Применение бивалентного бактериофага для снижения обсемененности тушек птицы сальмонеллами

The use of bivalent bacteriophage to reduce the contamination of poultry carcasses with Salmonella

Нитяга И.М.
г. Москва

DOI CrossRef:10.30917/ATT-VK-1814-9588-2019-2-15
УДК 578:637.54(045)

Ключевые слова: сальмонеллы, обсемененность, бивалентный бактериофаг, тушки птицы, птицеводство

Key words: salmonella, contamination, bivalent bacteriophage, poultry carcasses, poultry

Резюме. Большое значение в эпизоотологии сальмонеллеза имеет скрытое сальмонеллоносительство у птиц и вторичная контаминация тушек при переработке птицы. Это представляет определенную угрозу здоровью человека, особенно при хранении тушек в охлажденном состоянии и при нарушении режимов хранения птичьего мяса, фарша, мяса механической обвалки. В настоящее время имеется необходимость поиска новых методов обработки, обеспечивающих обеззараживание тушек птиц от сальмонелл, не ухудшающих качество мяса и не являющихся агрессивными в экологическом отношении. Одним из средств, позволяющих обеззаразить тушки птицы от сальмонелл может выступить бивалентный бактериофаг против сальмонеллеза птиц. Целью настоящей работы являлось изучение возможности и эффективности использования бивалентного обеззараживания тушек птиц от сальмонелл. Исследования показали высокую эффективность, использования бивалентного бактериофага против сальмонеллеза птиц в качестве средства санирования продуктов убоя в птицеводстве от сальмонеллы. Использование фага позволяет предотвратить контаминацию других тушек от сальмонеллоносителя, что обеспечивает санитарное благополучие птицефермы и пунктов убоя, а также отвечает запросам повышения качества и безопасности пищевых продуктов. Органолептические показатели мяса кур, обработанных препаратом бивалентный бактериофаг против сальмонеллеза птиц, не имеют разницы по сравнению с мясом необработанных тушек, что позволяет рекомендовать использование препарата с целью деконтаминации без ограничений.

Summary. Of great importance in the epidemiology of salmonellosis has hidden salmonellonoyestvo the birds and secondary contamination of carcasses during poultry processing. This poses a certain threat to human health, especially when storing carcasses in a cooled state and in violation of the storage of poultry meat, minced meat, meat mechanical boning. Currently, there is a need to search for new methods of treatment that

provide disinfection of bird carcasses from Salmonella, which do not degrade the quality of meat and are not environmentally aggressive. One of the means to disinfect poultry carcasses from Salmonella can act bivalent bacteriophage against salmonellosis of birds. The aim of this work was to study the possibility and effectiveness of the use of bivalent disinfection of bird carcasses from Salmonella. Studies have shown high efficiency, the use of bivalent bacteriophage against salmonellosis of birds as a means of sanitizing slaughter products in poultry from Salmonella. The use of phage prevents contamination of other carcasses from Salmonella carrier, which ensures the sanitary well-being of poultry farms and slaughterhouses, as well as meets the requirements of improving the quality and safety of food. Organoleptic characteristics of chicken meat, treated with bivalent bacteriophage against salmonellosis of birds, have no difference compared to the meat of untreated carcasses, which makes it possible to recommend the use of the drug for decontamination without restrictions.

Введение

Сальмонеллез птиц – серьезная социально-экономическая проблема большинства стран мира. Увеличение в последние годы антибиотикорезистентности бактерий, при сохранении массивной стресс – нагрузки на птицу, особенно цыплят первых дней жизни, привело к повышению эпизоотологической значимости инфекций энтеробактериального происхождения.

К возбудителю сальмонеллеза восприимчивы птицы, животные и человек. Источником возбудителя инфекции являются больные животные, птицы, бактерионосители. Кроме того, источником возбудителя сальмонеллеза кур являются снесенные ими яйца (латентная инфекция). Хотя имеются мнения, что возбудитель сальмонеллеза птиц вертикальным путем не передается, а заражение инкубационных яиц возможно горизонтально при нарушениях режима инкубации, насечках, бое, микротрещинах. Заражение птиц происходит алиментарным, аэрогенным и трансвариальными путями. Наиболее инвазионные сероварианты – *S. typhimurium* и *S. enteritidis*, могут проникать в яичник еще в процессе формирования скорлупы. Заражение цыплят сальмонеллами через респираторный тракт, часто происходит на фоне вирусных инфекций – инфекционного ларинготрахеита, инфекционного бронхита и других, в том числе, при иммунизации живыми вакцинными штаммами [1,10].

Факторами передачи возбудителя сальмонеллеза являются корма, вода, подстилка, кормушки, воздух, предметы ухода, почва, одежда и обувь обслуживающего персонала, а также инкубационные отходы. Первичный занос возбудителя на фермы чаще всего связан с завозом суточного молодняка, поступающего для выращивания из неблагополучных хозяйств, а также при заносе возбудителя с яйцом, боенскими отходами, кормами. Повторные вспышки сальмонеллеза птиц в неблагополучных по этой инфекции пунктах возникают при совместном содержании молодняка с более взрослой птицей – сальмонеллоносителями, пополнении стад из неблагополучных ферм, переводе птиц в инфицированные помещения или на выгулы без надлежащей дезинфекции. Факторами, сопутствующими развитию инфекции сальмонеллеза, являются неполноценное и несбалансированное кормление, антисанитарные условия содержания, нарушение технологических схем кормления, скученное содержание, несоблюдение оптимальных параметров микроклимата [1,4].

Большое значение в эпизоотологии сальмонеллеза имеет скрытое сальмонеллоносительство у птиц и вторичная контаминация тушек при переработке птицы. Сальмонеллоносительство у птицы может быть массовым и длительным. При убое такой птицы происходит дополнительная контаминация тушек и других продуктов убоя сальмо-

Авторы / Authors

Нитяга И.М., кандидат биологических наук, доцент inga99@mail.ru

Б.В. Уша, академик РАН, доктор ветеринарных наук, профессор, vet-san-dekanat@yandex.ru

В.И. Луцай, доктор ветеринарных наук, профессор, recaro21@bk.ru

ФГБОУ ВПО "Московский государственный университет пищевых производств", г. Москва

Nityaga I.M., Usha B.V., Lutsay V.I.

неллами [1,6]. Это представляет определенную угрозу здоровью человека, особенно при хранении тушек в охлажденном состоянии и при нарушении режимов хранения птичьего мяса, фарша, мяса механической обвалки.

На птицеперерабатывающих предприятиях для снижения бактериальной обсемененности тушек при охлаждении используют воду, содержащую хлористо-водородную кислоту, уксусную кислоту, надуксусную кислоту, хлорную известь и другие химические вещества, обладающие бактерицидными свойствами [4,6].

Но все эти препараты не получили широкое распространение, так как они не гарантируют надежность обеззараживания тушек и снижают качественные показатели мяса, особенно при длительном хранении тушек [6]. Поэтому имеется необходимость поиска новых методов обработки, обеспечивающих обеззараживание тушек птиц от сальмонелл, не ухудшающих качество мяса и не являющихся агрессивными в экологическом отношении.

В этой связи необходим поиск новых экологически безопасных средств и методов обеззараживания от сальмонелл продуктов убоя в птицеводстве, которые, при своей эффективности не оказывают отрицательного влияния на пищевую ценность и вкусовые качества продукции.

Применение бактериофагов против сальмонеллеза птиц – важное звено противозoonотической работы и санитарно-эпидемиологического благополучия. Фаги безвредны, применимы с первых дней жизни, активны в отношении сальмонелл с широкой антибиотикостойчивостью, устраняют сальмонеллоносительство. Важным свойством фагов является их специфичность. Каждый вид фага специфичен к определенному виду микробов [2,7].

В странах Европейского Союза и России, бактериофаги широко используются в медицине и ветеринарии. Накоплен большой опыт использования бактериофагов при лечении кишечных инфекций: показана высокая клиническая эффективность фаготерапии при острой и хронической дизентерии, сальмонеллезе, сопровождающихся санацией носителей. Доказана высокая эпидемиологическая эффективность профилактического применения дизентерийного, брюшнотифозного и сальмонеллезного бактериофагов [5,8,9].

Бактериофаги – экологически безопасны и длительное время сохраняются в воде, в охлажденных и замороженных продуктах. При температуре хранения продуктов выше 10°C фаги размножаются, лизируя гомологичные бактериальные клетки. При наличии фаговой инфекции гомологичные сероварианты и виды сальмонелл лизируются, что обеспечивает санацию контаминированных продуктов и снижение угрозы вспышек токсикоинфекций у потребителя [2,3].

Уже доказана эффективность применения бактериофагов путем внесения их в корм или воду для птицы, а также эффективно применение аэрозольным способом для повы-

шения сохранности цыплят и ремонтного молодняка [3].

Одним из средств, позволяющих обеззаразить тушки птицы от сальмонелл может выступить бивалентный бактериофаг против сальмонеллеза птиц. Препаратосован на активных фагах, вирусах, избирательно подавляющего его бактериальные клетки. Бактериофаги – экологически безопасны и длительное время сохраняются в воде, в охлажденных и замороженных продуктах. При температуре хранения продуктов выше 10°C фаги размножаются, лизируя гомологичные бактериальные клетки. При наличии фагов гомологичные виды сальмонелл в случаях нарушения температурных режимов и сроков хранения тушек птицы погибают, что обеспечивает снижение угрозы вспышки токсикоинфекции [6].

Целью настоящей работы являлось – изучить возможность и эффективность использования бивалентного обеззараживания тушек птиц от сальмонелл.

Материалы и методы

В работе были использованы: бивалентный бактериофаг против сальмонеллеза птиц, депонированные штаммы *Salmonella enteritidis* 25Яв е, *Salmonella typhimurium* 5 М t, 16 цыплят – бройлеров кросса Хаббард ф – 15, 4 тушки цыплят – бройлеров питательные среды: МПА, МПБ, среда Кауфмана, агары Эндо и Плоскирева, висмут – сульфитный агар, набор для окрашивания мазков по Граму, лабораторная посуда и оборудование.

Для создания препарата бивалентного бактериофага против сальмонеллеза птиц были использованы фаги к *S. Enteritidis*, выделенные по методу обогащения 52 проб сточных вод из цехов содержания молодняка и маточного поголовья птицефабрик и депонированные С.В. Леневым, Ю.А. Малаховым, Н.В. Пименовым в качестве производственных в коллекции штаммов микроорганизмов ФГУ ВГНКИ: бактериофаг Phagum *Salmonella enteritidis* A – I – ДЕП (обладал литической активностью к эталонному штамму *S. enteritidis* №3–2 ВГНКИ по методу Аппельмана 10–10, по методу Грация – 2,0x10¹¹ КОЕ/см³), бактериофаг Ph. *S. enteritidis* ЮН – 1 – ДЕП (литическая активность по методу Аппельмана – 10⁻⁹, по Грация – 4,0x10¹⁰ КОЕ/см³), Ph. *S. enteritidis* ЮН – 2 – ДЕП (по Аппельману – 10⁻⁹, по Грация – 6,0x10¹⁰, КОЕ/см³). Также для приготовления препарата использовали фаги к *S. typhimurium* выделенные Н.В. Пименовым и И.В. Чирковой при исследовании по методу обогащения 52 проб пометных вод голубятен и депонированные в качестве производственных в ФГУ ВГНКИ: Phagum *Salmonella typhimurium* №5 Т3 – ДЕП (активность 110 Аппельману – 10⁻¹⁰, по Грация – 3,6x10⁸), Ph. *S. typhimurium* N8 МЕ – ДЕП (по Аппельману – 10⁻⁸, по Грация – 1,0x10⁷), Ph. *S. typhimurium* N 9 ММ – ДЕП (по Аппельману 10⁻¹⁰ Грация 1,0x10⁸).

Иницирование цыплят – бройлеров проводили методом подкожного введения бактериальной суспензии объемом 5 мл, в дозе 250 млн бактериальных клеток. Приготов-

Таблица 1 - Заражение цыплят - бройлеров контрольной и опытной групп

Группа	Контрольная		Опытная	
Подгруппа	1	2	1	2
Количество голов	5	5	5	5
Штамм для инфицирования	<i>S. enteritidis</i> 25 Яв е	<i>S. typhimurium</i> 5 М t	<i>S. enteritidis</i> 25 Яв е	<i>S. typhimurium</i> 5 М t
Доза инфицирования	25 млн. мкр. кл.	25 млн. мкр. кл.	25 млн. мкр. кл.	25 млн. мкр. кл.

Таблица 2 – Органолептические показатели качества мяса птицы

Органолептические показатели качества мяса птицы		
Группа	Контрольная	Опытная
Количество голов	4	4
Органолептические показатели		
Внешний вид	Чистая поверхность, без повреждений	Чистая поверхность, без повреждений
Консистенция	Плотная, упругая, при надавливании образуется ямка, которая выравнивается за несколько секунд	Плотная, упругая, при надавливании образуется ямка, которая выравнивается за несколько секунд
Цвет	Ровный бледно-розовый, жировая ткань бледно-желтого цвета	Ровный бледно-розовый, жировая ткань бледно-желтого цвета
Запах	Специфический, свойственный свежему мясу птицы, посторонних запахов в мясе не установлено	Специфический, свойственный свежему мясу птицы, посторонних запахов в мясе не установлено
Вкус	Свойственный куриному мясу	Свойственный куриному мясу
Бульон	Прозрачный, ароматный	Прозрачный, ароматный

Таблица 3 – Физико-химические качества мяса птицы

Группа	Контрольная		Опытная	
Количество проб	4		4	
pH	5,90-6,0		5,95-6,0	
Реакция с серно-кислой медью	Отрицательная		Отрицательная	
Реакция на пероксидазу	Положительная		Положительная	

ление бактериальной суспензии проводили методом последовательных разведений. Оценку органолептических и физико-химических показателей осуществляли в соответствии с утвержденными, гостированными методиками

Результаты исследований

На первом этапе определяли эффективность применения бивалентного бактериофага против сальмонеллеза птиц для обеззараживания продуктов убоя.

С этой целью 20 цыплят – бройлеров кросса Хаббард ф – 15, были разделены на две группы, контрольную и опытную, каждую из которых затем разделили – на две подгруппы согласно данным приведенным в таблице 1. Группы кормили и содержали по принципу аналогов в условиях вивария.

Цыплята-бройлеры контрольной и опытной групп были подкожно инфицированы сальмонеллой в дозе 25 млн. бактериальных клеток. Инфицирующую дозу определяли используя оптический стандарт мутности энтеробактерий. Доза была определена, как превышающая 5 LD₅₀ для цыплят-бройлеров и 2 LD₅₀ 14 – суточных цыплят – бройлеров (LD₅₀ дозы определены для депонированных штаммов Пименовых Н.В.).

Для заражения использовали штаммы сальмонелл *Salmonella enteritidis* 25Яв е и *Salmonella typhimurium* 5 М т, депонированные в коллекции ФГУ ВГНКИ.

Через трое суток с момента инфицирования был произведен убой птицы. Из образцов каждой группы (мясо тушек птицы) делали мазки – отпечатки с поверхностных и глубоких мышечных слоев и окрашивали Граму. При микроскопии мазков, окрашенных по Граму, были обнаружены расположенные одиночно грамотрицательные палочки с закругленными концами, соответствующие по морфологическим свойствам роду *Salmonella*.

Из каждой подгруппы получали навески массой 25 г, готовили объединенную пробу и вносили во флакон Сохслета, содержащий 100 см³ среды обогащения Кауфмана. Флаконы тщательно встряхивали и помещали в термостат с температурой 37 °С. Через 24 ч проводили посев из среды обогащения в чашки Петри со средой Эндо, Плоскирева и висмут – сульфит-агаром. После инкубации в чашках Петри с посевами контрольной и опытной групп наблюдали рост следующих колоний:

- на среде Эндо и среде Плоскирева были образованы бесцветные с розовым оттенком колонии;

- на висмут – сульфитном агаре выросли черные и коричневые колонии с характерным металлическим блеском. Также наблюдалось прокрашивание в черный цвет участка среды под колонией.

На следующем этапе исследования тушки кур, полученные от поголовья опытной группы, помещали в емкости с раствором бивалентного бактериофага на 20 минут. Раствор препарата готовили из расчета 10 см³ на 1 литр воды. Таким образом, в 1 литр воды было внесено 1014 фагов Phagum *Salmonella enteritidis* и 10 в 14 Phagum *Salmonella typhimurium*. Тушки от птиц контрольных групп помещали в емкости с дистиллированной водой. Через 6 часов после обработки тушки бройлеров опытных и контрольных групп исследовали путем получения навески массой 25г, от объединенной пробы и вносили во флакон Сохслета, содержащий 100 см³ среды обогащения Кауфмана. Флаконы тщательно встряхивали и помещали в термостат с температурой 37 °С. Через 24 ч после культивирования было отмечено, что в контрольных подгруппах №1 и №2 были выделены сальмонеллы, так как в среде обогащения выявлен рост культуры, характерный для рода *Salmonella*.

В опытной подгруппе №1 и опытной подгруппе №2 фиксировали отсутствие роста. Таким образом, отмечали отсутствие сальмонеллообсемененности. В результате проведенных исследований показана эффективность Бивалентного бактериофага против сальмонеллеза птиц для обеззараживания тушек птиц, обсемененных сальмонеллами основных этиопатогенных серовариантов.

На втором этапе исследования проводили сравнительный анализ качественных характеристик мяса птицы, подвергшейся обработке Бивалентным бактериофагом против сальмонеллеза птиц и не обработанных препаратом. Для постановки опыта использовали 8 благополучных в сани-

тарном отношении тушки птицы, 4 из которых подвергли обработке препаратом, еще четыре оставили в качестве контрольных.

Сравнение проводили по органолептическим и физико-химическим показателям качества мяса птицы согласно методам определения органолептических показателей по ГОСТ 31470–2012 "Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы органолептических и физико-химических исследований". Полученные данные представлены в таблице 2 и 3.

Как видно из данных, представленных в таблицах 2 и 3 органолептические и физико-химические показатели мяса птиц контрольной и опытной групп совпадали. Это указывает на то, что мясо птицы, обработанное бивалентным бактериофагом, не отличается от мяса, полученного от птицы контрольной группы, не обработанной препаратом, а вымоченной в дистиллированной воде.

Заключение

В настоящее время необходим поиск новых экологически безопасных средств и методов обеззараживания продуктов, которые, при своей эффективности, не оказывают отрицательного влияния на пищевую ценность и вкусовые качества продукции. В качестве такого средства мы исследовали препарат Бивалентный бактериофаг против сальмонеллеза птиц.

Исследования показали высокую эффективность, использование бивалентного бактериофага против сальмонеллеза птиц в качестве средства санирования продуктов убоя в птицеводстве от сальмонеллы. Использование фага позволяет предотвратить контаминацию других тушек от сальмонеллоносителя, что обеспечивает санитарное благополучие птицефермы и пунктов убоя, а также отвечает запросам повышения качества и безопасности пищевых продуктов.

Органолептические показатели мяса кур, обработанных препаратом бивалентный бактериофаг против сальмонеллеза птиц, не имеют разницы по сравнению с мясом необработанных тушек, что позволяет рекомендовать использование препарата с целью деконтаминации без ограничений.

Следовательно, ограничений для применения бивалентного бактериофага против сальмонеллеза птиц в цехах убоя птицекомбинатов не установлено. Учитывая свойства препарата освобождать от сальмонелл обсемененные тушки и его санирующую эффективность при сальмонеллообсемененности, возможно рекомендовать использование препарата в цехах убоя птицефабрик. Его применение будет содействовать санитарной безопасности продукции птицеводства, в частности, ликвидировать сальмонеллоинфекцию *S. enteritidis* и *S. typhimurium* основных серовариантов, этиопатогенных для птиц, молодняку сельскохозяйственных животных и опасных для человека пищевым токсикоинфицированием.

Литература

1. Ахмедов М.М., Аллахвердиев М.С., Салихова Н.И., Муслиев Д.Г. Некоторые вопросы эпизоотологии сальмонеллеза птиц//Вестник ветеринарии, 1996, №2, с. 15-17.
2. Бой Кикимото Б.Б. Профилактика токсикоинфекций сальмонеллезной этиологии тушек птицы с использованием бактериофагов/автор. дис. канд. биол. наук; ФГУ РУДН., М., 2001г, 101с.
3. Ганюшкин В.Я. Бактериофаги сальмонелл и их применение в ветеринарии: учебн. пособие. Ульяновск: УГСХА, 1988. с. 86.
4. Лёнев С.В. Мероприятия по профилактике сальмонеллеза птиц//Материалы II Международного ветеринарного конгресса, Москва, 2012 г., с. 102-106.
5. Ленёв С.В., Малахов Ю.А., Шорохов В.В. Сальмофаг - лечебно-профилактический препарат//Материалы научной конференции посвященной 50-летию Краснодарской НИВБ, Краснодар, 1996. с. 26-30.
6. Пименов Н.В. Разработка средств и совершенствование методов лечения и профилактики сальмонеллеза птиц/автор. диссертации, д.б.н., МГАВМиБ им. К.И. Скрябина, 2012, 307с.
7. Пименов Н.В. Сальмонеллез птиц: перспективные направления в лечебно-оздоровительных мероприятиях//Ветеринария и кормление, №3, 2010, с.24-26.
8. Флёрова А.Д., Серегин И.Г., Лёнев С.В., Новое в применении бактериофагов//Вестник РУДН, 2008, №4, с.54-57.
9. Цыганова С.В. Бактериофаг IBP-1 против сальмонеллы энтеритидис-инфекции кур//Материалы VIII Международного ветеринарного конгресса по птицеводству, Москва, 2012, с.272-273.
10. Яковлев С.С., Рождественская Т.Н., Кононенко Е.В. Профилактика сальмонеллеза птиц//Ветеринария и кормление, №3, 2010, с.30-33.