УДК 579.8.23.0.83.13

Ю.А. Маркова <sup>1</sup>, А.В. Духанина <sup>2</sup>, Е.В. Анганова <sup>2, 3</sup>, Л.А. Беловежец <sup>4</sup>, Е.Д. Савилов <sup>2, 3</sup>

# КОНТАМИНАЦИЯ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПАТОГЕННЫМИ И УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫМИ ЭНТЕРОБАКТЕРИЯМИ

<sup>1</sup> Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН (Иркутск)
<sup>2</sup> Институт эпидемиологии и микробиологии ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи
и репродукции человека» СО РАМН (Иркутск)
<sup>3</sup> Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования (Иркутск)
<sup>4</sup> Институт химии им. Фаворского СО РАН (Иркутск)

Проведено изучение контаминации овощей и фруктов патогенными и условно-патогенными энтеробактериями. Показано, что в смывах с поверхности плодов и зелени достаточно часто встречаются представители исследуемой группы. В то же время, бактериологический анализ поверхностно обработанных плодов выявил встречаемость энтеробактерий в растительных тканях, где они существуют в качестве эндофитных микроорганизмов. Полученные результаты доказывают возможность сохранения патогенных и условно-патогенных бактерий в растительных тканях после санитарной обработки, что свидетельствует о том, что продукты растительного происхождения, употребляемые в пищу без термической обработки, могут быть источником инфицирования человека. Ключевые слова: продукты питания растительного происхождения, энтеробактерии, эндофиты

# CONTAMINATION OF PHYTOGENIC FOODS WITH PATHOGENIC AND OPPORTUNISTIC ENTEROBACTERIA

Yu.A. Markova 1, A.V. Duhanina 2, E.V. Anganova 2, 3, L.A. Beloveshets 4, E.D. Savilov 2, 3

<sup>1</sup> Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk <sup>2</sup> Institute of Epidemiology and Microbiology of «Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS, Irkutsk <sup>3</sup> Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education, Irkutsk <sup>4</sup> Irkutsk Institute of Chemistry named after A.E. Favorsky SB RAS, Irkutsk

Studying contamination of vegetables and fruit pathogenic and opportunistic enterobacteria was conducted. It is shown that in washouts from a surface of fruits and greens often enough there are representatives of investigated group. At the same time, the bacteriological analysis of superficially processed fruits has revealed occurrence Enterobacteriaceae in vegetative fabrics where they exist in quality endophytic microorganisms. The received results proved possibility of preservation of pathogenic and is conditional-pathogenic bacteria in vegetative fabrics after sanitary processing that testifies that the products of a phytogenesis used in food without thermal processing can be a source of an infection of the person.

Key worlds: plants foods, Enterobacteriaceae, endophyte

Вспышка острой кишечной инфекции, вызванная *E. coli* O104:Н4 в Европе летом 2011 г., убедительно доказала необходимость контроля качества продуктов питания растительного происхождения [3, 8]. Однако это был не единственный случай массового заражения людей после употребления растительных продуктов. Большинство таких вспышек ассоциировано с проростками люцерны, бобов и других растений, популярных в Европе в качестве источника здорового питания [2, 5, 6], а также непастеризованного сока, овощей и фруктов.

Все изложенное свидетельствует о том, что бактерии, патогенные для человека, могут быть ассоциированы с растительными организмами. И действительно, исследованиями последних лет доказано, что многие виды энтеробактерий и псевдомонад успешно колонизируют внутренние ткани растений, относясь к группе так называемых эндофитных бактерий [4, 7]. Эти бактерии, локализуясь в межклетниках и сосудах растений, практически не доступны действию большинства дезинфектантов.

Таким образом, **цель работы** состояла в определении контаминации овощей и фруктов бактериями, патогенными для человека, представителями семейства *Enterobacteriaceae*.

## **МЕТОДИКА**

Объектами исследования стали фрукты, овощи и зелень, приобретенные в розничной торговой сети г. Иркутска, — персик (Китай), слива (Узбекистан), нектарин (Китай), черный виноград (Узбекистан), томат (Китай), зеленый лук и петрушка (Иркутск, теплицы), перец болгарский (Узбекистан), огурец (Ангарск, теплицы), груша (Китай), яблоко (Китай), апельсин (Марокко), банан (Эквадор).

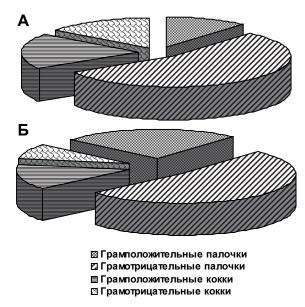
С поверхности каждого растительного объекта делали смыв и рассевали на среды. Затем проводили обработку поверхности исследуемого образца с помощью 96% спирта и 3% перекиси водорода. После этого гомогенизировали и рассевали объемом по 200,0 мкл в чашки Петри с мясопептонным агаром (МПА), средой Эндо (селективная для ряда энтеробактерий) и висмут-сульфит агаром (ВСА) (среда селективная для сальмонелл). Чашки Петри инкубировали в термостате при 37 °C в течение 24-48 часов. Идентификацию проводили с помощью биохимических тестов, используя систему для определения энтеробактерий ммТЕ1 и ммТЕ2 (НПО «Аллерген» г. Ставрополь). Для определения значимости различий показателей использовали критерия Боярского [1].

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ**

Нами продемонстрировано, что поверхность исследуемых образцов была в высокой степени осеменена различными микроорганизмами. Наибольшее количество КОЕ выросло на среде МПА (до 1500 для смыва с поверхности банана), несколько меньшее — на средах Эндо и ВСА (100—200 КОЕ с поверхности огурца). Обработка поверхности привела к значительному сокращению количества микроорганизмов, однако, единичные колонии вырастали на средах Эндо и ВСА.

Всего было выделено 228 культур. Из них из смывов — 142, из ткани — 86. Сравнение соотношения морфологических типов бактерий показало, что как в ткани, так и в смывах представлены большей частью грамотрицательные палочки (52,3 % в тканях и 54,9 % в смывах), грамотрицательные кокки чаще встречались в смывах (8,1 % и 14,8 % соответственно) (рис. 1). Количество грамположительных палочек в мякоти растений было более чем в два раза больше, чем в смывах (25,6 и 11,3 %, соответственно), тогда как количество грамположительных кокков практически не различалось (13,9 и 19,0 %). Анализ контаминации исследованных образцов бактериями различных

типов в смывах и тканях показал, что значимые различия выявлены только в содержании грамположительных палочек.



**Рис. 1.** Соотношение морфологических форм в тканях (**A**) и смывах (**Б**) исследованных овощей и фруктов.

Таблица 1 Виды энтеробактерий, выделенных из смывов и ткани овощей и фруктов

Растение	Смыв/ткань	Вид
Томат (Китай)	Смыв	E. cloacae, C. freundii, C. divresus, C. divresus, E. cloacae
	Ткань	-
Зеленый лук (Иркутск)	Смыв	Enterobacter sp, Klebsiella pneumoniae
	Ткань	-
Груша сорт «Медовая» (Китай)	Смыв	-
	Ткань	C. freundii
Перец болгарский (Китай)	Смыв	C. divresus, H. alvei E. amylovora
	Ткань	-
Апельсин (Китай)	Смыв	Enterobater sp., C. freundii C. freundii
	Ткань	C. freundii
Петрушка зелень (Иркутск)	Смыв	P. vulgaris, P. vulgaris
	Ткань	-
Банан (Эквадор)	Смыв	Enterobater sp., E.asburiae
	Ткань	-
Огурец (Иркутск)	Смыв	E. asburiae, Enterobacter sp., S. marcescens, E. cloacae, K. pneumoniae
	Ткань	C. freundii, M. morganii
Томат (Иркутск)	Смыв	Salmonella sp., Salmonella sp., C.freundii, E.asburiae, E.cloacae, Citrobacter sp
	Ткань	Enterobacter sp., E. asburiae, E. asburiae, E.asburiae, M. morganii, Enterobacter sp
Зеленый лук (Иркутск)	Смыв	C. freundii, Salmonella sp
	Ткань	C. freundii, Enterobacter sp., E. asburiae
Петрушка зелень (Иркутск)	Смыв	P. vulgaris, C. freundii
	Ткань	-
Слива (Узбекистан)	Смыв	-
	Ткань	C. freundii, C. freundii
Банан (Эквадор)	Смыв	C. freundii
	Ткань	-

Из 123 культур грамотрицательных палочек, выделенных из смывов и мякоти, каталазоположительных, оксидазо-отрицательных было 68 (55,3%). Из них 48 (39,0%) культур по результатам биохимических тестов были отнесены к семейству Enterobacteriaceae (табл. 1).

Таким образом, из смывов было выделено 33 культуры, относящиеся к семейству Enterobacteriaceae, из тканей — 15. И в смывах, и в мякоти большая часть исследованных культур относилась к родам Enterobacter (33,3 % в смывах, 46,7 % в тканях) и Citrobacter (33,3 % и 40,0 %, соответственно). Отмечены единичные случаи выделения в смывах Proteus vulgaris (9,1 %), Klebsiella pneumonia (6,1 %), Hafnia alvei (3,0 %), Serratia marcescens (3,0 %). Следует отметить, что 9,1 % выделенных из смывов культур на основе биохимических тестов отнесены к роду Salmonella. 13,3 % культур выделенных из ткани, идентифицированы как Morganella morganii.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что приобретаемые в розничной продаже фрукты и овощи содержат условнопатогенные энтеробактерии не только на своей поверхности, но и в мякоти. Несмотря на то, что количество энтеробактерий в мякоти значимо (по критерию Боярского) ниже их содержания на поверхности овощей и фруктов, наличие данных бактерий в местах, недоступных для действия санитарной обработки, свидетельствует о возможности инфицирования людей при употреблении таких продуктов.

Изложенное позволяет сделать вывод о целесообразности мониторинга микробиологической контаминации овощей и фруктов, употребляемых в пищу в свежем, необработанном виде.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

- 1. Эпидемиологический анализ. Методы статистической обработки материала / Е.Д. Савилов и [др.]. Новосибирск: Наука-Центр, 2011. 156 с.
- 2. Erickson M.C., Doyle M.P. Food as a vehicle for transmission of Shiga toxin-producing Escherichia coli // J. Food Prot. 2007. N 70. P. 2426 2449.
- 3. German Outbreak of Escherichia coli O104:H4 Associated with Sprouts / U. Buchholz [et al.] // N. Engl. J. Med. 2011. Vol. 10, N 365. P. 1763—1770
- 4. Iniguez A.L., Dong Y.M., Triplett E.W. Nitrogen fixation in wheat provided by Klebsiella pneumoniae 342 // Mol. Plant-Microb. Interact. 2004. Vol. 17. P. 1078—1085.
- 5. Outbreak of Salmonella Stanley in Sweden associated with alfalfa sprouts, July August 2007 / S. Werner [et al.] // Euro Surveill. 2007. N 12. P. 3291 3292.
- 6. Outbreak of Salmonella Weltevreden infections in Norway, Denmark and Finland associated with alfalfa sprouts, July October 2007 / K.E. Emberland [et al.] // Euro Surveill. 2007. N 12. P. 3321 3323.
- 7. Quantification of contamination of lettuce by GFP-expressing Escherichia coli O157:H7 and Salmonella enterica serovar Typhimurium / E. Franz [et al.] // Food Microbiol. 2007. Vol. 24. P. 106-112.
- 8. Similarity of Shiga Toxin-producing Escherichia coli O104:H4 Strains from Italy and Germany / G. Scavia [et al.] // Emerg. Infect. Dis. 2011. Vol. 17, N 10. P. 1957—1958.

## Сведения об авторах

**Маркова Юлия Александровна** – к.б.н., с.н.с. Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН, (тел. (3952)425009; e-mail: juliam06@mail.ru)

**Духанина Алла Владимирована** – к.б.н., с.н.с. института эпидемиологии и микробиологии ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН

Анганова Елена Витальевна – к.м.н., доцент ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования», с.н.с. института эпидемиологии и микробиологии ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН

**Беловежец Людмила Александровна** – к.б.н., с.н.с. института химии им. А.Е. Фаворского СО РАН

**Савилов Евгений Дмитриевич** – д.м.н., профессор, проректор по научной и лечебной работе ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования», в.н.с. института эпидемиологии и микробиологии ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН