соответствии с утверждёнными МЗ СССР "Сборником инструкций по общим методам контроля стерильности, физико-химических свойств, пирогенности, на отсутствие контаминирующих агентов и токсичности медицинских иммуно-биологических препаратов" /М.-1983/ и "Методическими рекомендациями к контролю питательных сред по биологическим показателям" /М.-1980/.

Электронно-микроскопические исследования выполнены в Дагестанском научно-исследовательском ветеринарном институте /г.Махачкала/. Изучение препаратов проводили при использовании электронного микроскопа JEM-100Б.

Изучение основных биологических свойств бациллы цереус - лецитиназной активности по реакции с лецитовителлином, гемолитической активности по реакции гемолиза эритроцитов барана, токсигенности по реакции преципитации в агаре по Оухтерлони и накопление летальной фракции токсина введением культуральной жидкости, содержащей энтеротоксин бациллы цереус, в хвостовую вену белым беспородным мышам - проводили в НИИ эпидемиологии и микробиологии им.Н.Ф.Гамалеи АМН СССР /г.Москва/.

Для изучения эффективности выявления бациллы цереус на разработанных средах исследовали: стерильные доброкачественные консервы промышленного изготовления /5 наименований/, сухие детские молочные смеси /6 наименований/, сухие пищевые концентраты первых обеденных блюд /5 наименований/, готовые блюда /6 наименований/. В качестве патологического материала исследовали фекалии человека.

В соответствии с "Методическими указаниями к проведению испытаний диагностических питательных сред" консервированные продукты и готовые блюда искусственно инфицировали монокультурой бациллы цереус и культурой бациллы цереус в смеси с ассоци-

антами - кишечной палочкой, золотистым стафилококком, бациллой субтилис, бациллой полимикса.

В качестве контрольных сред использовали желточный агар с ТТХ и солевой полимиксиновый агар Ю.П.Пивоварова.

Полученные результаты обрабатывали статистически /И.П.Ашмарин, А.А.Боробьев, 1962/.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработка рецептуры и технологии промышленного изготовления сухих питательных сред для бациллы цереус. Анализ обзора литературы показал, что необходимо разработать две среды - питательную среду для выделения бациллы цереус из консервированных пищевых продуктов, в которых бацилла цереус может быть в виде монокультуры и селективную среду для выделения бациллы цереус из пищевых продуктов и патологического материала, в которых рост ассоциативной микрофлоры должен быть подавлен, либо точно дифференцирован от роста бациллы цереус.

Учитывая гетеротрофный тип питания бациллы цереус, необходимо было изучить различные белковые основы и дифференцировать оптимальную для бациллы цереус. При изучении источников белкового сырья мы руководствовались требованиями Продовольственной программы СССР и Приказа МЗ СССР "Об усилении экономии и рационального использования сырьевых и топливно-энергетических ресурсов, улучшения сбора и использования вторичного сырья".

Были испытаны основные белковые основы, используемые в настоящее время при получении сухих питательных сред. Прежде всего было определено, что содержание аминного азота 60 ± 10 мг/гг является оптимальным для обеспечения типичного роста бациллы цереус. В результате проведенных экспериментов установлено, что наиболее высокой чувствительностью - 10^{-6} обладали: пептон ферментативный, панкреатический гидролизат казеина, питательный агар рыбный и питательный агар кормовых дрожжей. На этих основах все испытанные тест-штаммы бациллы цереус через 16-18 часов инкубации при 30°C образовывали типичные колонии диаметром 2,0...2,8 мм. Учитывая дефицитность некоторых из этих основ, а также в связи с тем, что они приготовлены из пищевого сырья, мы остановили свой выбор на питательном агаре кормовых дрожжей, который из-

готовляется из доступного непищевого белкового сырья.

Известно, что среди остаточной микрофлоры консервированных продуктов чаще всего встречаются представители рода *Bacillus*, таксономическим признаком для классификации которых служит наличие лецитиназы-С /фосфолипазы/. Поэтому, для выявления бациллы цереус и её дифференциации от других видов бацилл, достаточно содержание в питательной среде только компонентов для проявления специфического диагностического признака бациллы цереус-лецитиназной активности. Продукция фермента лецитиназы исследуется в настоящее время на средах с добавлением желточной эмульсии. Использовать её в составе сухих питательных сред не представляется возможным, так как при приготовлении сред желточная эмульсия теряет свои специфические свойства. Мы выбрали для этой цели стандартные лецитинсодержащие компоненты, выпускаемые отечественной промышленностью - \mathcal{L} - \mathcal{L} - лецитин /в дальнейшем - лецитин/ и яичное масло. В доступной литературе мы не обнаружили сведений об использовании этих веществ в составе сухих питательных сред для определения лецитиназы бациллы цереус. Нами установлено, что лецитин и яичное масло при приготовлении питательной среды /кипячении, автоклавировании/ не разрушаются и обеспечивают образование зон лецитиназной активности вокруг колоний бациллы цереус. При этом показано, что указанные лецитинсодержащие субстраты при массовой доле 0,1 % обеспечивают образование наиболее чётких зон коагулята, не уступающих по скорости образования /16 часов/ и размерам /6...8 мм/ зонам на контрольном желточном агаре. Для получения контрастной окраски щелочных продуктов распада лецитина в состав конструируемой среды введён индикатор бромтимоловый синий при массовой доле 0,004 %.

Разработанная рецептура, включающая в себя питательный агар кормовых дрожжей, лецитин или яичное масло и индикатор бромтимоловый синий представляет собой среду, аналогичную по принципам составления рецептуры желточному агару с ТТХ, предназначенному для выявления бациллы цереус из консервированных продуктов.

Для выделения бациллы цереус из нестерильных продуктов, содержащих смешанную микрофлору, необходимо было разработать селективную среду, которая, с одной стороны, подавляла бы рост микроорганизмов-ассоциантов, а с другой, способствовала росту бациллы цереус. При конструировании этой среды за основу был взят опыт-

ный образец среды, разработанный нами для выделения бациллы цереус из консервированных продуктов.

Для подавления роста микроорганизмов-ассоциантов мы испытывали разнообразные соединения, традиционно используемые в составе селективных питательных сред для ряда микроорганизмов: поверхностно-активные вещества, химиотерапевтические препараты, красители, органические и неорганические соли. Установлено, что из всех испытанных ингибиторов выраженными селективными свойствами в отношении грамотрицательных микроорганизмов обладает литий серноокислый. При массовой доле 0,5 % эта соль подавляет рост кишечной палочки, сальмонелл, шигелл, синегнойной палочки не оказывая при этом существенного влияния на рост и образование зон лецитиназной активности бациллы цереус. Для подавления роста грамположительных ассоциантов, среди которых основным является золотистый стафилококк, в состав конструируемой селективной среды введён натрий лимоннокислый, который используется с аналогичной целью в составе ряда питательных сред, в частности, в среде Donovan для бациллы цереус. Введение натрия лимоннокислого не оказывает влияния на ростовые свойства конструируемой среды и проявление бациллой цереус лецитиназной активности. В состав этой среды введён также многоатомный спирт маннит, отсутствие ферментации которого является одним из основных дифференциальных признаков бациллы цереус от других маннитферментирующих бацилл.

Результатом осуществлённых исследований явилась разработка рациональной рецептуры селективной питательной среды для выделения бациллы цереус из продуктов питания и патологического материала.

При разработке технологии промышленного изготовления разработанных сред мы приняли во внимание тот факт, что лецитин и яичное масло представляют собой жидкости и не могут быть использованы как другие сухие компоненты на технологической операции смешивания, являющейся заключительным этапом технологического процесса получения сухих питательных сред.

Наиболее рациональным было введение лецитинсодержащих субстратов в гидролизат кормовых дрожжей на этапе приготовления белковой питательной основы. Для того, чтобы исключить дополнительное тепловое воздействие и потери при выпаривании, лецитин и

личное масло вводили непосредственно в концентрированный гидролизат. Внесение лецитина /яичного масла/ осуществляли в соответствии с экспериментальными данными, полученными при подборе оптимальной концентрации лецитинсодержащего субстрата: массовая доля 0,1 % лецитина /яичного масла/ на 50...60 мг/гг аминного азота гидролизата.

Сушку лецитинсодержащей основы проводили двумя способами - распылением и в "псевдокипящем" слое. Сушку распылением проводили на распылительной сушилке РЛС-2 при следующих параметрах: температура смеси 75...80 °С, температура на входе в сушилку 120...140 °С, температура на выходе - 95...110 °С, скорость подачи 2 л.ч⁻¹.

При получении сухой агаризованной лецитинсодержащей питательной основы сушкой в "псевдокипящем" слое к смеси концентрированного /до содержания 55...60 г/гг сухих веществ/ гидролизата с лецитином /яичным маслом/ добавляли порошковидный агар в количестве 45-50 % по отношению к сухим веществам гидролизата. Смесь гранулировали /размер гранул 5 мм/ и высушивали на сушилке СП-100 при температуре сушильного агента /горячего воздуха/ 70...75 °С при скорости воздушного потока 3,5 м.сек⁻¹ в течение 40...60 минут. Высушенный гранулят размалывали в шаровой мельнице до мелкодисперсного порошка с размером частиц $0,25 \pm 0,5$ мм.

Биологический контроль качества сухих лецитинсодержащих основ показал, что в процессе сушки лецитин и яичное масло не теряют своих специфических свойств и обеспечивают образование зон лецитиназной активности. Однако, при экспериментальном хранении в течение 1 года отмечена повышенная гигроскопичность лецитинсодержащей основы, высушенной распылением, что приводит к ухудшению её качества. Учитывая это, а также то, что сушка в "псевдокипящем" слое является более экономичной, при получении экспериментально-производственных серий лецитинсодержащей питательной основы использовали способ сушки в "псевдокипящем" слое.

Конечный этап технологического процесса получения разработанных сухих сред для бациллы цереус заключается в смешивании сухой питательной лецитинсодержащей основы с остальными компонентами, взятыми в строго определённых соотношениях.

Состав разработанных сухих сред приведен в таблице I.

Состав разработанных сухих сред для бациллы цереус

Наименование ингредиента.	В % к общему весу сухой среды		В г/л среды	
	лецитин- агар	селектив- ный агар	лецитин- агар	селектив- ный агар
Панкреатический гидро- лизат кормовых дрожжей	50,8	22,5	14,0	9,0
Лецитин или яичное масло	3,63	2,5	1,0	1,0
Натрий хлористый	9,07	12,5	2,5	5,0
Натрий лимоннокислый	-	12,5	-	5,0
Литий сернокислый	-	12,5	-	5,0
Маннит	-	12,5	-	5,0
Еромтимоловый синий	0,14	0,1	0,04	0,04
Агар порошковидный	36,31	25,0	10,00	10,00

По описанной технологии получены по три экспериментально-производственные серии лецитин-агара и селективного агара на предприятии НИИ по производству питательных сред МЗ СССР /г. Махачкала/.

Применение сред сводится к следующему: рабочую навеску препаратов /28 грамм лецитин-агара или 40 грамм селективного агара/ растворяют в 1000 мл холодной дистиллированной воды, нагревают до кипения и кипятят в течение 2-3 минут. После охлаждения до 50...60 °С агар разливают в стерильные чашки Петри по 20...25 мл. Цвет готовых сред в чашках Петри - салатный. рН сред 7,3 ± 0,1.

Контроль качества разработанных сред по биологическим показателям показал, что по скорости роста и чувствительности лецитин-агар и желточный агар с ТТХ идентичны. Скорость роста бациллы цереус на обеих средах составляет 16 часов, чувствительность 10^{-6} /10 микробных клеток/. Дифференцирующие свойства лецитин-агара основаны на способности бациллы цереус расщеплять лецитин под действием лецитиназы и образовывать зоны коагулята вокруг колоний в отличие от ассоциантов, не обладающих этим признаком.

Разработанный селективный агар обладает в сравнении с контрольной средой - солевым полимиксиновым агаром К.П.Пивоварова более высокой чувствительностью 10^{-6} против 10^{-5} / и высокой скоростью роста бациллы цереус /18-20 часов против 48 часов на контрольной среде/. Преимуществом селективного агара является также то, что на нём подавляется рост не только грамотрицательных ассоциантов, как на контрольной среде, но и грамположительных, в частности, золотистого стафилококка и бациллы субтилис.

Одним из главных показателей, характеризующих качество сухих питательных сред, является показатель стабильности основных биологических свойств культивируемого микроорганизма. Наиболее существенными и стабильными признаками микроорганизмов являются выделение специфических ферментов, токсинов, антигенные свойства. Поэтому для глубокого изучения влияния состава разработанных сред на свойства бациллы цереус лецитиназная, гемолитическая активность и токсичность продуктов жизнедеятельности бациллы цереус.

Данные этих исследований показали, что все изученные тест-штаммы бациллы цереус /8 штаммов/ после культивирования на разработанных средах обладали лецитиназной активностью и способностью вызывать гемолиз эритроцитов барана в той же степени, что и после культивирования на мясо-пептонном агаре. Изученные штаммы бациллы цереус сохраняли токсигенность и вызывали гибель всех взятых в опыт мышей через 10...15 минут после инъекции, либо вызывали изменение в общем состоянии и поведении их. При изучении антигенного состава и серологической специфичности продуктов жизнедеятельности бациллы цереус установлено, что две изученные культуры выделяли специфический энтеротоксин, дающий положительную реакцию преципитации с антителами к энтеротоксину бациллы цереус и, вместе с тем, все они образовывали лецитиназу. Это подтверждает ранее полученные другими авторами данные о неидентичности энтеротоксина и фосфолипазы-С бациллы цереус /Флуер Ф.С., 1970 ; Кириленко О.А., Егорова З.Е., Флуер Ф.С., 1984/.

Изучение электронно-микроскопической структуры клеток бациллы цереус методом ультратонких срезов позволило установить, что компоненты разработанных сред не оказывают отрицательного влияния на анатомию клеток этого микроорганизма. Они сохраняют исходную электронно-микроскопическую структуру.

Таким образом, разработанные сухие питательные среды для бациллы цереус - лецитин-агар и селективный агар по биологическим показателям не уступают контрольным средам аналогичного назначения, а селективный агар превосходит агар Пивоварова Ю.П. по показателям чувствительности и скорости роста. Разработанные среды стандартны, не требуют добавления желточной эмульсии и других компонентов, прозрачны, стерилизуются автоклавированием. Они просты в применении, удобны при использовании, имеют длительный срок хранения - 2 года.

Экспериментальное изучение эффективности выявления бациллы цереус на лецитин-агаре и селективном агаре при посеве консервов, пищевых концентратов и других пищевых продуктов.

Для изучения эффективности выявления бациллы цереус на разработанных средах консервы и готовые блюда искусственно инфицировали монокультурой бациллы цереус /100 микробных клеток/ или культурой бациллы цереус в смеси с ассоциантами - кишечной палочкой, золотистым стафилококком, бациллой субтилис, бациллой полимикса. Сравнительные данные по выделению бациллы цереус из искусственно инфицированных консервов на разработанном лецитин-агаре и контрольном желточном агаре с ТТХ после суточного хранения при различных температурных условиях даны в таблице 2.

Анализ материалов таблицы 2 свидетельствует о том, что при высеве консервов количество выявленных микробных клеток бациллы цереус на сравниваемых средах одного порядка. При этом наибольший прирост клеток отмечен на обеих средах при высеве консервов, хранившихся после инфицирования при температуре $+29 \pm 1 / ^\circ\text{C}$. Срок выявления бациллы цереус составляет 16 часов.

Результаты посева бациллы цереус из пищевых концентратов показали, что засеваемость на разработанном селективном агаре составляет 85,45 % по сравнению с 67,27 % на контрольном агаре Пивоварова Ю.П.. При посеве рисовой молочной каши, картофельного пюре, плова, кондитерского крема разведение посевного материала, при котором обнаруживается рост бациллы цереус на селективном агаре, в 10 раз выше, чем на агаре Пивоварова Ю.П., что свидетельствует о повышенной чувствительности разработанной среды.

Выделение бациллы цереус из искусственно инфицированных консервов

Объект исследования и pH	Количество микробных клеток в 1 г консервированного продукта после суточного хранения при температуре							
	+/-2-4/ °C		+/-16-20/ °C		+/-29 ± 1/ °C			
	Л	Ж	Л	Ж	Л	Ж	Л	Ж
"Говядина с пшеном и тыквой с побавлением витаминов и настоев трав" 6,1	112	104	45.10 ³	42.10 ³	66.10 ⁵	62.10 ⁵		
"Зелёный горошек с рисом и морковью" 5,15	97	91	38.10 ³	36.10 ³	42.10 ⁶	41.10 ⁵		
"Говядина с перловой крупой и тыквой протёртые" 5,33	103	96	15.10 ³	14.10 ³	25.10 ⁵	26.10 ⁵		
"Суп-пюре мясо-овощной с овощами" 5,31	89	92	27.10 ³	25.10 ³	28.10 ⁵	27.10 ⁵		
"Капуста с рисом и морковью" 5,8	87	91	33.10 ³	32.10 ³	36.10 ⁵	36.10 ⁵		

Примечания: Л-лецитин-агар ; Ж-желточный агар с ТТХ.

Для объективного суждения о качестве разработанных сред лецитин-агар и селективный агар были апробированы в ведущих специализированных учреждениях : Всесоюзном научно-исследовательском институте консервной и овощесушильной промышленности /г. Видное, Моск. обл./, Всесоюзном научно-исследовательском проектно-конструкторском институте "Консервпромкомплекс" /г. Одесса/, на кафедре санитарной гигиены 2-го Московского ордена Ленина Государственного медицинского института им. Н.И. Пирогова.

Специалисты, проводившие испытание предложенных сред, осуществляли посев пищевых концентратов, молочных продуктов, консервов /в общей сложности более 500 анализов/.

В заключениях о качестве сред все микробиологи указанных учреждений отмечают преимущества предложенных сред перед известными: высокую скорость роста бациллы цереус, повышенную высеваемость, стандартность, простоту приготовления, стерильность и прозрачность сред. В этих же документах имеются рекомендации использовать предложенные сухие питательные среды для бациллы цереус при микробиологическом анализе консервного производства, пищевых концентратов, для научно-исследовательских целей в лабораториях НИИ и в широкой практической сети санитарно-эпидемиологических станций.

ВЫВОДЫ

1. Решена одна из актуальных задач для пищевой промышленности - совершенствование микробиологического контроля качества консервированных и других пищевых продуктов на наличие бациллы цереус. Разработаны стандартные сухие питательные среды для выделения бациллы цереус из консервированных продуктов /лецитин-агар/ и для выделения бациллы цереус из пищевых продуктов и патологического материала /селективный агар/.
2. Показано, что оптимальной питательной белковой основой для роста и размножения бациллы цереус, является панкреатический гидролизат кормовых дрожжей.
3. Установлена возможность использования стандартных лецитинсодержащих компонентов - лецитина и яичного масла для выявления основного дифференцирующего признака бациллы цереус - лецитиназной активности. Показано, что при массовой доле 0,1 % указанные лецитинсодержащие компоненты обеспечивают образование чётких зон проявления лецитиназной активности вокруг колоний бациллы цереус, выросших на лецитин-агара и селективном агаре.
4. Определены ингибиторы роста ассоциативной микрофлоры - литий серноокислый и натрий лимоннокислый. Установлено, что при массовой доле 0,5 % каждой соли обеспечивается подавление роста основных ассоциантов бациллы цереус - кишечной палочки, золотистого стафилококка, бациллы субтилис.
5. Разработана технология промышленного изготовления сухих сред для бациллы цереус, включающая получение сухой лецитинсо-

держатель основы и смешивание её с другими компонентами в шаровой мельнице. Обоснован способ сушки лецитинсодержащей основы в "псевдокипящем" слое. Определены технологические параметры внесения лецитина /яичного масла/ в концентрированный гидролизат кормовых дрожжей.

6. Разработаны Инструкции по изготовлению и контролю лецитин-агара и селективного агара. Получены по 3 экспериментально-производственные серии сред на предприятии НИИ по производству питательных сред ВЗ СССР /г.Махачкала/.

7. Лецитин-агар и селективный агар имеют преимущества перед контрольными средами аналогичного назначения. Селективный агар сокращает срок выявления бациллы цереус вдвое, повышает высеваемость её из пищевых концентратов на 18 %. Среды удобны при использовании и имеют срок хранения 2 года.

8. Доказано полное соответствие состава сред физиологическим потребностям бациллы цереус.

9. Разработанные среды экономически эффективны. Предполагаемый экономический эффект от внедрения 1 тонны лецитин-агара составит 278 тыс.рублей, селективного агара - 187 тыс.рублей. Помимо реального экономического эффекта имеется и социальный эффект, который заключается в своевременном выявлении бациллы цереус в консервированных и других пищевых продуктах, что позволит сделать их безопасными для здоровья людей, исключить из этиологии пищевых отравлений бациллу цереус, в случае же возникновения заболевания - в ранней диагностике их.

10. Новая питательная среда для выделения бациллы цереус из пищевых продуктов и патологического материала - селективный агар признана изобретением. Получено положительное решение ВНИИПЗ от 29.10.85 о выдаче Авторского свидетельства по заявке 3834488/28-14.

Основные положения диссертации опубликованы в следующих работах:

1. Джалилова Р.С., Кириленко О.А., Султанов З.З. Сухая питательная среда для определения лецитиназной активности бациллы цереус //Лабораторное дело. -1985. -№2. -С.117-119.



2. Джалилова Р.С. Изучение некоторых биологических свойств бациллы цереус, культивированной на сухой среде //Тез.докл. науч.-практ.конф.молодых учёных и специалистов Дагестана "Наука-практическому здравоохранению".-Махачкала.-1985.-С.43.

3. А.С. ... Питательная среда для выделения *Bacillus cereus* /Султанов З.З., Кириленко О.А., Джалилова Р.С. /СССР/ - № 3834488/28-14. Заявл. - 04.01.85. Положительное решение о выдаче Авторского свидетельства.

4. Джалилова Р.С. Использование сухого селективного агара для выделения бациллы цереус из продуктов питания //Тез.докл. 48-ой итог.объединённой науч.-практ.конф. молодых учёных, специалистов и студентов Дагестана по медицине.-Махачкала.-1986.-С.74

Финал

