

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 <sup>1</sup>, A.V. Duhanina <sup>2</sup>, E.V. Anganova <sup>2,3</sup>, L.A. Beloveshets <sup>4</sup>, E.D. Savilov <sup>2,3</sup><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 words:** plants foods, Enterobacteriaceae, endophyte

Вспышка острой кишечной инфекции, вызванная *E. coli* O104:H4 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).

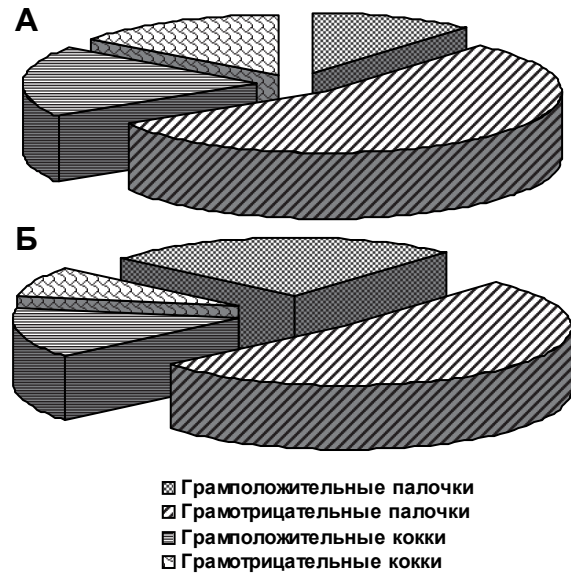
С поверхности каждого растительного объекта делали смыв и рассевали на среды. Затем проводили обработку поверхности исследуемого образца с помощью 96% спирта и 3% перекиси водорода. После этого гомогенизировали и рассевали объемом по 200,0 мкл в чашки Петри с мясопептонным агаром (МПА), средой Эндо (селективная для ряда энтеробактерий) и висмут-сульфит агаром (ВСА) (среда селективная для сальмонелл). Чашки Петри инкубировали в термостате при 37 °С 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 (А) 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	<i>E. cloacae</i> , <i>C. freundii</i> , <i>C. divresus</i> , <i>E. cloacae</i>
	Ткань	–
Зеленый лук (Иркутск)	Смыв	<i>Enterobacter sp.</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>
	Ткань	–
Груша сорт «Медовая» (Китай)	Смыв	–
	Ткань	<i>C. freundii</i>
Перец болгарский (Китай)	Смыв	<i>C. divresus</i> , <i>H. alvei</i> , <i>E. amylovora</i>
	Ткань	–
Апельсин (Китай)	Смыв	<i>Enterobacter sp.</i> , <i>C. freundii</i> , <i>C. freundii</i>
	Ткань	<i>C. freundii</i>
Петрушка зелень (Иркутск)	Смыв	<i>P. vulgaris</i> , <i>P. vulgaris</i>
	Ткань	–
Банан (Эквадор)	Смыв	<i>Enterobacter sp.</i> , <i>E. asburiae</i>
	Ткань	–
Огурец (Иркутск)	Смыв	<i>E. asburiae</i> , <i>Enterobacter sp.</i> , <i>S. marcescens</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>K. pneumoniae</i>
	Ткань	<i>C. freundii</i> , <i>M. morgani</i>
Томат (Иркутск)	Смыв	<i>Salmonella sp.</i> , <i>Salmonella sp.</i> , <i>C. freundii</i> , <i>E. asburiae</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>Citrobacter sp</i>
	Ткань	<i>Enterobacter sp.</i> , <i>E. asburiae</i> , <i>E. asburiae</i> , <i>E. asburiae</i> , <i>M. morgani</i> , <i>Enterobacter sp</i>
Зеленый лук (Иркутск)	Смыв	<i>C. freundii</i> , <i>Salmonella sp</i>
	Ткань	<i>C. freundii</i> , <i>Enterobacter sp.</i> , <i>E. asburiae</i>
Петрушка зелень (Иркутск)	Смыв	<i>P. vulgaris</i> , <i>C. freundii</i>
	Ткань	–
Слива (Узбекистан)	Смыв	–
	Ткань	<i>C. freundii</i> , <i>C. freundii</i>
Банан (Эквадор)	Смыв	<i>C. freundii</i>
	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 pneumoniae* (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 условно-патогенные 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 Владимировна** — 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