

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный исследовательский  
технический университет имени К.И. Сатпаева»

Институт Геологии и нефтегазового дела им. К.Турысова

Кафедра Химическая и биохимическая инженерия

Кабдулхамит Тамирлан Маратулы

Изучение культуральных свойств *Salmonella*, выделенных из объектов окружающей среды

**ДИПЛОМНАЯ РАБОТА**

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Алматы 2024

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный  
исследовательский технический университет имени К.И. Сатпаева»

Институт Геологии и нефтегазового дела им. К.Турысова

Кафедра Химическая и биохимическая инженерия

**ДОПУЩЕН К ЗАЩИТЕ**

Заведующий кафедрой ХиБИ

Доктор PhD

\_\_\_\_\_ Амитова А.А.

« \_\_\_\_ » июня 2024 г.

**ДИПЛОМНАЯ РАБОТА**

На тему: « Изучение культуральных свойств *Salmonella*, выделенных из объектов  
окружающей среды »

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Выполнил

Кабдулхамит Тамирлан Маратулы

Рецензент

д.б.н., профессор факультета биологии и  
биотехнологии КазНУ имени аль-Фараби

\_\_\_\_\_ Иващенко А.Т.

Научный руководитель

к.с.-х.н., доцент

\_\_\_\_\_ Джамалова Г.А.

« \_\_\_\_ » июня 2024 г.

« \_\_\_\_ » июня 2024 г.

Алматы 2024

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный  
исследовательский технический университет имени К.И. Сатпаева»

Институт Геологии и нефтегазового дела им. К.Турысова

Кафедра Химическая и биохимическая инженерия

**ДОПУЩЕН К ЗАЩИТЕ**

Заведующий кафедрой ХиБИ

Доктор PhD

\_\_\_\_\_ Амитова А.А.

« \_\_\_\_ » июня 2024 г.

**ЗАДАНИЕ**

**на выполнение дипломной работы**

Обучающемуся Кабдулхамит Тамирлан Маратулы

Тема: « Изучение культуральных свойств *Salmonella*, выделенных из объектов окружающей среды »

Утвержден приказом \_\_\_\_\_ № \_\_\_\_\_ от « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 202\_\_ г.

Срок сдачи законченной работы: 08 июня 2024 г.

Исходные данные к работе: отобранные пробы почв, результаты теоретических, расчетных и экспериментальных исследований.

Краткое содержание дипломной работы:

- 1 Изучение биологии и особенностей распространения сальмонелл по пищевой цепи.
- 2 Изучение методом математического моделирования особенностей культуральных условий почв, способствующих процессам выживаемости сальмонелл в условиях окружающей среды.
- 3 Выделение бактерий рода *Salmonella* из объектов окружающей среды и изучение особенностей роста сальмонелл на питательной среде.

Перечень графического материала:

представлены 10 слайдами презентации работы.

Рекомендуемая основная литература: из \_\_\_\_\_ наименований научной литературы

**ГРАФИК**  
подготовки дипломной работы

Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю	Примечание
Введение. Обзор литературы	20.03.2024	Выполнено
Материал и методика исследований. Результаты исследований	20.05.2025	Выполнено
Заключение и выводы	30.05.2024	Выполнено
Оформление дипломной работы	08.06.2024	Выполнено

Подписи

Консультантов и норм контролера на законченную дипломную работу с указанием относящихся к ним разделов работы

Наименование разделов	Консультанты, Ф.И.О.	Дата подписания	Подпись
Дипломная работа	к.с.-х.н., доцент, Джамалова Г.А.	08.06.2024	
Норм контролер	к.с.-х.н., доцент, Джамалова Г.А.	08.06.2024	

Научный руководитель:

\_\_\_\_\_

Джамалова Г.А.

Задание принял к исполнению обучающийся

\_\_\_\_\_

Кабдулхамит Т.М.

Дата

XX.XX.202X г.

## АННОТАЦИЯ

Дипломная работа выполнена на 36 стр. машинописного текста, содержит введение (1 стр.), три главы – обзор литературы (9 стр.), материал и методы исследования (2 стр.), результаты исследования (8 стр.), заключение и выводы (1 стр.), библиографический указатель литературы (7 стр.). В дипломной работе отражены 5 таблиц и 9 рисунков, библиографический указатель включает 99 источников научной литературы.

Цель. Изучение культуральных свойств *Salmonella*, выделенных из объектов окружающей среды.

Задачи:

1 Изучение биологии и особенностей распространения сальмонелл по пищевой цепи.

Задача решена благодаря теоретическим исследованиям. Всего исследовано и проанализировано 99 источников научной литературы.

2 Изучение методом математического моделирования особенностей культуральных условий почв, способствующих процессам выживаемости сальмонелл в условиях окружающей среды.

Задача решена с применением метода математического моделирования.

3 Выделение бактерий рода *Salmonella* из объектов окружающей среды и изучение особенностей роста сальмонелл на питательной среде.

Задача решена с применением методов классической микробиологии.

## АННОТАЦИЯ

Дипломдық жұмыс 36 бет машинкамен терілген мәтінді қамтиды, кіріспеден (1 бет), үш тараудан – әдебиеттерге шолу (9 бет), зерттеу материалдары мен әдістері (2 бет), зерттеу нәтижелері (8 бет), қорытынды және тұжырымдардан (1 бет), сондай-ақ библиографиялық көрсеткіштен (7 бет) тұрады. Дипломдық жұмыста 5 кесте және 9 сурет көрсетілген, библиографиялық көрсеткіште 99 ғылыми әдебиет көзі бар.

Мақсаты: Қоршаған орта объектілерінен бөлінген *Salmonella*-ның мәдени қасиеттерін зерттеу.

Міндеттері:

1. Азық-түлік тізбегіндегі *Salmonella*-ның биологиясы мен таралу ерекшеліктерін зерттеу.

Бұл міндет теориялық зерттеулер арқылы шешілді. Барлығы 99 ғылыми әдебиет көзі зерттеліп, талданды.

2. Қоршаған орта жағдайында *Salmonella*-ның өмір сүруіне ықпал ететін топырақтың мәдени жағдайларын математикалық модельдеу әдісімен зерттеу.

Бұл міндет математикалық модельдеу әдісін қолдану арқылы шешілді.

3. Қоршаған орта объектілерінен *Salmonella* бактерияларын бөліп алу және олардың қоректік ортада өсу ерекшеліктерін зерттеу.

Бұл міндет классикалық микробиология әдістерін қолдану арқылы шешілді.

## SUMMARY

This thesis consists of 36 pages of typed text, including an introduction (1 page), three chapters – a literature review (9 pages), materials and methods of research (2 pages), research results (8 pages), a conclusion and findings (1 page), and a bibliography (7 pages). The thesis contains 5 tables and 9 figures, and the bibliography includes 99 sources of scientific literature.

**Objective:** To study the cultural properties of *Salmonella* isolated from environmental objects.

**Tasks:**

1. Study of the biology and distribution characteristics of *Salmonella* along the food chain.

This task was accomplished through theoretical research. A total of 99 sources of scientific literature were studied and analyzed.

2. Study of the soil culture conditions conducive to *Salmonella* survival in the environment using mathematical modeling.

This task was accomplished using the method of mathematical modeling.

3. Isolation of *Salmonella* bacteria from environmental objects and study of the growth characteristics of *Salmonella* on nutrient media.

This task was accomplished using classical microbiology methods.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

	Введение	9
1	Обзор литературы	10
1.1	Биология бактерий рода сальмонелл	10
1.2	Особенности распространения бактерий рода сальмонелл в окружающей среде	11
1.3	Методика микробиологических исследований при работе с сальмонеллами	17
2	Материалы и методы исследования	19
2.1	Материалы исследования	19
2.2	Методы исследования	19
3	Результаты исследования	21
3.1	Моделирование факторов, влияющих на выживаемость бактерий рода <i>Salmonella</i> в окружающей среде	21
3.2	Выделение сальмонеллы из почвы методом микробиологии и изучение их культурных свойств на твердой питательной среде	28
	Заключение и выводы	29
	Литература	30

## ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Изучение процессов распространения сальмонеллеза, как инфекционного заболевания пищевой цепи, имеет ключевое значение для предотвращения их передачи из окружающей среды на пищевые продукты и далее к человеку. Поэтому изучение культуральных свойств бактерий рода *Salmonella*, выделенных из объектов окружающей среды актуально и направлено на изучение особенностей их устойчивости и выживаемости.

Цель. Изучение культуральных свойств *Salmonella*, выделенных из объектов окружающей среды.

Задачи:

1 Изучение биологии и особенностей распространения сальмонелл по пищевой цепи.

Задача решена благодаря теоретическим исследованиям. Всего исследовано и проанализировано 99 источников научной литературы.

2 Изучение методом математического моделирования особенностей культуральных условий почв, способствующих процессам выживаемости сальмонелл в условиях окружающей среды.

Задача решена с применением метода математического моделирования.

3 Выделение бактерий рода *Salmonella* из объектов окружающей среды и изучение особенностей роста сальмонелл на питательной среде.

Задача решена с применением методов классической микробиологии.

Новизна исследований. Новизной исследования является то, что сальмонеллы выделены из локальных условий объектов окружающей среды – почв г. Алматы.

Научная и практическая значимость. Научная значимость исследований определяется тем, что соискателем изучены культуральные свойства бактерий рода *Salmonella*, выделенные из почвы, что позволило освоить вопросы, касающиеся биобезопасности. Практическая значимость определяется тем, что соискателем изучены и закреплены микробиологические методы исследования, такие как, метод отбора проб почвы, метод предельного разведения, метод посева культура на твердые питательные среды, метод культивирования, метод окрашивания по Граму, метод микроскопирования.

Дипломная работа выполнена на 36 стр. машинописного текста, содержит введение (1 стр.), три главы – обзор литературы (9 стр.), материал и методы исследования (2 стр.), результаты исследования (8 стр.), заключение и выводы (1 стр.), библиографический указатель литературы (7 стр.). В дипломной работе отражены 5 таблиц и 9 рисунков, библиографический указатель включает 99 источников научной литературы.

# 1 Обзор литературы

## 1.1 Биология бактерий рода сальмонелл

*Сальмонелла* является ведущей причиной болезней пищевого происхождения во всем мире, которые поражают желудочно-кишечный тракт и вызывают диарею, тошноту и судороги у людей [1]. Заболевания, передаваемые через пищу, представляют серьезную проблему общественного здоровья по всему миру. Согласно отчету Всемирной организации здравоохранения, каждый десятый человек заболевает после употребления загрязненной пищи, приводя к 420 000 смертей ежегодно [2]. Основываясь на различиях в анализе последовательностей их 16S рРНК, род сальмонеллы делится на два таксономических вида, включая *Salmonella enterica* и *Salmonella bongori*. [3]. Большинство изолятов, вызывающих заболевания у людей и животных, принадлежат к *S. enterica*. Этот вид дополнительно делится на более чем 2600 сероваров, способных вызывать заболевания у людей и животных. [4]. Их резервуаром служит желудочно-кишечный тракт широкого круга домашних и диких животных, обладающих способностью расти и размножаться при различных условиях окружающей среды вне организма-хозяина.

Сальмонеллы это грамотрицательные жгутиковые факультативно анаэробные бациллы, обладающие тремя основными антигенами: H или жгутиковым антигеном (может встречаться в одной или обеих двух формах, называемых фазой 1 и фазой 2; организмы имеют тенденцию переходить от одной фазы к другой); O или соматический антиген (встречаются на поверхности внешней мембраны и определяются специфическими последовательностями сахаров на поверхности клетки); и антиген Vi (имеется лишь у нескольких сероваров; представляет собой поверхностный антиген, лежащий над антигеном O; он присутствует в нескольких сероварах, наиболее важным из которых является *S typhi*) [1, 5].

Антигенный анализ сальмонелл с использованием специфических антисывороток имеет клинические и эпидемиологические преимущества. Определение антигенной структуры позволяет клинически идентифицировать микроорганизмы и отнести их к одной из девяти серогрупп (АИ), каждая из которых содержит множество сероваров. H-антиген также представляет собой полезный эпидемиологический инструмент, с помощью которого можно определить источник инфекции и способ ее распространения. Клеточная оболочка сальмонелл содержит сложную липополисахаридную (ЛПС) структуру, которая [1-5]:

- 1) высвобождается при лизисе клетки и, в некоторой степени, во время культивирования;

- 2) может действовать как эндотоксин и может иметь важное значение для определения вирулентности микроорганизмов;

- 3) состоит из трех компонентов: внешней O-полисахаридной оболочки, средней части (R-ядра) и внутренней липидной A-оболочки;

4) важна по нескольким причинам:

а) природа повторяющихся сахарных единиц во внешних цепях О-полисахарида отвечает за специфичность О-антигена (помогает определить вирулентность организма);

б) антитела, направленные против R-ядра (общего энтеробактериального антигена), могут защищать от заражения широким спектром грамотрицательных бактерий, имеющих общую структуру ядра, или могут смягчать их летальные эффекты;

в) эндотоксиновый компонент клеточной стенки может играть важную роль в патогенезе многих клинических проявлений грамотрицательных инфекций (эндотоксины вызывают лихорадку, активируют сывороточную систему комплемента, кининовую и свертывающую системы, угнетают функцию миокарда и изменяют функцию лимфоцитов, ответственен за многие проявления септического шока, которые могут возникнуть при системных инфекциях) [5].

## **1.2 Особенности распространения бактерий рода сальмонелл в окружающей среде**

В последние годы бытовые отходы, собираемые на свалках, и связанные с этим опасности стали одной из самых серьезных проблем современной цивилизации. Эти отходы почти всегда рассматриваются как значительная угроза для растительного и животного мира, а также для здоровья человека, независимо от их происхождения, свойств и полезности, включая экологическую [6]. Они являются потенциальным источником инфекционного материала, и их накопление на свалке представляет серьезный источник загрязнения окружающей среды [7]. Было показано, что по микробиологическому загрязнению бытовые отходы мало отличаются от осадков сточных вод в реальных условиях, присутствующих на свалке. В обоих типах отходов обнаруживаются патогенные бактерии, включая оппортунистические патогены. Многие виды бактерий из родов, таких как *Salmonella*, *Klebsiella*, *Herellea*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Pasteurella*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Mycobacterium*, *Aerococcus*, *Nocardia* и *Stenotrophomonas*, выделяются из этих отходов [8]. Это указывает не только на значительное количество микроорганизмов, присутствующих в материале, собранном на свалке, но и на их большое таксономическое разнообразие [9]. Также существуют бактерии фекального происхождения, колонизирующие пищеварительную систему человека и животных, и после их выхода из организма они могут рассматриваться как индикаторы гигиенического состояния окружающей среды [10]. При оценке санитарного и гигиенического качества почвы очевидно, что исследование для выявления всех патогенных и потенциально инфекционных организмов, которые могут попасть в почву с отходов, невозможно из-за высокой стоимости и трудоёмкости анализа.

Действующие нормативные рекомендации в Польше предусматривают микробиологические испытания почвы на наличие палочек *Salmonella* spp. [11]. Бактерии рода *Salmonella* играют особую роль и могут рассматриваться как модели для других патогенных микроорганизмов. Эти бактерии могут находиться в навозе человека и животных и являются причиной опасных кишечных заболеваний. При внесении в почву в качестве компонента отходов или удобрений они являются значительным источником инфекций почвенного происхождения, как непосредственно, так и косвенно, через кормление загрязнёнными растениями [12]. Как кишечные бактерии, *Salmonella* является аллохтонным родом для почвенной среды и хорошим индикатором свежего загрязнения навозом. Однако до сих пор существует ограниченное знание о биотических и абиотических факторах, влияющих на устойчивость *Salmonella* spp. в почве, включая сельскохозяйственные угодья [12]. Недавно Jechalke и др. [13] обнаружили, что в глинистой почве, удобренной органическим удобрением, продолжительность устойчивости *Salmonella enterica* увеличивается, а её выживание также зависит от видов растений, растущих в почве. В свою очередь, обработка почвы осадками сточных вод значительно снижала количество культивируемых *Salmonella Typhimurium* LT2, которые, предположительно, переходили в состояние жизнеспособных, но некультивируемых (VBNC) [14]. Поскольку *Salmonella* spp. и другие патогены человека из семейства *Enterobacteriaceae* могут адаптироваться к экологическим местообитаниям, не теряя своей вирулентности, повышается вероятность их воздействия и передачи людям, работающим или живущим в загрязнённой зоне [15]. *Salmonella Typhi* и *S. Paratyphi* — это специфические для человека грамтрицательные бактериальные патогены, которые являются основными возбудителями брюшного тифа и паратифа соответственно. Оба патогена ограничены человеком (то есть, у них нет известных животных резервуаров) и передаются от человека к человеку через фекально-оральный путь путем употребления загрязненной пищи или воды, либо через контакт с фекалиями от остро или хронически инфицированных лиц [16]. *Salmonella Typhi* представляет значительную угрозу для здоровья человека в различных частях мира, особенно в развивающихся странах, где практикуется открытая дефекация [17], где сбор и утилизация фекальных масс неэффективны или используются в сельском хозяйстве [18], и где отсутствует доступ к безопасной воде [19].

Текущая оценка бремени болезни является довольно неточной, так как часто сообщаемые данные основаны на случаях, требующих госпитализации, но у большинства пациентов не развиваются тяжелые симптомы, и они лечатся местными врачами или остаются без лечения [20]. Знание и признание бремени болезни имеет решающее значение для принятия обоснованных решений в области общественного здравоохранения, таких как вакцинные стратегии, распределение ресурсов и мониторинг эффективности вмешательств [21]. Однако, поскольку бремя брюшного тифа значительно варьируется по времени и пространству (то есть, заболеваемость может варьироваться в пределах

одного города или географической области), локализованные данные клинического наблюдения могут быть сложно экстраполировать [21].

Лечение сальмонеллеза у людей и животных обычно основано на антибиотиках [22]. Антибиотики широкого спектра действия обычно используются для лечения высоко восприимчивых людей с клиническими осложнениями [23]. Антибиотики хлорамфеникол и триметоприм / сульфаметоксазол впервые были использованы для лечения сальмонеллеза [24]. В настоящее время хинолоны третьего поколения, такие как фторхинолоны, включая цiproфлоксацин и офлоксацин, являются препаратами выбора для лечения сальмонеллезной инфекции у пациентов с ослабленным иммунитетом [25]. Из-за растущей устойчивости бактерий к фторхинолонам цефалоспорины, такие как цефтриаксон, и макролиды, такие как азитромицин, используются в качестве эмпирического лечения для контроля инфекций сальмонеллы [26]. Как и антибиотики, вакцины также используются для предотвращения и контроля инфекций сальмонеллы у людей и животных [27]. Существует две вакцины против сальмонеллы, одобренные Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA): живая аттенуированная пероральная вакцина Ty21a и внутримышечная полисахаридная капсульная вакцина Vi, тогда как несколько других вакцин, таких как вакцина на основе ГММА, гликоконъюгированная вакцина, O-антиген гликоконъюгированные вакцины и новые аттенуированные вакцины все еще находятся в разработке [28]. Эффективность вакцин против сальмонеллы ограничивается различными факторами, такими как наличие бессимптомных носителей, что затрудняет разработку вакцин, сложные механизмы уклонения от иммунитета и наличие разнообразных серотипов [29]. В настоящее время доступные вакцины против брюшного тифа обеспечивают лишь умеренную и кратковременную защиту человека [30]. Кроме того, серотипы сальмонелл сильно варьируют, со значительным генетическим разнообразием внутри и между хозяевами, что усложняет усилия по контролю над патогеном [31]. Серовары сальмонелл классифицируются на брюшнотифозные и не тифоидные (НТС) в зависимости от их способности развивать специфическую патогенность у человека и животных [32]. К брюшнотифозным сероварам, вызывающим брюшной тиф и паратиф у человека, относятся *S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *B*, *C* и *S. Sendai* [33]. Эти серовары очень специфичны для хозяина и передаются только от инфицированных хозяев или носителей через загрязненную пищу и воду [34]. Тифоидный сальмонеллез характеризуется высокой смертностью и низкой заболеваемостью [35]. Однако НТС включает более 2000 серотипов, среди которых преимущественно *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Newport* и *S. Heidelberg*, и может инфицировать как человека, так и животных [36]. Некоторые серовары НТС, такие как фаг *S. Typhimurium* типа, *S. Gallinarum* и *S. Pullorum* преимущественно инфицирует голубей, овец, свиней, водоплавающих птиц и домашнюю птицу соответственно, тогда как *S. Дублин* и *C. Холерой* поражаются преимущественно крупный рогатый скот и свиньи [37]. Более того, НТС может легко адаптироваться к широкому кругу хозяев и быстро

распространяться от инфицированных хозяев при употреблении зараженной пищи и воды [38]. Инвазивные нетифоидные сальмонеллы [iNTS] более вирулентны, чем другие типы, не относящиеся к iNTS; однако большинство сероваров iNTS подобны сероварам, не относящимся к iNTS, с точки зрения типа заболевания, восприимчивости к группе высокого риска и других характеристик, таких как развитие множественной лекарственной устойчивости [39]. Способность сальмонеллы адаптироваться к окружающей среде хозяина и вызывать клинические симптомы у конкретного хозяина зависит от таких факторов, как дозировка заражающих бактерий, вовлеченный вид хозяина, возраст хозяина и его иммунный статус [40]. Например, серовар *S. Choleraesuis* является сероваром, адаптированным к свиньям, и он вызывает у свиней наиболее тяжелые заболевания по сравнению с людьми [41]. Некоторые серотипы, такие как *S. энтерика* серовар *Typhimurium* внесен в список прототипов серотипа широкого круга хозяев, который может инфицировать людей, домашний скот, домашнюю птицу, лошадей, свиней, голубей, грызунов и птиц [38]. Другие серовары, такие как *S. enterica* можно классифицировать как универсальные, адаптированные к хозяину или ограниченные хозяином [42]. Они разработали механизмы выживания внутри хозяина, избегая при этом иммунных ответов за счет колонизации нефагоцитарных клеток [43]. Например, *S. Typhi* распространяется из желудочно-кишечного тракта в ретикулоэндотелиальную систему. Более того, он обычно колонизирует поверхность желчных камней при диссеминации [44]. Примерно 1–6% людей, инфицированных *Salmonella Typhi*, не проявляют клинических симптомов после первичного заражения, но становятся бессимптомными и хроническими бактерионосителями [45]. И наоборот, патогенез сероваров-хозяев-генералистов часто приводит к гастроэнтериту, и выделение сальмонеллы происходит в течение очень короткого времени [46]. Из-за их ограниченной способности к долговременному выделению продолжительность жизни NTS-хозяина-универсала в большей степени зависит от их способности выживать в окружающей среде [47]. Поскольку считается, что виды сальмонелл являются частью нормальной микробиоты кишечника или желчного пузыря животных, эти животные также могут играть роль в косвенной или прямой передаче возбудителя человеку [48].

Источники инфекции сальмонеллы включают:

- 1 Птицу и продукты из птицы, которые считаются основным источником инфекции сальмонеллы у людей [49]. Заражение мяса обычно происходит в результате неправильного обращения с инфицированными органами, такими как кишечник и печень, во время обработки туш [50]. Было исследовано заражение сальмонеллой в 44 бройлерных фермах и 51 ферме-несушке, где сальмонеллы были обнаружены в 41,3% бройлерных птичников, а почти 50% идентифицированных штаммов были способны продуцировать биопленку [51]. В США предыдущий отчет показал, что распространенность серовара *S. Enteritidis* в куриных продуктах выросла с 0,45% до 1,5% за период 10 лет (2002–2012 гг.). Это означает, что мясо птицы является одним из существенных

факторов риска. для заражения человека [52]. Замороженные сырые куриные продукты в панировке (FRBCP) также были признаны фактором риска сальмонеллы в Канаде и США [53]. Из списка из 18 источников пищи яйца и яичные продукты были наиболее частыми источниками вспышек сальмонеллеза [54].

2 Мясной фарш: CDC провел опрос населения, который показал, что 82,2% американцев потребляют говядину еженедельно, причем 67% явно предпочитают говяжий фарш [55]. Было установлено, что курица, свинья и говядина ответственны за 34, 25 и 16% вспышек сальмонеллы соответственно [56], а 10% сальмонеллеза человека связано с потреблением говядины в США [55]. Недавняя вспышка сальмонеллеза привела к более чем 400 зарегистрированным инфекциям, из которых более 100 человек потребовали госпитализации. Вспышка была связана с устойчивым к антибиотикам (AMR) штаммом *S. Ньюпорте*, который был связан с потреблением говяжьего фарша в 30 различных штатах [57].

3 Домашние животные могут загрязнять окружающую среду и передавать инфекцию другим животным, производящим пищу, спорадически выделяя бактерии со своими фекалиями [58]. Домашние животные, такие как собаки, питающиеся сырой пищей, с большей вероятностью являются носителями сероваров сальмонеллы, таких как *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg* и *S. Kentucky*. Более того, вероятность заражения сальмонеллой выделение вируса было примерно в 23 раза выше у собак на сыроедении, чем у собак на коммерческом рационе [59]. Более того, исследование «случай-контроль» сальмонеллеза у детей в Мичигане показало, что контакт с кошками является одним из основных факторов риска заражения сальмонеллой [60].

4 Дикие животные, включая кабанов и диких свиней, играют решающую роль в передаче сальмонеллы как домашним животным, так и людям во всем мире [61]. Сальмонеллу часто выявляют у различных диких млекопитающих, таких как опоссумы, еноты, лисы, норки, тигры, пумы, тюлени, белохвостые олени и киты, а также у диких птиц [61]. Домашние животные заражаются при контакте с зараженными фекалиями диких животных и птиц [62]. У людей передача обычно происходит либо при прямом контакте с зараженными фекалиями инфицированных животных, либо при употреблении зараженного мяса диких птиц и других диких животных, таких как олени или кабаны [63]. Было проведено несколько исследований для определения распространенности сальмонеллы у диких животных. Например, Каммингс и др. обнаружили, что из 442 образцов фекалий, полученных от диких свиней в 50 округах Техаса, США, 43% дали положительный результат на сальмонеллу. Среди этих образцов наиболее распространенными были серовары *S. Монтевидео* (10%), *S. Ньюпорт* (9,1%) и *S. Дайте* (8,2%) [64]. Аналогично, Молино и др. продемонстрировали, что при анализе образцов тканей 1041 дикого кабана из центрально-западной Испании 7,7% были положительными на сальмонеллу, а *S. Newport* был наиболее распространенным сероваром [65]. Аналогичным образом, из 225 образцов фекалий, собранных у содержащихся в неволе диких и экзотических

животных, включая жирафов, журавлей и енотов из Огайо, США, 24,9% ( n = 56) были положительными на сальмонеллу , а наиболее распространенные серовары включали *S. Typhimurium* (64,3%) , *S. Ньюпорт* (32,1%) и *S. Гейдельберг* (5,3%) [66].

5 Насекомые также являются одним из переносчиков сальмонеллы на фермах. Исследования показали, что комнатные и свалочные мухи, а именно *Musca Domestica* и *Hydrotaea aenescens*, могут переносить *S. Enteritidis*, *S. Серотипы Heidelberg* и *S. Infantis* [67]. Аналогично, было обнаружено, что личинки и взрослые особи мелких мучных червей (*Alphitobius diaperinus*) являются носителями AMR *S. Enteritidis* и передают инфекции на фермах [68]. Кроме того, 15 различных серотипов, включая *S. Anatum*, *S. Choleraesuis var. Кунцендорф* и *S. Дерби*, были обнаружены у обыкновенных комнатных мух (*Musca Domestica*) на свиноферме [69]. Более того, 13 из этих серотипов были обнаружены в образцах фекалий свиней, причем *S. Анатум* и *S. Дерби* является преобладающим [70].

6 Грызуны, такие как домашние мыши, являются одним из значительных источников инфекции на фермах. Сообщалось, что домовая мышь (*Mus musculus*) играет решающую роль в передаче инфекции *Salmonella Enteritidis* среди сельскохозяйственных животных [71]. Кроме того, такие виды, как крышная крыса (*Rattus rattus*), также являются известными источниками *S. Enteritidis* инфекции [72]. Различные исследования показали, что *R. rattus*, *R. norvegicus* и *M. musculus Domesticus* являются источниками нескольких серотипов сальмонеллы на птицеводческих и свинофермах [72]. Аналогично, CDC определяет другие виды-хозяева, такие как рептилии и амфибии, как хозяев, которые могут содержать сальмонеллу и передавать инфекцию людям и сельскохозяйственным животным [73]. Кроме того, способность сальмонеллы образовывать биопленки, позволяющая ей прикрепляться к различным поверхностям окружающей среды, овощам, фруктам и скорлупе куриных яиц, а также к поверхностям, находящимся вблизи жилых помещений животных, таким как мешки для пылесоса, стоки раковин и т.д. дверные ручки в домах способствуют дальнейшей передаче бактерий хозяевам-млекопитающим [74]. Другие источники, такие как вода, загрязненные полы, тележки, использование загрязненной воды для орошения сельскохозяйственных культур или прямой контакт с фекалиями животных, несущих сальмонеллу, также могут передавать инфекцию человеку [75]. Передача серотипов сальмонеллы часто значительно различается между популяциями людей и животных в одном и том же географическом регионе [76]. Различные серотипы сальмонелл обладают разной способностью вызывать заболевания у человека [77]. Однако передача инфекций сальмонеллы может происходить при прямом или косвенном контакте дома, в больнице или на ферме; однако большинство заболеваний, связанных с сальмонеллой, которые ежегодно возникают во всем мире, имеют пищевое происхождение [78]. Передача сальмонеллы может происходить при прямом контакте при употреблении зараженной фекалиями пищи или воды [79]. Вертикальная передача обычно происходит у птиц и рептилий, когда

бактерии из женских половых путей получают доступ к яйцам [80]. Внедрение возбудителя зависит от толщины и проницаемости яичной скорлупы, причем яичная скорлупа рептилий более тонкая и проницаемая, чем у птиц [81], тогда как непрямая передача происходит, когда бактерии передаются через промежуточные объекты, такие как загрязненная посуда и живые или неодоушевленные векторы [82].

### **1.3 Методика микробиологических исследований при работе с сальмонеллами**

*S. enterica* – это высоко разнообразный граммотрицательный бактериальный вид, который можно разделить на тифоидные и не тифоидные серовары *Salmonella*. Тифоидные серовары *Salmonella* имеют общие вирулентные свойства, приобретенные в результате конвергентной эволюции, поэтому эти вирулентные гены отсутствуют у большинства нетифоидных сероваров *Salmonella* [83].

Кишечник содержит высокоразнообразное микробное сообщество, которое влияет на питание, физиологию и иммунную систему хозяина [84, 85]. Состав микробиоты кишечника остаётся относительно стабильным у здоровых людей на протяжении всей их жизни [86].

В ЕС систематически тестируют продукты из птицы на наличие сероваров *S. enterica* subsp. *enterica* серовары Typhimurium и Enteritidis [87, 88]. Для обнаружения *Salmonella* в пищевых образцах в целом могут использоваться как молекулярные тесты, так и традиционные методы культивирования. Мультиплексный количественный ПЦР (qPCR) доказал свою эффективность как быстрый, простой в выполнении и чувствительный молекулярный метод для обнаружения видов *Salmonella* и различных сероваров *Salmonella* [89]. Скрининг обогащенных образцов с помощью qPCR позволяет в течение 24 часов определить, является ли обогащение положительным или отрицательным на *Salmonella*, в то время как метод культивирования требует больше времени и труда, требуя дополнительных 24 часов для получения результата. Раннее обнаружение положительных на *Salmonella* образцов с помощью qPCR способствует более раннему вмешательству и предотвращению дальнейшего распространения загрязненных пищевых продуктов на рынке по сравнению с методами культивирования.

Мультиплексный ПЦР можно использовать для первичного скрининга обогащенных образцов из различных матриц и для подтверждения подозреваемых изолятов *Salmonella*. Метод мультиплексного ПЦР был валидирован путем определения эффективности ПЦР, относительной точности и селективности. Кроме того, уровень обнаружения (LOD) мультиплексного ПЦР был сравнен с уровнем обнаружения двух методов культивирования *Salmonella*; это метод ISO для обнаружения *Salmonella* [90] и модифицированный метод ISO на модифицированной полутвердой среде

Раппарта-Вассилиадиса (MSRV), далее именуемый как метод MSRV [91]. Тестируемые матрицы включали птицу, фарш, яйца, травы/специи, порошковое молоко, рыбу, корм для животных, носки с куриными фекалиями, мазки с мусором и куриный пух. Эти матрицы были выбраны по двум причинам.

Во-первых, выбранные матрицы известны как релевантные источники для появления и роста *Salmonella* [92].

Во-вторых, стандарт ISO 16140–2:2016 [93] указывает общий принцип и технический протокол для валидации альтернативных методов микробиологии в пищевой цепочке. Рекомендуется выбирать матрицы как минимум из пяти категорий продуктов питания, чтобы метод мог применяться к широкому спектру продуктов. Выбирая образцы кормов, образцы окружающей среды и образцы с этапов первичного производства, применение этого метода расширяется.

## 2 Материалы и методы исследования

Объект исследования. Бактерии рода *Salmonella* окружающей среды.

Предмет исследования: Процесс адаптации бактерий рода *Salmonella* в окружающей среде.

### 2.1 Материалы исследования

Материалы исследования:

- оборудование и приборы (автоклав, термостат, микроскоп, весы аналитические), лабораторная стеклянная посуда (чашки Петри, колбы);
- отобранные для исследования пробы почв.

### 2.2 Методы исследования

#### 2.2.1 Расчетные методы исследования

Методы исследования основаны на применении методов математического моделирования (глава 3.1), отбора проб и микробиологии, в частности, выделение бактерий рода *Salmonella* из почвы, культивирование, микроскопирование, изучение культуральных свойств (глава 3.2).

Формулы и уравнения, использованные в решении поставленных задач, приведены ниже:

Формула нелинейной множественной корреляции [94]:

$$R = \sqrt{1 - \frac{(N-1) \times \sum (Y_{\text{э}} - Y_m)^2}{(N-K-1) \times \sum (Y_{\text{э}} - Y_{\text{ср}})^2}} \quad (1)$$

Обозначения:

$N$  – число описываемых точек,

$K$  – число действующих на бактерии рода *Salmonella* факторов окружающей среды,

$Y_{\text{э}}$  – экспериментальный результат,

$Y_m$  – теоретический (расчетный) результат,

$Y_{\text{ср}}$  – среднее экспериментальное значение.

Величина значима, если выполняется условие:

$$t_R = \frac{R \times \sqrt{N-K-1}}{1-R^2} > 2 \quad (2)$$

$N = 5, K = 1.$

Подбор аппроксимирующей функции основан на применении метода наименьших квадратов.

Уравнение прямой линии:

$$Y = a + b \times X. \quad (3)$$

$$b = \frac{n \sum XY - \sum X \sum Y}{n \sum X^2 - (\sum X)^2}, \quad a = \frac{\sum Y - b \sum X}{n} \quad (4, 5)$$

После определения значимости частных функций выводится обобщенное уравнение  $Y_{об}$ :

$$Y_{об} = \frac{Y_1 \times Y_2 \times \dots \times Y_n}{y_{cp}^{n-1}} \quad (6)$$

Обозначения:

$Y_1, Y_2, Y_3, \dots, Y_n$  – частные функции,

$Y_{cp}$  – общее среднее всех учитываемых значений обобщенной функции.

### 2.2.2 Микробиологические методы исследования

Исследования включали следующие этапы работ [95]:

1 Отбор проб почвы методом конверта.

2 Подготовительный этап работы складывался из таких процедур, как:

- подготовка лабораторной посуды (колб, чашек Петри, микропипеток и др.) и их стерилизация, приборов (весы аналитические, микроскоп бинокулярный) и оборудования (термостат);

- подготовка питательной среды XLD-агар по инструкции от завода изготовителя, стерилизация;

- розлив питательной среды на чашки Петри (происходит затвердевание среды в процессе остывания).

3 Подготовка отобранных проб почв и проведение метода предельного разведения.

4 Посев инокулята на твердую питательную среду осуществляли в боксе в стерильных условиях.

5 Культивирование в термостате при температуре 37<sup>0</sup>С в течение 24 ч.

После посева образцы с питательной средой в чашках Петри переворачивали и помещали в термостат для дальнейшего роста и развития колоний бактерий рода *Salmonella*.

6 Изучение культуральных свойств бактерий рода *Salmonella*, выращенных на твердой питательной среде.

### 3 Результаты исследования

Род бактерий *Salmonella*, как колонизаторы желудочно-кишечного тракта животных и человека, являются зоонозной бактерией из семейства *Enterobacteriaceae* со способностями распространяться по пищевой цепи через объекты окружающей среды, т.е. через почву, воду, флору и фауну, в частности, через корм к животным и далее к человеку. Поэтому инфекция сальмонеллы, а также множественная лекарственная устойчивость у изолятов сальмонелл, представляет глобальную проблему для общественного здравоохранения. Поэтому для предотвращения заражения человека сальмонеллой требуются проводить эпидемиологический надзор, профилактику и контроль в том числе и объектов окружающей среды.

#### 3.1 Моделирование факторов, влияющих на выживаемость бактерий рода *Salmonella* в окружающей среде

Задача. Изучить методом математического моделирования особенности культуральных условий почв, способствующих процессам выживаемости сальмонелл в условиях окружающей среды

Сальмонеллы широко распространены в природной среде поэтому представляет научный интерес вопрос по изучению методом математического моделирования факторов, оптимально в комплексе влияющих на процесс выживаемости сальмонелл в условиях окружающей среды, в частности, когда культуральным условием служит почва, как аналог твердой питательной среды в лаборатории. Известно, что сальмонеллы имеют широкий круг хозяев (среди животных как хладнокровные, так и теплокровные) и оптимальными условиями культивирования для них являются: температура 37 °С, рН 6,5-7,5 [96, 97].

В данном разделе методом математического моделирования рассчитаны оптимальные особенности культуральных условий почв, способствующих процессам выживаемости сальмонелл в условиях окружающей среды.

В расчетных исследованиях были рассмотрены количественные (влажность, температура, рН, интенсивность дыхания) факторы, свойственные почве и влияющие на процесс выживания сальмонелл в условиях окружающей среды (таблица 1):

- 1 Влажность почвы: 20, 30, 40, 50, 60 %
- 2 Температура: 10, 15, 20, 25, 30 °С.
- 3 рН: 5; 6; 7; 8; 9
- 4 Интенсивность дыхания почвы, мл O<sub>2</sub> на 1 кг сухой почвы за час: 0,8; 1,8; 2,8; 3,8; 4,8.

Таблица 3.1 – Область факторного пространства

Факторы	Уровни факторов				
	1	2	3	4	5
X <sub>1</sub> -Влажность, %	20	30	40	50	60
X <sub>2</sub> – температура, °С	10	15	20	25	30
X <sub>3</sub> – рН	5	6	7	8	9
X <sub>4</sub> – Интенсивность дыхания почвы, мл О <sub>2</sub> на 1 кг сухой почвы за час	0,8	1,8	2,8	3,8	4,8

Как видим из таблицы 1, род *Salmonella* обитая в окружающей среде способен выживать в суровых условиях несколько лет [98] благодаря высокой физиологической пластичности и способности адаптироваться к различным культуральным нишам (вода, почва) [99].

Таблица 3.2 – Четырёхфакторная матрица планирования эксперимента

№ опыта	Четырёхфакторная матрица планирования эксперимента								%
	X <sub>1</sub>		X <sub>2</sub>		X <sub>3</sub>		X <sub>4</sub>		
	Уро вень	Зна чение	Уро вень	Зна чение	Уро вень	Зна чение	Уро вень	Зна чение	
1	1	20	1	10	5	9	4	3,8	33,4
2	1	20	2	15	4	8	5	4,8	5
3	1	20	3	20	2	6	1	0,8	4
4	1	20	4	25	3	7	2	1,8	33,4
5	1	20	5	30	1	5	3	2,8	66,7
6	2	30	1	10	5	9	4	3,8	3
7	2	30	2	15	4	8	5	4,8	33,4
8	2	30	3	20	2	6	1	0,8	33,4
9	2	30	4	25	3	7	2	1,8	33,4
10	2	30	5	30	1	5	3	2,8	1
11	3	40	1	10	5	9	4	3,8	66,7
12	3	40	2	15	4	8	5	4,8	66,7
13	3	40	3	20	2	6	1	0,8	0
14	3	40	4	25	3	7	2	1,8	33,4
15	3	40	5	30	1	5	3	2,8	12
16	4	50	1	10	5	9	4	3,8	33,4
17	4	50	2	15	4	8	5	4,8	21
18	4	50	3	20	2	6	1	0,8	33,4
19	4	50	4	25	3	7	2	1,8	100
20	4	50	5	30	1	5	3	2,8	14
21	5	60	1	10	5	9	4	3,8	33,4
22	5	60	2	15	4	8	5	4,8	66,7
23	5	60	3	20	2	6	1	0,8	33,4
24	5	60	4	25	3	7	2	1,8	1
25	5	60	5	30	1	5	3	2,8	33,4

Таблица 3.3 – Расчет экспериментальных значений частных функций

№ фактора	Уровень					Среднее значение
	1	2	3	4	5	
X <sub>1</sub>	28,5	20,84	35,76	40,36	33,58	31,808
X <sub>2</sub>	33,98	38,56	20,84	40,24	25,42	31,808
X <sub>3</sub>	25,42	20,84	40,24	38,56	33,98	31,808
X <sub>4</sub>	20,84	40,24	25,42	33,98	38,56	31,808

Таблица 3.4 - Расчетные значения исследуемых функций

№ опыта	X <sub>1</sub>				X <sub>2</sub>			
	X	Y	X <sup>2</sup>	XY	X	Y	X <sup>2</sup>	XY
1	20	28,5	400	570	10	33,98	100	339,8
2	30	20,84	900	625,2	15	38,56	225	578,4
3	40	35,76	1600	1430,4	20	20,84	400	416,8
4	50	40,36	2500	2018	25	40,24	625	1006
5	60	33,58	3600	2014,8	30	25,42	900	762,6
Σ	200	159,04	9000	6658,4	100	159,04	2250	3103,6

Продолжение табл.3.4

№ опыта	X <sub>3</sub>				X <sub>4</sub>			
	X	Y	X <sup>2</sup>	XY	X	Y	X <sup>2</sup>	XY
1	5	25,42	25	127,1	0,8	20,84	0,64	16,672
2	6	20,84	36	125,04	1,8	40,24	3,24	72,432
3	7	40,24	49	281,68	2,8	25,42	7,84	71,176
4	8	38,56	64	308,48	3,8	33,98	14,44	129,124
5	9	33,98	81	305,82	4,8	38,56	23,04	185,088
Σ	35	159,04	255	1148,12	14	159,04	825,36	474,492

Таблица 3.5 - Аппроксимация исследуемых функций

Формулы	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>
$b = \frac{n \sum XY - \sum X \sum Y}{n \sum X^2 - (\sum X)^2}$	0,2968	-0,3088	-1,742	0,0371171
$a = \frac{\sum Y - b \sum X}{n}$	19,936	37,984	44,002	31,70407212
$Y = a + b \times X$	79,296	7,104	-16,968	32,22371152
Теоретические значения частных функций:				
$Y_{n1} = a + b \cdot X_{n1}$	25,872	34,896	35,292	31,734
$Y_{n2} = a + b \cdot X_{n2}$	28,84	33,352	33,55	31,771
$Y_{n3} = a + b \cdot X_{n3}$	31,808	31,808	31,808	31,808
$Y_{n4} = a + b \cdot X_{n4}$	34,776	30,264	30,066	31,845
$Y_{n5} = a + b \cdot X_{n5}$	37,744	28,72	28,324	31,882

Методом математического моделирования определяем особенности культуральных условий почв, способствующих процессам выживаемости

сальмонелл в условиях окружающей среды. Для этого изучаем выборку на точечные графики.

Проводим вычисления по изучению влияния исследуемых в эксперименте факторов  $X_1 - X_4$ :

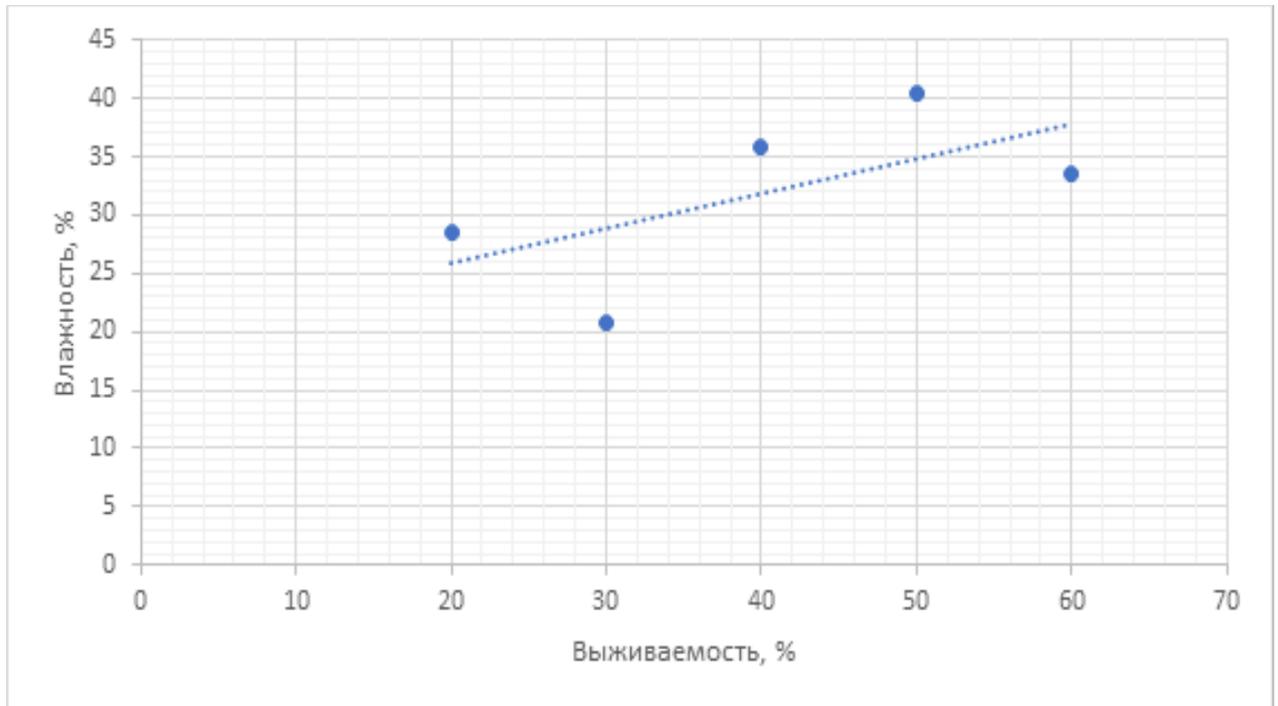


Рисунок 1 - Зависимость (экспериментальные значения частных функций) фактора  $X_1$  (влажность почвы, %) и процента выживаемости сальмонелл в условиях почвы окружающей среды

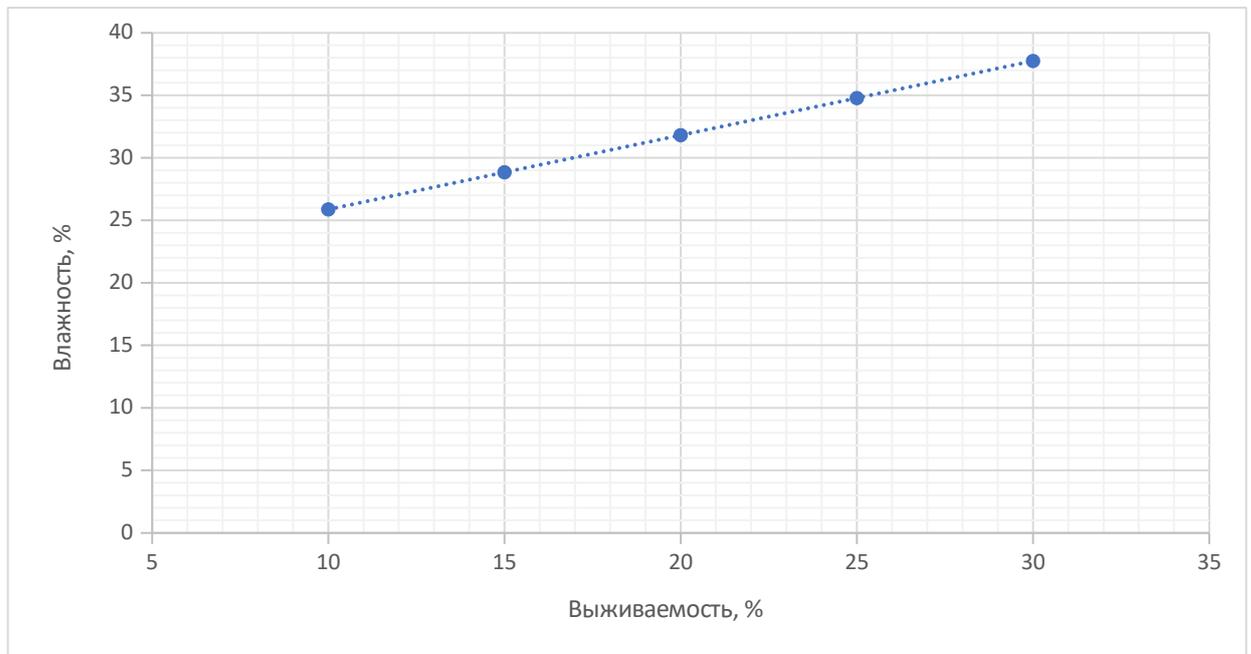


Рисунок 2 - Зависимость (расчетные значения частных функций) фактора  $X_1$  (влажность почвы, %) и процента выживаемости сальмонелл в условиях почвы окружающей среды

Как видно из рисунков 1 (экспериментальные значения частных функций) и 2 (расчетные значения частных функций), зависимость фактора  $X_1$  (влажность почвы, %) и выживаемости сальмонелл (%) в условиях почвы окружающей среды показало, что чем выше влажность почвы до определенного предела, в нашем случае 37,744 %, тем выше процент сохранности сальмонелл в почве, 30 %. Тогда как в экспериментальных условиях, процент приживляемости возрастал до 60 %. Это объясняется тем, что пробы почв были отобраны на территории промышленной зоны – техногенной площадки временного содержания помета птиц.

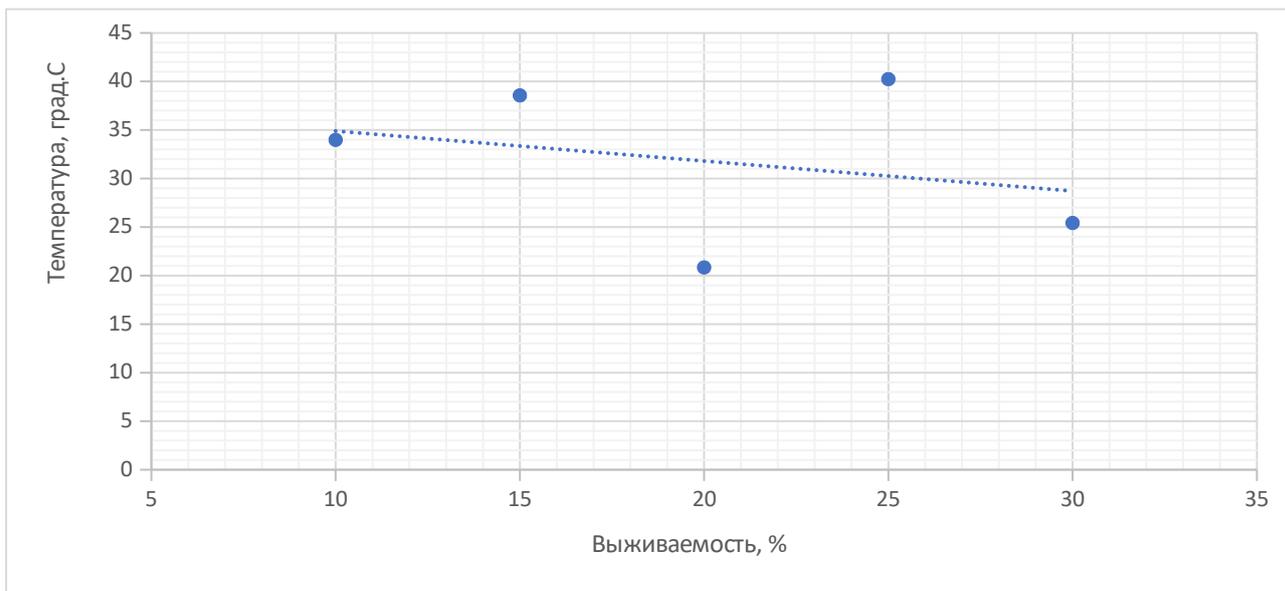


Рисунок 3 - Зависимость (экспериментальные значения частных функций) фактора  $X_2$  (температура,  $^{\circ}\text{C}$ ) и процента выживаемости сальмонелл в условиях почвы окружающей среды

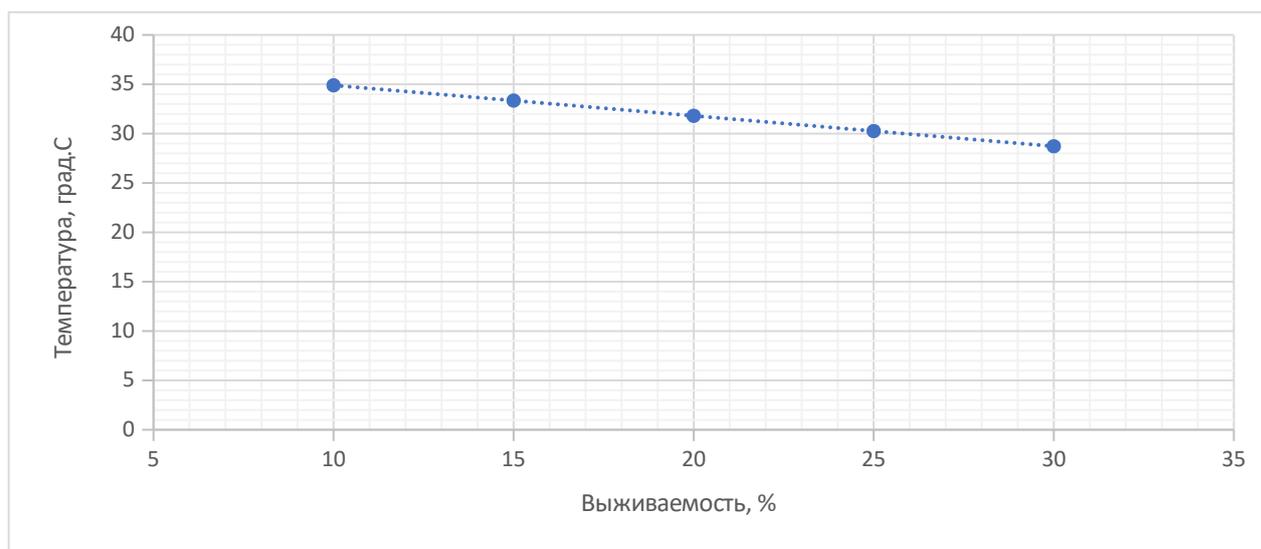


Рисунок 4 - Зависимость (расчетные значения частных функций) фактора  $X_2$  (температура,  $^{\circ}\text{C}$ ) и процента выживаемости сальмонелл в условиях почвы окружающей среды

Как видно из рисунков 3 (экспериментальные значения частных функций) и 4 (расчетные значения частных функций), зависимость фактора  $X_2$  (температура, °C) и выживаемости сальмонелл (%) в условиях почвы окружающей среды показало, что чем ниже температура почвы до определенного предела, в нашем случае 28,72 %, тем выше процент сохранности сальмонелл в почве, 30% такой же и в экспериментальных условиях.

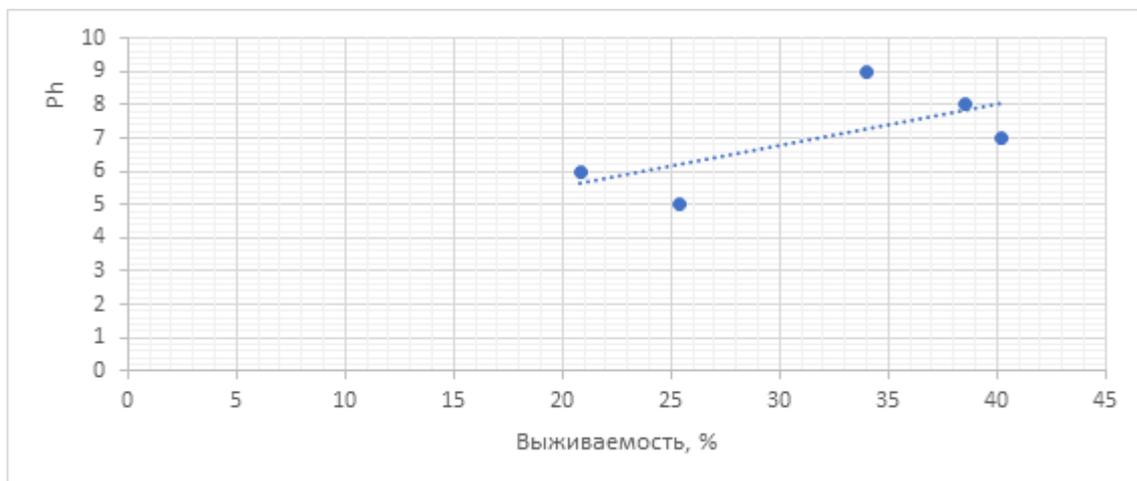


Рисунок 5 - Зависимость (экспериментальные значения частных функций) фактора  $X_3$  (pH) и процента выживаемости сальмонелл в условиях почвы окружающей среды

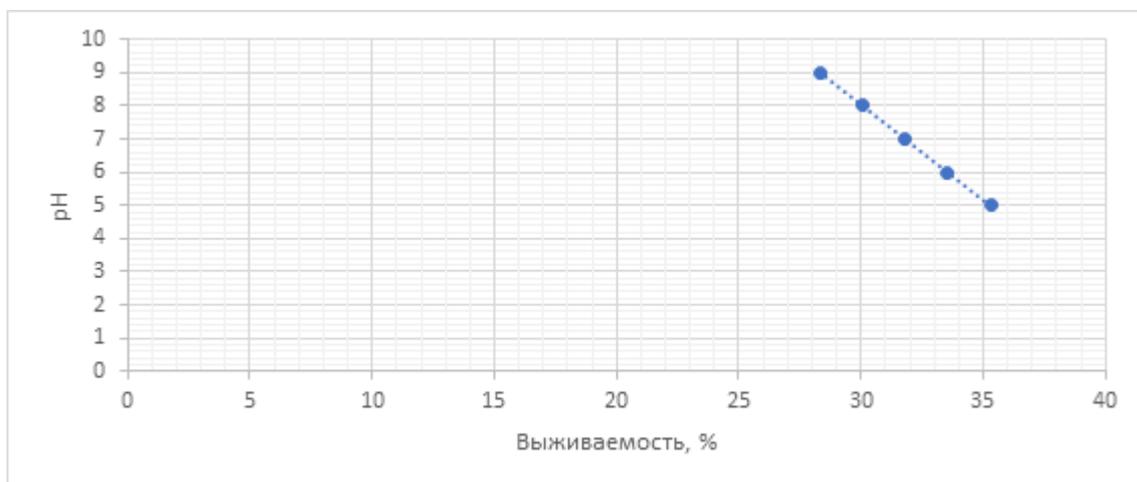


Рисунок 6 - Зависимость (расчетные значения частных функций) фактора  $X_3$  (pH) и процента выживаемости сальмонелл в условиях почвы окружающей среды

Как видно из рисунков 5 (экспериментальные значения частных функций) и 6 (расчетные значения частных функций), зависимость фактора  $X_3$  (pH) и выживаемости сальмонелл (%) в условиях почвы окружающей среды показало, что чем ниже pH почвы до определенного предела, в нашем случае 28,324 %, тем выше процент сохранности сальмонелл в почве, 30% такой же и в экспериментальных условиях.

тем выше процент сохранности сальмонелл в почве, 35 %. Тогда как в экспериментальных условиях, процент приживляемости возрастал до 40 %.

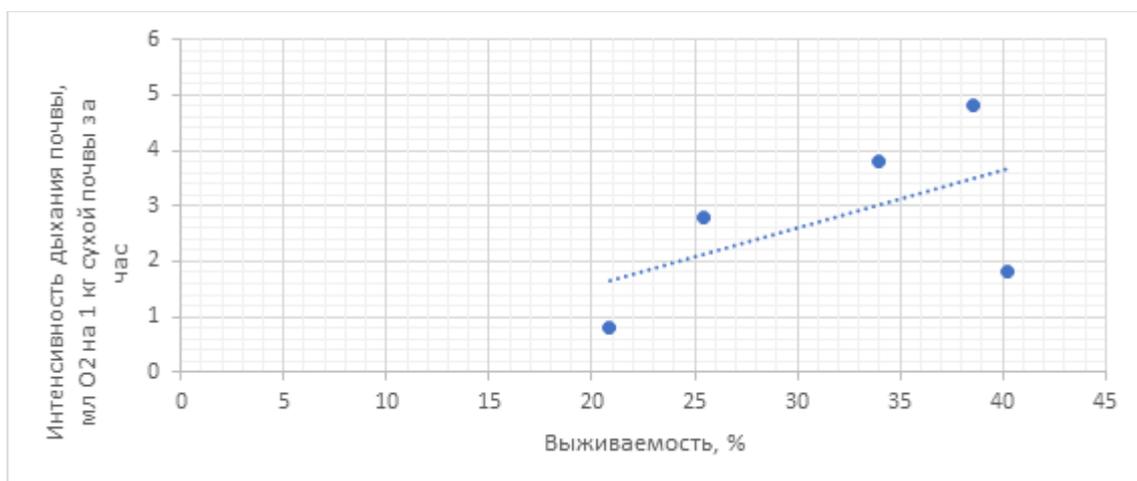


Рисунок 7 - Зависимость (экспериментальные значения частных функций) фактора  $X_4$  (интенсивность дыхания почвы, мл  $O_2$  на 1 кг сухой почвы за час) и процента выживаемости сальмонелл в условиях почвы окружающей среды

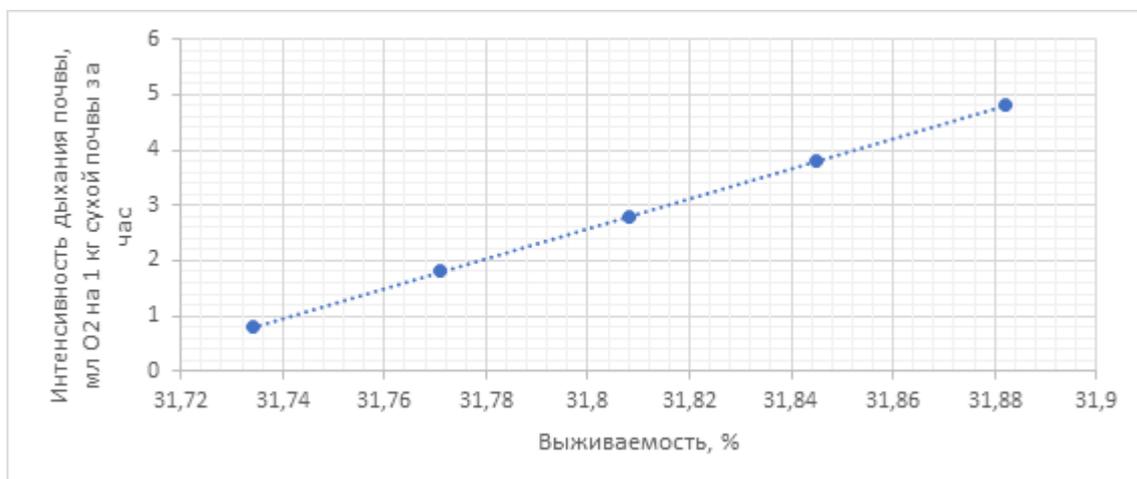


Рисунок 8 - Зависимость (расчетные значения частных функций) фактора  $X_4$  (интенсивность дыхания почвы, мл  $O_2$  на 1 кг сухой почвы за час) и процента выживаемости сальмонелл в условиях почвы окружающей среды

Как видно из рисунков 7 (экспериментальные значения частных функций) и 8 (расчетные значения частных функций), зависимость фактора  $X_4$  (рН) и выживаемости сальмонелл (%) в условиях почвы окружающей среды показало,

что чем выше Интенсивность дыхания почвы, мл  $O_2$  на 1 кг сухой почвы за час почвы до определенного предела, в нашем случае 31,882

%, тем выше процент сохранности сальмонелл в почве, 32 %. Тогда как в экспериментальных условиях, процент приживляемости возрастал до 40 %

### 3.2 Выделение сальмонеллы из почвы методом микробиологии и изучение их культурных свойств на твердой питательной среде

Выделенные бактерии рода сальмонеллы были выращены на твердой питательной среде XLD агар (рисунок 9).



Рисунок 9 – Рост бактерий рода сальмонелл на твердой питательной среде

Как видно из рисунка 9, культурные свойства сальмонелл через 24 ч культивирования показали следующие результаты:

- 1) хорошо растут на простых питательных и желчесодержащих средах;
- 2) на плотных средах образуют колонии в R-форме и S-форме;
- 3) колонии средних размеров, полупрозрачные с черным центром.

## **Заключение и выводы**

Инфекция сальмонеллы представляет глобальную проблему для общественного здравоохранения. Поэтому для предотвращения заражения человека сальмонеллой требуется проводить эпидемиологический надзор, профилактику и контроль в том числе и объектов окружающей среды.

### **Выводы:**

1 Изучена биология и особенности распространения сальмонелл по пищевой цепи.

2 Методом математического моделирования изучены особенности культуральных условий почв, способствующих процессам выживаемости сальмонелл в условиях окружающей среды.

3 Выделены бактерии рода *Salmonella* из объектов окружающей среды, в частности, из почвы и изучены культуральные свойства, т.е. особенности роста сальмонелл на питательной среде.

## Литература

- 1 Jung B., Park S., Kim E., Yoon H., Hahn T. Salmonella Typhimurium lacking phoBR as a live vaccine candidate against poultry infection. *Vet. Microbiol.* 2022;266:109342. doi: 10.1016/j.vetmic.2022.109342
- 2 Kirk M. D., S. M. Pires, R. E. Black et al., “World Health Organization estimates of the global and regional burden of disease associated with 22 foodborne bacterial, protozoal, and viral diseases, 2010: data synthesis,” *PLoS Medicine*, volume 12, article number e1001921, 2015
- 3 Hurley, D., M. P. McCusker, S. Fanning, and M. Martins, “Salmonella-host interactions—modulation of the host innate immune system,” *Frontiers in Immunology*, vol. 5, p. 481, 2014. 10.3389/fimmu.2014.00481
- 4 Singh Y., A. Saxena, R. Kumar and M. K. Saxena, “Virulence system of Salmonella with special reference to Salmonella enterica”, *Salmonella - an emerging pathogen*, InTech, London, UK, 2018
- 5 Baron S, editor. *Medical Microbiology*. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7627>
- 6 Yadav, H.; Kumar, P.; Singh, V.P. Hazards from the municipal solid waste dumpsites: A review. In *Proceedings of the 1st International Conference on Sustainable Waste management through Design, ICSWMD, Stanford, CA, USA, 25–28 June 2018*
- 7 Salvaraji, L.; Jeffree, M.S.; Avoi, R.; Atil, A.; Mohd Akhir, H.; Shamsudin, S.B.B.; Awang Lukman, K. Exposure risk assessment of the municipal waste collection activities during COVID-19 pandemic. *J. Public Health Res.* 2022, 9, 1994
- 8 Nabegu, A.B. An analysis of municipal solid waste in Kano Metropolis, Nigeria. *J. Hum. Ecol.* 2010, 31, 111–119
- 9 Krishnamurthi, S.; Chakrabarti, T. Diversity of Bacteria and Archaea from a landfill in Chandigarh, India as revealed by culture-dependent and culture-independent molecular approaches. *Syst. Appl. Microbiol.* 2013, 36, 56–68
- 10 Gerba, C.P.; Tamimi, A.H.; Pettigrew, C.; Weisbrod, A.V.; Rajagopalan, V. Sources of microbial pathogens in municipal solid waste landfills in the United States of America. *Waste Manag. Res.* 2011, 29, 781–790
- 11 Jakość Gleby. Ocena Stanu Sanitarnego Gleby. Wykrywanie Bakterii z Rodzaju Salmonella. *Polski Komitet Normalizacyjny: Warszawa, Poland, 2001*
- 12 Danyluk, M.D.; Nozawa-Inoue, M.; Hristova, K.R.; Scow, K.M.; Lampinen, B.; Harris, L.J. Survival and growth of Salmonella enteritidis PT 30 in almond orchard soils. *J. Appl. Microbiol.* 2007, 104, 1391–1399
- 13 Jechalke, S.; Schierstaedt, J.; Becker, M.; Flemer, B.; Grosch, R.; Smalla, K.; Schikora, A. Salmonella establishment in agricultural soil and colonization of crop plants depend on soil type and plant species. *Front. Microbiol.* 2019, 10, a967
- 14 Fornefeld, E.; Baklawa, M.; Hallman, J.; Schikora, A.; Smalla, K. Sewage sludge amendment and inoculation with plant-parasitic nematodes do not facilitate

the internalization of *Salmonella* Typhimurium LT2 in lettuce plants. *Food Microbiol.* 2018, 71, 111–119

15 Van Overbeek, L.S.; van Doorn, J.; Wichers, J.H.; van Amerongen, A.; van Roermund, H.J.W.; Willemsen, P.T. The arable ecosystem as battleground for emergence of new human pathogens. *Front. Microbiol.* 2014, 5, a104

16 Parry CM, Hien TT, Dougan G, White NJ, Farrar JJ. Typhoid fever. *N Engl J Med* 2002; 347:1770–82

17 World Health Organization/United Nations Children’s Fund. Progress on drinking water and sanitation: 2015 update and MDG assessment. Geneva, Switzerland: WHO/UNICEF, 2015

18 Yajima A, Koottatep T. Assessment of *E. coli* and *Salmonella* spp. infection risks associated with different fecal sludge disposal practices in Thailand. *J Water Health* 2010; 8:355–64

19 Mogasale V, Maskery B, Ochiai RL, et al. Burden of typhoid fever in low-income and middle-income countries: a systematic, literature-based update with risk-factor adjustment. *Lancet Glob Health* 2014; 2:e570–80

20 Sathe PV, Karandikar VN, Gupte MD, et al. Investigation report of an epidemic of typhoid fever. *Int J Epidemiol* 1983; 12:215–9

21 Obaro SK, Iroh Tam PY, Mintz ED. The unrecognized burden of typhoid fever. *Expert Rev Vaccines* 2017; 16:249–60

22 Chen, H.-M.; Wang, Y.; Su, L.-H.; Chiu, C.-H. Nontyphoid *Salmonella* Infection: Microbiology, Clinical Features, and Antimicrobial Therapy. *Pediatr. Neonatol.* 2013, 54, 147–152

23 Galán, J.E. *Salmonella* Typhimurium and inflammation: A pathogen-centric affair. *Nat. Rev. Microbiol.* 2021, 19, 716–725

24 Stoycheva, M.V.; Murdjeva, M.A. Antimicrobial therapy of salmonellosis—Current state and perspectives. *Folia Medica* 2006, 48, 5–10

25 Jibril, A.H.; Okeke, I.N.; Dalsgaard, A.; Olsen, J.E. Association between antimicrobial usage and resistance in *Salmonella* from poultry farms in Nigeria. *BMC Vet. Res.* 2021, 17, 234

26 Bula-Rudas, F.J.; Rathore, M.H.; Maraqa, N.F. *Salmonella* Infections in Childhood. *Adv. Pediatr.* 2015, 62, 29–58. , Ashurst, J.V.; Truong, J.; Woodbury, B. *Salmonella* Typhi. In *StatPearls*; StatPearls Publishing: Treasure Island, FL, USA, 2022

27 Van Panhuis, W.G.; Grefenstette, J.; Jung, S.Y.; Chok, N.S.; Cross, A.; Eng, H.; Lee, B.Y.; Zadorozhny, V.; Brown, S.; Cummings, D. Contagious diseases in the United States from 1888 to the present. *N. Engl. J. Med.* 2013, 369, 2152

28 Sears, K.T.; Galen, J.E.; Tennant, S.M. Advances in the development of *Salmonella*-based vaccine strategies for protection against salmonellosis in humans. *J. Appl. Microbiol.* 2021, 131, 2640–2658

29 Gordon, M.A.; Graham, S.M.; Walsh, A.L.; Wilson, L.; Phiri, A.; Molyneux, E.; Zijlstra, E.E.; Heyderman, R.S.; Hart, C.A.; Molyneux, M.E. Epidemics of invasive *Salmonella enterica* serovar enteritidis and *S. enterica* Serovar typhimurium infection

associated with multidrug resistance among adults and children in Malawi. *Clin. Infect. Dis.* 2008, 46, 963–969

30 Milligan, R.; Paul, M.; Richardson, M.; Neuberger, A. Vaccines for preventing typhoid fever. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2018, 5, Cd001261

31 Mancini, F.; Micoli, F.; Necchi, F.; Pizza, M.; Berlanda Scorza, F.; Rossi, O. GMMA-Based Vaccines: The Known and The Unknown. *Front. Immunol.* 2021, 12, 715393

32 Cheng, R.A.; Eade, C.R.; Wiedmann, M. Embracing Diversity: Differences in Virulence Mechanisms, Disease Severity, and Host Adaptations Contribute to the Success of Nontyphoidal Salmonella as a Foodborne Pathogen. *Front. Microbiol.* 2019, 10, 1368

33 Townsend, S.M.; Kramer, N.E.; Edwards, R.; Baker, S.; Hamlin, N.; Simmonds, M.; Stevens, K.; Maloy, S.; Parkhill, J.; Dougan, G. Salmonella enterica serovar Typhi possesses a unique repertoire of fimbrial gene sequences. *Infect. Immun.* 2001, 69, 2894–2901

34 Ferrari, R.G.; Rosario, D.K.; Cunha-Neto, A.; Mano, S.B.; Figueiredo, E.E.; Conte-Junior, C.A. Worldwide epidemiology of Salmonella serovars in animal-based foods: A meta-analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 2019, 85, e00591-19

35 Drózdź, M.; Małaszczuk, M.; Paluch, E.; Pawlak, A. Zoonotic potential and prevalence of Salmonella serovars isolated from pets. *Infect. Ecol. Epidemiol.* 2021, 11, 1975530

36 Rabsch, W.; Tschäpe, H.; Bäumler, A.J. Non-typhoidal salmonellosis: Emerging problems. *Microbes Infect.* 2001, 3, 237–247

37 Branchu, P.; Bawn, M.; Kingsley, R.A. Genome variation and molecular epidemiology of Salmonella enterica serovar Typhimurium pathovariants. *Infect. Immun.* 2018, 86, e00079-18

38 Rabsch, W.; Andrews, H.L.; Kingsley, R.A.; Prager, R.; Tschäpe, H.; Adams, L.G.; Bäumler, A.J. Salmonella enterica serotype Typhimurium and its host-adapted variants. *Infect. Immun.* 2002, 70, 2249–2255

39 Drózdź, M.; Małaszczuk, M.; Paluch, E.; Pawlak, A. Zoonotic potential and prevalence of Salmonella serovars isolated from pets. *Infect. Ecol. Epidemiol.* 2021, 11, 1975530

40 Evangelopoulou, G.; Kritas, S.; Govaris, A.; Burriel, A.R. Animal salmonellosis: A brief review of? host adaptation and host specificity? of Salmonella spp. *Vet. World* 2013, 6, 703

41 Kingsley, R.A.; Bäumler, A.J. Host adaptation and the emergence of infectious disease: The Salmonella paradigm. *Mol. Microbiol.* 2000, 36, 1006–1014

42 Langridge, G.C.; Fookes, M.; Connor, T.R.; Feltwell, T.; Feasey, N.; Parsons, B.N.; Seth-Smith, H.M.; Barquist, L.; Stedman, A.; Humphrey, T. Patterns of genome evolution that have accompanied host adaptation in Salmonella. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2015, 112, 863–868

43 Hansen-Wester, I.; Stecher, B.r.; Hensel, M. Type III secretion of Salmonella enterica serovar Typhimurium translocated effectors and SseFG. *Infect. Immun.* 2002, 70, 1403–1409

- 44 Pucciarelli, M.G.; Garcia-del Portillo, F. Salmonella intracellular lifestyles and their impact on host-to-host transmission. *Microb. Transm.* 2019, 5, 95–116
- 45 Zhang, H.; Lou, Z.; Chen, X.; Cui, Y.; Wang, H.; Kou, X.; Ma, C. Effect of simultaneous ultrasonic and microwave assisted hydrodistillation on the yield, composition, antibacterial and antibiofilm activity of essential oils from *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis*. *J. Food Eng.* 2019, 244, 126–135
- 46 Foster, N.; Tang, Y.; Berchieri, A.; Geng, S.; Jiao, X.; Barrow, P. Revisiting persistent Salmonella infection and the carrier state: What do we know? *Pathogens* 2021, 10, 1299
- 47 Waldner, L.L.; MacKenzie, K.D.; Köster, W.; White, A.P. From exit to entry: Long-term survival and transmission of Salmonella. *Pathogens* 2012, 1, 128–155
- 48 Ahmer, B.M.; Gunn, J.S. Interaction of Salmonella spp. with the intestinal microbiota. *Front. Microbiol.* 2011, 2, 101
- 49 Gonzalez-Escobedo, G.; Gunn, J.S. Gallbladder epithelium as a niche for chronic Salmonella carriage. *Infect. Immun.* 2013, 81, 2920–2930
- 50 Dos Santos, E.J.E.; Azevedo, R.P.; Lopes, A.T.S.; Rocha, J.M.; Albuquerque, G.R.; Wenceslau, A.A.; Miranda, F.R.; Rodrigues, D.D.P.; Maciel, B.M. Salmonella spp. in Wild Free-Living Birds from Atlantic Forest Fragments in Southern Bahia, Brazil. *BioMed Res. Int.* 2020, 2020, 7594136
- 51 Marin, C.; Hernandez, A.; Lainez, M. Biofilm development capacity of Salmonella strains isolated in poultry risk factors and their resistance against disinfectants. *Poult. Sci.* 2009, 88, 424–431
- 52 Ferrari, R.G.; Rosario, D.K.; Cunha-Neto, A.; Mano, S.B.; Figueiredo, E.E.; Conte-Junior, C.A. Worldwide epidemiology of Salmonella serovars in animal-based foods: A meta-analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 2019, 85, e00591-19
- 53 Morton, V.K.; Kearney, A.; Coleman, S.; Viswanathan, M.; Chau, K.; Orr, A.; Hexemer, A. Outbreaks of Salmonella illness associated with frozen raw breaded chicken products in Canada, 2015–2019. *Epidemiol. Infect.* 2019, 147, e254
- 54 Chanamé Pinedo, L.; Mughini-Gras, L.; Franz, E.; Hald, T.; Pires, S.M. Sources and trends of human salmonellosis in Europe, 2015–2019: An analysis of outbreak data. *Int. J. Food Microbiol.* 2022, 379, 109850
- 55 Center for Disease Control and Prevention (CDC). Drug-Resistant Nontyphoidal Salmonella. Available online: <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/nt-salmonella-508.pdf>
- 56 Galán, J.E. Salmonella Typhimurium and inflammation: A pathogen-centric affair. *Nat. Rev. Microbiol.* 2021, 19, 716–725
- 57 Gutema, F.D.; Agga, G.E.; Abdi, R.D.; De Zutter, L.; Duchateau, L.; Gabriël, S. Prevalence and Serotype Diversity of Salmonella in Apparently Healthy Cattle: Systematic Review and Meta-Analysis of Published Studies, 2000–2017. *Front. Vet. Sci.* 2019, 6, 102
- 58 Zajac, M.; Wasyl, D.; Różycki, M.; Bilaska-Zajac, E.; Fafiński, Z.; Iwaniak, W.; Krajewska, M.; Hoszowski, A.; Konieczna, O.; Fafińska, P.; et al. Free-living snakes as a source and possible vector of Salmonella spp. and parasites. *Eur. J. Wildl. Res.* 2016, 62, 161–166

- 59 Finley, R.; Ribble, C.; Aramini, J.; Vandermeer, M.; Popa, M.; Litman, M.; Reid-Smith, R. The risk of salmonellae shedding by dogs fed *Salmonella*-contaminated commercial raw food diets. *Can. Vet. J.* 2007, 48, 69–75
- 60 Younus, M.; Wilkins, M.J.; Davies, H.D.; Rahbar, M.H.; Funk, J.; Nguyen, C.; Siddiqi, A.E.; Cho, S.; Saeed, M. Case-control study of disease determinants for non-typhoidal *Salmonella* infections among Michigan children. *BMC Res. Notes* 2010, 3, 105
- 61 Cilia, G.; Turchi, B.; Fratini, F.; Bilei, S.; Bossù, T.; De Marchis, M.L.; Cerri, D.; Pacini, M.I.; Bertelloni, F. Prevalence, Virulence and Antimicrobial Susceptibility of *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica* and *Listeria monocytogenes* in European Wild Boar (*Sus scrofa*) Hunted in Tuscany (Central Italy). *Pathogens* 2021, 10, 93
- 62 Navarro-Gonzalez, N.; Ugarte-Ruiz, M.; Domínguez, L.; Ruiz-Fons, F. A European Perspective on the Transmission of Foodborne Pathogens at the Wildlife–Livestock–Human Interface. In *Food Safety Risks from Wildlife: Challenges in Agriculture, Conservation, and Public Health*; Jay-Russell, M., Doyle, M.P., Eds.; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2016; pp. 59–88
- 63 Gil Molino, M.; Garcia Sanchez, A.; Risco Perez, D.; Goncalves Blanco, P.; Quesada Molina, A.; Rey Pérez, J.; Martín Cano, F.E.; Cerrato Horrillo, R.; Hermoso-de-Mendoza Salcedo, J.; Fernandez Llario, P. Prevalence of *Salmonella* spp. in tonsils, mandibular lymph nodes and faeces of wild boar from Spain and genetic relationship between isolates. *Transbound. Emerg. Dis.* 2019, 66, 1218–1226
- 64 Cummings, K.J.; Rodriguez-Rivera, L.D.; Grigar, M.K.; Rankin, S.C.; Mesenbrink, B.T.; Leland, B.R.; Bodenchuk, M.J. Prevalence and Characterization of *Salmonella* Isolated from Feral Pigs Throughout Texas. *Zoonoses Public Health* 2016, 63, 436–441
- 65 Gil Molino, M.; Garcia Sanchez, A.; Risco Perez, D.; Goncalves Blanco, P.; Quesada Molina, A.; Rey Pérez, J.; Martín Cano, F.E.; Cerrato Horrillo, R.; Hermoso-de-Mendoza Salcedo, J.; Fernandez Llario, P. Prevalence of *Salmonella* spp. in tonsils, mandibular lymph nodes and faeces of wild boar from Spain and genetic relationship between isolates. *Transbound. Emerg. Dis.* 2019, 66, 1218–1226
- 66 Farias, L.F.P.; Oliveira, C.J.B.; Medardus, J.J.; Molla, B.Z.; Wolfe, B.A.; Gebreyes, W.A. Phenotypic and Genotypic Characterization of *Salmonella enterica* in Captive Wildlife and Exotic Animal Species in Ohio, USA. *Zoonoses Public Health* 2015, 62, 438–444
- 67 Olsen, A.R.; Hammack, T.S. Isolation of *Salmonella* spp. from the housefly, *Musca domestica* L., and the dump fly, *Hydrotaea aenescens* (Wiedemann) (Diptera: Muscidae), at caged-layer houses. *J. Food Prot.* 2000, 63, 958–960
- 68 Donoso, A.; Paredes, N.; Retamal, P. Detection of Antimicrobial Resistant *Salmonella enterica* Strains in Larval and Adult Forms of Lesser Mealworm (*Alphitobius diaperinus*) From Industrial Poultry Farms. *Front. Vet. Sci.* 2020, 7, 577848
- 69 Wang, Y.C.; Chang, Y.C.; Chuang, H.L.; Chiu, C.C.; Yeh, K.S.; Chang, C.C.; Hsuan, S.L.; Lin, W.H.; Chen, T.H. Transmission of *Salmonella* between swine farms by the housefly (*Musca domestica*). *J. Food Prot.* 2011, 74, 1012–1016

- 70 Xu, Y.; Tao, S.; Hinkle, N.; Harrison, M.; Chen, J. Salmonella, including antibiotic-resistant Salmonella, from flies captured from cattle farms in Georgia, U.S.A. *Sci. Total Environ.* 2018, 616–617, 90–96
- 71 Henzler, D.J.; Opitz, H.M. The role of mice in the epizootiology of Salmonella enteritidis infection on chicken layer farms. *Avian Dis.* 1992, 36, 625–631
- 72 Lapuz, R.; Tani, H.; Sasai, K.; Shirota, K.; Katoh, H.; Baba, E. The role of roof rats (*Rattus rattus*) in the spread of Salmonella Enteritidis and *S. Infantis* contamination in layer farms in eastern Japan. *Epidemiol. Infect.* 2008, 136, 1235–1243
- 73 Center for Disease Control and Prevention (CDC). Salmonella. Available online: <https://www.cdc.gov/salmonella>
- 74 Drózdź, M.; Małaszczuk, M.; Paluch, E.; Pawlak, A. Zoonotic potential and prevalence of Salmonella serovars isolated from pets. *Infect. Ecol. Epidemiol.* 2021, 11, 1975530
- 75 Liu, H.; Whitehouse, C.A.; Li, B. Presence and Persistence of Salmonella in Water: The Impact on Microbial Quality of Water and Food Safety. *Front. Public Health* 2018, 6, 159
- 76 Bosilevac, J.M.; Guerini, M.N.; Kalchayanand, N.; Koochmaraie, M. Prevalence and Characterization of Salmonellae in Commercial Ground Beef in the United States. *Appl. Environ. Microbiol.* 2009, 75, 1892–1900
- 77 Hoelzer, K.; Moreno Switt, A.I.; Wiedmann, M. Animal contact as a source of human non-typhoidal salmonellosis. *Vet. Res.* 2011, 42, 34
- 78 Majowicz, S.E.; Musto, J.; Scallan, E.; Angulo, F.J.; Kirk, M.; O'Brien, S.J.; Jones, T.F.; Fazil, A.; Hoekstra, R.M. The global burden of nontyphoidal Salmonella gastroenteritis. *Clin. Infect. Dis.* 2010, 50, 882–889
- 79 Salmonella Outbreaks Associated with Not Ready-to-Eat Breaded, Stuffed Chicken Products—United States, 1998–2022. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2023 2023, 72, 484–487
- 80 Griffith, R.W.; Carlson, S.A.; Krull, A.C. Salmonellosis. *Dis. Swine* 2019, 912–925
- 81 Gantois, I.; Ducatelle, R.; Pasmans, F.; Haesebrouck, F.; Gast, R.; Humphrey, T.J.; Van Immerseel, F. Mechanisms of egg contamination by Salmonella Enteritidis. *FEMS Microbiol. Rev.* 2009, 33, 718–738
- 82 Drózdź, M.; Małaszczuk, M.; Paluch, E.; Pawlak, A. Zoonotic potential and prevalence of Salmonella serovars isolated from pets. *Infect. Ecol. Epidemiol.* 2021, 11, 1975530
- 83 Hiyoshi H, Tiffany CR, Bronner DN, Bäumlér AJ. Typhoidal Salmonella serovars: ecological opportunity and the evolution of a new pathovar. *FEMS Microbiol Rev.* 2018;42(4):527–41
- 84 Stecher B, Denzler R, Maier L, Bernet F, Sanders MJ, Pickard DJ, Barthel M, Westendorf AM, Krogfelt KA, Walker AW, et al. Gut inflammation can boost horizontal gene transfer between pathogenic and commensal Enterobacteriaceae. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(4):1269–74

85 Martin R, Miquel S, Ulmer J, Langella P, Bermudez-Humaran LG. Gut ecosystem: how microbes help us. *Benefic Microbes*. 2014;5(3):219–33

86 Caporaso JG, Lauber CL, Costello EK, Berg-Lyons D, Gonzalez A, Stombaugh J, Knights D, Gajer P, Ravel J, Fierer N, et al. Moving pictures of the human microbiome. *Genome Biol*. 2011;12(5):8

87 The commission of the European communities. Commission regulation (EC) No 1086/2011 of 27 October 2011 amending Annex II to Regulation (EC)

88 No 2160/2003 of the European Parliament and of the Council and Annex I to Commission Regulation (EC) No 2073/2005 as regards Salmonella in fresh poultry meat. *O J E U*. 2005; L281:7–11

89 Saeki EK, Alves J, Bonfante RC, Hirooka EY, Moreira de Oliveira TCR. Multiplex PCR (mPCR) for the detection of Salmonella spp. and the differentiation of the Typhimurium and Enteritidis serovars in chicken meat. *J Food Saf*. 2013; 33:25–29

90 International Organization for Standardization. ISO 6579:2002: Microbiology of food and animal feeding stuffs—Horizontal method for the detection of Salmonella spp. 2002

91 International Organization for Standardization. ISO 6579:2002: Microbiology of food and animal feeding stuffs—Horizontal method for the detection of Salmonella spp. 2002

92 European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2012. *EFSA Journal*. 2014; 12:3547

93 International Organization for Standardization. ISO 16140–2:2016: Microbiology of the food chain—Method validation—Part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method. 2016

94 Амангельдинова А.К., Джамалова Г.А., Мусина У.Ш. Планирование и оптимизация биodeградации цинка в процессе компостирования органических компонентов ТБО // *Международный студенческий научный вестник*. – 2018. – № 4-4.; URL: <https://eduherald.ru/ru/article/view?id=18809> (дата обращения: 04.06.2024)

95 СТ РК 3510-2019 «Животные. Методы лабораторной диагностики сальмонеллеза»

96 Popoff M. Y., Le Minor L. Antigenic formulas of the Salmonella serovars, 7th revision. World Health Organization Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella 1997 Pasteur Institute Paris, France

97 Adley C. C., Ryan M. P. The nature and extent of foodborne disease. In: Barros-Velázquez J., editor. *Antimicrobial Food Packaging*. chapter 1. San Diego, Calif, USA: Academic Press; 2016. pp. 1–10

98 Davies R.H., Wray C. Persistence of Salmonella enteritidis in poultry units and poultry food. *Br. Poult. Sci*. 1996;37: 589–596

99 Fornefeld E., Schierstaedt J., Jechalke S., Grosch R., Schikora A., Smalla K. (2017) Persistence of Salmonella Typhimurium LT2 in soil enhanced after growth in lettuce medium. *Front Microbiol* 8: 757

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный  
исследовательский технический университет имени К.И. Сатпаева»

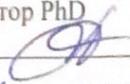
Институт Геологии и нефтегазового дела им. К.Турысова

Кафедра Химическая и биохимическая инженерия

ДОПУЩЕН К ЗАЩИТЕ

Заведующий кафедрой ХиБИ

Доктор PhD

 Амитова А.А.

« 13 » июня 2024 г.

### ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

На тему: « Изучение культуральных свойств *Salmonella*, выделенных из объектов  
окружающей среды »

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Выполнил

Кабдулхамит Тамирлан Маратулы

Рецензент

К.с.-х.н., ассоц. профессор кафедры

Пищевой биотехнологии АТУ

 Каташева А.Ч.

« 13 » июня 2024 г.

Научный руководитель

к.с.-х.н., доцент

 Джамалова Г.А.

« 13 » июня 2024 г.

Алматы 2024

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный исследовательский технический университет имени К.И. Сатпаева»

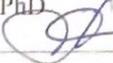
Институт Геологии и нефтегазового дела им. К. Турысова

Кафедра Химическая и биохимическая инженерия

**ДОПУЩЕН К ЗАЩИТЕ**

Заведующий кафедрой ХиБИ

Доктор РнД

 Амитова А.А.

« 15 » июня 2024 г.

**ЗАДАНИЕ**

**на выполнение дипломной работы**

Обучающемуся Кабдулхамит Тамирлан Маратулы

Тема: « Изучение культуральных свойств *Salmonella*, выделенных из объектов окружающей среды »

Утвержден приказом \_\_\_\_\_ № \_\_\_\_\_ от « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 202\_\_ г.

Срок сдачи законченной работы: 08 июня 2024 г.

Исходные данные к работе: отобранные пробы почв, результаты теоретических, расчетных и экспериментальных исследований.

Краткое содержание дипломной работы:

- 1 Изучение биологии и особенностей распространения сальмонелл по пищевой цепи.
- 2 Изучение методом математического моделирования особенностей культуральных условий почв, способствующих процессам выживаемости сальмонелл в условиях окружающей среды.
- 3 Выделение бактерий рода *Salmonella* из объектов окружающей среды и изучение особенностей роста сальмонеллы на питательной среде.

Перечень графического материала:

представлены 10 слайдами презентации работы.

Рекомендуемая основная литература: из \_\_\_\_\_ наименований научной литературы

**ГРАФИК**  
подготовки дипломной работы

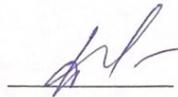
Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю	Примечание
Введение. Обзор литературы	20.03.2024	Выполнено
Материал и методика исследований. Результаты исследований	20.05.2025	Выполнено
Заключение и выводы	30.05.2024	Выполнено
Оформление дипломной работы	08.06.2024	Выполнено

Подписи

Консультантов и норм контролера на законченную дипломную работу с указанием относящихся к ним разделов работы

Наименование разделов	Консультанты, Ф.И.О.	Дата подписания	Подпись
Дипломная работа	к.с.-х.н., доцент, Джамалова Г.А.	08.06.2024	
Норм контролер	к.с.-х.н., доцент, Джамалова Г.А.	08.06.2024	

Научный руководитель:



Джамалова Г.А.

Задание принял к исполнению обучающийся



Кабдулхамит Т.М.

Дата

13.06 2024г.

**ОТЗЫВ**

**НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ**

на дипломную работу  
Кабдулхамит Тамирлан Маратулы  
6B05101-Химическая и биохимическая инженерия

Тема: Изучение культуральных свойств *Salmonella*, выделенных из объектов  
окружающей среды

Дипломная работа Кабдулхамит Т.М. посвящена изучению культуральных свойств бактерий рода *Salmonella*, выделенных из объектов окружающей среды, в частности, из почв. Работа выполнена с применением математических и микробиологических методов исследования и представляет значимый вклад в понимание биологических и экологических характеристик бактерий рода *Salmonella*. Автор демонстрирует хорошее владение методиками выделения и культивирования микроорганизмов, а также глубокие знания в области математического прогнозирования и оптимизации факторов, влияющих на выживаемость бактерий рода *Salmonella*. В ходе исследования проведен обширный анализ экологических и культуральных свойств *Salmonella*, что позволило выявить особенности их роста и выживаемости в условиях почвы окружающей среды. Практическая значимость работы заключается в возможности применения полученных результатов для улучшения методов диагностики и профилактики инфекций, вызванных *Salmonella*. Это особенно важно для санитарно-эпидемиологических служб и агропромышленных комплексов, где требуется строгое соблюдение санитарных норм. Отдельно стоит отметить тщательность и аккуратность, с которой выполнены экспериментальные исследования. В целом, дипломная работа Кабдулхамит Т.М. заслуживает высокой оценки за актуальность темы, глубину исследования и значимость полученных результатов. Оцениваю работу на "отлично" (95 %)

**Научный руководитель**  
ассоц. проф., к.с.-х.н., доцент

 Джамалова Г.А.

« 13 » 06 2024 г.

## РЕЦЕНЗИЯ

на дипломную работу

Кабдулхамит Тамирлан Маратулы

6B05101- Химическая и биохимическая инженерия

На тему: Изучение культуральных свойств *Salmonella*, выделенных из объектов  
окружающей среды

Выполнено:

- а) графическая часть на 4 листах
- б) пояснительная записка на 29 страницах

### ЗАМЕЧАНИЯ К РАБОТЕ

Имеются незначительные лексико-стилистические погрешности в работе.

#### Оценка работы

Дипломная работа Кабдулхамит Т. на тему "Изучение культуральных свойств *Salmonella*, выделенных из объектов окружающей среды".

Дипломная работа на тему "Изучение культуральных свойств *Salmonella*, выделенных из объектов окружающей среды" представляет собой важное исследование, способствующее пониманию биологических и экологических характеристик этого патогена. Изучение процессов распространения сальмонеллеза, как инфекционного заболевания пищевой цепи, имеет ключевое значение для предотвращения их передачи из окружающей среды на пищевые продукты и далее к человеку. Поэтому изучение культуральных свойств бактерий рода *Salmonella*, выделенных из объектов окружающей среды актуально и направлено на изучение особенностей их устойчивости и выживаемости.

Научная и практическая значимость работы определяется тем, что соискателем изучены и закреплены математические (метод математического планирования и оптимизации исследуемых факторов на выживаемость патогенов в почве окружающей среды) микробиологические (метод отбора проб почвы, метод предельного разведения, метод посева культуры на твердые питательные среды, метод культивирования, метод окрашивания по Граму, метод микроскопирования) методы исследования.

Дипломная работа выполнена на 36 страницах, содержит 8 графиков и 99 наименований используемых источников.

В целом работа соответствует всем требованиям, предъявляемым к выпускным квалификационным работам, рекомендуется к защите и заслуживает оценки «отлично, 95 %», а ее автор Кабдулхамит Т.М. - присвоения квалификации «Бакалавр техники и технологий» по ОП "6B05101- Химическая и биохимическая инженерия".

С.С. х.л.ассоц. профессор кафедры  
Пищевой биотехнологии АТУ  
Каташева А.Ч.

« 14 » июня 2024 г.

<b>АТУ</b>	
Подпись	Каташева А.Ч.
КБББ куәландырылған	
Заверено нач.ОУП	С.С. х.л.ассоц. профессор
« 14 »	06 20 24 ж.
Согласовано О.Ч.Н. Кулмиденова А.А.	



## Metadane

Tytuł

**Изучение культуральных свойств Salmonella, выделенных из объектов окружающей среды**

Autor/zy

**Кабдулхамит Тамирлан Маратұлы**

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		1
Rozstrzelenia		0
Mikrospacje		0
Ukryte znaki		0
Parafrazy		26

## 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

**5968**

Liczba słów

**44337**

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://s.science-education.ru/pdf/2015/4/514.pdf">https://s.science-education.ru/pdf/2015/4/514.pdf</a>	25	0.42 %
2	<a href="https://s.science-education.ru/pdf/2015/4/514.pdf">https://s.science-education.ru/pdf/2015/4/514.pdf</a>	21	0.35 %
3	<a href="https://s.science-education.ru/pdf/2015/4/514.pdf">https://s.science-education.ru/pdf/2015/4/514.pdf</a>	19	0.32 %
4	<a href="https://www.science-education.ru/en/article/view?id=21293">https://www.science-education.ru/en/article/view?id=21293</a>	18	0.30 %
5	<a href="https://www.science-education.ru/en/article/view?id=21293">https://www.science-education.ru/en/article/view?id=21293</a>	17	0.28 %
6	<a href="https://s.science-education.ru/pdf/2015/4/514.pdf">https://s.science-education.ru/pdf/2015/4/514.pdf</a>	16	0.27 %

7	<a href="https://www.science-education.ru/en/article/view?id=21293">https://www.science-education.ru/en/article/view?id=21293</a>	14	0.23 %
8	<a href="https://official.satbayev.university/download/document/20385/2021%20%D0%96%D1%83%D1%81%D1%83%D0%BF%D0%B1%D0%B5%D0%BA%20%D0%9B%D0%B0%D1%83%D1%80%D0%B0.pdf">https://official.satbayev.university/download/document/20385/2021%20%D0%96%D1%83%D1%81%D1%83%D0%BF%D0%B1%D0%B5%D0%BA%20%D0%9B%D0%B0%D1%83%D1%80%D0%B0.pdf</a>	14	0.23 %
9	<a href="https://official.satbayev.university/download/document/15200/2020_%D0%91%D0%90%D0%9A_%D0%9C%D0%BE%D0%BC%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B0%20%D0%A0%D0%B8%D1%81%D0%B0%D0%BB%D1%8F%D1%82.pdf">https://official.satbayev.university/download/document/15200/2020_%D0%91%D0%90%D0%9A_%D0%9C%D0%BE%D0%BC%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B0%20%D0%A0%D0%B8%D1%81%D0%B0%D0%BB%D1%8F%D1%82.pdf</a>	13	0.22 %
10	<a href="https://official.satbayev.university/download/document/20385/2021%20%D0%96%D1%83%D1%81%D1%83%D0%BF%D0%B1%D0%B5%D0%BA%20%D0%9B%D0%B0%D1%83%D1%80%D0%B0.pdf">https://official.satbayev.university/download/document/20385/2021%20%D0%96%D1%83%D1%81%D1%83%D0%BF%D0%B1%D0%B5%D0%BA%20%D0%9B%D0%B0%D1%83%D1%80%D0%B0.pdf</a>	12	0.20 %

#### z bazy RefBooks (0.00 %)

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

#### z bazy macierzystej (0.23 %)

LP	TYTUŁ	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)	
1	Разработка технологии бактериального выщелачивания угольных золото-мышьяковых концентратов 6/22/2021 Satbayev University (ИХиБТ)	9 (1)	0.15 %
2	2022_БАК_Бисеналиева Анара.docx 6/7/2022 Satbayev University (ИГиНГД)	5 (1)	0.08 %

#### z Programu Wymiany Baz (0.25 %)

LP	TYTUŁ	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)	
1	Куйкабаева Томирис .pptx 11/23/2020 University of International Business (UIB) (University of International Business)	10 (1)	0.17 %
2	Батырбеков (2).pdf 6/20/2023 Turan University (TU) (ЦТИ)	5 (1)	0.08 %

#### z Internetu (5.24 %)

LP	ADRES URL ŹRÓDŁA	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)	
1	<a href="https://s.science-education.ru/pdf/2015/4/514.pdf">https://s.science-education.ru/pdf/2015/4/514.pdf</a>	118 (9)	1.98 %
2	<a href="https://www.science-education.ru/en/article/view?id=21293">https://www.science-education.ru/en/article/view?id=21293</a>	74 (6)	1.24 %
3	<a href="https://official.satbayev.university/download/document/15200/2020_%D0%91%D0%90%D0%9A_%D0%9C%D0%BE%D0%BC%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B0%20%D0%A0%D0%B8%D1%81%D0%B0%D0%BB%D1%8F%D1%82.pdf">https://official.satbayev.university/download/document/15200/2020_%D0%91%D0%90%D0%9A_%D0%9C%D0%BE%D0%BC%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B0%20%D0%A0%D0%B8%D1%81%D0%B0%D0%BB%D1%8F%D1%82.pdf</a>	45 (4)	0.75 %
4	<a href="https://official.satbayev.university/download/document/20385/2021%20%D0%96%D1%83%D1%81%D1%83%D0%BF%D0%B1%D0%B5%D0%BA%20%D0%9B%D0%B0%D1%83%D1%80%D0%B0.pdf">https://official.satbayev.university/download/document/20385/2021%20%D0%96%D1%83%D1%81%D1%83%D0%BF%D0%B1%D0%B5%D0%BA%20%D0%9B%D0%B0%D1%83%D1%80%D0%B0.pdf</a>	32 (3)	0.54 %
5	<a href="http://elar.khnu.km.ua/jspui/bitstream/123456789/1523/1/%D1%82%D0%BA%D1%88%D0%B2%202013.pdf">http://elar.khnu.km.ua/jspui/bitstream/123456789/1523/1/%D1%82%D0%BA%D1%88%D0%B2%202013.pdf</a>	19 (3)	0.32 %

6	<a href="https://official.satbayev.university/download/document/15212/2020_%D0%91%D0%90%D0%9A_%D0%97%D0%B5%D0%BC%D1%86%D0%BE%D0%B2%D0%B0%20%D0%90%D0%BB%D0%B8%D0%BD%D0%B0.pdf">https://official.satbayev.university/download/document/15212/2020_%D0%91%D0%90%D0%9A_%D0%97%D0%B5%D0%BC%D1%86%D0%BE%D0%B2%D0%B0%20%D0%90%D0%BB%D0%B8%D0%BD%D0%B0.pdf</a>	11 (2)	0.18 %
7	<a href="https://thelib.info/menedzhment/2194396-praktika-ua-1179-ytynda-zhina-1171-an-da-1171-dylary-men-iskerigi/">https://thelib.info/menedzhment/2194396-praktika-ua-1179-ytynda-zhina-1171-an-da-1171-dylary-men-iskerigi/</a>	8 (1)	0.13 %
8	<a href="https://kzref.org/razrabotka-intellektualenoi-sistemi-upravleniya-energeticheski.html?page=3">https://kzref.org/razrabotka-intellektualenoi-sistemi-upravleniya-energeticheski.html?page=3</a>	6 (1)	0.10 %

## Lista zaakceptowanych fragmentów (brak zaakceptowanych fragmentów)

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

### ЗАДАНИЕ

на выполнение дипломной работы

**Обучающемуся** Кабдулхамит Тамирлан Маратулы

Тема: « Изучение культуральных свойств Salmonella, выделенных из объектов окружающей среды »

Утвержден приказом \_\_\_\_\_ № \_\_\_\_\_ от « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 202 г. Срок сдачи законченной работы: 08 июня 2024 г. Исходные данные к работе: отобранные пробы почв, результаты теоретических, расчетных и экспериментальных исследований.

### Краткое содержание дипломной работы:

- 1 Изучение биологии и особенностей распространения сальмонелл по пищевой цепи.
- 2 Изучение методом математического моделирования особенностей культуральных условий почв, способствующих процессам выживаемости сальмонелл в условиях окружающей среды.
- 3 Выделение бактерий рода Salmonella из объектов окружающей среды и изучение особенностей роста сальмонелл на питательной среде.

Перечень графического материала:

представлены 10 слайдами презентации работы. **Рекомендуемая основная литература:** из \_\_\_\_\_ наименований научной литературы

### ГРАФИК

подготовки дипломной работы

**Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов** **Сроки представления научному руководителю**

### Примечание

Введение. Обзор литературы 20.03.2024 Выполнено

Материал и методика исследований. Результаты исследований 20.05.2025 Выполнено

Заключение и выводы 30.05.2024 Выполнено

Оформление дипломной работы 08.06.2024 Выполнено

### Подписи

Консультантов и норм контролера **на законченную дипломную работу с указанием относящихся к ним разделов работы**

**Наименование разделов** **Консультанты, Ф.И.О.** **Дата подписания** **Подпись**

Дипломная работа к.с.-х.н., доцент, Джамалова Г.А. 08.06.2024

Норм контролер к.с.-х.н., доцент, Джамалова Г.А. 08.06.2024

**Научный руководитель:** \_\_\_\_\_ Джамалова Г.А. **Задание принял к исполнению** обучающийся \_\_\_\_\_

Кабдулхамит Т. М. **Дата** XX.XX.202X г.

### АННОТАЦИЯ

Дипломная работа выполнена на 36 стр. машинописного текста, содержит введение (1 стр.), три главы - обзор литературы (9 стр.), материал и методы исследования (2 стр.), результаты исследования (8 стр.), заключение и выводы (1 стр.), библиографический указатель литературы (7 стр.). В дипломной работе отражены 5 таблиц и 9 рисунков, библиографический указатель включает 99 источников научной литературы.

Цель. Изучение культуральных свойств Salmonella, выделенных из объектов окружающей среды.

Задачи:

- 1 Изучение биологии и особенностей распространения сальмонелл по пищевой цепи.

Задача решена благодаря теоретическим исследованиям. Всего исследовано и проанализировано 99 источников научной литературы.

2 Изучение методом математического моделирования особенностей культуральных условий почв, способствующих процессам выживаемости сальмонелл в условиях окружающей среды.

Задача решена с применением метода математического моделирования.

3 Выделение бактерий рода Salmonella из объектов окружающей среды и изучение особенностей роста сальмонелл на питательной среде.

Задача решена с применением методов классической микробиологии.

## АНДАТПА

Дипломдық жұмыс 36 бет машинкамен терілген мәтінді қамтиды, кіріспеден (1 бет), үш тараудан - әдебиеттерге шолу (9 бет), зерттеу материалдары мен әдістері (2 бет), зерттеу нәтижелері (8 бет), қорытынды және тұжырымдардан (1 бет), сондай-ақ библиографиялық көрсеткіштен (7 бет) тұрады. Дипломдық жұмыста 5 кесте және 9 сурет көрсетілген, библиографиялық көрсеткіште 99 ғылыми әдебиет көзі бар.

Мақсаты: Қоршаған орта объектілерінен бөлінген Salmonella-ның мәдени қасиеттерін зерттеу.

Міндеттері:

1. Азық-түлік тізбегіндегі Salmonella-ның биологиясы мен таралу ерекшеліктерін зерттеу.

Бұл міндет теориялық зерттеулер арқылы шешілді. Барлығы 99 ғылыми әдебиет көзі зерттеліп, талданды.

2. Қоршаған орта жағдайында Salmonella-ның өмір сүруіне ықпал ететін топырақтың мәдени жағдайларын математикалық модельдеу әдісімен зерттеу.

Бұл міндет математикалық модельдеу әдісін қолдану арқылы шешілді.

3. Қоршаған орта объектілерінен Salmonella бактерияларын бөліп алу және олардың қоректік ортада өсу ерекшеліктерін зерттеу.

Бұл міндет классикалық микробиология әдістерін қолдану арқылы шешілді.

## SUMMARY

Thesis consists of 36 pages of typed text, including an introduction (1 page), three chapters - a literature review (9 pages), materials and methods of research (2 pages), research results (8 pages), a conclusion and findings (1 page), and a bibliography (7 pages). The thesis contains 5 tables and 9 figures, and the bibliography includes 99 sources of scientific literature.

Objective: To study the cultural properties of Salmonella isolated from environmental objects.

Tasks:

1. Study of the biology and distribution characteristics of Salmonella along the food chain.

This task was accomplished through theoretical research. A total of 99 sources of scientific literature were studied and analyzed.

2. Study of the soil culture conditions conducive to Salmonella survival in the environment using mathematical modeling.

This task was accomplished using the method of mathematical modeling.

3. Isolation of Salmonella bacteria from environmental objects and study of the growth characteristics of Salmonella on nutrient media.

This task was accomplished using classical microbiology methods.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	9
1 Обзор литературы	10
1.1 Биология бактерий рода сальмонелл	10
1.2 Особенности распространения бактерий рода сальмонелл в окружающей среде	11
1.3 Методика микробиологических исследований при работе с сальмонеллами	17
2 Материалы и методы исследования	19
2.1 Материалы исследования	19
2.2 Методы исследования	19
3 Результаты исследования	21
3.1 Моделирование факторов, влияющих на выживаемость бактерий рода Salmonella в окружающей среде	21
3.2 Выделение сальмонеллы из почвы методом микробиологии и изучение их культурных свойств на твердой питательной среде	28
Заключение и выводы	29
Литература	30

## ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Изучение процессов распространения сальмонеллез, как инфекционного заболевания пищевой цепи, имеет ключевое значение для предотвращения их передачи из окружающей среды на пищевые продукты и далее к человеку. Поэтому изучение культуральных свойств бактерий рода Salmonella, выделенных из объектов окружающей среды актуально и направлено на изучение особенностей их устойчивости и выживаемости.

Цель. Изучение культуральных свойств Salmonella, выделенных из объектов окружающей среды.

Задачи:

1 Изучение биологии и особенностей распространения сальмонелл по пищевой цепи.

Задача решена благодаря теоретическим исследованиям. Всего исследовано и проанализировано 99 источников научной литературы.

2 Изучение методом математического моделирования особенностей культуральных условий почв, способствующих процессам выживаемости сальмонелл в условиях окружающей среды.

Задача решена с применением метода математического моделирования.

3 Выделение бактерий рода Salmonella из объектов окружающей среды и изучение особенностей роста сальмонелл на питательной среде.

Задача решена с применением методов классической микробиологии.

Новизна исследований. Новизной исследования является то, что сальмонеллы выделены из локальных условий объектов окружающей среды - почв г. Алматы.

Научная и практическая значимость. Научная значимость исследований определяется тем, что соискателем изучены культуральные свойства бактерий рода *Salmonella*, выделенные из почвы, что позволило освоить вопросы, касающиеся биобезопасности.

Практическая значимость определяется тем, что соискателем изучены и закреплены микробиологические методы исследования, такие как, метод отбора проб почвы, метод предельного разведения, метод посева культуры на твердые питательные среды, метод культивирования, метод окрашивания по Граму, метод микроскопирования.

Дипломная работа выполнена на 36 стр. машинописного текста, содержит введение (1 стр.), три главы - обзор литературы (9 стр.), материал и методы исследования (2 стр.), результаты исследования (8 стр.), заключение и выводы (1 стр.), библиографический указатель литературы (7 стр.). В дипломной работе отражены 5 таблиц и 9 рисунков, библиографический указатель включает 99 источников научной литературы.

## 1 Обзор литературы

### 1.1 Биология бактерий рода сальмонелл

Сальмонелла является ведущей причиной болезней пищевого происхождения во всем мире, которые поражают желудочно-кишечный тракт и вызывают диарею, тошноту и судороги у людей [1]. Заболевания, передаваемые через пищу, представляют серьезную проблему общественного здоровья по всему миру. Согласно отчету Всемирной организации здравоохранения, каждый десятый человек заболевает после употребления загрязненной пищи, приводя к 420 000 смертей ежегодно [2]. Основываясь на различиях в анализе последовательностей их 16S рРНК, род сальмонеллы делится на два таксономических вида, включая *Salmonella enterica* и *Salmonella bongori*. [3]. Большинство изолятов, вызывающих заболевания у людей и животных, принадлежат к *S. enterica*. Этот вид дополнительно делится на более чем 2600 сероваров, способных вызывать заболевания у людей и животных. [4]. Их резервуаром служит желудочно-кишечный тракт широкого круга домашних и диких животных, обладающих способностью расти и размножаться при различных условиях окружающей среды вне организма-хозяина.

Сальмонеллы это грамотрицательные жгутиковые факультативно анаэробные бациллы, обладающие тремя основными антигенами: H или жгутиковым антигеном (может встречаться в одной или обеих двух формах, называемых фазой 1 и фазой 2; организмы имеют тенденцию переходить от одной фазы к другой); O или соматический антиген (встречаются на поверхности внешней мембраны и определяются специфическими последовательностями сахаров на поверхности клетки); и антиген Vi (имеется лишь у нескольких сероваров; представляет собой поверхностный антиген, лежащий над антигеном O; он присутствует в нескольких сероварах, наиболее важным из которых является *S typhi*) [1, 5].

Антигенный анализ сальмонелл с использованием специфических антисывороток имеет клинические и эпидемиологические преимущества. Определение антигенной структуры позволяет клинически идентифицировать микроорганизмы и отнести их к одной из девяти серогрупп (АИ), каждая из которых содержит множество сероваров. H-антиген также представляет собой полезный эпидемиологический инструмент, с помощью которого можно определить источник инфекции и способ ее распространения. Клеточная оболочка сальмонелл содержит сложную липополисахаридную (ЛПС) структуру, которая [1-5]:

- 1) высвобождается при лизисе клетки и, в некоторой степени, во время культивирования;
- 2) может действовать как эндотоксин и может иметь важное значение для определения вирулентности микроорганизмов;
- 3) состоит из трех компонентов: внешней O-полисахаридной оболочки, средней части (R-ядра) и внутренней липидной A-оболочки;
- 4) важна по нескольким причинам:
  - а) природа повторяющихся сахарных единиц во внешних цепях O-полисахарида отвечает за специфичность O-антигена (помогает определить вирулентность организма);
  - б) антитела, направленные против R-ядра (общего энтеробактериального антигена), могут защищать от заражения широким спектром грамотрицательных бактерий, имеющих общую структуру ядра, или могут смягчать их летальные эффекты;
  - в) эндотоксиновый компонент клеточной стенки может играть важную роль в патогенезе многих клинических проявлений грамотрицательных инфекций (эндотоксины вызывают лихорадку, активируют сывороточную систему комплемента, кининовую и свертывающую системы, угнетают функцию миокарда и изменяют функцию лимфоцитов, ответственен за многие проявления септического шока, которые могут возникнуть при системных инфекциях) [5].

### 1.2 Особенности распространения бактерий рода сальмонелл в окружающей среде

В последние годы бытовые отходы, собираемые на свалках, и связанные с этим опасности стали одной из самых серьезных проблем современной цивилизации. Эти отходы почти всегда рассматриваются как значительная угроза для растительного и животного мира, а также для здоровья человека, независимо от их происхождения, свойств и полезности, включая экологическую [6]. Они являются потенциальным источником инфекционного материала, и их накопление на свалке представляет серьезный источник загрязнения окружающей среды [7]. Было показано, что по микробиологическому загрязнению бытовые отходы мало отличаются от осадков сточных вод в реальных условиях, присутствующих на свалке. В обоих типах отходов обнаруживаются патогенные бактерии, включая оппортунистические патогены. Многие виды бактерий из родов, таких как *Salmonella*, *Klebsiella*, *Herellea*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Pasteurella*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Mycobacterium*, *Aerococcus*, *Nocardia* и *Stenotrophomonas*, выделяются из этих отходов [8]. Это указывает не только на значительное количество микроорганизмов, присутствующих в материале, собранном на свалке, но и на их большое таксономическое разнообразие [9]. Также существуют бактерии фекального происхождения, колонизирующие пищеварительную систему человека и животных, и после их выхода из организма они могут рассматриваться как индикаторы гигиенического состояния окружающей среды [10]. При оценке санитарного и гигиенического качества почвы очевидно, что исследование для выявления всех патогенных и потенциально инфекционных организмов, которые могут попасть в почву с отходов, невозможно из-за высокой стоимости и трудоёмкости анализа. Действующие нормативные рекомендации в Польше предусматривают микробиологические испытания почвы на наличие палочек *Salmonella* spp. [11]. Бактерии рода *Salmonella* играют особую роль и могут

рассматриваться как модели для других патогенных микроорганизмов. Эти бактерии могут находиться в навозе человека и животных и являются причиной опасных кишечных заболеваний. При внесении в почву в качестве компонента отходов или удобрений они являются значительным источником инфекций почвенного происхождения, как непосредственно, так и косвенно, через кормление загрязнёнными растениями [12]. Как кишечные бактерии, *Salmonella* является аллохтонным родом для почвенной среды и хорошим индикатором свежего загрязнения навозом. Однако до сих пор существует ограниченное знание о биотических и абиотических факторах, влияющих на устойчивость *Salmonella* spp. в почве, включая сельскохозяйственные угодья [12]. Недавно Jechalke и др. [13] обнаружили, что в глинистой почве, удобренной органическим удобрением, продолжительность устойчивости *Salmonella enterica* увеличивается, а её выживание также зависит от видов растений, растущих в почве. В свою очередь, обработка почвы осадками сточных вод значительно снижала количество культивируемых *Salmonella Typhimurium* LT2, которые, предположительно, переходили в состояние жизнеспособных, но некультивируемых (VBNC) [14]. Поскольку *Salmonella* spp. и другие патогены человека из семейства Enterobacteriaceae могут адаптироваться к экологическим местообитаниям, не теряя своей вирулентности, повышается вероятность их воздействия и передачи людям, работающим или живущим в загрязнённой зоне [15]. *Salmonella Typhi* и *S. Paratyphi* - это специфические для человека грамотрицательные бактериальные патогены, которые являются основными возбудителями брюшного тифа и паратифа соответственно. Оба патогена ограничены человеком (то есть, у них нет известных животных резервуаров) и передаются от человека к человеку через фекально-оральный путь путем употребления загрязненной пищи или воды, либо через контакт с фекалиями от остро или хронически инфицированных лиц [16]. *Salmonella Typhi* представляет значительную угрозу для здоровья человека в различных частях мира, особенно в развивающихся странах, где практикуется открытая дефекация [17], где сбор и утилизация фекальных масс неэффективны или используются в сельском хозяйстве [18], и где отсутствует доступ к безопасной воде [19].

Текущая оценка бремени болезни является довольно неточной, так как часто сообщаемые данные основаны на случаях, требующих госпитализации, но у большинства пациентов не развиваются тяжелые симптомы, и они лечатся местными врачами или остаются без лечения [20]. Знание и признание бремени болезни имеет решающее значение для принятия обоснованных решений в области общественного здравоохранения, таких как вакцинные стратегии, распределение ресурсов и мониторинг эффективности вмешательств [21]. Однако, поскольку бремя брюшного тифа значительно варьируется по времени и пространству (то есть, заболеваемость может варьироваться в пределах одного города или географической области), локализованные данные клинического наблюдения могут быть сложно экстраполировать [21].

Лечение сальмонеллеза у людей и животных обычно основано на антибиотиках [22]. Антибиотики широкого спектра действия обычно используются для лечения высоко восприимчивых людей с клиническими осложнениями [23]. Антибиотики хлорамфеникол и триметоприм / сульфаметоксазол впервые были использованы для лечения сальмонеллеза [24]. В настоящее время хинолоны третьего поколения, такие как фторхинолоны, включая ципрофлоксацин и офлоксацин, являются препаратами выбора для лечения сальмонеллезной инфекции у пациентов с ослабленным иммунитетом [25]. Из-за растущей устойчивости бактерий к фторхинолонам цефалоспорины, такие как цефтриаксон, и макролиды, такие как азитромицин, используются в качестве эмпирического лечения для контроля инфекций сальмонеллы [26]. Как и антибиотики, вакцины также используются для предотвращения и контроля инфекций сальмонеллы у людей и животных [27]. Существует две вакцины против сальмонеллы, одобренные **Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов** (FDA): живая аттенуированная пероральная вакцина Ty21a и внутримышечная полисахаридная капсульная вакцина Vi, тогда как несколько других вакцин, таких как вакцина на основе ГММА, гликоконъюгированная вакцина, О-антиген гликоконъюгированные вакцины и новые аттенуированные вакцины все еще находятся в разработке [28]. Эффективность вакцин против сальмонеллы ограничивается различными факторами, такими как наличие бессимптомных носителей, что затрудняет разработку вакцин, сложные механизмы уклонения от иммунитета и наличие разнообразных серотипов [29]. В настоящее время доступные вакцины против брюшного тифа обеспечивают лишь умеренную и кратковременную защиту человека [30]. Кроме того, серотипы сальмонелл сильно варьируют, со значительным генетическим разнообразием внутри и между хозяевами, что усложняет усилия по контролю над патогеном [31]. Серовары сальмонелл классифицируются на брюшнотифозные и не тифоидные (НТС) в зависимости от их способности развивать специфическую патогенность у человека и животных [32]. К брюшнотифозным сероварам, вызывающим брюшной тиф и паратиф у человека, относятся *S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *B*, *C* и *S. Sendai* [33]. Эти серовары очень специфичны для хозяина и передаются только от инфицированных хозяев или носителей через загрязненную пищу и воду [34]. Тифоидный сальмонеллез характеризуется высокой смертностью и низкой заболеваемостью [35]. Однако НТС включает более 2000 серотипов, среди которых преимущественно *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Newport* и *S. Heidelberg*, и может инфицировать как человека, так и животных [36]. Некоторые серовары НТС, такие как фар *S. Typhimurium* типа, *S. Gallinarum* и *S. Pullorum* преимущественно инфицирует голубей, овец, свиней, водоплавающих птиц и домашнюю птицу соответственно, тогда как *S. Дублин* и *S. Холерой* поражают преимущественно крупный рогатый скот и свиньи [37]. Более того, НТС может легко адаптироваться к широкому кругу хозяев и быстро распространяться от инфицированных хозяев при употреблении зараженной пищи и воды [38]. Инвазивные нетифоидные сальмонеллы [iNTS] более вирулентны, чем другие типы, не относящиеся к iNTS; однако большинство сероваров iNTS подобны сероварам, не относящимся к iNTS, с точки зрения типа заболевания, восприимчивости к группе высокого риска и других характеристик, таких как развитие множественной лекарственной устойчивости [39]. Способность сальмонеллы адаптироваться к окружающей среде хозяина и вызывать клинические симптомы у конкретного хозяина зависит от таких факторов, как дозировка заражающих бактерий, вовлеченный вид хозяина, возраст хозяина и его иммунный статус [40]. Например, серовар *S. Choleraesuis* является сероваром, адаптированным к свиньям, и он вызывает у свиней наиболее тяжелые заболевания по сравнению с людьми [41]. Некоторые серотипы, такие как *S. энтерика* серовар *Typhimurium* внесен в список прототипов серотипа широкого круга хозяев, который может инфицировать людей, домашний скот, домашнюю птицу, лошадей, свиней, голубей, грызунов и птиц [38]. Другие серовары, такие как *S. enterica* можно классифицировать как универсальные, адаптированные к хозяину или ограниченные хозяином [42]. Они разработали механизмы выживания внутри хозяина, избегая при этом иммунных ответов за счет колонизации нефагоцитарных клеток [43]. Например, *S. Typhi* распространяется из желудочно-кишечного тракта в ретикулоэндотелиальную систему. Более того, он обычно колонизирует поверхность желчных камней при диссеминации [44]. Примерно 1-6% людей, инфицированных *Salmonella Typhi*, не проявляют клинических симптомов после первичного заражения, но становятся бессимптомными и хроническими бактерионосителями [45]. И наоборот, патогенез сероваров-хозяев-генералистов часто приводит к гастроэнтериту, и выделение сальмонеллы происходит в течение очень короткого времени [46]. Из-за их ограниченной способности к долговременному выделению продолжительность жизни НТС-хозяина-универсала в большей степени зависит от их способности выживать в окружающей среде [47].

Поскольку считается, что виды сальмонелл являются частью нормальной микробиоты кишечника или желчного пузыря животных, эти животные также могут играть роль в косвенной или прямой передаче возбудителя человеку [48].

Источники инфекции сальмонеллы включают:

1 Птицу и продукты из птицы, которые считаются основным источником инфекции сальмонеллы у людей [49]. Заражение мяса обычно происходит в результате неправильного обращения с инфицированными органами, такими как кишечник и печень, во время обработки туш [50]. Было исследовано заражение сальмонеллой в 44 бройлерных фермах и 51 ферме-несушке, где сальмонеллы были обнаружены в 41,3% бройлерных птичников, а почти 50% идентифицированных штаммов были способны продуцировать биопленку [51]. В США предыдущий отчет показал, что распространенность серовара *S. Enteritidis* в куриных продуктах выросла с 0,45% до 1,5% за период 10 лет (2002-2012 гг.). Это означает, что мясо птицы является одним из существенных факторов риска для заражения человека [52]. Замороженные сырые куриные продукты в панировке (FRBCP) также были признаны фактором риска сальмонеллы в Канаде и США [53]. Из списка из 18 источников пищи яйца и яичные продукты были наиболее частыми источниками вспышек сальмонеллеза [54].

2 Мясной фарш: CDC провел опрос населения, который показал, что 82,2% американцев потребляют говядину еженедельно, причем 67% явно предпочитают говяжий фарш [55]. Было установлено, что курица, свинья и говядина ответственны за 34, 25 и 16% вспышек сальмонеллы соответственно [56], а 10% сальмонеллеза человека связано с потреблением говядины в США [55]. Недавняя вспышка сальмонеллеза привела к более чем 400 зарегистрированным инфекциям, из которых более 100 человек потребовали госпитализации. Вспышка была связана с устойчивым к антибиотикам (AMR) штаммом *S. Ньюпорте*, который был связан с потреблением говяжьего фарша в 30 различных штатах [57].

3 Домашние животные могут загрязнять окружающую среду и передавать инфекцию другим животным, производящим пищу, спорадически выделяя бактерии со своими фекалиями [58]. Домашние животные, такие как собаки, питающиеся сырой пищей, с большей вероятностью являются носителями сероваров сальмонеллы, таких как *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg* и *S. Kentucky*. Более того, вероятность заражения сальмонеллой выделение вируса было примерно в 23 раза выше у собак на сыроедении, чем у собак на коммерческом рационе [59]. Более того, исследование «случай-контроль» сальмонеллеза у детей в Мичигане показало, что контакт с кошками является одним из основных факторов риска заражения сальмонеллой [60].

4 Дикие животные, включая кабанов и диких свиней, играют решающую роль в передаче сальмонеллы как домашним животным, так и людям во всем мире [61]. Сальмонеллу часто выявляют у различных диких млекопитающих, таких как опоссумы, еноты, лисы, норки, тигры, пумы, тюлени, белохвостые олени и киты, а также у диких птиц [61]. Домашние животные заражаются при контакте с зараженными фекалиями диких животных и птиц [62]. У людей передача обычно происходит либо при прямом контакте с зараженными фекалиями инфицированных животных, либо при употреблении зараженного мяса диких птиц и других диких животных, таких как олени или кабаны [63]. Было проведено несколько исследований для определения распространенности сальмонеллы у диких животных. Например, Каммингс и др. обнаружили, что из 442 образцов фекалий, полученных от диких свиней в 50 округах Техаса, США, 43% дали положительный результат на сальмонеллу. Среди этих образцов наиболее распространенными были серовары *S. Монтевидео* (10%), *S. Ньюпорт* (9,1%) и *S. Дайте* (8,2%) [64]. Аналогично, Молино и др. продемонстрировали, что при анализе образцов тканей 1041 дикого кабана из центрально-западной Испании 7,7% были положительными на сальмонеллу, а *S. Ньюпорт* был наиболее распространенным сероваром [65]. Аналогичным образом, из 225 образцов фекалий, собранных у содержащихся в неволе диких и экзотических животных, включая жирафов, журавлей и енотов из Огайо, США, 24,9% (n = 56) были положительными на сальмонеллу, а наиболее распространенные серовары включали *S. Typhimurium* (64,3%), *S. Ньюпорт* (32,1%) и *S. Гейдельберг* (5,3%) [66].

5 Насекомые также являются одним из переносчиков сальмонеллы на фермах. Исследования показали, что комнатные и свалочные мухи, а именно *Musca Domestica* и *Hydrotaea aenescens*, могут переносить *S. Enteritidis*, *S. Серотипы Heidelberg* и *S. Infantis* [67]. Аналогично, было обнаружено, что личинки и взрослые особи мелких мучных червей (*Alphitobius diaperinus*) являются носителями AMR *S. Enteritidis* и передают инфекции на фермах [68]. Кроме того, 15 различных серотипов, включая *S. Anatum*, *S. Choleraesuis* var. Кунцендорф и *S. Дерби*, были обнаружены у обыкновенных комнатных мух (*Musca Domestica*) на свиноферме [69]. Более того, 13 из этих серотипов были обнаружены в образцах фекалий свиней, причем *S. Анатум* и *S. Дерби* является преобладающим [70].

6 Грызуны, такие как домашние мыши, являются одним из значительных источников инфекции на фермах. Сообщалось, что домовая мышь (*Mus musculus*) играет решающую роль в передаче инфекции *Salmonella Enteritidis* среди сельскохозяйственных животных [71]. Кроме того, такие виды, как крышная крыса (*Rattus rattus*), также являются известными источниками *S. Enteritidis* инфекции [72]. Различные исследования показали, что *R. rattus*, *R. norvegicus* и *M. musculus Domestica* являются источниками нескольких серотипов сальмонеллы на птицеводческих и свинофермах [72]. Аналогично, CDC определяет другие виды-хозяева, такие как рептилии и амфибии, как хозяев, которые могут содержать сальмонеллу и передавать инфекцию людям и сельскохозяйственным животным [73]. Кроме того, способность сальмонеллы образовывать биопленки, позволяющая ей прикрепляться к различным поверхностям окружающей среды, овощам, фруктам и скорлупе куриных яиц, а также к поверхностям, находящимся вблизи жилых помещений животных, таким как мешки для пылесоса, стоки раковин и т.д. дверные ручки в домах способствуют дальнейшей передаче бактерий хозяевам-млекопитающим [74]. Другие источники, такие как вода, загрязненные полы, тележки, использование загрязненной воды для орошения сельскохозяйственных культур или прямой контакт с фекалиями животных, несущих сальмонеллу, также могут передавать инфекцию человеку [75]. Передача серотипов сальмонеллы часто значительно различается между популяциями людей и животных в одном и том же географическом регионе [76]. Различные серотипы сальмонелл обладают разной способностью вызывать заболевания у человека [77]. Однако передача инфекций сальмонеллы может происходить при прямом или косвенном контакте дома, в больнице или на ферме; однако большинство заболеваний, связанных с сальмонеллой, которые ежегодно возникают во всем мире, имеют пищевое происхождение [78]. Передача сальмонеллы может происходить при прямом контакте при прямом употреблении зараженной фекалиями пищи или воды [79]. Вертикальная передача обычно происходит у птиц и рептилий, когда бактерии из женских половых путей получают доступ к яйцам [80]. Внедрение возбудителя зависит от толщины и проницаемости яичной скорлупы, причем яичная скорлупа рептилий более тонкая и проницаемая, чем у птиц [81], тогда как непрямая передача происходит, когда бактерии передаются через промежуточные объекты, такие как загрязненная посуда и живые или неодоушевленные векторы [82].

### 1.3 Методика микробиологических исследований при работе с сальмонеллами

*S. enterica* - это высоко разнообразный грамтрицательный бактериальный вид, который можно разделить на тифоидные и не

тифоидные серовары Salmonella. Тифоидные серовары Salmonella имеют общие вирулентные свойства, приобретённые в результате конвергентной эволюции, поэтому эти вирулентные гены отсутствуют у большинства нетифоидных сероваров Salmonella [83]. Кишечник содержит высококоразнообразное микробное сообщество, которое влияет на питание, физиологию и иммунную систему хозяина [84, 85]. Состав микробиоты кишечника остаётся относительно стабильным у здоровых людей на протяжении всей их жизни [86].

В ЕС систематически тестируют продукты из птицы на наличие сероваров S. enterica subsp. enterica серовары Typhimurium и Enteritidis [87, 88]. Для обнаружения Salmonella в пищевых образцах в целом могут использоваться как молекулярные тесты, так и традиционные методы культивирования. Мультиплексный количественный ПЦР (qPCR) доказал свою эффективность как быстрый, простой в выполнении и чувствительный молекулярный метод для обнаружения видов Salmonella и различных сероваров Salmonella [89]. Скрининг обогащенных образцов с помощью qPCR позволяет в течение 24 часов определить, является ли обогащение положительным или отрицательным на Salmonella, в то время как метод культивирования требует больше времени и труда, требуя дополнительных 24 часов для получения результата. Раннее обнаружение положительных на Salmonella образцов с помощью qPCR способствует более раннему вмешательству и предотвращению дальнейшего распространения загрязненных пищевых продуктов на рынке по сравнению с методами культивирования.

Мультиплексный ПЦР можно использовать для первичного скрининга обогащенных образцов из различных матриц и для подтверждения подозреваемых изолятов Salmonella. Метод мультиплексного ПЦР был валидирован путем определения эффективности ПЦР, относительной точности и селективности. Кроме того, уровень обнаружения (LOD) мультиплексного ПЦР был сравнен с уровнем обнаружения двух методов культивирования Salmonella; это метод ISO для обнаружения Salmonella [90] и модифицированный метод ISO на модифицированной полутвердой среде Раппапорта-Вассилиадиса (MSRV), далее именуемый как метод MSRV [91]. Тестируемые матрицы включали птицу, фарш, яйца, травы/специи, порошковое молоко, рыбу, корм для животных, носки с куриными фекалиями, мазки с мусором и куриный пух. Эти матрицы были выбраны по двум причинам.

Во-первых, выбранные матрицы известны как релевантные источники для появления и роста Salmonella [92].

Во-вторых, стандарт ISO 16140-2:2016 [93] указывает общий принцип и технический протокол для валидации альтернативных методов микробиологии в пищевой цепочке. Рекомендуется выбирать матрицы как минимум из пяти категорий продуктов питания, чтобы метод мог применяться к широкому спектру продуктов. Выбирая образцы кормов, образцы окружающей среды и образцы с этапов первичного производства, применение этого метода расширяется.

## 2 Материалы и методы исследования

Объект исследования. Бактерии рода Salmonella окружающей среды.

Предмет исследования: Процесс адаптации бактерий рода Salmonella в окружающей среде.

### 2.1 Материалы исследования

Материалы исследования:

- оборудование и приборы (автоклав, термостат, микроскоп, весы аналитические), лабораторная стеклянная посуда (чашки Петри, колбы);

- отобранные для исследования пробы почв.

### 2.2 Методы исследования

#### 2.2.1 Расчетные методы исследования

Методы исследования основаны на применении методов математического моделирования (глава 3.1), отбора проб и микробиологии, в частности, выделение бактерий рода Salmonella из почвы, культивирование, микроскопирование, изучение культуральных свойств (глава 3.2).

**Формулы и уравнения, использованные в решении поставленных задач, приведены ниже:**

**Формула нелинейной множественной корреляции [94]:**

(1)

**Обозначения:**

**N** - число описываемых точек, **K** - число действующих на бактерии рода Salmonella факторов окружающей среды.

**U<sub>э</sub>** - экспериментальный результат, **U<sub>т</sub>** - теоретический (расчетный) результат,

**U<sub>ср</sub>** - среднее экспериментальное значение.

**Величина значима, если выполняется условие:**

(2)

N = 5, K = 1.

**Подбор аппроксимирующей функции основан на** применении метода **наименьших квадратов.**

**Уравнение прямой линии: (3) ; (4, 5) После определения значимости частных функций** выводится обобщенное уравнение Уоб:

(6)

**Обозначения:**

**U<sub>1</sub>, U<sub>2</sub>, U<sub>3</sub>, ...U<sub>n</sub>** - частные функции,

**U<sub>ср</sub>** - общее среднее всех учитываемых значений обобщенной функции.

#### 2.2.2 Микробиологические методы исследования

Исследования включали следующие этапы работ [95]:

1 Отбор проб почвы методом конверта.

2 Подготовительный этап работы складывался из таких процедур, как:

- подготовка лабораторной посуды (колб, чашек Петри, микропипеток и др.) и их стерилизация, приборов (весы аналитические,

микроскоп бинокулярный) и оборудования (термостат);

- подготовка питательной среды XLD-агар по инструкции от завода изготовителя, стерилизация;
- розлив питательной среды на чашки Петри (происходит затвердевание среды в процессе остывания).

3 Подготовка отобранных проб почв и проведение метода предельного разведения.

4 Посев инокулята на твердую питательную среду осуществляли в боксе в стерильных условиях.

5 Культивирование в термостате при температуре 37°C в течение 24 ч.

После посева образцы с питательной средой в чашках Петри переворачивали и помещали в термостат для дальнейшего роста и развития колоний бактерий рода Salmonella.

6 Изучение культуральных свойств бактерий рода Salmonella, выращенных на твердой питательной среде.

### 3 Результаты исследования

Род бактерий Salmonella, как колонизаторы желудочно-кишечного тракта животных и человека, являются зоонозной бактерией из семейства Enterobacteriaceae со способностями распространяться по пищевой цепи через объекты окружающей среды, т.е. через почву, воду, флору и фауну, в частности, через корм к животным и далее к человеку. Поэтому инфекция сальмонеллы, а также множественная лекарственная устойчивость у изолятов сальмонелл, представляет глобальную проблему для общественного здравоохранения. Поэтому для предотвращения заражения человека сальмонеллой требуются проводить эпидемиологический надзор, профилактику и контроль в том числе и объектов окружающей среды.

#### 3.1 Моделирование факторов, влияющих на выживаемость бактерий рода Salmonella в окружающей среде

Задача. Изучить методом математического моделирования особенности культуральных условий почв, способствующих процессам выживаемости сальмонелл в условиях окружающей среды

Сальмонеллы широко распространены в природной среде поэтому представляет научный интерес вопрос по изучению методом математического моделирования факторов, оптимально в комплексе влияющих на процесс выживаемости сальмонелл в условиях окружающей среды, в частности, когда культуральным условием служит почва, как аналог твердой питательной среды в лаборатории. Известно, что сальмонеллы имеют широкий круг хозяев (среди животных как хладнокровные, так и теплокровные) и оптимальными условиями культивирования для них являются: температура 37 °C, pH 6,5-7,5 [96, 97].

В данном разделе методом математического моделирования рассчитаны оптимальные особенности культуральных условий почв, способствующих процессам выживаемости сальмонелл в условиях окружающей среды.

В расчетных исследованиях были рассмотрены количественные (влажность, температура, pH, интенсивность дыхания) факторы, свойственные почве и влияющие на процесс выживания сальмонелл в условиях окружающей среды (таблица 1):

1 Влажность почвы: **20, 30, 40, 50, 60** %

2 Температура: **10, 15, 20, 25, 30 °C**.

3 pH: 5; 6; 7; 8; 9

4 Интенсивность дыхания почвы, мл O<sub>2</sub> на 1 кг сухой почвы за час: 0,8; 1,8; 2,8; 3,8; 4,8.

Таблица 3.1 - Область факторного пространства Факторы Уровни факторов 1 2 3 4 5 X1 -Влажность, % 20 30 40 50 60

X2 - температура, °C 10 15 20 25 30

X3 - pH 5 6 7 8 9

X4 - Интенсивность дыхания почвы, мл O<sub>2</sub> на 1 кг сухой почвы за час 0,8 1,8 2,8 3,8 4,8

Как видим из таблицы 1, род Salmonella обитая в окружающей среде способен выживать в суровых условиях несколько лет [98]

благодаря высокой физиологической пластичности и способности адаптироваться к различным культуральным нишам (вода, почва) [99].

Таблица 3.2 - Четырёхфакторная матрица планирования эксперимента No опыта Четырёхфакторная матрица планирования эксперимента %

	X1				X2				X3				X4			
	Уровень		Зна чение		Уровень		Зна чение		Уровень		Зна чение		Уро вень		Зна чение	
1	1	20	1	10	5	9	4	3,8	33,4							
2	1	20	2	15	4	8	5	4,8	5							
3	1	20	3	20	2	6	1	0,8	4							
4	1	20	4	25	3	7	2	1,8	33,4							
5	1	20	5	30	1	5	3	2,8	66,7							
6	2	30	1	10	5	9	4	3,8	3							
7	2	30	2	15	4	8	5	4,8	33,4							
8	2	30	3	20	2	6	1	0,8	33,4							
9	2	30	4	25	3	7	2	1,8	33,4							
10	2	30	5	30	1	5	3	2,8	1							
11	3	40	1	10	5	9	4	3,8	66,7							
12	3	40	2	15	4	8	5	4,8	66,7							
13	3	40	3	20	2	6	1	0,8	0							
14	3	40	4	25	3	7	2	1,8	33,4							
15	3	40	5	30	1	5	3	2,8	12							
16	4	50	1	10	5	9	4	3,8	33,4							
17	4	50	2	15	4	8	5	4,8	21							

18	4	50	3	20	2	6	1	0,8	33,4
19	4	50	4	25	3	7	2	1,8	100
20	4	50	5	30	1	5	3	2,8	14
21	5	60	1	10	5	9	4	3,8	33,4
22	5	60	2	15	4	8	5	4,8	66,7
23	5	60	3	20	2	6	1	0,8	33,4
24	5	60	4	25	3	7	2	1,8	1
<b>25</b>	<b>5</b>	<b>60</b>	<b>5</b>	<b>30</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>3</b>	<b>2,8</b>	<b>33,4</b>

**Таблица 3.3 - Расчет экспериментальных значений частных функций No фактора Уровень Среднее значение 1 2 3 4 5 X1**

28,5	20,84	35,76	40,36	33,58	31,808	
X2	33,98	38,56	20,84	40,24	25,42	31,808
X3	25,42	20,84	40,24	38,56	33,98	31,808
X4	20,84	40,24	25,42	33,98	38,56	31,808

**Таблица 3.4 - Расчетные значения исследуемых функций No опыта X1 X2 X Y X2 XY X Y X2 XY**

1	20	28,5	400	570	10	33,98	100	339,8
2	30	20,84	900	625,2	15	38,56	225	578,4
3	40	35,76	1600	1430,4	20	20,84	400	416,8
4	50	40,36	2500	2018	25	40,24	625	1006
5	60	33,58	3600	2014,8	30	25,42	900	762,6
$\Sigma$	200	159,04	9000	6658,4	100	159,04	2250	3103,6

Продолжение табл.3.4

**Но опыта X3 X4**

	X	Y	X2	XY	X Y	X2	XY
1	5	25,42	25	127,1	0,8	20,84	0,64 16,672
2	6	20,84	36	125,04	1,8	40,24	3,24 72,432
3	7	40,24	49	281,68	2,8	25,42	7,84 71,176
4	8	38,56	64	308,48	3,8	33,98	14,44 129,124
5	9	33,98	81	305,82	4,8	38,56	23,04 185,088
$\Sigma$	35	159,04	255	1148,12	14	159,04	825,36 474,492

Таблица 3.5 - Аппроксимация исследуемых функций

**Формулы X1 X2 X3 X4**

0,2968	-0,3088	-1,742	0,0371171
19,936	37,984	44,002	31,70407212
79,296	7,104	-16,968	32,22371152

**Теоретические значения частных функций:**

<b>Yn1=a+b · Xn1</b>	25,872	34,896	35,292	31,734
<b>Yn2=a+b · Xn2</b>	28,84	33,352	33,55	31,771
<b>Yn3=a+b · Xn3</b>	31,808	31,808	31,808	31,808
<b>Yn4=a+b · Xn4</b>	34,776	30,264	30,066	31,845
<b>Yn5=a+b · Xn5</b>	37,744	28,72	28,324	31,882

Методом математического моделирования определяем особенности культуральных условий почв, способствующих процессам выживаемости сальмонелл в условиях окружающей среды. Для этого изучаем выборку на точечные графики.

Проводим вычисления по изучению влияния исследуемых в эксперименте факторов X1 - X4:

Рисунок 1 - Зависимость (экспериментальные значения частных функций) фактора X1 (влажность почвы, %) и процента выживаемости сальмонелл в условиях почвы окружающей среды

Рисунок 2 - Зависимость (расчетные значения частных функций) фактора X1 (влажность почвы, %) и процента выживаемости сальмонелл в условиях почвы окружающей среды

Как видно из рисунков 1 (экспериментальные значения частных функций) и 2 (расчетные значения частных функций), зависимость фактора X1 (влажность почвы, %) и выживаемости сальмонелл (%) в условиях почвы окружающей среды показало, что чем выше влажность почвы до определенного предела, в нашем случае 37,744 %, тем выше процент сохранности сальмонелл в почве, 30 %. Тогда как в экспериментальных условиях, процент приживляемости возрастал до 60 %. Это объясняется тем, что пробы почв были отобраны на территории промышленной зоны - техногенной площадки временного содержания помета птиц.

Рисунок 3 - Зависимость (экспериментальные значения частных функций) фактора X2 (температура, 0C) и процента выживаемости сальмонелл в условиях почвы окружающей среды

Рисунок 4 - Зависимость (расчетные значения частных функций) фактора X2 (температура, 0C) и процента выживаемости сальмонелл в условиях почвы окружающей среды

Как видно из рисунков 3 (экспериментальные значения частных функций) и 4 (расчетные значения частных функций), зависимость фактора X2 (температура, 0С) и выживаемости сальмонелл (%) в условиях почвы окружающей среды показало, что чем ниже температура почвы до определенного предела, в нашем случае 28,72 %, тем выше процент сохранности сальмонелл в почве, 30% такой же и в экспериментальных условиях.

Рисунок 5 - Зависимость (экспериментальные значения частных функций) фактора X3 (рН) и процента выживаемости сальмонелл в условиях почвы окружающей среды

Рисунок 6 - Зависимость (расчетные значения частных функций) фактора X3 (рН) и процента выживаемости сальмонелл в условиях почвы окружающей среды

Как видно из рисунков 5 (экспериментальные значения частных функций) и 6 (расчетные значения частных функций), зависимость фактора X3 (рН) и выживаемости сальмонелл (%) в условиях почвы окружающей среды показало, что чем ниже рН почвы до определенного предела, в нашем случае 28,324 %, тем выше процент сохранности сальмонелл в почве, 35 %. Тогда как в экспериментальных условиях, процент приживляемости возрастал до 40 %.

Рисунок 7 - Зависимость (экспериментальные значения частных функций) фактора X4 (интенсивность дыхания почвы, мл O<sub>2</sub> на 1 кг сухой почвы за час) и процента выживаемости сальмонелл в условиях почвы окружающей среды

Рисунок 8 - Зависимость (расчетные значения частных функций) фактора X4 (интенсивность дыхания почвы, мл O<sub>2</sub> на 1 кг сухой почвы за час) и процента выживаемости сальмонелл в условиях почвы окружающей среды

Как видно из рисунков 7 (экспериментальные значения частных функций) и 8 (расчетные значения частных функций), зависимость фактора X4 (рН) и выживаемости сальмонелл (%) в условиях почвы окружающей среды показало, что чем выше Интенсивность дыхания почвы, мл O<sub>2</sub> на 1 кг сухой почвы за час почвы до определенного предела, в нашем случае 31,882 %, тем выше процент сохранности сальмонелл в почве, 32 %. Тогда как в экспериментальных условиях, процент приживляемости возрастал до 40 %

3.2 Выделение сальмонеллы из почвы методом микробиологии и изучение их культурных свойств на твердой питательной среде

Выделенные бактерии рода сальмонеллы были выращены на твердой питательной среде XLD agar (рисунок 9).

Рисунок 9 - Рост бактерий рода сальмонелл на твердой питательной среде

Как видно из рисунка 9, культурные свойства сальмонелл через 24 ч культивирования показали следующие результаты:

- 1) хорошо растут на простых питательных и желчесодержащих средах;
- 2) на плотных средах образуют колонии в R-форме и S-форме;
- 3) колонии средних размеров, полупрозрачные с черным центром.

Заключение и выводы

Инфекция сальмонеллы представляет глобальную проблему для общественного здравоохранения. Поэтому для предотвращения заражения человека сальмонеллой требуется проводить эпидемиологический надзор, профилактику и контроль в том числе и объектов окружающей среды.

Выводы:

- 1 Изучена биология и особенности распространения сальмонелл по пищевой цепи.
- 2 Методом математического моделирования изучены особенности культуральных условий почв, способствующих процессам выживаемости сальмонелл в условиях окружающей среды.
- 3 Выделены бактерии рода *Salmonella* из объектов окружающей среды, в частности, из почвы и изучены культуральные свойства, т.е. особенности роста сальмонелл на питательной среде.