Биолог. журн. Армении, 1 (69), 2017

ВЛИЯНИЕ ВИДОВ РОДА PSEUDOMONAS SPP. НА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ КАЧЕСТВО И БЕЗОПАСНОСТЬ ПЕРЕРАБОТАННОЙ АКВАКУЛЬТУРЫ ФОРЕЛИ В ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

ГРИГОРЯН К.М., САРГСЯН М.П.

Ереванский государственный университет, биологический факультет,
foodlab@inbox.ru;

Виды рода *Pseudomonas* играют важную роль как при выращивании аквакультуры, так и при ее переработке. Ряд видов указанного рода являются возбудителями бактериозов аквакультуры форели на разных стадиях выращивания (Austin et al.2016). Виды *P.fluorescens и P. aeruginosa* являются типичными представителями водных экосистем, как открытых водоемов, так и артезианской воды (Nasreen et al., 2015; Grigoryan et al., 2015). Бактерии из рода *Pseudomonas* способны размножаться и не терять жизнеспособность при температуре 5^0C и ниже. Они могут развиваться в холодильных камерах, по всей цепочке холодильного хранения рыбной продукции (Todd and Notermans, 2011). Отдельные виды рода *Pseudomonas* являются причиной изменения качества рыбы, с ухудшением органолептических показателей. Такие изменения существенно сокращают сроки хранения продукта. (Arslan et al., 2011).

Основная цель работы – изучение видового состава бактерий, контаминирующих рабочие поверхности в процессе производства охлажденной форели; изучение влияния контактного времени испытуемого биоцида на жизнеспособность бактерий рода *Pseudomonas spp.*

Материал и методы

2.1 Отбор проб, Отбор образцов с кожных покровов рыбы и поверхностей, контактирующих с рыбой (25см^2), на всех стадиях производства, проводили методом мазков. Для взятия образцов и их трансортировки в лабораторию использованы HiCultureTM Transport Swabs (w/Amies Medium w/Charcoal, MS651, HiMedia, India).

2.2. Выделение и идентификация. Для идентификации и подсчета бактерий из рода *Pseudomonas spp.* использована основа цетримидного агара (M024, HiMedia Laboratories, Mumbai, India). Для идентификации видов рода *Pseudomonas spp.* использована хромогенная среда HiFluoro Pseudomonas Agar Base (M1469, HiMedia Laboratories,Mumbai, India) и быстрая диагностика API 25PseudoAero.

2.3. Дезинфицирующие вещества. В представленном исследовании использован 1% водный раствор дезинфицирующего агента надуксусной кислоты промышленного производства. Часть экспериментов проведены в производственных условиях.

Производственное тестирование. Для оценки биоцидной активности 1% раствора надуксусной относительно психротрофных бактерий проводили отбор проб методом мазков каждые 30 мин: с рабочих поверхностей из нержавеющей стали в производственном цехе потрошения, включая стадии мойки и дезинфекции. Затем проводили посев на вышеуказанных селективных диагностических средах.

Результаты и обсуждение

С аквакультуры радужной форели выделено и идентифицировано 7 видов из рода *Pseudomonas* (таблица 1).

Таблица 1.

Виды рода Pseudomonas, изолированные из сырьевой аквакультуры форели

Виды рода *Pseudomonas*	Частота встречаемости видов *Pseudomonas* в %	
	изолированные с кожи	изолированные с жабр
P. aeruginosa	40	45
P.anguilloseptica	20	7
P.stutzeri	12	8
P.putida	35	23
P.fluorescens	60	47
P. alcaligines	22	5
P. pseudoalcaligenes	6	3

Виды из рода *Pseudomonas* часто выделялись из кожных покровов, жабр форели. Таким образом, сырьевая рыба является основным источником контаминации производственного оборудования и рабочих поверхностей грамм отрицательными оксидазоположительными бактериями из рода *Pseudomonas.* Изолированные виды относятся к условно-патогенными, психротрофными бактериями. Основным их резервуаром являются водные экосистемы. Идентифицированные виды часто встречаются в образцах артезианской воды (Григорян и др., 2015). На рис. 1 представлены результаты влияния отдельных стадий производства охлажденной форели на уровень контаминации сырьевой рыбы видами рода *Pseudomonas.*

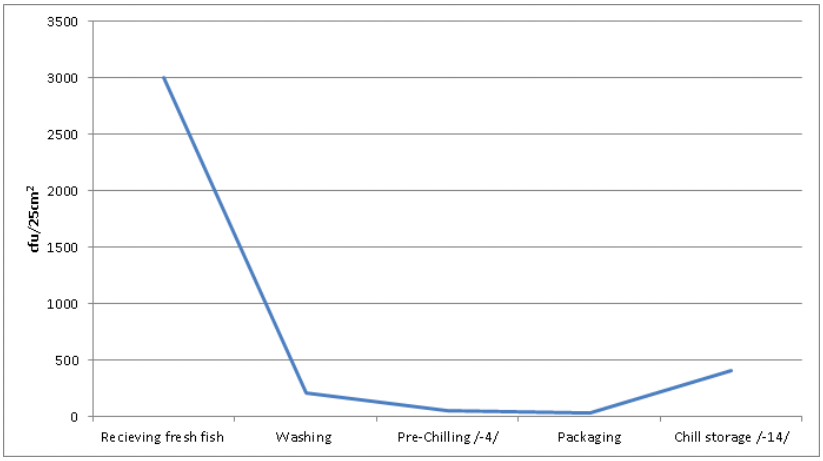

Рис.1. Динамика роста *Pseudomonas* spp. на всех стадиях производства охлажденной рыбы

В процессе мойки имеет место снижение количества бактерий из рода *Pseudomonas spp* на 1 log, В конце 12 часового хранения потрошеной рыбы при температуре -3-5^{0}С наблюдается увеличение количества бактерий от 65 до 300 кое/25 см^2. При хранении охлажденной рыбы в течении 14 дней количество бактерий из рода

Pseudomonas spp достигает до 10^7-10^8 /25см^2. В процессе хранения сырьевой рыбы под слоем льда количество психротрофных бактерий, в том числе бактерий из рода *Pseudomonas* в течение 24ч может достигнуть до 10^7 кое/25см^2, при исходной степени контаминации порядка 10^4кое/см^2. Согласно Обемата (Obemeata et al., 2011), при аэробном хранении сырьевой рыбы под слоем льда, в течение 20 дней, при температуре -4^{0}С, в основном, наблюдалось развитее видов из родов *Pseudomonas, Staphylococcus, Proteus, Bacillus, Micrococcus* и *Aeromonas spp* . Авторы подчеркивают, что только виды родов *Pseudomonas, Staphylococcus, Proteus и Bacillus* spp, не теряют жизнеспособность при хранении рыбы в условиях -18 ° С.

Одновременно, проведена сравнительная оценка степени загрязнения рабочих поверхностей (столы, контейнеры и холодильные камеры) в процессе производства грамм отрицательными, оксидазо положительными бактериями из рода *Pseudomonas* spp (рис.2).

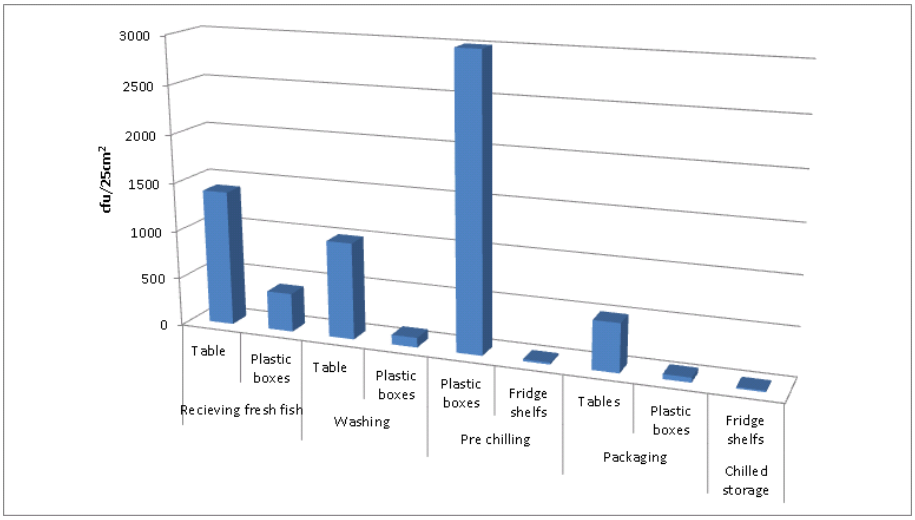

Рис. 2. Распространение бактерий рода *Pseudomonas* spp., на рабочих поверхностях в процессе переработки рыбы

Виды рода *Pseudomonas* способны развиваться в пластиковых контейнерах и на рабочих поверхностях из нержавеющей стали. В процессе производства охлажденной рыбы, пластиковые контейнеры и поверхности из нержавеющей стали, которые тесно контактируют с рыбой, являются хорошим субстратом для образования биопленок. Образование биопленок способствует повторному загрязнению рыбы, и поверхностей, контактирующих с рыбой психротрофными бактериями. Согласно (Verran et al., 2006) микробиологический анализ биофильмов, образующихся на рабочих поверхностях рыбных предприятий, показал на доминирование в их составе видов из следующих родов *Vibrio*, *Flexibacter*, and *Aeromonas.* В представленном исследование особое внимание было обращено на изучение влияния методов очистки и дезинфекции на распространение грам отрицательных, оксидазо положительных бактерий на рабочих поверхностях из нержавеющей стали в зоне потрошения рыбы.

Показана высокая ингибирующая активность 1% водного раствора надуксусной кислоты относительно видов *Pseudomonas spp*. Отмечается значительное снижение количества жизнеспособных клеток в течение 30 мин., от 700 кое/25см^2 до 50кое/см^2. Однако, начиная с 60 минут, после обработки дезинфектантом, отмечается развитие жизнеспособных клеток и рост их количества до 120-150 кое/25см^2. 1% водный

раствор надуксусной кислоты проявляет временное ингибирование психротрофных бактерий рода *Pseudomonas spp*., влияющих на качество охлажденной форели. В соответствие с результатами исследований Тоте (Tote et al., 2010) надуксусная кислота способна подавить рост приблизительно 98% и 99% жизнеспособных клеток *S. aureus* and *P. aeruginosa,*соответственно, только в первые минуты контактного времени. Надуксусная кислота не способна ингибировать развитие психротрофных бактерий в биофильмах. В соответствие с данными других авторов также подчеркивается, что надуксусная кислота менее эффективна относительно биофильмов в сравнении с другими дезинфектантами (Klorasik et al., 2010).

Выводы:

- Бактерии рода *Pseudomonas spp* являются одной из основных групп бактерий играющих важную роль в загрязнении охлажденной рыбы. Виды указанного рода относятся к психротрофным, грамм отрицательным, оксидазо положительным бактериям, которые обладают высокой частотой встречаемости на сырьевой рыбе, на рабочих поверхностях из нержавеющей стали, в процессе переработки и хранении в температурных пределах от $+8^0$C до -13^0C.

- Следует провести более детальные исследования по моделированию формирования биопленок с участием бактерий рода *Pseudomonas spp*, определению эффективности биоцидов относительно видов *Pseudomonas spp* в сообществе с другими видами, как в лабораторных, так и в производственных условиях.

Литература

1. *Arslan, M., Sirkecioglu, N., Bayir, A., Arslan, H. and Aras, M.* 2012. The influence of substitution of dietary fish oil with different vegetable oils on performance and fatty acid composition of brown trout, Salmo trutta. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 12: 575-58.
2. *Austin B., Austin D.A.* Bacterial Fish Pathogens., Springer, Switzerland, 2016, p.723.
3. *Grigoryan K.M., Sargsyan M.P., Ovsepyan V.V., Badalyan G.N.* Distribution of species of the genus Pseudomonas in artificial ponds of Armavir region in Armenia., 7th Int. Conference “Water&Fish”, June 10-12, 2015, Belgrade, Serbia, p. 243-246.
4. *Gudbjornsdottir B., Suihko M. L. P., Gustavsson P., Thorkelsson G., Salo S., Sjoberg A. M., Niclasen O. and Bredholt S.* (2004). The incidence of Listeria monocytogenes in meat, poultry and seafood plants in the Nordic countries. Food Microbiology, 21, pp. 217 - 225.
5. *K. Grigoryan, G. Badalyan, M. Sargsyan, A. Harutyunyan* Assessment of microbiological safety of ground water used in rainbow trout farms LWT - Food Science and Technology. 58, (2014), 360-363.
6. *Hamanaka D, Onishi M, Genkawa T, Tanaka F, Uchino T* (2012). Effects of temperature and nutrient concentration on the structural characteristicsand removal of vegetable-associated Pseudomonas biofilm. Food Control. 24:165-170.
7. *M. Nasreen, A. Sarker, M. Malek, Md. Ansaruzzaman , M. Rahman*. Prevalence and Resistance Pattern of Pseudomonas aeruginosa Isolated from Surface Water. Advances in Microbiology, 2015, 5, 74-81.
8. *Srey S., Jahid I. K., Ha S. D.(*2013). Biofilm formation in food industries: A food safety concern. Food Control, 31(2), pp. 572 - 585.
9. *Verran J. and Whitehead K. A.* (2006a). Assessment of organic materials and microbial components on hygienic surfaces. Food and Bioproducts Processing, 84, pp. 260 -264.
10. *Tote K., Horemans T., Vanden Berghe D., Maes L., and Cos P*. (2010). Inhibitory effect of biocides on the viable masses and matrices of Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa biofilms. Applied and Environmental Microbiology, 76(10), pp. 3135 - 3142.
11. *Krolasik J., Zakowska Z., Krepska M., and Klimek L.(*2010). Resistance of bacterial biofilms formed on stainless steel surface to disinfecting agent. Polish Journal of Microbiology, 59(4), pp. 281 - 287.
12. *S. Stepanovic´, I. C´ Irkovic´, L. Ranin and M. Svabic*. Biofilm formation by Salmonella

spp. and Listeria monocytogenes on plastic surface. Letters in Applied Microbiology, 2004, 38, 428–432.
13. *O. Obemeata, F.* Nnenna and N. Christopher Microbiological assessment of stored Tilapia guineensis. African J. of Food Sci. Vol. 5(4), pp. 242 – 247, 2011.

Биолог. журн. Армении, 1 (69), 2017

ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФУКОЗОСПЕЦИФИЧЕСКОГО ЛЕКТИНА ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ НОВООБРАЗОВАНИЙ

ГЮРДЖЯН К.Г.[1], ДАВТЯН М.П.[1], ГРИГОРЯН Р.М.[2], САРКИСЯН Н.К.[2]

[1]Институт биохимиим.Г.Х. Буниатяна НАН РА, Севака 5/1
[2] Институт Молекулярной биологии НАН РА
qristinegurjyan1993@mail.ru

Лектины, углеводсвязывающие белки, рассматриваются в качестве перспективных маркеров для выявления опухолей. Проведена очистка фукозоспецифического лектина из луковиц тюльпана. Процедура очистки включала фракционирование сульфатом аммония, ионообменную хроматографию. При электрофорезе, проведенном в неденатурирующих условиях, получен гомогенный препарат белка. Проведена иммобилизация фукозоспецифического лектина на предварительно силанизированные поверхности предметных стекол. Показано его специфическое связывание с клеточной линией хронической миелоидной лейкемии человека KCL22.

Фукозоспецифический лектин – агглютинация – силанизация – опухоль

Լեկտինները՝ ածխաջրեր կապող սպիտակուցները, դիտվում են որպես հեռանկարային մարկերներ նորագոյացությունների ախտորոշման ժամանակ: Իրականացվել է ֆուկոզսպեցիֆիկ լեկտինի անջատում վարդակակաչի սոխուկներից: Լեկտինի մաքրման ընթացքը ներառում է ամոնիումի սուլֆատով նստեցումը և իոնափոխանակային քրոմատոգրաֆիան: Ստացվել է էլեկտրոֆորետիկ հոմոգեն սպիտակուց: Էլեկտրոֆորեզն իրականացվել է ոչ դենատուրացված պայմաններում: Վերոնշյալ սպիտակուցը իմոբիլիզացվել է սիլանիզացված առարկայակիր ապակու մակերեսին: Ցույց է տրված տվյալ լեկտինի խնամակցությունը մարդու արյան քրոնիկ միելոիդ լեյկեմիայի KCL22 բջջային գծի հետ:

Ֆուկոզսպեցիֆիկ լեկտին – ագլուտինացում- սիլանիզացում-ուռուցք

Lectins - carbohydrate binding proteins, are considered as the prospective markers for tumor detection. In this respect, the purification of fucose specific lectin from tulip bulbs was conducted. Purification involved fractionation by ammonium sulphate, followed by ion –exchange chromatography. As a result electrophoretically homogeneous protein in non-denaturating conditions was obtained. The protein immobilization on silanized glass slides was conducted and its binding with human chronic myeloid leukemia cell line KCL22 was demonstrated.

Fucose specific lectin- agglutination- silanization- tumor

Процесс канцерогенеза сопровождается серьезными изменениями в метаболизме клетки, направлеными на обеспечение ряда функций. В частности, активируется пролиферация клетки с одной стороны, с другой - предотвращается иммунный ответ. Одной из основных характеристик опухолевых клеток, отличающих их от нормальных , - это аберрантное гликозилирование. Причем гликозилирование затрагивает как внутриклеточные белки, так и белки на плазматической мембране. Первое четкое экспериментальное доказательство того, что злокачественная трансформация