

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН  
Казахский национальный исследовательский технический университет имени  
К.И. Сатпаева

Институт геологии и нефтегазового дела им. К. Турысова  
Кафедра «Химическая и биохимическая инженерия»

Легкодымова Алина Артемовна

Особенности распространения *Salmonella* в пищевой цепи

**ДИПЛОМНАЯ РАБОТА**

Специальность 6В05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Алматы 2023

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический университет имени  
К.И. Сатпаева

Институт геологии и нефтегазового дела им. К. Турысова

Кафедра «Химическая и биохимическая инженерия»

ДОПУЩЕНА К ЗАЩИТЕ  
Заведующий кафедрой  
«Химическая и  
биохимическая инженерия»  
доктор Ph.D.  
А.А. Амитова  
«2» июля 2023г

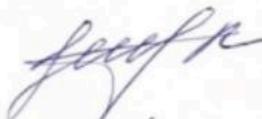


## ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

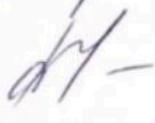
На тему: «Особенности распространения Salmonella в пищевой цепи.»

По специальности 6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

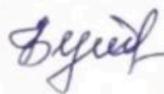
Выполнила

 Легкодымова А.А.

Научный руководитель

 Джамалова Г.А, к. с/х н.,  
доцент, ассоциированный  
профессор

Рецензент

 Борібай Э.С., кандидат  
биол. Наук ассоц.  
Профессор НАО  
Университета Нархоз

Алматы 2023

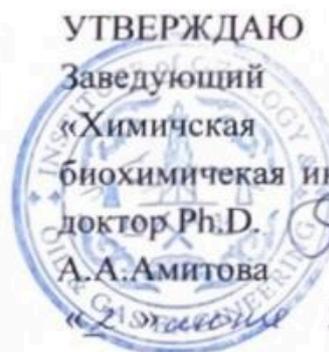
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН  
Казахский национальный исследовательский технический университет имени  
К.И.Сатпаева

Институт геологии и нефтегазового дела им. К.Турысова

Кафедра «Химическая и биохимическая инженерия»

Специальность 6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

УТВЕРЖДАЮ  
Заведующий кафедрой  
«Химическая и  
биохимическая инженерия»  
доктор Ph.D.  
А.А.Амитова  
2023г



### ЗАДАНИЕ

#### На выполнение дипломной работы

Обучающейся Легкодымовой Алины Артемовны

Тема: Изучение распространения Salmonella в пищевой цепи.

Утверждена приказом № 408 от 13.11.2022 г.

Срок сдачи законченной работы 20 мая 2023 г.

Исходные данные к дипломной работе получены на основе экспериментальных расчетных и лабораторных работ.

Краткое содержание дипломной работы:

- А) Введение. Литературный обзор
- Б) Объект, материалы и методика исследования
- В) Результаты исследований, заключение и выводы

Перечень графического материала: В работе представлены 24 рисунков.

Рекомендуемая основная литература: состоит из 129 наименований.

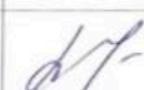
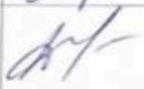
## ГРАФИК

### Подготовки дипломной работы (проекта)

Наименование перечень вопросов	разделов, разрабатываемых	Сроки представления научному руководителю	Примечание
Введение. Обзор литературы		27.02.2023	выполнено
Материал исследований	и методика	15.04.2023	выполнено
Результаты Заключение и выводы	исследования.	16.05.2023	выполнено

## Подписи

Консультантов и нормоконтролера на законченную дипломную работу (проект) с указанием относящихся к ним разделов работы (проекта)

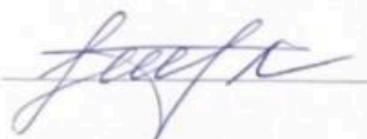
Наименования разделов	Консультанты, И.О.Ф. (уч. Степень, звание)	Дата подписания	Подпись
Основная часть	Джамалова Г.А., к.с.х.н., доцент, ассоц.проф.	16.05.23.	
Экспериментальная часть исследований	Джамалова Г.А., к.х.с., доцент, ассоц. проф.	16.05.23.	
	Мельникова Т.В., руководитель отдела микробиологии ТОО «НЦЦ АЕГ»	16.05.23.	
Нормоконтролер	Джамалова Г.А., к.с.х.н., доцент, ассоц.проф.	06.02.23.	

Научный руководитель,  
ассоц. профессор к.х.с.н.,  
доцент

  
\_\_\_\_\_

Джамалова Г.А.

Задание принял к  
исполнению  
обучающийся

  
\_\_\_\_\_

Легкодымова  
А.А.

## АННОТАЦИЯ

Дипломная работа на тему «Изучение распространения Salmonella в пищевой цепи.» включает страниц, рисунков, таблиц, графика. Обзор литературы выполнен при изучении источников научной литературы.

Цель. Изучение распространения Salmonella в пищевой цепи.

Задачи:

- 1 Изучить распространение Salmonella в пищевой цепи
- 2 Определить пути распространения Salmonella в пищевой цепи
- 3 Исследовать особенности распространения Salmonella
- 4 Понять применение современной идентификации Salmonella в пищевой цепи

Особенности распространения бактерии рода Salmonella в пищевой цепи были изучены методом культивирования на различных питательных средах для идентификации и накопления культуры Salmonella, а также проведения биохимии Salmonella, для исследования характерных факторов и воздействия Salmonella.

Ключевые слова: Salmonella, идентификация, пищевая цепь, пути распространения, патогенность.

## АНДАТПА

«Қоректік тізбектегі сальмонеллалардың таралуын зерттеу» тақырыбына дипломдық жұмыс. Беттерді, суреттерді, кестелерді, графикаларды қамтиды. Әдебиеттік шолу ғылыми әдебиет көздерін зерттеу барысында жүргізілді.

Тапсырмалар:

1. Сальмонеллалардың қоректік тізбекте таралуын зерттеу
2. Сальмонеллалардың қоректік тізбекте таралуын анықтаңыз
3. Сальмонеллалардың таралуын зерттеңіз
4. Қазіргі заманғы сальмонелла идентификациясының қоректік

тізбекте қолданылуын түсіну

Сальмонелла культурасын анықтау және жинақтау, сондай-ақ сальмонелла биохимиясын жүргізу, сальмонеллаларға тән факторлар мен әсерлерді зерттеу үшін әртүрлі қоректік орталарда өсіру арқылы қоректік тізбектегі *Salmonella* бактерияларының таралуы зерттелді.

Негізгі сөздер: Сальмонелла, идентификация, қоректік тізбек, таралу жолдары, патогенділігі.

## ANNOTATION

Thesis on the topic "Studying the distribution of Salmonella in the food chain." includes pages, figures, tables, graphics. The literature review was carried out while studying scientific literature sources.

Target. Studying the distribution of Salmonella in the food chain.

Tasks:

- 1 Study the distribution of Salmonella in the food chain
- 2 Determine the distribution of Salmonella in the food chain
- 3 Investigate the distribution of Salmonella
- 4 Understand the application of modern Salmonella identification in the food chain

The distribution of Salmonella bacteria in the food chain was studied by culturing on various nutrient media to identify and accumulate the culture of Salmonella, as well as to conduct Salmonella biochemistry, to study the characteristic factors and effects of Salmonella.

Key words: Salmonella, identification, food chain, distribution routes, pathogenicity.

## Содержание

	Введение	1
1	Литературный обзор	2
1.1	Биология <i>Salmonella</i>	2
1.1.1	Экология	2
1.1.2	Морфология	4
1.1.3	Генетика	6
1.1.4	Физиология и биохимия	7
1.2	Пищевая цепь и распространение <i>Salmonella</i>	10
1.2.1	Пищевая цепь <i>Salmonella</i>	10
1.2.2	Пути распространения	11
1.2.3	Особенности распространения <i>Salmonella</i> в пищевой цепи	12
2	Материалы и методика исследований	14
2.1	Материалы	14
2.2	Нормативные документы	14
2.3	Оборудование, посуда и материалы исследования	14
2.3.1	Оборудование и аппараты	14
2.3.2	Лабораторная посуда	17
2.3.3	Питательные среды	17
2.4	Методика исследования	18
2.4.1	Посев на жидкие питательные среды	18
2.4.2	Посев на твёрдые питательные среды	19
2.4.3	Стерелизация	19
2.4.4	Культивирование микроорганизмов	19
2.4.5	Определение и идентификация <i>Salmonella</i>	19
3	Результаты исследования	20
3.1	Подготовка питательной среды	20
3.2	Подготовка исследуемого материала	20
3.3	Пересев на идентифицирующие среды	20
3.4	Подтверждение <i>Salmonella</i>	20
3.5	Визуальное определение <i>Salmonella</i> для продолжения исследования	20
3.6	Агглютинация	21
3.7	Определение биохимии серовара	22
	Заключение	26
	Список используемой литературы	27

## ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Уникальность исследования и анализов экспертизы указывает на стремление роста, распространение и патогенность *Salmonella* в пищевой цепи и возможное влияние на человека.

Цель. Изучение особенности распространения *Salmonella* в пищевой цепи.

Задачи:

1. Исследование *Salmonella* в пищевой цепи.
2. Использование методов культивирования в лабораторных условиях на основе теоретических знаний и изучить их практическое значение в распространении *Salmonella* в пищевой цепи.
3. Обработка анализов исследования для определения особенностей *Salmonella* распространяться в пищевой цепи.

Научное значение. Результаты исследования позволяют на основе полученных знаний определять оптимальные условия для культивирования *Salmonella* и оптимизировать процессы.

Прикладное значение. Применение *Salmonella* в биотехнологии для улучшения качества пищевых продуктов.

Структура и объем дипломной работы. Дипломная работа (46 стр.) включает введение (1 стр.), обзор литературы (9 стр.), объект и методы исследования (7стр.), результаты исследования (6стр.), заключение (1 стр.). Обзор литературы выполнен при изучении 120 источников научной литературы. В дипломной работе представлены 24 рисунка.

# 1 Литературный обзор

## 1.1 Биология *Salmonella*

### 1.1.1 Экология

*Salmonella* — кишечная бактерия, патогенная для человека и вызывающая широкий спектр симптомов, прежде всего гастроэнтерит. Он может передаваться при употреблении неправильно продезинфицированной воды или загрязненной воды для отдыха, но заражение происходит в основном из-за передачи через пищу. [1]

*Salmonella typhi* представляет собой палочковидную грамотрицательную бактерию, принадлежащую к семейству *Enterobacteriaceae*, способ передачи которой — фекально-оральный. [2]

Инкубация сальмонеллы *in vitro* с клетками культуры тканей млекопитающих показала, что инвазия в эпителиальные клетки сложна и включает несколько генетических локусов и факторов хозяина. [3]

*Salmonella Hadar* является первой причиной выбраковки бройлеров, и никакое лечение антибиотиками не допускается для ее предотвращения или лечения, тогда как *Salmonella Enteritidis* является наиболее часто выделяемым штаммом выделяемым из печени и селезенки, связанным с мясом птицы. [4]

Они составляют основную группу семейства *Enterobacteriaceae* и, как полагают, произошли от того же предка, что и *Escherichia coli* 160-180 миллионов лет назад, при этом кишечная палочка и некоторые серовары сальмонеллы адаптировались к млекопитающим, в то время как другие серовары сальмонеллы адаптировались к рептилиям. [5]

Сальмонеллы являются факультативными анаэробами, то есть они могут расти как в присутствии кислорода, так и в его отсутствии. Они могут выживать в различных средах, включая почву, воду, пищевые продукты, кишечник людей и животных. [6]

Применили адаптивный лабораторный эволюционный подход к повышению термостабильности недавно выделенного лизирующего *Salmonella* литического фага ФУМФМ0293 и изучили его применение в процессе ошпаривания птицы. [7]

В почве и воде сальмонеллы могут выживать до нескольких месяцев в зависимости от условий окружающей среды. Они могут проникать в пищевые продукты, такие как мясо, яйца, молоко и другие продукты животного происхождения, и вызывать инфекции у людей, если такие продукты не были подвергнуты достаточной термической обработке. [8]

Сальмонеллы могут также жить в кишечнике различных животных, таких как птицы, скот, свиньи и другие, и передаваться через их фекалии. В результате, продукты, которые могут быть загрязнены фекалиями животных, могут быть заражены сальмонеллами. [9]

Из-за своей способности выживать в различных средах и передаваться через разные источники, сальмонеллы могут вызывать широкий спектр заболеваний у людей и животных. Поэтому, соблюдение правил гигиены и безопасности при приготовлении и хранении пищевых продуктов, а также

соблюдение правил по обращению с животными, могут помочь предотвратить заражение сальмонеллой. [10]

*Salmonella* может попасть в шоколад через поступающие какао-бобы. Какао-бобы являются известным потенциальным источником *Salmonella* из-за плохих гигиенических условий во время сбора урожая, ферментации и сушки. [11]

Один из четырех изолятов был взят с палубы лодки, а три — с завода по переработке морепродуктов. Сальмонелла была более распространена в январе, июне и сентябре. [12]

Тифоидные серовары (т.е. брюшной тиф и паратифы) являются патогенами, ограниченными человеком, которые могут вызывать тяжелые системные заболевания, брюшной тиф или паратиф. Нетифоидные серовары *сальмонеллы* (NTS), из которых *Enteritidis* и *Typhimurium* являются одними из наиболее распространенных у клинических пациентов, могут бессимптомно колонизировать широкий круг животных и обычно вызывают гастроэнтерит у людей. [13]

*Salmonella typhi* и *Salmonella paratyphi* являются патогенами с ограниченным хозяином, резервуаром которых является человек. В отличие от других сероваров *сальмонеллы*, которые в первую очередь вызывают местное воспаление кишечника и диарею, *S. Typhi* и *S. Paratyphi A, B* и *C* характерно проникают из желудочно-кишечного тракта в кровоток, выживают и размножаются в макрофагах и в 1–4% случаев приводят к хроническому носительству. [14]

Многие из этих заболеваний, в том числе вызванные *Salmonella spp.* и *L. monocytogenes*, были связаны с контактом человека как с сырым мясом, так и со свежими продуктами, при этом передача происходит в результате упаковки и обработки, загрязненного орошения, ошибок обработчика, неправильного хранения и загрязненных почвенных систем. [15]

Биопленки защищают бактерии от высыхания, ультрафиолета, температуры, дезинфицирующих средств и осмотического стресса. Сальмонелла может образовывать биопленки и проявляет большую устойчивость к экстремальным средам, а именно к теплу, кислоте и осмотическому стрессу. [16]

Поскольку сальмонелла обычно переносится в кишечном тракте мясных цыплят, пищевые добавки могут изменять окружающую среду и нарушать колонизацию *сальмонеллы*. [17]

Между тем, жидкий яичный белок нельзя пастеризовать перед сушкой, так как температура пастеризации может повлиять на функциональные свойства получаемых порошков. Таким образом, *EWP* может быть потенциально заражен сальмонеллой, поскольку традиционная пастеризация жидкости не всегда уничтожает все патогены. [18]

В отличие от листерий, большинство серотипов *сальмонелл* медленно растут при температурах охлаждения (диапазон температур роста 5–46 °C) и чувствительны к теплу. *Bacillus spp.* широко распространены в природе и

распространены в сырой и обработанной пище, главным образом из-за их способности спорулироваться. [19]

Исследования показывают, что наследуемость выживаемости цыплят после заражения *сальмонеллой* варьировалась от 0,14 до 0,62. [20]

Поскольку селезенка в первую очередь участвует в распознавании и выведении бактерий, многие исследования были сосредоточены на транскриптом селезенки после заражения *сальмонеллой* для идентификации генов и путей хозяина, связанных с иммунитетом. [21]

Аналогичным образом, уровни *сальмонеллы* также увеличились примерно на 6,0 log КОЕ на ломтик при 12 ° C при отсутствии дополнительных противомикробных препаратов; однако уровни этого патогена снизились примерно на 1,7 log КОЕ / срез через 90 дней при 4 ° C. [22]

Свиньи часто болеют бессимптомной *сальмонеллезной* инфекцией и могут быть как переносчиками, так и линяющими. [23]

Исторические базовые исследования носительства слепых кишек и загрязнения *туши сальмонеллой* у свиней показали, что уровни в Великобритании были выше среднего показателя по ЕС. Распространенность *сальмонеллы* 22–23% в образцах содержимого слепых кишек и 15,2% в образцах мазков туши наблюдалась в Великобритании по сравнению со средним показателем по ЕС 10,3% и 8,3% соответственно. [24]

### 1.1.2 Морфология

*Salmonella* - это бактерия, которая принадлежит к семейству *Enterobacteriaceae* и роду *Salmonella*. Бактерии рода *Salmonella* имеют грам-отрицательную окраску и могут вызывать различные заболевания у человека и животных, такие как тиф, *сальмонеллез*, паратиф и другие. [25]

Детские смеси (IF) часто связаны с передачей патогенов пищевого происхождения, таких как *Salmonella spp.*, поскольку этот микроорганизм может противостоять процессу сушки при производстве IF. [26]

Патогенная кишечная палочка обычно обитает в кишечнике человека, вызывая такие заболевания, как геморрагический колит и гемолитико-уремический синдром. [27]

*Сальмонеллы* представляют собой грамотрицательные, факультативно-анаэробные, некапсулированные (кроме *S. Typhi/paratyphi*), неспорообразующие, подвижные палочки. [28]

*Таксономия сальмонелл* сложна и находится в постоянном состоянии. [29]

Исторически патогенные *сальмонеллы*, вероятно, всегда были связаны с заболеванием человека, но связь между патогеном и *сальмонеллезом* не всегда была очевидной и является более недавней разработкой. [30]

*Сальмонеллы* – это кишечные бактерии, группа, которая включает грамотрицательные, факультативно анаэробные палочковидные палочки, классифицируемые как члены семейства *Enterobacteriaceae*. [31]

Адаптированные к хозяину серовары, которые связаны с одним видом-хозяином, но также способны вызывать заболевание у других хозяев. Сальмонелла Холеры и сальмонеллы брюшного тифа относятся к этой группе. [32]

Жизнеспособность клеток *S. Typhimurium*, подвергшихся воздействию замораживания, относительно отличалась от других температурных стрессов и контроля. После обработки всех клеток, подвергшихся температурному стрессу, СРС-низином, клетки, подвергшиеся воздействию замораживания, также показали самый высокий уровень уничтожения ( $P < 0,05$ ) из  $5.16 \log_{10}$  КОЕ/мл. [33]

Они подвижны из-за использования нескольких жгутиков, но могут стать неподвижными в культуре. [34]

Сальмонеллы – это подвижные организмы, которые используют свои жгутики, чтобы направиться к энтероцитам. [35]

Морфологически, *Salmonella* является грамотрицательной бактерией, имеющей форму коротких, тонких, безмоторных палочек длиной от 2 до 5 микрометров и шириной от 0,5 до 1 микрометра. Она имеет капсулу и липополисахаридный внешний слой на своей поверхности. [36]

Все сальмонеллы приспособлены к кишечным трактам позвоночных. Некоторые из них могут колонизировать/заражать широкий круг позвоночных хозяев; В качестве альтернативы штаммы могут иметь абсолютную специфичность хозяина. [37]

Селективные среды для выявления сублетального повреждения мембран часто основаны на добавке NaCl. [38]

Низин может быть применен в качестве биоконсерванта для ингибирования активности этих грамотрицательных бактерий при производстве продуктов питания в этих стрессовых условиях. [39]

Некоторые штаммы сальмонеллы могут быть эффективными кишечными комменсалами у птиц и рептилий, а также могут колонизировать репродуктивные органы. [40]

Как правило, во время обработки пищевых продуктов внешняя мембрана грамотрицательных бактерий, включая сальмонеллу, может быть нарушена стрессовыми условиями, такими как температурный и pH-стресс, возникающие во время обработки пищевых продуктов. [41]

В целом, *Salmonella* похожа на другие бактерии из семейства *Enterobacteriaceae*, но она может быть отличена от них по определенным морфологическим, биохимическим и серологическим свойствам, таким как наличие антигенов, которые используются для идентификации различных штаммов *Salmonella*. [42]

Морфологические изменения сальмонелл исследовали с помощью сканирующей электронной микроскопии. [43]

Для *S. Typhimurium* при pH 6,5 и 2% (мас./об.) NaCl планктонные клетки имеют максимальную удельную скорость роста  $0,435 \text{ 1/ч}$ , в то время как  $\mu_{\text{max}}$

для поверхностных колоний имеет значение 0,464 1/ч. Для *L. Monocytogenes* при pH 6,0 и 0% (мас./об.) NaCl,  $\mu$ max, планктонные клетки составляет 0,375 1/ч и  $\mu$ max, поверхностные колонии составляет 0,424 1/ч. [44]

Этот кластер генов, называемый кластером вирулентности плазмиды сальмонеллы (spv), был идентифицирован у эпидемиологически важных сероваров сальмонеллы, таких как Enteritidis, Typhimurium, Dublin и Gallinarum. [45]

Чтобы выжить в окружающей среде, *S. Typhimurium* развил несколько различных механизмов, и его способность прилипать к твердым поверхностям и образовывать биопленки является одной из наиболее важных. [46]

Внеклеточные структуры, способствующие образованию биопленки, включают курли фимбрии, целлюлозу, капсульный полисахарид и другие полисахариды, такие как ЛПС. [47]

Штаммы, способные к образованию биопленки, часто образуют колонии типичного морфотипа RDAR (красный, сухой и шероховатый), что обусловлено коэкспрессией завитков фимбрии и целлюлозы. [48]

Микроорганизмы выращивают в чашках Петри, инкубированных при 20 °C в статических условиях. [49]

Другие морфотипы, такие как BDAR (коричневый, сухой и шероховатый) или SAW (гладкий и белый), были описаны в экспериментах с делеционными мутантами в генах *csg*, необходимых для синтеза *curli fimbriae* или генами *csg* и *bcs*, кодирующими синтез целлюлозы, соответственно. [50]

Полевые штаммы *S. Typhimurium* на предмет их способности образовывать биопленки и продуцировать внеклеточные структуры, необходимые для адгезии к твердым поверхностям. Поскольку несколько авторов описали корреляцию между морфологией колоний и образованием биопленки. [51]

Клетки *S. typhimurium*, не обработанные и обработанные СРС-низином, имели нарушенную морфологию клеток, включая видимые углубления и кратеры на поверхности клеток и коллапсировавшие аморфные тела. [52]

### 1.1.3 Генетика

Генетика сальмонеллы изучается в течение десятилетий, и многое известно о ее геноме и механизмах генетической изменчивости, ген, кодирующий специфические характеристики сальмонеллы, может быть обнаружен с помощью ПЦР-анализа. [53]

Они обладают геномом размером 4,8 Мб, вариабельно модифицированным несколькими лизогенными геномами фагов, плазмидами и другими мобильными генетическими элементами. [54]

При анализе последовательности ДНК распознают шесть подгрупп «*Salmonella enterica*». [55]

Геном сальмонеллы состоит из одной хромосомы и обычно нескольких плазмид. Хромосома содержит около 4-5 миллионов пар оснований, которые кодируют примерно 4-5 тысяч генов. Существует большое разнообразие

штаммов сальмонеллы, которые отличаются друг от друга по наличию и расположению генов, что отражается на их фенотипических свойствах. [56]

Химический состав О-антигена также является важным фактором в активации комплемента альтернативным путем и может влиять на скорость фагоцитоза макрофагами. [57]

Сальмонелла имеет различные механизмы генетической изменчивости, включая транспозицию, интеграцию и вырезание генов, рекомбинацию и горизонтальный перенос генов между штаммами. Эти механизмы позволяют сальмонелле адаптироваться к различным условиям окружающей среды, включая пищевые продукты, животных и человека. [58]

Одна из наиболее известных особенностей генетики сальмонеллы - это наличие системы патогенности (SPI), которая содержит гены, кодирующие различные факторы вирулентности, необходимые для заражения человека и животных. Также в геноме сальмонеллы есть гены, ответственные за резистентность к антибиотикам, которые могут быть переданы между различными штаммами сальмонеллы и между другими бактериями через горизонтальный перенос генов. [59]

Развитие сальмонеллы как генетической системы стало возможным благодаря открытию генерализованного трансдуцирующего фага P22, который опосредует генетические скрещивания между штаммами сальмонелл. [60]

Сальмонелла является привлекательной генетической системой во многом потому, что ее фаг легко размножается, стабилен при хранении и является эффективным преобразователем. [61]

Изучение генетики сальмонеллы позволяет лучше понимать механизмы ее взаимодействия с окружающей средой и определять стратегии борьбы с этим патогеном, в том числе разработку новых методов диагностики и лечения. [62]

Вирулентность *Salmonella* представляет собой очень сложное явление и, вероятно, определяется динамикой «источник-приемник», некоторые сальмонеллы серовары такие как *Typhi*, *Pullorum*, *Gallinarum*, *Dublin*, *Choleraesuis* и *Enteritidis*, очень специфичны для хозяина, с исходной средой обитания (такой, в которой увеличивается популяция), которую мы считаем резервуаром инфекции у людей (*Typhi*), домашней птицы (*Pullorum*, *Gallinarum*, *Enteritidis*), свиней (*Choleraesuis*) и крупного рогатого скота (*Dublin*), серовары, такие как *Typhi*, *Gallinarum* и *Pullorum*, вызывают заболевание почти исключительно в своем резервуаре, в то время как другие, такие как *Choleraesuis* и *Dublin*, также вызывают заболевание в поглотительной среде обитания (такой, которая не может поддерживать популяцию в одиночку), т.е. вне их нормального резервуара (например, у людей). [63]

#### **1.1.4 Физиология и биохимия**

Физиология и биохимия сальмонеллы - это области науки, изучающие функционирование этой бактерии на уровне клетки и метаболизма. Сальмонеллы являются факультативными анаэробами и являются каталазоположительными, оксидазно-отрицательными и

ферментируют глюкозу, маннит и сорбитол с образованием кислоты или кислоты и газа. [64]

Некоторые сальмонеллы (особенно *S. typhimurium*) часто устойчивы к нескольким антибиотикам одновременно, поэтому тестирование чувствительности изолятов к противомикробным препаратам является обязательным. [65]

Они подвижны из-за использования нескольких жгутиков, но могут стать неподвижными в культуре. [66]

В последние годы устойчивость к противомикробным препаратам стала серьезной проблемой общественного здравоохранения, что можно объяснить использованием и чрезмерным использованием антибиотиков и передачей резистентности внутри и между особями *Salmonella*. [67]

Было исследовано путем проведения экспериментов по чувствительности к противомикробным препаратам *in vivo*, бактерии в начальных концентрациях  $\sim 10^7$  КОЕ/мл инкубировали в молочной кислоте в течение 6 ч перед нанесением покрытия для определения жизнеспособности. За исключением листерии, воздействие 0,25% молочной кислоты полностью убило сальмонеллу и кишечную палочку после 2 часов инкубации. [68]

Обнаружили, что лечение сальмонеллы алк-аспирином (1 мМ) при 37 °С в течение 4 ч может значительно влиять на транскрипцию гена сальмонеллы и ингибировать рост сальмонеллы. [69]

Сальмонеллы легко приспосабливаются и могут выживать во многих экологических нишах, включая мясо и мясные продукты. Этот экологический успех отчасти обусловлен сложной физиологией, позволяющей использовать разнообразные источники питательных веществ и устойчивостью к ряду экологических стрессов. [70]

Теперь более очевидно, что сальмонелла приняла тонко настроенные стратегии для адаптации, жизни и колонизации слизистой оболочки кишечника и претерпела сложную коэволюцию со своими хозяевами и другими кишечными бактериями, с которыми ей приходится конкурировать. [71]

Сальмонеллы используют многогранный подход к вирулентности, который обеспечивает выживание не только в кишечнике, но и в иммунных клетках многих животных, включая человека. [72]

В развивающихся странах заражение сальмонеллой чаще всего приводит к тяжелому гастроэнтериту, а при некоторых вспышках до 40% случаев может развиваться сепсис и 30% случаев могут умереть. В этих вспышках часто участвуют штаммы сальмонеллы, устойчивые к нескольким антимикробным агентам. [73]

Штаммы *S. Typhimurium* DT104, обычно устойчивый по меньшей мере к пяти, а иногда и более антибиотикам, регулярно вызывал связанные с пищевыми продуктами вспышки тяжелых желудочно-кишечных инфекций. [74]

Сальмонеллы являются выносливыми организмами и могут выживать в различных условиях окружающей среды за пределами позвоночного хозяина. [75]

Следует отметить, что не все серовары обладают всеми островками, и что дифференциальная патогенность у разных хозяев может быть связана с наличием или отсутствием таких островков как часть баланса между приобретением генов и функциональной потерей генов, наблюдаемой в геномах адаптированных к хозяину сероваров сальмонеллы. [76]

*Salmonella* является грамотрицательной бактерией, которая имеет сложную структуру клетки, состоящую из внешней оболочки (липополисахарида и белков), клеточной стенки и внутренней мембраны. Эти структуры играют важную роль в жизненных процессах сальмонеллы, включая защиту клетки от окружающей среды, регуляцию переноса веществ и роста клетки. [77]

*Salmonella* является факультативным анаэробом, что означает, что она может выживать как в аэробных (с кислородом) так и в анаэробных (без кислорода) условиях, также может расти при широком диапазоне pH, от 4 до 9, и при температурах от 5 до 45 градусов Цельсия. [78]

Инфекционные организмы могут выживать в почве месяцами, а в сушеных пищевых продуктах — годами. [79]

Метаболизм сальмонеллы основан на окислении глюкозы, которая превращается в пирогалловый и муравьиный кислоты, *Salmonella* также может использовать другие источники углерода, такие как лактат, сахароза, мальтоза и аминсахариды. [80]

*Salmonella* проявляет высокую способность к адаптации к различным условиям окружающей среды, включая способность к образованию биопленок, которые защищают бактерии от антибиотиков и других факторов стресса. Она также способна к образованию спор, которые могут выживать в течение многих лет в сухой и холодной среде. [81]

Изучение физиологии и биохимии сальмонеллы позволяет лучше понимать механизмы ее выживания и развития, а также определять стратегии борьбы с этим патогеном, в том числе разработку новых методов диагностики и лечения. [82]

*Salmonella enterica* подвида *enterica* серотипа *Typhi* ATCC 19214, *Salmonella enterica* подвида *enterica* серотипа *Typhimurium* ATCC 14028, *Salmonella enterica* подвида *enterica* серотипа *Agona* LMQA-747, *Salmonella enterica* подвида *enterica* серотипа *Cubana* LMQA-826 и *Salmonella enterica subspecies enterica enterica* серотип *Mbandaka* LMQA-734 для получения более репрезентативной выборки, эти штаммы были выбраны на основе их термостойкости, в значительной степени. [83]

Кроме того, мы обсуждаем специфические механизмы уклонения от комплемента белка внешней мембраны, такие как рекрутирование регуляторных белков комплемента, блокирование сборки поздних компонентов комплемента с образованием комплекса мембранной атаки и протеолитическое расщепление белков комплемента. [84]

## **1.2 Пищевая цепь и распространение *Salmonella***

### **1.2.1 Пищевая цепь *Salmonella***

Сальмонелла может находиться в различных продуктах питания, таких как мясо, яйца, молоко и другие молочные продукты, овощи, фрукты, а также в воде и почве. [85]

Сальмонелла может попасть в продукты питания из-за неправильной обработки или хранения продуктов, а также из-за использования загрязненной воды для полива растений или содержания животных. Кроме того, сальмонелла может передаваться через контакт с зараженными животными или человеком. [86]

Зоонозный потенциал – это способность сальмонеллы выживать, расти и распространяться в производственной цепочке или продуктах питания, а затем вызывать заболевание у людей. [87]

Способность сальмонеллы выживать, расти и распространяться в производственной цепочке и продуктах питания, а затем вызывать заболевания у людей была ZP (зоонозный потенциал), которая была основана на данных Центров по контролю и профилактике заболеваний США для сальмонеллеза. [88]

После того, как сальмонелла попадает в продукты питания, она может размножаться и вызывать болезни у людей, которые употребляют эти продукты. Человеческий организм может также стать зараженным, если он контактирует с зараженными животными или средой. [89]

Сальмонелла может также играть роль в экосистеме как пищевой источник для других организмов. Например, она может служить источником питания для рыб, птиц, насекомых и других животных. [90]

В целом, сальмонелла является важным звеном в пищевой цепи, но ее наличие в продуктах питания может представлять угрозу для здоровья человека и животных. Поэтому необходимо соблюдать правила гигиены при приготовлении и употреблении продуктов питания, а также обеспечивать контроль качества продуктов, чтобы минимизировать риски заражения сальмонеллой. [91]

Используется байесовская модель доказательного синтеза, основанная на данных, собранных из 27 отдельных исследований - исчерпывающий поиск существующей литературы, чтобы выразить и перечислить текущее понимание распространенности *сальмонеллы* в пищевой цепи овечьего мяса в виде вероятностей колонизации по всей пищевой цепи. [92]

Поскольку традиционные методы, зависящие от культуры, и полимеразная цепная реакция являются трудоемкими и трудоемкими, раннее и точное обнаружение сальмонеллы в пробах пищи и воды может предотвратить значительное экономическое бремя для здоровья и снизить затраты. [93]

Многие патогенные бактерии способны вызывать заболевания, передающиеся через пищу / воду, которые представляют большой риск для здоровья населения и мировой экономики. Среди бактериальных патогенов, передающихся через пищу / воду, *сальмонелла* является одним из наиболее заметных патогенов, вызывающих желудочно-кишечные проблемы. [94]

### 1.2.2 Пути распространения

Возбудитель передается фекально-оральным путем, и этому способствуют плохие гигиенические условия, отсутствие чистой воды и плохие санитарные условия. [95]

*Salmonella* может находиться в продуктах питания, таких как мясо, яйца, молоко и другие молочные продукты, овощи, фрукты и другие продукты, которые могут быть загрязнены в процессе производства, обработки, транспортировки или хранения. [96]

*Salmonella* может находиться в загрязненной воде и может быть передана людям и животным через потребление этой воды. [97]

Через контакт с зараженными животными, *Salmonella* может быть передана людям через контакт с зараженными животными, такими как домашние животные и скот. [98]

*Salmonella* может передаваться от человека к человеку через контакт с зараженными лицами, особенно если они не соблюдают правила личной гигиены. [99]

Сальмонеллезозаги могут быть многообещающими инструментами для уменьшения выделения сальмонеллы у крупного рогатого скота, а также для уменьшения и контроля появления сальмонеллы в послеуборочных продуктах питания (таких как пищевые добавки) и на предприятиях пищевой промышленности (таких как биодезинфицирующие агенты). [100]

*Salmonella* может находиться в почве и быть передана людям через пищу или контакт с загрязненной почвой. [101]

В целом, *Salmonella* может распространяться через множество путей, поэтому важно соблюдать правила гигиены, чтобы минимизировать риски заражения. Это включает правильную обработку и хранение продуктов питания, частое мытье рук, использование чистой воды и т.д. [102]

Сальмонеллез у людей, как правило, передается при употреблении загрязненной и плохо обработанной пищи, небрюшной тиф сальмонеллез остается широко распространенным из-за загрязнения пищевых продуктов или бессимптомного носительства, включая продукты животного происхождения (в основном мясо, курицу и яйца). [103]

Они размножаются в тонкой кишке, колонизируя и впоследствии вторгаясь в ткани кишечника, вырабатывая энтеротоксин и вызывая воспалительную реакцию и диарею. [104]

Нетифоидные инфекции сальмонеллы (NTS) обычно вызывают самоизлечивающийся острый гастроэнтерит, при котором бактерии остаются локализованными в кишечнике и дренирующих брыжеечных лимфатических узлах (MLN). [105]

Сальмонелла, как энтеробактериальный патоген, разработал несколько механизмов, позволяющих избежать и блокировать антибактериальные эффекты системы комплемента. [107]

### 1.2.3 Особенности распространения *Salmonella* в пищевой цепи

*Salmonella* переживает осмотический стресс за счет увеличения доступности внутриклеточных растворенных веществ, которые затем заменяются пролином, трегалозой и глицинбетаином, чтобы инициировать рост. [108]

Важным элементом ограничения укоренения *S. enteritidis* у взрослой птицы является сохранение полностью активной ферментативной микробиоты ЖКТ. [109]

*Salmonella* может быть распространена через контакт с зараженными животными, такими как домашние животные или скот. Когда эти животные убивают и обрабатывают для пищи, *Salmonella* может перейти на мясо. [110]

*Salmonella* может распространяться через мясо, особенно если оно не было должным образом обработано или приготовлено. Контакт с загрязненным мясом может привести к заражению *Salmonella*. [111]

*Salmonella* может находиться на поверхности яиц и перейти внутрь яйца через трещины в скорлупе. Яйца могут быть заражены *Salmonella*, если они не были должным образом обработаны или приготовлены. [112]

*Salmonella* может находиться в молоке и других молочных продуктах, если коровы или другие животные, дающие молоко, были заражены. Пастеризация или другие методы обработки могут убить *Salmonella* в молоке и молочных продуктах. [113]

*Salmonella* может быть передана на овощи и фрукты через контакт с загрязненной водой, почвой или через контакт с зараженными животными. [114]

Род *Salmonella* включает более 50 серогрупп по специфическому антигену O. Вирулентность и патогенность *сальмонелл* сильно различаются между различными серогруппами, в частности, серогруппы B, C1, C2-C3, D и E составляют подавляющее большинство *сальмонеллезных* инфекций у людей и животных. [115]

*Salmonella* может быть распространена через зараженных работников пищевой промышленности, которые не соблюдают правила гигиены или не соблюдают правила личной гигиены. [116]

При проглатывании *сальмонеллы* при употреблении зараженной воды или пищи люди могут заразиться с некоторыми симптомами, включая лихорадку, тошноту, диарею, спазмы желудка, головную боль и рвоту, *Salmonella* может перейти с одного продукта на другой через кросс-контаминацию, особенно если пищевые продукты не были должным образом разделены и обработаны. [117]

Бактерии могут распространять гены устойчивости к противомикробным препаратам на другие бактерии через плазмиду в минимально обработанных пищевых продуктах, содержащихся в сублетальных стрессах сохранения пищевых продуктов, таких как высокая / низкая температура, осмотический стресс и стресс рН. [118]

В целом, *Salmonella* может распространяться в пищевой цепи через множество путей, и важно соблюдать правила гигиены и обработки пищевых продуктов, чтобы минимизировать риски заражения. [119]

Сальмонелла может сохраняться в фекалиях во время выздоровления после болезни, экскреция обычно снижается и в конечном итоге прекращается. Однако в некоторых случаях экскреция может сохраняться так, что человек становится хроническим носителем организма. [120]

## 2 Материалы и методика исследований

### 2.1 Материал исследования

Сальмонелла (лат. *Salmonella*) - входит в род неспороносных, грамотрицательных бактерий, имеет форму палочки. Является патогенным микроорганизмом вызывающих сальмонеллез. Метод распространения орально-фекальный.

Подвижный организм, имеющий жгутики для продвижения к энтероцитам. Энтероцит (лат. *Enterocytus*)– клетки кишечника, имеют обобщающее название для широкого спектра клеток эпителия ЖКТ. Обладает способностью уклониться от иммунных клеток хозяина, за счет чего несёт в себе патогенность и возможность проникать в большинство тканей.

Передаётся от здорового носителя-животных (*хозяина*) к человеку и вызывает заболевание путем инфекции, основная категория опасности к заражению: пенсионеры, дети и людей с ослабленным иммунитетом. Распространенные виды *Salmonella*, которые вызывают заболевание являются *Salmonella enterica* и *Salmonella bongori*.

Материалом исследования являются две куриные тушки, тушка 1 (из магазина) тушка 2 (привезенная с фабрики на исследование), род *Salmonella* определен во время изучения.

### 2.2 Нормативные документы

Стандарты используемые во время опыта ГОСТ ISO 7218-2015 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных, ГОСТ ISO 11133-2016 Микробиология пищевых продуктов, кормов для животных и воды, ГОСТ ISO 6887-1-2015 Микробиология пищевой продукции и кормов, ГОСТ 31468-2012 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы.

### 2.3 Оборудование, посуда и материалы исследования

Используемые оборудования и посуда, которые были применены на практической работе во время исследования в лабораторных условиях:

#### 2.3.1 Оборудование и аппараты

Название	Определение	Характеристика	Картинка
Ламинарный бокс ВО-120-PP	Создаёт стерилизованную рабочую зону для проведения удовлетворяющих стандартам лабораторных экспериментов, обладает воздуховодами создающий дополнительный воздушный поток защиты.	2 класс защиты, обладает высокой степенью устойчивости к кислотам и химическим веществам	

<p>Автоклав ВК 7501</p>	<p>Предназначен для стерилизации паром при давлении посуды и материалов, оснащён автоматическим парогасителем,</p>	<p>2 встроенных режима стерилизации: 132°C - 20 минут; 120°C - 45 минут;</p>	
<p>Аналитические весы РА114</p>	<p>Требуются в исследовательских, учебных и промышленных лабораториях для взвешивания химических веществ, материалов и т.п. с точностью до мг.</p>	<p>Индикатор стабильности; Функция автоматического тарирования; Настраиваемые параметры передачи данных интерфейса;</p>	

<p>Термостат ТС-1/80</p>	<p>Применяется для поддержания стабильной температуры химических, биологических и промышленных лабораториях, обеспечивает непрерывное измерение температуры, модель термостата также предусматривает визуальную индикацию для контроля процесса.</p>	<p>Термостат обеспечивает непрерывное измерение температуры в рабочей камере и ее визуальную индикацию; Термостат работает от сети переменного напряжения ~220В ±10%, частотой - 50Гц; Термостат имеет объём камеры 80 литро</p>	
<p>Дозатор</p>	<p>Позволяет стиральную работу с жидкими субстратами дозируя количество вводимого материала.</p>		
<p>pH метр Benchtop pH/mV Meter</p>	<p>Даёт возможность измерять кислотность, приоритетом являются воспроизводимость и точность аппарата.</p>		
<p>Микроскоп Levenhuk MED 20B</p>	<p>Цифровой микроскоп, работает при освещении настроенный по методу Келера, позволяет вести работу на профессионально микроисследовательском уровне.</p>	<p>Профессиональный микроскоп для медицинской лаборатории Биноккулярную насадку можно поворачивать на 360° Широкопольные окуляры с диоптрийной коррекцией Антигрибковое покрытие всех оптических поверхностей Галогенная</p>	

		подсветка, возможность настройки освещения по Келеру	
--	--	--	--

### 2.3.2 Лабораторная посуда

Чашка Петри. Прозрачный лабораторный сосуд для проведения посева и культивирования микроорганизмов в лабораторных условиях. По форме является невысокой круглой тарой с крышкой.

Стеклянный шпатель. Имеет применение для микробиологических исследований, а именно стеклянным шпателем проводят посев культур микроорганизмов.

Скальпель. Используется для разделения мягких биологических тканей в биологических лабораториях.

Мерный стакан. Вид лабораторной посуды, требуется для измерения жидких веществ, представляет собой тонкостенную цилиндрическую ёмкость, по высоте зависит от объёма сосуда.

### 2.3.3 Питательные среды

XLD-агар – питательный агар, питательная среда для выделения патогенных энтеробактерий, при бактериологических исследованиях в микробиологии, чаще всего для выявления сальмонеллы.

Состав: Ксилоза – 3,5 г, Лизин – 5,0 г Д (+)–лактоза, 1–водная – 7,5г, Сахароза – 7,5 г, Натрия хлорид – 5,0 г, Дрожжевой экстракт – 3,0 г, Желчь очищенная, сухая – 2,5 ± 0,5 г, Дезоксихолат натрия – 1,5 г, Натрия тиосульфат – 6,8 г, Железа аммиачное цитрат – 0,8 г, Феноловый красный – 0,08 г, Натрий углекислый – 0,1–0,3 г, Агар микробиологический – 10,0 ± 3,0 г.

Инструкция к приготовлению: 28,0 г развести в 1 л дистиллированной воде; нагреть до кипения, питательный агар должен полностью раствориться, стерилизации в автоклаве при давлении 1,021 атмосферы и температуре 121 С° в течении 15 минут; После охладить до температуры 45-50 С°; разлить в Чашки Петри; дождаться полного застывания агара, хранить при температуре 2-8 С°

Висмут-сульфитный агар – питательная модифицированная селективная среда для выделения и предварительной идентификации *Salmonella typhi* и других сальмонелл из патологического материала, сточных вод, источников водоснабжения, пищевых продуктов и других продуктов, предположительно содержащих эти патогены, рН 7,6.

Состав: Пептон 5,0 г, порошок «Лаб-Лемко» 5,0 г, глюкоза 5,0 г, динатрия фосфат 4,0 г, сульфат железа 4,0 г, индикатор сульфита висмута 8,0 г, бриллиантовый зелёный 0,016 г, агар 12,7 г.

Инструкция к приготовлению: 40г сухой смеси на 1л дистиллированной воды разводится и нагревается до полного растворения среды; останется до 45-50 С° и разливается по чашкам Петри.

RVS-бульон среда (среда Раппапорта-Вассилиадиса с соей)– представляет из себя сухую смесь для приготовления жидкой питательной среды, предназначена для санитарной микробиологии, способствует накоплению культур бактерии рода *Salmonella*, pH – 6,8.

Состав: Пептон из сои 4,5; хлорид магния гексагидрат 29,0; хлорид натрия 8,0; гидрофосфат калия однозамещенный 0,4; дигидрофосфат калия двузамещенный 0,6; малахитовый зеленый 0,036.

Инструкция: 43г развести на 1л дистиллированной воды; нагреть до полного растворения; стерилизовать в автоклаве при давлении 1,021 атмосферы и температуре 115С° в течении 15 минут.

Селенитовая обогатительная среда – обогатительная среда, для идентификации патогенных микроорганизмов, pH 7,8.

Состав: фосфат натрия 10,0 г, лактоза 4,0 г, пептоновая смесь 5,0 г, селенит натрия 4,0 г.

Инструкция к приготовлению: бульонную среду можно сделать более селективной для выделения сальмонелл из мясных продуктов, если инкубацию проводить от 16 до 18 часов при 43°С вместо 37°С.

Мясо-пептонный агар-неселективная среда общего назначения, используется для культивирования чистой культуры и подсчёта колоний.

Состав: мясная вода – 1,0 хлорид натрия (NaCl) 5,0 г, пептон – 10,0 г, агар-агар – 20,0 г, pH 6,8-7,0.

Инструкция к приготовлению: Стерилизация при 1 атм. 35,0 г развести в 1 л дистиллированной воде; нагреть до кипения, питательный агар должен полностью раствориться, стерилизации в автоклаве при давлении 1,021 атмосферы и температуре 121 С° в течении 15 минут; После охладить до температуры 45-50 С°; разлить в Чашки Петри; дождаться полного застывания агара, хранить при температуре 2-8 С°

Мясо-пептонный бульон (МПБ) – жидкая среда предназначенная для культивирования микроорганизмов.

Состав: пептон ферментативный, экстракт мясной, натрия хлорид.

Инструкция к приготовлению: 45г развести в 1 л дистиллированной воде; нагреть до кипения, питательный агар должен полностью раствориться, стерилизации в автоклаве при давлении 1,021 атмосферы и температуре 121 С° в течении 15 минут; После охладить до температуры 45-50 С°.

Агар Клигера – агар применяется для изучения грамотрицательных кишечных бактерий, указываются на наличие способностей продуцировать сероводород и ферментировать глюкозу и лактозу.

Состав: пептический перевар животной ткани 15,00г, мясной экстракт 3,00 г, дрожжевой экстракт 3,00 г, протеозопептон 5,00 г, лактоза 10,00 г, глюкоза 1,00 г, железа сульфат 0,20 г, натрия хлорид 5,00 г, натрия тиосульфат 0,30 г, феноловый красный 0,024 г, агар-агар 15,00 г.

Инструкция к приготовлению: размешать 57,5 г порошка в 1 л дистиллированной воды; довести до кипения для полного растворения частиц; разлить в пробирки; серилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°С) в

течение 15 мин; остудить пробирки в таком положении, чтобы получить скошенную часть и столбик высотой 2,5 см.

## **2.4 Методика исследования**

### **2.4.1 Посев на жидкие питательные среды**

В исследовании проводились посевы и пересевы на жидкие питательные среды, для накопления культур, либо выделения чистой культуры, путем инокулирования петлёй, с внесением культурны в среду для дальнейшего культивирования.

### **2.4.2 Посев на твёрдые питательные среды**

Процесс инокулирования проводится с помощью микробиологической петли, на твёрдые среды приготовленные по стандарту ISO 31468-2012 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы.

### **2.4.3 Стерелизация**

Стерелизация питательных сред и посуды проводится в автоклаве при давлении 1,021 атмосферы и температуре 121 С° в среднем на протяжении 15-30 минут.

### **2.4.4 Культивирование микроорганизмов**

Культивирование *Salmonella* проводится в термостате при температуре 37С°.

### **2.4.5 Определение и идентификация *Salmonella***

Идентификация *Salmonella* проводится через посев на определённые питательные среды с содержанием веществ и визуальным определением качественных реакций после культивирования.

### **3 Результаты исследования**

Исследование проведённое в данной дипломной работы, было соответственно цели и задачам поставленных в теме:

- 1) Изучение распространения *Salmonella* в пищевой цепи;
- 2) Исследования особенностей распространения патогенного микроорганизма в пищевой цепи.

#### **3.1 Подготовка питательной среды**

Приготовления питательных сред, название сред XLD-агар, Висмут-сульфитный агар, RVS-бульон на основе, которых будет проводится культивирование. Приготовление проводили согласно инструкции. Питательные среды соответствуют стандарту ГОСТ ISO 9001 и ГОСТ ISO 1133. Стерелизацию питательной среды проводили, в автоклаве при температуре 121 С° при давлении 1,021 атмосферы, после охладить до 45-50 С°. Как только температура охлаждения доходит до требуемой температуры, был проведён разлив по 5-10 мл раствора питательной среды по чашкам Петри и ожидание до полного загустения агара в ламинарном боксе для чистоты эксперимента.

#### **3.2 Подготовка исследуемого материала**

Подготовка исследуемого материал для внесения его на питательную среду, с двух тушек было отобрано по 25г плоти. И помещение его в питательный бульон RVS для накопления колонии *Salmonella*. После Питательная среда вместе с материалом исследования ставится в термостат при температуре 37 С° на сутки. Также с пушки был взят смыв, путем отбора мазков с тушек и тоже был отправлен в термостат вместе с отобранными пробками.

#### **3.3 Пересев на идентифицирующие среды**

По истечению 24 часов пробы достаются из термостата и делается пересев на питательные среды XLD-агар и Висмут-сульфитный агар, для идентификации *Salmonella*. На шести чашках Петри были культивированы отбор с двух тушек и смыв с них и снова помещены в термостат на температуру 37С° на сутки.

#### **3.4 Подтверждение *Salmonella***

Подозрительных бактерий, поэтому был произведен дополнительный пересев на две среды МПА и МПБ для проверки на подтверждения нахождения в пробах *Salmonella*. На чашке Петри с тушкой 1 на среде XLD и на двух чашках с тушкой 2 с средами XLD-агаре и Висмут агаре были обнаружены колонии с характерным чёрным цветом и с остатком чёрного цвета, на Висмут агаре был характерный металлический отлив символизирующий о нахождении колоний *Salmonella*. Поэтому пересев с был произведён только на проверку с 3 чашек Петри, а именно XLD тушка 1, XLD тушка 2, Висмут тушка 2, на всех остальных чашках был рост посторонних культур таких как *Proteus entr.*, расплывающийся рос и бактерии с желтовато-белым оттенком. После пересева отобранные пробы были вновь помещены в термостат на 24 часа и при температуре 37С°.

### 3.5 Визуальное определение *Salmonella* для продолжения исследования

При исследовании чашек с питательными средами МПА и МПБ были также выявлены следующие показатели, что в пробирках со средой МПБ был рост *Salmonella* только с пробами из XLD-агара тушки 2 и Висмут-сульфатном агаре тушки 2, был характерный рост чёрный культуры с содержанием сероводорода, выделения пузырьков газа и выделением сахара. Что касается пробы с XLD-агара тушки 1 был характерный рост *Proteus entr.*, с нежно-вуалеобразным ростом и белым густым осадком на дне. На чашках Петри с питательной средой МПА с пробами XLD-агара тушки 2 и Висмут-сульфатном агаре тушки 2 был присущий рост *Salmonella* чёткими обособленными колониями, в то время как на пробе XLD-агара тушки 1 был абсолютно точно выявлен плывущий рост *Proteus etrb.* С результатами исследования на этом этапе выделились точные подозрительные пробы, а именно XLD-агара тушки 2 и Висмут-сульфатном агаре тушки 2 с убедительная колониями *Salmonella*. Поэтому последующие опыты будут направлены на определение точно подтверждающих характеристик *Salmonella*.



Рисунок 10. Рост *Salmonella* на XLD-агаре



Рисунок 11. Рост *Salmonella* на Висмут-сульфитном агаре

### 3.6 Агглютинация

Проведится агглютинацию на выявления способности образование склеивание бактерий антителами и определение вида *Salmonella*, для этого использовали две сыворотки ABCDE, которая определяет самые распространённые серовары *Salmonella* и сыворотка на редкие культуры. По результатам можно заметить, что культура реагирует на сыворотку ABCDE, в отличии на сыворотку редких сероваров, что доказывает, наличие *Salmonella* в пробе тушки 2.

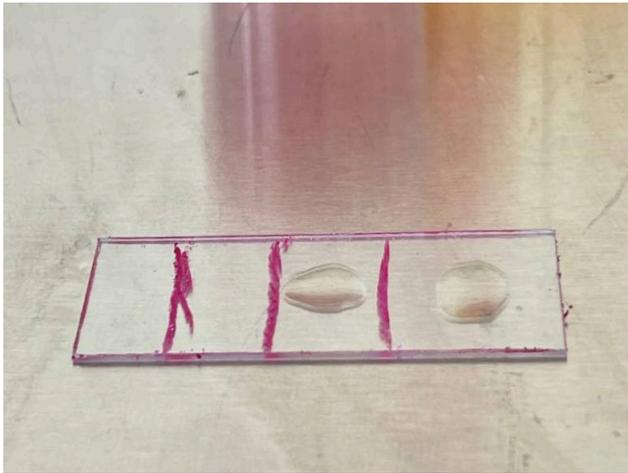


Рисунок 12. Сыворотки ABCDE и на редкие серовары Salmonella



Рисунок 13. Агглютинация, образование склеенных культур

### 3.7 Определение биохимии серовара

Так как определилась Salmonella, для полного анализа провели анализ на биохимию, для этого был проведён пересев на следующие ферментативные свойства и определяются на сахарозу, лактозу, лизин, маннит, индол, арабинозу, дульцит и также был поставлен анализ на Симонса для того, чтобы исключить Citrobacter.



Рисунок 14. Лактоза



Рисунок 15. Арабиноза



Рисунок 16. Сахароза



Рисунок 17. Дульцит

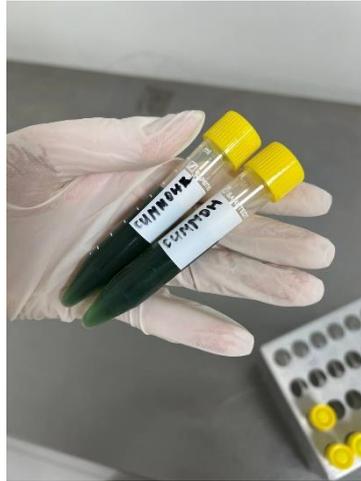


Рисунок 18. Среда Симмонса



Рисунок 19. Маннит

После культивирования в термостате, качественная реакция на среды содержащие маннит, дульцит, арабинозу, лактозу, сахарозу показали, что действительно в пробе тушки ккурицы 2(2) и 2(1) было содержание *Salmonella*, кроме среды Симмонса, на ней не произошло никаких изменений, что позволило отметить *Citrobacter*, похожий по своим биохимическим способностям на *Salmonella*. На манните была видна ферментация с образованием жёлтого цвета и выделением пузырьков газа.



Рисунок 20. Ферментация маннита *Salmonella*

На дульцит похожая ферментация с образованием жёлтого оттенка, выделением газа и желтовато-белым осадков, на самом дне пробирки, что доказывает характерное поведение *Salmonella enterobacter*.



Рисунок 21.  
Ферментация дульцита  
*Salmonella*

На сахарозу видно образование газа и испарение кислоты.



Рисунок 22. Реакция  
*Salmonella* на сахарозу

На арабинозу хорошо видно изменение оттенка с синего на жёлтый, что вновь доказывает способность *Salmonella* ферментировать арабинозу, также наблюдается выделение газа и образование оранжево-желтого осадка.



Рисунок 23. Ферментация арабинозы Salmonella

На лактозу наблюдается изменение цвета на оттенок желтовато-зеленый и образование белого осадка.



Рисунок 24. Ферментация лактозы Salmonella

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование чётко следовало поставленным задачам и доказало распространение *Salmonella* в пищевой цепи через орально-фекальный путь, на примере тушки курицы на производстве пищевых продуктов. Задачи дипломной работы:

1. Изучено развитие и роста бактерии рода *Salmonella* в лабораторных условиях;
2. Обработано результатов анализа на количество и рост колоний бактерии рода *Salmonella*;
3. Исследовано *Salmonella* на распространение в пищевой цепи.

На основании опытов по методике культивирования на жидких и твердых средах, было обнаружено наличие *Salmonella* в мясе птицы, а следовательно и всех производных курицы, таких как яйцо, помет, пух, мясо, что доказывает путь распространения сероваров *Salmonella* в пищевой цепи. Для доказательства именно культуры *Salmonella* были проведены качественные реакции на физиологию микроорганизмов и способность ферментирования маннита, арабинозы, лактозы, сахарозы, лизина, индола и дульцита, а также была замечена способность продуцирования сероводорода, что характерно для *Salmonella enter*.

Исследование доказало теорию на практике о способности *Salmonella* распространяться в пищевой цепи через пищевые продукты и различные поверхности на пищевом производстве. Было исследовано, что процесс заражения птицы был произведён через поверхности фабрики и корма, на основе теоретических данных также было подтверждение опытным путем заражение *Salmonella enter*. Определение серовара также подтвердили, что был найден в тушке курицы (2) серовар *Salmonella enterobacter*. По теоретическим данным известно, что культура *Salmonella enterobacter* является одной из самых распространенных сероваров из всех патогенных культур *Salmonella*, доказательством считается агглютинация и реакция на сыворотку ABCDE для основных сероваров *Salmonella* и опыты на показание реакции на дульцит и арабинозу.

При проведении исследования были приведены доказательства, что *Salmonella enterobacter* распространяется через пищевые продукты и продукты жизнедеятельности различных организмов, что соответствует примерам циклов пищевой цепи, а значит дипломная работа соответствует поставленным целям и задачам тематики работы «Особенности распространения *Salmonella* в пищевой цепи».

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1) Ian L. Pepper, Charles P. Gerba, in Environmental Microbiology (Third Edition), 2015.
- 2) Anisa S. Khan, Ryan E. Pierreneuf, Narkhol Gonzalez-Escalona, Megan Maguire, Carla Georges, Wubit Abebe, Abiodun A. Adesiyun, Phylogenetic analysis of Salmonella found in the broiler production chain in Trinidad and Tobago, Sharma and Srivastava, 2020.
- 3) K.D. Dunkley, Ecology of foodborne salmonella in the gastrointestinal tract of birds, 2019.
- 4) Grilli E., Microencapsulated sorbic acid and nature-identical compounds reduced colonization of Salmonella hadar and Salmonella Enteritidis in experimentally infected chickens, 2021.
- 5) Berenice Gonzalez-Torres, Jean. González-Gómez, Karina Ramirez, Nogelia Castro del Campo, Irvin González-López, Lenin I. Garrido-Palaceuelos, Cristobal Chaides, José A. Medrano-Félix, Population structure of Salmonella enterica serotype Oranienburg shows similar virulence regardless of years of isolation and sources, Gen, Volume 851, January 2023
- 6) Kim Woo Joo, Dong Hyun Kang, International Journal of Food Microbiology, 2022
- 7) Jiong Li, Kim Doyoung Minsik Kim, International Food Research Organization, 2019
- 8) Etinosa O. Igbinosa, Abeni Beshiru, Isoken H. Igbinosa, Anthony I. Oko, Antimicrobial resistance and genetic characterization of Salmonella enterica from retail poultry meat in Benin City, Nigeria, LWT, November 1, 2022
- 9) Eurade Ntakiyisumba, Simin LiGayoung Won, Identification of Salmonella Risk Profiles in Pig Supply Chains in South Korea Using Meta-Analysis and a Quantitative Microbial Risk Model, International Food Research Organization, Volume 170, 2023.
- 10) Ritika Gupta, Biosensors and Bioelectronics, Volume 243, 2023
- R.H. Stadler, O. Guillaume-Gentil, in Encyclopedia of Food Safety, 2014
- 11) Tamizhselvan Surya, Geevaretnam Jeyasekaran, Robinson Jay Shakil, Balasubramanyan Sivaraman, Rajendran Shalini, Shanmugham Sundhar, Ulaganathan Arisekar, Prevalence of biofilm-forming Salmonella on various seafood-contact surfaces, fishing boats, fishing centres, fish markets and seafood processing plants, 2022
- 12) Daphne M. Van Elsland, Repeated exposure to salmonella not associated with typhoid fever is a risk factor for colon cancer and environmental tumor growth, 2018.
- 12) S.A. Hoffman, S. Luby, Bacteria: Salmonella typhi and Salmonella paratyphi, 2019.

- 13) Jacob D. Zwilling, Survival of Salmonella Typhimurium (ATCC 14208) and Listeria innocua (ATCC 51742) on lignocellulosic paper packaging materials, Helion, Volume 9, Issue 3, 2023.
- 14) Tamizhselvan Surya, Effect of Antibiotics and Disinfectants on Salmonella Biofilms Associated with Seafood Contact Surfaces, Microbiological Studies Volume 266, January 2023
- 15) Adriana S. Castelo-Taboada, The Impact of Food Additives, Inoculations and Processing Additives as Control Measures for Salmonella spp. In chicken meat: a systematic review and meta-analysis, Applied Food Research Volume 3, Issue 1, 2022
- 16) Sun Shengqian, Comparative Study of Thermal Inactivation Parameters of Salmonella in High Gel Powder and Standard Egg White by Three Methods, 2017.
- 17) Claudia Bartula, Growth of foodborne pathogens Listeria and Salmonella, and spore-forming Paenibacillus and Bacillus in commercial alternatives to plant-based milk, Food Microbiology, Volume 109, February 2023.
- 18) Yan Li, Kankan Li, Kai Peng, Zhiqiang Wang, Song Hongqing, Ruichao Li, Distribution, Antimicrobial Resistance, and Genomic Characterization of Salmonella throughout the Jiangsu Pork Production Chain, China, Volume 163, June 15, 2022
- 19) Ximeng Zheng, Qian Yang, Haoyu Yang, Yunzhe Zhang, Wei Guo, Wei Zhang, Supersensitive and Specific Ratiometric Electrochemical Biosensor Based on SRCA-CRISPR/Cas12a System for the Detection of Salmonella in Foods, Food Control, Volume 146, April 2023
- 20) John B. Luchansky, Viability of Listeria monocytogenes and Salmonella spp. On slices of German bologna containing mixtures of salts of organic acids, when stored at 4 or 12°C, Food Defense Journal Volume 86, Issue 1, January 2023.
- 21) Hannah Luwau, Linda J. Harris, Salmonella Levels and Distribution in Naturally Contaminated Cashews, Journal of Food Defense, May 29, 2023.
- 22) I. Sauli, D. Danuzer, K. Wenk, K.D.C. Stärk, Safety assessment of Salmonella spp. Throughout the food chain in Switzerland, Journal of Food Protection, Volume 66, Issue 7, 1 July 2003.
- 23) I. Sauli, D. Danuzer, K. Wenk, K.D.C. Stärk, Safety assessment of Salmonella spp. Throughout the food chain in Switzerland, Journal of Food Protection, Volume 66, Issue 7, 1 July 2003.
- 24) Ohmic heating enhances the inactivation and morphological changes of Salmonella sp. And Formation of Bioactive Compounds in Infant Formula, Food Microbiology, Volume 97, August 2021.
- 25) Ibrahim et al., 2006, Jo et al., 2007, Smigic et al., 2009, Velazquez et al., 2009.
- 26) Kenichi Sakamoto, Translocation of Salmonella typhimurium in rats on total parenteral nutrition correlates with changes in intestinal morphology and mucus gel, Nutrition, April 2004, pp. 372-376.
- 27) Hsien-Yi Xi, Hau-Yang Tseng, Combination of immunomagnetic separation and polymerase chain reaction for the simultaneous detection of Listeria

- monocytogenes and Salmonella spp. in Food Samples, Journal of Food Defense, Volume 64, Issue 11, November 1, 2001.
- 28) C. Bell, A. Kyriakides, in Foodborne Pathogens (Second Edition), 2009.
- 29) I. Babinska, J. Sarek, M. Shweda, Effects of dietary propolis and pollen supplementation on chicken liver morphology in naturally occurring Salmonella enteritidis infection, Journal of Comparative Pathology, Volume 146, 1 January 2012, page 76.
- 30) Jer-Sheng Lin, How-Yang Chen, Development and application of polymerase chain reaction for the specific detection of Salmonella typhimurium in stool and food samples, Journal of Food Protection, Volume 62, Issue 10, October 1, 1999, pp. 1003-1009.
- 31) Yang He, Yanyan Yang, Yuanyan Dong, Koichi Ito, Bingkun Zhang, Highly Nutrient Diet Resistant to Salmonella Typhimurium Infections by Improving Gut Microbiota and Morphology in Broiler Chickens, Poultry Science, December 2020, pp. 7055-7065.
- 32) Patrick Fach, Françoise Dilasseur, Joel Grout, Jocelyn Tash, Evaluation of the PCR Test for the Detection of Salmonella spp. In food samples: Probabilia Salmonella spp., Journal of Food Defense, Volume 62, Issue 12, December 1, 1999, pp. 1387-1393.
- 33) Mengfan Bai, Yueqi Wang, Cui Zhang, Ye Wang, Huang Wei, Xingrui Liao, Jianlong Wang, Laura Anfossi, Yanru Wang, Nanobody Immunomagnetic Separation Platform for Rapid Isolation and Detection of Salmonella enteritidis in Food Samples, Food Chemistry, Volume 424, October 30, 2023.
- 34) Shuang Wang, Temperate phages affect the virulence and biofilm formation of Salmonella Typhimurium and enhance the ability to contaminate food, International Journal of Food Microbiology Volume 398, August 2, 2021.
- 35) Malkova, G. Gradecka, R. Karpiskova, I. Rychlik, Biofilm formation in field strains of Salmonella enterica serovar Typhimurium: identification of a new type of colony morphology and the role of SGI1 in biofilm formation, Veterinary Microbiology, Volume 129, issues 3–4, June 22, 2008 city, pp. 360-366.
- 36) Zhaowei Guan, Yi Sun, Chong-Bo Ma, Li Chung Joon, Xikai Zhang, Xiaojun Zhang, Zhijun Guo, Yen Du, Dual Target-Induced Specific Hemin/G-Quadruplex Assemblies for Labelless Electrochemical Detection Able to Distinguish between Salmonella and its Common Serotype in food samples, Biosensors and Bioelectronics, Volume 236, September 15, 2023.
- 37) Sunbin Kim,  $\kappa$ -carrageenan/konjac antibacterial edible hydrogel film containing salmonella phage PBSE191 and its application in chicken meat, LWT, Volume 180, 2023.
- 38) Murray, Wu, Shi, Jun Xue & Warriner, Volume 254, 2017.
- 39) Madhvi Chahar, Control of Salmonella in mung bean sprouts by antagonistic spore-forming bacilli, Food Control, Volume 143, January 2023.
- 40) Foodborne illness (third edition) C. Graziani, P. Pasquali, 2017.
- Kaknokrat Chongsin, Rada Changwanyeeung, Achiraya Siripap, Apiraday Intarapuk, Watsavan Prapasawat, Kanjana Changkaev, Chaiwat Pulsrikarn,

- Norikazu Isoda, Chie Nakajima, Yasuhiko Suzuki, Orasa Suthienkul, Salmonella Prevalence and Multidrug Resistance in the Pig Production Chain in the Central Province, Thailand, *Defense Journal Food*, Volume 84, Issue 12, December 2021, pp. 2174-2184.K
- 41) K. Smet, Effect of growth morphology on the behavior of Salmonella Typhimurium and *Listeria monocytogenes* under osmotic stress, *International Food Research Organization*, Volume 77, Part 3, November 2015, pp. 515-526.
- 42) Li Liu, Gan ZhaoXiangmei LiZhenlin XuHongtao LeiXing Shen, Developing a Fast and Easy Detection of Salmonella in Food Matrices Using the RPA-CRISPR/Cas12a Method, *LWT*, Volume 162, June 1, 2022.
- 43) Song Miao, Li Liu, Zheng Fu, Salmonella Prevalence in Chinese Food Commodities: A Meta-Analysis, *Journal of Food Defense*, Volume 85, Issue 5, May 2022, pp. 859-870.
- 44) Mary McKee, Ann R. Goose, Cassandra Jones, Evaluation of Liquid and Dry Chemical Treatments to Reduce Salmonella typhimurium Contamination on Animal Feed Manufacturing Surfaces, *Journal of Food Defense*, Volume 85, Issue 5, May 2022, pp. 792-797.
- 45) Evaluation of Fluorogenic PCR Assay for the Detection of Salmonella Species in Food Commodities, *International Journal of Food Microbiology*, Volume 35, Issue 3, April 15, 1997, pp. 239-250.
- 46) Zhengwei Fang, Xiujuan Zhou, Xu Wang, Xianming Shi, Development of a 3-plex spot digital PCR for the identification and absolute quantification of Salmonella and its two important serovars in various food samples, *Food Control*, Volume 145, March 2023.
- 47) Monte, D. M., Nethery, M. A., Barrangou, R., Landgraf, M., & Fedorka-Cray, P. J. (2020). Whole-genome sequencing analysis and CRISPR genotyping of rare antibiotic-resistant *Salmonella enterica* serovars isolated from food and related sources. *Food Microbiology*.
- 48) Yue Zhang, Geng Zou, M.D. Sharifull Islam, Kong Liu, Suqiang Xue, Zhiyong Song, Yingwang Ye, Yang Zhou, Yuanguo Shi, Shaozhong Wei, Rui Zhou, Huanchun Chen, Jinquan Li, Combine heat treatment with LPEK22 polyvalent phage to prevent food contamination by *E. coli* Escherichia and *Salmonella enterica*, *International Food Research Organization*, Volume 165, March 2023.
- 49) Janak Dhakal, Charles G. Aldrich, Temperature dependent antimicrobial activity of menhaden fish oil in vitro and in pet food against Salmonella, *Journal of Food Defense*, Volume 85, Issue 3, March 2022, pp. 478-483.
- 50) Osman Erkmén, in *Microbiological analysis of food products and food industry media*, 2022.
- 51) Shengyi Han, An analysis of the genetics and pathogenesis of narrow-spectrum antibiotic resistance *Salmonella enterica* QH isolated from yaks, *Infection, Genetics and Evolution*, August 2020.
- 52) «*Salmonella enterica*». *Tropical Infectious Diseases Manson* (Twenty-Third Edition), 2014.

- 53) Stella R. Kua, International Encyclopedia of Public Health, Second edition, 2017.
- 54) Mark R. Davies, Genomic epidemiology of Salmonella Typhi in Central Division, Fiji, 2012 to 2016, The Lancet Regional Health – Western Pacific, Volume 24, 2022.
- 55) Дункан Маскелл, Сальмонеллезные инфекции: клинические, иммунологические и молекулярные аспекты достижений молекулярной и клеточной микробиологии (выпуск 9), 2015.
- 56) Abdul Arif Khan, Yasmine Bano, Interaction Salmonella enterica subsp. Enterica with host pathogen and their significance in gallbladder cancer, Microbial pathogenesis, Volume 157, August 2021.
- 57) Sandeep Tamber, Salmonella, 2022.
- 58) Xinglin Yang, Howard C. Hang, in Methods in Enzymology, 2022.
- 59) Andrew S. Neish, in Encyclopedia of Gastroenterology, 2004
- 60) Джон А. Крамп, Джон Уэйн, в Международная энциклопедия общественного здравоохранения (второе издание), 2017.
- 61) Stephen L. Percival, David W. Williams, in Microbiology of Waterborne Diseases (Second Edition), 2014.
- 62) Andrew J. Higgins Handbook of Horses (Second Edition) 2006.
- 63) K.L. Mumy, in Encyclopedia of Toxicology (Third Edition), 2014.
- 64) Salmonella, Andersson, 2003, Andersson and Levin, 1999, Baquero et al., 1998, Borges et al., 2013, Guillemot, 1999, Monroe and Polk, 2000.
- 65) Huizhen Zhang, Mei Shu, Wen-Yu, YangHong PanMeng-Xuan, Tang Yuanyang, ZhaoChang Zhong, Guoping Wu, Isolation and characterization of a novel Salmonella bacteriophage JNwz02 capable of lysing Escherichia coli O157:H7 and its antibacterial application in food, LWT, Volume 173, January 1, 2023.
- 66) Дина Осман, Дженнифер С. Кавет, в Достижения в области микробной физиологии, 2011.
- 67) Малви, М.Р., Бойд, Д.А., Олсон, А.Б., Дуплет, Б., и Клокерт, А., Генетика геномного острова сальмонеллы 1. Микробы и инфекции, 2006.
- 68) Casteñeda-Ruelas, G. M., Burgeño-Román, A., & Jiménez-Edeza, M. (2020). Genetics and physiology of Salmonella houtenae isolated from a river in Mexico provides insight into the aquatic habitat influence on its adaptation and pathogenesis, 2016.
- 69) Namasivayam Kumaragurubaran, Nanocatalyst combined with hidden ratiometric electrochemical switch for rapid detection of live Salmonella in zero-tolerance label-free whole blood samples, Sensors and Actuators B: Chemical, Volume 381, 2022.
- 70) Aline M. von Hertwig, Flavia S. Prestes, Maristela S. Nascimento, Biofilm formation and resistance to disinfectants of Salmonella spp. Isolated from the peanut supply chain, International Food Research Organization, Volume 152, February 2022.

- 71) Jannat Raza, Tausif M. Asmat, Mohammad Zahid Mustafa, Hina Ishtiaq, Kiran Mumtaz, Muhammad Moazam Jalis, Abdul Samad, Arsalan Ahmed Shah, Salma Khalid, Habib ur Rehman, Salmonella contamination of ready-to-eat street food in Pakistan: implications for consumers and Food Safety, *International Journal of Infectious Diseases*, Volume 106, May 2021, pp. 123-127.
- 72) Yue Wu, Tian Jiang, Danny Bao, Meina Yue, Huiqiong Jia, Jianyong Wu, Zhi Ruan, *Drug Resistance Update*, Volume 68, 2023.
- 73) Dinesh Kumar Bhardwaj, Neetu Kumra Taneja, Pankaj Taneja, Praveen Patel, Phenotypic and genotypic characterization of the invasive, multidrug-resistant poultry strain of *Salmonella Typhimurium* SMC25 in India that forms a biofilm, *Microbial Pathogenesis*, Volume 173, Part A, December 2022.
- 74) Ayesha Munir, PCR-based early detection and antibiotic resistance patterns of *Salmonella gallinarum* isolates from Pakistani poultry, *Journal of Microbiological Methods*, 2021.
- 75) Yang, S., Deng, V., Liu, S., Yu, S., Mustafa, G. R., Chen, S., ... Zou, L, Presence of heavy metal resistance genes in *Escherichia coli* and *Salmonella*, as well as analysis of the structure of the resistance gene in *E. Coli* E308. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 2020, pp. 420-426.
- 76) Nielsen, L. R., & Nielsen, S. S. (2012). A structured approach to control of *Salmonella* Dublin in 10 Danish dairy herds based on risk scoring and test-and-manage procedures. *Food Research International*, 45(2), 1158–1165.
- 77) Ruy D. Chacon, Jorge L. Chacon, Manuel Ramírez, Carmen L. Rodríguez Cueva, Vilma Ursula Quispe-Rojas, Cesar Brian Reyes-Moreno, Claudet S. Astolfi-Ferreira, Antonio J. Piantino Ferreira, Complete Genome Sequencing Data of Two *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar *Gallinarum*: vaccine strain 9R and virulent Brazilian field strain, *Data at a Glance*, Volume 47, April 2023.
- 78) Namakchian, M., Kassler, K., Sticht, H., Hensel, M., & Deiwick, J. (2018). Structure-based functional analysis of effector protein SifA in living cells reveals motifs important for *Salmonella* intracellular proliferation. *International Journal of Medical Microbiology*, 308(1), 84–96.
- 79) Zerva, I., Katsoni, E., Simitzi, C., Stratakis, E., & Athanassakis, I., Laser micro-structured Si scaffold-implantable vaccines against *Salmonella Typhimurium*. *Vaccine*, 2019.
- 80) Eiseul Kim, Jang Hong Choi, Yang Seung Min, Min-Ki Shin, Kim Hae Young, Rapid identification and absolute quantification of zero tolerance to *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar *Thompson* using droplet digital polymerase chain reaction, *LWT*, Volume 173, January 1, 2023.
- 81) Qiao Ding, Chongtao Ge, Robert S. Baker, Robert L. Buchanan, Rohan v. Spain Tikekar, Genetic response of *Salmonella Typhimurium* to heat treatment with transcinamic aldehyde and its correlation with bacterial resistance in various low-moisture food components, *Nutritional Microbiology*, Volume 113, August 2023.
- 82) Mooijman, K. A., Pielaat, A., & Kuijpers, A. F. A., Validation of EN ISO 6579-1 – Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection,

- enumeration and serotyping of Salmonella – Part 1 detection of Salmonella spp. *International Journal of Food Microbiology*, 2018.
- 83) Xilong Kang, Ming Wang, Zhuang Meng, Ang Li, Xinan Jiao, Zhiming Pan, Salmonella Prevalence and Whole Genome Sequencing Analysis Detects Spread in the Duck Production Chain, *Poultry Industry*, Volume 101, Issue 9, 2022.
- 84) Thomas. Oscar, Salmonella and Chicken Gizzard Risk Model in Poultry Feed: II. Disease dose stage, *Journal of Food Protection*, Volume 86, Issue 6, 2023.
- 85) Thomas. Oscar, Risk Assessment Model for Salmonella and Chicken Gizzards in Poultry Feed: I. Initial Contamination, *Journal of Food Defense* Volume 86 Issue 2 February 2023.
- 86) Yifeng Ding, Chenxi Huang, Yiming Zhang, Jia Wang, Xiaohong Wang, Magnetic Microbead Enzyme Immunoassay Based on Phage Protein RBP 41 Mediated for Rapid and Sensitive Detection of Salmonella in Food Matrices, *International Food Research Organization*, Volume 163, 2022.
- 87) Häggblom, P., How does Sweden control Salmonella before it enters the food chain? *Case Studies in Food Safety and Authenticity*, 2012, 98–205.
- 88) NOGRADY, N., KARDOS, G., BISTYAK, A., TURCSANYI, I., MESZAROS, J., GALANTAI, Z., ... PASZTI, J. (2008). Prevalence and characterization of Salmonella infantis isolates originating from different points of the broiler chicken–human food chain in Hungary. *International Journal of Food Microbiology*, 127(1-2), 162–167.
- 89) Thomas Rawson, A Hierarchical Bayesian Model for Quantifying the Microbiological Risk of Salmonella in the Sheep Meat Food Chain, 2021.
- 90) Mati Arosto, Silvia Bonardi, Mihkel Mäesaar, Lis Alban, Eduarda Gomez-Neves, Madalena Vieira-Pinto, Ivar Vogsholm, Terje Elias, Lene Lund Lindegaard, Bojan Blagojevich, New analytical methods using carbon-based nanomaterials to detect Salmonella species as the main food poisoning organism in water and soil resources, *Chemosphere*, part 3, January 2022.
- 91) Behnaz Bakhshandeh, Shokufe Ghasemian Sorboni, Dorrin Mohtadi Hagigi, Fatima Ahmadi, Zahra Dehghani, Alireza Badei, New Analytical Techniques Using Carbon-Based Nanomaterials for the Detection of Salmonella Species as a Major Foodborne Poison Organism in Water and Soil Resources, 2021.
- 92) Monica D. Rocha, Rafael D. Chavez, Luisa Freire, Arthur C.R. Pia, Marianna M. Furtado, Veronica O. Alvarenga, Aline Crucello, Leticia S. Lopez, André F.M. Santo, Dahlia. Rodriguez, Anderson S. Sant'Ana, Salmonella enterica in the soybean production chain: occurrence, characterization and survival in soybean storage, *International Journal of Food Microbiology* Volume 372, July 2, 2022.
- 93) A semi-quantitative approach to evaluating Salmonella spp. Safety levels. Throughout the food chain, *Journal of Food Defense*, Volume 66, Issue 7, July 1, 2003, pp. 1146-1153.
- 94) Sauli, D. Danuzer 1K. Wreath 2K.D.C. Stark, Biao Tang, Abubakar Siddiq, Chenhao Jia, Abdelaziz Ed-Dra, Jing Wu, Hui Lin, Ming Yue, Genomic Risk Assessment of Foodborne Salmonella from Food Animals in China: A One Health

- Perspective, *International Journal of Food Microbiology* Volume 390, April 2, 2023.
- 95) Liu, Y., Jiang, J., Ed-Dra, A., Li, X., Peng, X., Xia, L., ... Yue, M. (2021). Prevalence and genomic investigation of *Salmonella* isolates recovered from animal food-chain in Xinjiang, China. *Food Research International*, 142p., 2021.
- 96) Giuliana Libero Grossi, Ricardo Seichi Yamatogi, Douglas Reuben Call, Luis Augusto Nero, High prevalence of intermediate resistance to ciprofloxacin in *Salmonella enterica* isolated from the Brazilian poultry production chain located in Minas Gerais, *International Journal of Food Microbiology*, 2022.
- 97) LeLièvre, V., Besnard, A., Schlusshuber, M., Desmasures, N., & Dalmasso, M. (2018). Phages for biocontrol in foods: what opportunities for *Salmonella* sp. Control along the dairy food chain? *Food Microbiology*, 2020.
- 98) Xinran Xiang, Yuting Shang, Fan Li, Moutong Chen, Jumei Zhang, Qiang Wan, Qinghua Ye, Yu Ding, Microfluidic Genserotyping Strategy for Rapid and Objective Identification of Common *Salmonella* Serotypes Isolated from Retail Food Samples in China, *Analytica Chimica Acta*, vol. 1201, April 8, 2022.
- 99) Galanis, E., Parmley, J., & De With, N., Integrated surveillance of *Salmonella* along the food chain using existing data and resources in British Columbia, Canada. *Food Research International*, 45(2), 795–801p., 2012.
- 100) Vuthy, Y., Lay, K. S., Seiha, H., Kerleguer, A., & Aidara-Kane, A. (2017).
- 101) Antibiotic susceptibility and molecular characterization of resistance genes among *Escherichia coli* and among *Salmonella* subsp. In chicken food chains. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(7), 670–674 p.
- 102) Qiao Ding, Chongtao Ge, Robert S. Baker, Robert L. Buchanan, Rohan Tikekar, Heat Treatment Evaluation with Trans-Cinnamaldehyde and Eugenol Against *Salmonella* Typhimurium in Low Moisture Food Ingredients, *Food Microbiology*, Volume 112, June 2023.
- 103) Don M. Corpus, Erin Harrell, Lindy Harden, Siddhartha Thakur, Multidrug Resistance and Virulence Genes Carried by Transposable Genomic Elements in *Salmonella enterica* Isolated from Live Food Animal Meats, Processed and Retail Meats in North Carolina, 2018-2019, *International Journal of Food Microbiology* , Volume 378, October 2, 2022.
- 104) Sandrasaigaran, K.H. Kuan, S. Radu. U.F.U.Z. Abidin, Yu. Rukayadi, K.Yu. New Features, H. Hassan, Multiple Antibiotic-Resistant *Salmonella enterica* Enteritidis and Typhimurium Serovars in Battered Ready-to-Eat Outdoor Foods and Their Survival of Simulated Gastric Fluid and Microwave Heating, *Food Control*, Volume 146, 2019.
- 105) Janak Dhakal, Charles G. Aldrich, Use of Medium Chain Fatty Acids to Mitigate *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028) on Dry Pet Foods, *Journal of Food Defense*, Volume 83, Issue 9, September 2020, pp. 1505-1511.
- 106) Hanna W. Pye, Gayotan Tilliez, Luke Acton, Rafal Kolenda Haider al-Khanaq, Steven Grove, Robert A. Kingsley, *Food Microbiology* Volume 112, 2022.

- 107) Stiven S. Rike, Chapter 16 – The Gastrointestinal Ecology of Salmonella enteritidis in Laying Hens and Intervention with Prebiotic and Indigestible Carbohydrate Supplements, 2018.
- 108) Aida Zagdudi, Suhail Zayet, Sahar Haj Salah, Msaddak Asidi, Howla Meftah, Hanen Smawi, Sameer Buktir, Salmonella enteritidis endocarditis due to congenital heart disease, Progress in Pediatric Cardiology, Volume 69, June 2023.
- 109) Magali Toro, Daniel Weller b Romina Ramos, Leonela Diaz, Franziska. Alvarez, Anjelica Reyes-Hara, Andrea I. Moreno-Switt, Jianghong Meng, Aiko D. Adel, Environmental and anthropogenic factors associated with the likelihood of Salmonella detection in agricultural watersheds, Environmental Pollution, Volume 306, August 1, 2022.
- 110) Shraddha Karanth, Collins K. Tanui, Jianghong Meng, Abani K. Pradhan, Exploring the predictive power of advanced machine learning in detecting the severe disease phenotype of Salmonella enterica, International Food Research Organization, Volume 151, January 2022.
- 111) Subhasis Mahari, Akanksha Roberts, Sonu Gandhi, A Probeless Nanosensor for Salmonella Detection Using Gold Nanorods as an Electroactive Modulator, Food Chemistry, Volume 390, October 1, 2022.
- 112) Patchanee, P., Tansiricharoenkul, K., Buawiratler, T., Wiratsudakul, A., Angchokchatchawal, K., Yamsakul, P., ... Tadee, P. (2016). Salmonella in pork retail outlets and dissemination of its pulsotypes through pig production chain in Chiang Mai and surrounding areas, Thailand. Preventive Veterinary Medicine, 130, 99–105.
- 113) Xinran Xiang, Yuting Shang, Qinghua Ye, Fan Li, Jumei Zhang, Baoqing Zhou, Hongbo Suo, Moutong Chen, Qihui Gu, Yu Ding, Qingping Wu, Salmonella Serogroup Rapid Identification System for Food Safety Based on High-Performance Microfluidic Chip Combined with recombinase amplification, Sensors and Actuators B: Chemical, Volume 357, April 15, 2022.
- 115) Acar, S., Bulut, E., Durul, B., Uner, I., Kur, M., Avsaroglu, M. D., ... Soyer, Y. (2017). Phenotyping and genetic characterization of Salmonella enterica isolates from Turkey revealing arise of different features specific to geography. International Journal of Food Microbiology, 241, 98–107.
- 116) Jasmine Pradhan, Swarupa Mallik, Neha Mishra, Salina Patel, Jagannath Pradhan, Vidya Devi Negi, Chapter 26 – Salmonella Biofilm and Its Significance in Pathogenesis, Understanding Microbial Biofilms, Application Fundamentals, 2023, pages 447-459.
- 118) Sanjib Adhikari, Ramesh Sharma Regmi, Sanjeep Sapkota, Sujan Khadka, Nitendra Patel, Sandhya Gurung, Divya Thapa, Prabina Bhattarai, Prakriti Sapkota, Ranjana Devkota, Albert Gimir, Komal Raj Rijal, Multidrug resistance, biofilm formation and detection of bla and bla genes in E. Coli and Salmonella isolates from chutneys served at street food stalls in Bharatpur, Nepal, 2020.
- 119) Rong Jiang, Lin Lu, Xiyue Cao, Chao Sun, Jianfei Xia, Zonghua Wang, Low-background aptasensor based on enzyme-linked multifunctional carbon

nanosheets for Salmonella detection, *Sensors and Actuators B: Chemical*, Volume 370, November 1, 2022.

120) Behnaz Bakhshandeh, Shokufe Ghasemian Sorboni, Dorrin Mohtadi Hagigi, Fatima Ahmadi, Zahra Dehghani, Alireza Badei, New analytical methods using carbon-based nanomaterials for the detection of Salmonella species as a major food poisoning organism in water and soil resources, *Chemosphere*, volume 273, part 3 January 2022.

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

СӘТБАЕВ УНИВЕРСИТЕТІ

**РЕЦЕНЗИЯ**

на дипломную работу

Легкодымова Алина Артемовна

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

На тему: «Особенности распространения Salmonella в пищевой цепи»

Выполнено:

а) пояснительная записка на 46 листах

**Оценка работы**

Дипломная работа Легкодымовой А. на тему: «Особенности распространения Salmonella в пищевой цепи» представляет собой тщательное исследование, которое важно для понимания механизмов распространения этой опасной бактерии через пищевую цепь.

Автор внимательно рассмотрел различные аспекты распространения бактерий рода Salmonella, включая источники контаминации пищевых продуктов, пути передачи инфекции, факторы, способствующие ее распространению, и меры контроля и профилактики.

Работа состоит из разделов: введение, литературный обзор, материалы и методика, результаты лабораторных исследований и заключение.

Методы исследования, используемые в работе, являются достаточно надежными и обоснованными. Автор провел обзор современной научной литературы и привел примеры исследований, которые подтверждают его аргументы.

Работа Легкодымовой А. сделана в соответствие со стандартами, которые необходимы для выполнения работ бакалавриата. Данная работа рекомендуется к защите, и автор заслуживает оценки «отлично».

**Рецензент**

Кандидат биол. наук  
ассоц. профф.

НАО Университет Нархоз



*Б. Борибай*

Борибай Э.С.



МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

**ОТЗЫВ НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ**

на дипломную работу

Легкодымова Алина Артемовна

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

На тему: «Особенности распространения Salmonella в пищевой цепи»

Дипломная работа Легкодымовой А. посвящена изучению особенности распространения Salmonella в пищевой цепи.

Выбор темы очень актуален, поскольку Salmonella является одним из наиболее распространенных патогенов, вызывающих пищевые отравления.

Дипломная работа представляет собой детальное исследование особенностей распространения Salmonella в пищевой цепи. Был проведен обширный обзор литературы, чтобы изучить механизмы заражения Salmonella, исследовали различные источники контаминации пищевых продуктов и факторы, влияющие на перенос бактерий. Анализ факторов, таких как неправильное хранение и приготовление пищи, загрязнение воды и животных, является важным вкладом в изучение этой проблемы.

Результаты исследования, представленные в работе и анализ данных ясно показывают, что Salmonella может распространяться через разные стадии пищевой цепи, начиная от производства и переработки продуктов до конечного потребления. Внимание к деталям и методологический подход гарантируют достоверность результатов.

Дипломная работа логически и последовательно излагает информацию, начиная с введения и целей исследования, продолжая обзором литературы, методологией, результатами, анализом и заключением.

Легкодымова А. допущена к защите, данная работа заслуживает оценки «отлично», а ее автор – присвоения академической степени «Бакалавр техники и технологии» по ОП «6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия»

**Научный руководитель**

к.с.х.н., доцент, ассоц. профессор

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2023



Джамалова Г.А



## Metadane

Tytuł

**Изучение распространения Salmonella в пищевой цепи.docx**

Autor/zy

**Легкодымова Алина Артемовна**

Promotor

**Гуля Джамалова**

Jednostka organizacyjna

**ИГИНГД**

## Alerty

W tej sekcji znajdują się statystyki występowania w tekście zabiegów edytorskich, które mogą mieć na celu zaburzenie wyników analizy. Niewidoczne dla osoby zapoznającej się z treścią pracy na wydruku lub w pliku, wpływają na frazy porównywane podczas analizy tekstu (poprzez celowe błędy pisowni) w celu ukrycia zapożyczeń lub obniżenia wyników w Raporcie podobieństwa. Należy ocenić, czy zaznaczone wystąpienia wynikają z uzasadnionego formatowania tekstu (nadwrażliwość systemu), czy są celową manipulacją.

Znaki z innego alfabetu		30
Rozstrzelenia		0
Mikrospacje		118
Ukryte znaki		0
Parafrazy		17

## Metryka podobieństw

Należy pamiętać, że wysokie wartości Współczynników nie oznaczają automatycznie plagiatu. Raport powinien zostać przeanalizowany przez kompetentną / upoważnioną osobę. Wyniki są uważane za wymagające szczegółowej analizy, jeśli WP 1 wynosi ponad 50%, a WP 2 ponad 5%.

**25**

Długość frazy dla WP 2

**6764**

Liczba słów

**54588**

Liczba znaków

## Aktywne listy podobieństw

Uwagi wymagają szczególnie fragmenty, które zostały włączone do WP 2 (zaznaczone pogrubieniem). Użyj linku "Pokaż w tekście" i zobacz, czy są to krótkie frazy rozproszone w dokumencie (przypadkowe podobieństwa), skupione wokół siebie (parafraza) lub obszerne fragmenty bez wskazania źródła (tzw. "kryptocytaty").

### 10 najdłuższych fragmentów

Kolor w tekście

LP	TYTUŁ LUB ADRES URL ŹRÓDŁA (NAZWA BAZY)	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)	
1	<a href="https://tovar.uz/product/9109">https://tovar.uz/product/9109</a>	25	0.37 %

2	<a href="https://azdok.org/document/yng6p76l-%D0%B8%D1%81%D1%81%D0%BB%D0%B5%D0%B4%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D0%B5-%D0%BA%D0%B0%D1%87%D0%B5%D1%81%D1%82%D0%B2%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D0%BE%D0%B3%D0%BE-%D1%81%D0%BE%D1%81%D1%82%D0%B0%D0%B2%D0%B0-%D0%BC%D0%B8%D0%BA%D1%80%D0%BE%D1%84%D0%BB%D0%BE%D1%80%D1%8B-%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BD%D0%B0%D0%BF%D0%B8%D1%82%D0%BA%D0%BE%D0%B2-%D0%BE%D1%81%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B5-%D0%B2%D0%B5%D1%80%D0%B1%D0%BB%D1%8E%D0%B6%D1%8C%D0%B5%D0%B3%D0%BE-%D0%BC%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%BA%D0%B0.html">https://azdok.org/document/yng6p76l-%D0%B8%D1%81%D1%81%D0%BB%D0%B5%D0%B4%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D0%B5-%D0%BA%D0%B0%D1%87%D0%B5%D1%81%D1%82%D0%B2%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D0%BE%D0%B3%D0%BE-%D1%81%D0%BE%D1%81%D1%82%D0%B0%D0%B2%D0%B0-%D0%BC%D0%B8%D0%BA%D1%80%D0%BE%D1%84%D0%BB%D0%BE%D1%80%D1%8B-%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BD%D0%B0%D0%BF%D0%B8%D1%82%D0%BA%D0%BE%D0%B2-%D0%BE%D1%81%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B5-%D0%B2%D0%B5%D1%80%D0%B1%D0%BB%D1%8E%D0%B6%D1%8C%D0%B5%D0%B3%D0%BE-%D0%BC%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%BA%D0%B0.html</a>	18	0.27 %
3	<a href="http://www.nicf.spb.ru/publications/pit_sredu.doc">http://www.nicf.spb.ru/publications/pit_sredu.doc</a>	14	0.21 %
4	Коллекция КарТУ 3/22/2023 Abylkas Saginov Karaganda Technical University (Karaganda State Technical University)	13	0.19 %
5	Коллекция КарТУ 3/22/2023 Abylkas Saginov Karaganda Technical University (Karaganda State Technical University)	13	0.19 %
6	<a href="https://allgosts.ru/07/100/gost_31659-2012">https://allgosts.ru/07/100/gost_31659-2012</a>	11	0.16 %
7	<a href="https://allgosts.ru/07/100/gost_31659-2012">https://allgosts.ru/07/100/gost_31659-2012</a>	11	0.16 %
8	<a href="https://allgosts.ru/07/100/gost_31659-2012">https://allgosts.ru/07/100/gost_31659-2012</a>	10	0.15 %
9	<a href="https://normadocs.ru/gost_31490-2012">https://normadocs.ru/gost_31490-2012</a>	10	0.15 %
10	<a href="https://allgosts.ru/07/100/gost_31659-2012">https://allgosts.ru/07/100/gost_31659-2012</a>	9	0.13 %

#### z bazy RefBooks (0.21 %)

LP	TYTUŁ	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)	
<b>Źródło: Paperity - abstrakty</b>			
1	Review on drivers, trends and emerging issues of the food wastage in China Lin MA,Wei QIN,Tara GARNETT,Fusuo ZHANG;	14 (2)	0.21 %

#### z bazy macierzystej (0.00 %)

LP	TYTUŁ	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)	
----	-------	--------------------------------	--

#### z Programu Wymiany Baz (0.38 %)

LP	TYTUŁ	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)	
1	Коллекция КарТУ 3/22/2023 Abylkas Saginov Karaganda Technical University (Karaganda State Technical University)	26 (2)	0.38 %

#### z Internetu (1.91 %)

LP	ADRES URL ŹRÓDŁA	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)	
1	<a href="https://allgosts.ru/07/100/gost_31659-2012">https://allgosts.ru/07/100/gost_31659-2012</a>	62 (7)	0.92 %
2	<a href="https://tovar.uz/product/9109">https://tovar.uz/product/9109</a>	25 (1)	0.37 %

3	<a href="https://azdok.org/document/yng6p76l-%D0%B8%D1%81%D1%81%D0%BB%D0%B5%D0%B4%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D0%B5-%D0%BA%D0%B0%D1%87%D0%B5%D1%81%D1%82%D0%B2%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D0%BE%D0%B3%D0%BE-%D1%81%D0%BE%D1%81%D1%82%D0%B0%D0%B2%D0%B0-%D0%BC%D0%B8%D0%BA%D1%80%D0%BE%D1%84%D0%BB%D0%BE%D1%80%D1%8B-%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BD%D0%B0%D0%BF%D0%B8%D1%82%D0%BA%D0%BE%D0%B2-%D0%BE%D1%81%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B5-%D0%B2%D0%B5%D1%80%D0%B1%D0%BB%D1%8E%D0%B6%D1%8C%D0%B5%D0%B3%D0%BE-%D0%BC%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%BA%D0%B0.html">https://azdok.org/document/yng6p76l-%D0%B8%D1%81%D1%81%D0%BB%D0%B5%D0%B4%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D0%B5-%D0%BA%D0%B0%D1%87%D0%B5%D1%81%D1%82%D0%B2%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D0%BE%D0%B3%D0%BE-%D1%81%D0%BE%D1%81%D1%82%D0%B0%D0%B2%D0%B0-%D0%BC%D0%B8%D0%BA%D1%80%D0%BE%D1%84%D0%BB%D0%BE%D1%80%D1%8B-%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BD%D0%B0%D0%BF%D0%B8%D1%82%D0%BA%D0%BE%D0%B2-%D0%BE%D1%81%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B5-%D0%B2%D0%B5%D1%80%D0%B1%D0%BB%D1%8E%D0%B6%D1%8C%D0%B5%D0%B3%D0%BE-%D0%BC%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%BA%D0%B0.html</a>	18 (1)	0.27 %
4	<a href="http://www.nicf.spb.ru/publications/pit_sredu.doc">http://www.nicf.spb.ru/publications/pit_sredu.doc</a>	14 (1)	0.21 %
5	<a href="https://normadocs.ru/gost_31490-2012">https://normadocs.ru/gost_31490-2012</a>	10 (1)	0.15 %

### Lista zaakceptowanych fragmentów (brak zaakceptowanych fragmentów)

LP	TREŚĆ	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)
----	-------	--------------------------------