

DOI 10.52368/2078-0109-2022-58-4-121-127
УДК 619:579:614.31

ВЫЯВЛЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНЫХ НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК БАКТЕРИЙ В МЯСНЫХ ПРОДУКТАХ

*Абдуллаева А.М. ORCID ID 0000-0003-1900-2121,
**Блинкова Л.П. ORCID ID 0000-0003-0271-5934

*ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»,
г. Москва, Российская Федерация

**ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова,
г. Москва, Российская Федерация

*В пищевых продуктах после бактериологического анализа не выявляются опасные пищевые патогены, которые могут стать причиной болезней пищевого происхождения. Это связано с образованием жизнеспособных некультивируемых клеток (ЖНК) бактериями-контаминантами под действием стрессовых факторов, что приводит к ложноотрицательным результатам при микробиологической экспертизе. В работе представлены данные о ЖНК в готовых мясных продуктах и после экспериментального контаминирования ЖНК патогенов. Ввиду биоопасности таких dormantных клеток авторы предлагают регламентировать тестирование пищевой продукции на наличие ЖНК. **Ключевые слова:** биоопасность, детекция, жизнеспособные некультивируемые клетки, контаминация, бактерии, мясо.*

DETECTION OF VIABLE BUT NONCULTURABLE BACTERIA CELLS IN MEAT PRODUCTS

*Abdullaeva A.M., **Blinkova L.P.

*FSBEI HE Moscow State University of Food Production, Moscow, Russian Federation

**Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

*In foods, after bacteriological analysis, dangerous food pathogens are not detected, which can cause foodborne diseases. This is due to the formation of viable but nonculturable cells (VBNC) by contaminant bacteria under the influence of stress factors, which leads to false-negative results in microbiological expertise. The paper presents data on the presence of VBNC in finished meat products and after experimental contamination of VBNC pathogens. Due to the biohazard nature of such dormant cells, the authors propose to regulate the testing of food products for the presence of VBNC. **Keywords:** biohazard, detection, viable but nonculturable cells, contamination, bacteria, meat.*

Введение. В настоящее время с целью продления срока годности и предотвращения бактериальной порчи пищевого сырья, в частности мяса и мясной продукции, создаются высокоэффективные технологии, используются консерванты различной природы, коммерческие бактериофаги, бактериоцины, разрабатываются различные способы упаковок с применением модифицированной газовой атмосферы [1, 5, 10]. Но, несмотря на современные технологии и новые подходы к контролю безопасности пищевого сырья на всех этапах производства и реализации, количество пищевых отравлений, связанных с употреблением в пищу контаминированного мяса и готовых мясных продуктов, не снижается.

Свежие или переработанные продукты животного происхождения могут содержать разные виды патогенных микроорганизмов, вызывая у людей, потребляющих их, инфекционные заболевания, начиная от незначительного дискомфорта в кишечнике до более тяжелых случаев, таких как неврологические расстройства и даже летальный исход из-за массивного количества микроорганизмов, создавших эпидемическую вспышку [7, 2, 10].

Болезни пищевого происхождения во всем мире представляют собой большую социально значимую проблему здравоохранения. Так, например, в США ежегодно заболевает 1 из 6 американцев, т.е. 48 млн человек, из них 128 тыс. госпитализируются, около 3000 человек умирают от болезней пищевого происхождения.

С 2005-2008 гг. FoodNet (Фуднет – система мониторинга заболеваний пищевого происхождения) предоставила данные о лабораторно подтвержденных возбудителях болезней пищевого происхождения в США по 31 патогену [7]. К ним относятся: *Campylobacter* spp., *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora cayetanensis*, Shigatoxin-producing *Escherichia coli* O157, Shigatoxin-producing *E. coli* non-O157, *Listeria monocytogenes*, non-typhoidal *Salmonella* spp., *S. enterica* серотип Typhi, *Shigella* spp., *Yersinia enterocolitica*. Преимущественно 76% заболеваний вызывали *Campylobacter* (около 4000 случаев) и *Salmonella* spp. (свыше 2200 случаев). В продуктах переработки птицы выявляют такие патогены, как бактерии группы кишечной палочки (БГКП), *Listeria monocytogenes*,

Staphylococcus aureus, которые вызывают вспышки заболеваний, охватывающие большое количество людей, после употребления продуктов из одного источника.

По сведениям ВОЗ, 34% всех пищевых сальмонеллезных вспышек связано с потреблением продуктов из куриного мяса. По сообщению специалистов СЗГМУ им. И.И. Мечникова и НИИ эпидемиологии им. Л. Пастера, в 2019 г. в РФ зарегистрировано 50 тыс. случаев заболевания сальмонеллезом. В США более 70% случаев инфицирования людей сальмонеллами вызваны потреблением продукции птицеводческой отрасли [2, 10].

Согласно данным Роспотребнадзора, специалистами были проведены годовые исследования в целях надзора за биологической безопасностью проб пищевых продуктов и сырья. Например, в 2017 г. их количество составило 8233, в том числе 82 – поступивших по импорту, в 2018 г. – 7326. В этот же период в продуктах питания и продовольственном сырье патогенные микроорганизмы (сальмонеллы, листерии) обнаружены в количестве около 0,4 - 0,8% (2017 г. – 0,77%, 2018 г. – 0,39%;) исследованных проб, а в птице и птицеводческой продукции составляли в среднем 8,03% (2017 г. – 10,81%, 2018 г. – 5,8%) [4].

В США, по данным Центра по контролю и профилактике заболеваний (CDC), в 14 штатах с января по май 2021 г. зарегистрированы вспышки инфекций сальмонелл после употребления фарша из индейки, возбудителем которых являлся микроб *Salmonella Hadar*, устойчивый к стрептомицину и тетрациклину [<https://www.cdc.gov/salmonella/hadar-04-21/details.html>]. В течение двух лет (с 2017 по 2019 гг.) в 42 штатах в фарше из мяса индейки возбудитель сальмонеллеза выявлен у 356 человек, из которых 132 пациента были госпитализированы. По данным CDC и FSIS (Службы безопасности пищевых продуктов и инспекций) поставщиками данных сырых продуктов индейки являлись разные предприятия – 24 убойных и 14 перерабатывающих из 21 штата [https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.8abe4cac-6226513a-1b2f8329-74722d776562; <https://www.cdc.gov/salmonella/>].

В пищевой промышленности переход микробных клеток в жизнеспособное некультивируемое состояние (НС) возможен при изготовлении продукции, транспортировке и хранении вследствие стрессового воздействия низкой или высокой температуры, лиофилизации, облучения, окислительного стресса, пищевых консервантов и дезинфектантов [6, 10, 8].

В настоящее время жизнеспособные некультивируемые клетки (ЖНК) описаны у более чем 100 видов микроорганизмов, в т.ч. возбудителей болезней пищевого происхождения: *Salmonella* spp., *E. coli*, *Staphylococcus*, *Listeria*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia*, *Aeromonas*, *Citrobacter* и др. Находясь в некультивируемом состоянии, пищевые патогены сохраняют свойства вирулентности, образования токсинов, а некоторые виды сохраняют способность к адгезии в культуре ткани. Например, при введении инокулята *V. cholerae* и энтеротоксигенных *E. coli* в перевязанную петлю кишечника кролика, а также аттенуированного штамма *V. cholerae* CVD 101 в кишечник добровольцев получены прямые доказательства вирулентности ЖНК [9]. При попадании в богатый питательный субстрат с оптимальной для роста микроорганизма температурой ЖНК способны возвращаться к активному состоянию. Имеются сообщения об эпидемической диарее, тяжелых пищевых отравлениях и других болезнях после выхода ЖНК патогенов из некультивируемого состояния [9, 10, 8].

Для обнаружения живых микроорганизмов применяют ряд методов, выявляющих их без культивирования на питательных средах: метод прямого подсчета клеток при окрашивании красителем акридиновым оранжевым и микроскопия в флуоресцентном микроскопе; метод DVC (direct viable count – прямого подсчета живых клеток); метод жидкостной флюороцитометрии; иммуноферментный метод или проточную цитометрию и молекулярно-генетический метод на основе ПЦР [10].

К сожалению, эти методы дорогостоящие, трудоемкие и поэтому не всегда пригодны для практического применения, а их использование не позволяет дифференцировать культивируемые и некультивируемые клетки микроорганизмов.

Поэтому для существенного сокращения времени на исследование и получения достоверных результатов о присутствии/отсутствии микроорганизмов-контаминантов, способных вызывать болезни пищевого происхождения, и их ЖНК в мясе и мясных продуктах, в ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств» и ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова разработан способ экспресс-детекции жизнеспособных микроорганизмов. Этот способ может быть использован в лабораториях ветеринарно-санитарной экспертизы, на предприятиях по переработке и хранению продуктов животноводства, на продовольственных рынках, в бактериологических лабораториях предприятий пищевой промышленности, сельского хозяйства, медицины, экологии, в научно-исследовательских учреждениях [3].

Способ позволяет существенно (до 2 суток) сократить время на проведение микробиологического и микроскопического анализа мяса и мясных продуктов с точным подсчетом жизнеспособных (живых) контаминантов в образцах продукции. Поставленная цель достигается тем, что для экспресс-

детекции общего количества жизнеспособных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) в мясе и мясных продуктах используется метод выявления контаминирующих бактериальных клеток в образцах продукции, окрашенных двухкомпонентным ДНК-тропным красителем *Live/Dead (Backlight™)*, который обеспечивает непосредственное определение живых клеток при люминесцентном микрофотографировании с последующим фотографированием и архивированием результатов в компьютере как отчетную, технологическую и юридическую документацию.

Способ использования коммерческого стандартного красителя *Live/Dead (Backlight™)* является оригинальным, простым, визуально информативным, существенно сокращает время исследования (с 48-72 ч до 3-5 ч) для получения достоверных результатов о присутствии/отсутствии микроорганизмов, уменьшает количество лабораторной посуды, исключает применение дорогостоящих питательных сред.

Материалы и методы исследований. Отбор проб для проведения бактериологических исследований проводили согласно ГОСТ 31467-2012 «Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы отбора проб и подготовка их к испытаниям», ГОСТ Р 50396.0-2013 «Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы отбора проб и подготовка к микробиологическим исследованиям» с соблюдением асептических условий. Тушки птицы приобретали в предприятиях торговой сети и на птицефабриках в охлажденном или замороженном виде.

Для получения ЖНК бактерии инкубировали при комнатной температуре в искусственном безбелковом растворе с 3% NaCl (осмотический и трофический стрессы) для индукции перехода клеток в НС. При получении посевной культуры штаммы условно-патогенных бактерий *E. coli* AB1157, *Salmonella enterica* Typhimurium 79, *Staphylococcus aureus* 209Р дважды пассировали на МПБ во флаконах, содержащих 100 мл среды, при температуре 37 °С в течение (22±2) ч без перемешивания. Затем во флакон, содержащий 300 мл раствора с 3% NaCl, вносили посевную суспензию в количестве (1:10). Флаконы закупоривали резиновыми пробками с дыхательными пластмассовыми трубками для предохранения солевой среды от испарения при длительной инкубации при комнатной температуре.

Для определения общего количества клеток проводили микрофотографию с использованием светового микроскопа фирмы «Микмед» (Россия) и камеры Горяева, а с целью подсчета колониеобразующих единиц (КОЕ/мл) делали высевы на питательный агар и тест-пластины *Petrifilm™*. Соотношение живых и мертвых клеток определяли после окрашивания коммерческим набором *Live/Dead BacLight™* (США) в люминесцентном микроскопе «*Opton*» (Германия), увеличение ×320. Затем высококонтрастные цифровые изображения бактерий архивировали для вычисления ЖНК.

Результаты исследований. Сначала нами проведены исследования с целью определения жизнеспособных культивируемых и некультивируемых (дормантных) микроорганизмов в продуктах из мяса птицы. Данные, полученные в экспериментах с определением общего количества бактерий КМАФАнМ (КОЕ/г), живых и мертвых клеток, должны были приоритетно продемонстрировать также присутствие ЖНК в тестируемых нами продуктах из мяса птицы. Результаты представлены в таблице 1.

Как свидетельствуют результаты исследования куриного фарша после вскрытия упаковки, исходное КМАФАнМ составляло в 1 мл суспензии (4,0±0,44) ×10³ КОЕ/г. Этот показатель соответствовал регламентированному нормативной документацией параметру КОЕ/г в пищевых продуктах. Такая величина характерна для свежего доброкачественного мясного продукта.

Микрофотография исходных образцов из тестируемого куриного фарша, суспендированного в стерильном МПБ для определения общего количества бактерий, выявила (10,76±1,1)×10⁸ клеток/мл. Через 5 ч этот показатель оставался на статистически не отличающемся от исходного уровне (9,2±1,09)×10⁸ клеток/мл (p >0,05). В то же время КМАФАнМ (КОЕ/мл) возросло в 22,5 раза (p <0,05). Среднее количество окрашенных живых бактерий, потенциально способных образовывать колонии, было статистически значимым (p <0,05) с достоверно разными пределами колебания (I₉₅) для средних величин: (76,3±95,7) и (98,01±99,99), соответственно.

Таблица 1 – Результаты микробиологической экспертизы мясного фарша из торговой сети

Время инкубации пробы (ч)	Общее количество бактерий ×10 ⁸ /мл (X ± m)	КОЕ/мл ×10 ³ (X ± m)	Среднее количество клеток, окрашенных Live/Dead (%) (X ± m)		Среднее количество ЖНК (%)
			живых	мертвых	
0	10,76 ± 1,1 (8,10 ÷ 13,42)	4 ± 0,44 (2,94 ÷ 5,06)	86 ± 4,0 (76,3 ÷ 95,7)	14 ± 1,5 (10,37 ÷ 17,6)	99,99
5	9,2 ± 1,09 (6,57 ÷ 11,83)	90 ± 9,9 (66,1 ÷ 113,9)	99 ± 0,41 (98,01 ÷ 99,9)	1 ± 0,24 (0,76 ÷ 1,24)	99,99
Достоверность различий (p)	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	–

Результаты КМАФАнМ были сходными при высевах проб куриного фарша на питательный агар и на тест-пластины Petrifilm™ в 0 ч и через 5 ч инкубации при комнатной температуре.

С целью определения наличия ЖНК в исходном фарше определяли, как указано ранее, количество живых и мертвых бактериальных клеток в тех же пробах суспендированного фарша, окрашенного ДНК-тропным красителем Live/Dead. Как видно из данных таблицы 1, средний показатель жизнеспособных клеток в поле зрения равнялся ($86 \pm 4,0$)%, а для мертвых бактерий – ($14 \pm 1,5$)%. Следовательно, погибших клеток было в 6,1 раза меньше, чем живых, способных формировать колонии. На основании значения ЖНК, установленного нами для фарша, составляло 99,99% популяции.

Эти количественные показатели позволяют считать, что в течение 5 ч при более благоприятной для микроорганизмов температуре (21 ± 1) °С физиологически активная часть резидентной популяции микробов из хранившегося при температуре бытового холодильника куриного фарша имела, по-видимому, несколько циклов размножения (генераций), пополнив общую численность и тем самым уменьшив число погибших клеток в популяции. При этом не произошло перехода клеток в некультивируемое состояние или реверсии ЖНК бактерий в вегетативную стадию.

В связи с полученными результатами необходимо было изучить поведение бактериальных клеток по их способности переходить в состояние ЖНК в условиях свежей контаминации фарша наиболее распространенными пищевыми патогенами. С этой целью в последующих экспериментах была проведена искусственная контаминация фарша культурой *S. aureus* 209P, *E. coli* AB1157 (*phi*) и *Salmonella enterica* Typhimurium 79 (таблицы 2, 3).

Результаты микробиологической экспертизы экспериментально обсемененного с помощью суточной бульонной культуры *S. aureus* 209P (таблица 2) в 0 ч свидетельствуют, что в инфицированном стафилококком фарше уровень общего количества микроорганизмов достигал ($11,36 \pm 1,3$) $\times 10^8$ клеток/мл. В этой популяции было обнаружено (300 ± 32) $\times 10^3$ КОЕ/мл МАФАнМ, т.е. культивировалось на традиционной среде только 0,0265% от общего количества клеток. Тестирование данного образца с клетками микроорганизмов, окрашенных красителем Live/Dead, в люминесцентном микроскопе выявило ($99 \pm 0,41$)% живых бактерий и ($1 \pm 0,1$)% мертвых клеток, ($p < 0,05$) (рисунки 1, 2). Величина ЖНК в этой популяции составляла 97,33%.

Таблица 2 – Результаты микробиологической экспертизы мясного фарша, экспериментально контаминированного *S. aureus* 209P

Время инкубации пробы (ч)	Общее количество бактерий $\times 10^8$ /мл ($\bar{X} \pm m$)	КОЕ/мл $\times 10^3$ ($\bar{X} \pm m$)	Общее количество бактерий $\times 10^8$ /мл ($\bar{X} \pm m$)		Среднее количество ЖНК (%)
			живых	мертвых	
0	$11,36 \pm 1,3$ (8,21 ÷ 14,5)	$300,0 \pm 32,0$ (222,6 ÷ 377,4)	$99 \pm 0,41$ (98,01 ÷ 99,99)	$1 \pm 0,1$ (0,76 ÷ 1,24)	97,33
5	$9,56 \pm 1,1$ (6,90 ÷ 12,22)	$8,0 \pm 0,87$ (5,89 ÷ 10,10)	$99 \pm 0,40$ (98,03 ÷ 99,97)	$1 \pm 0,1$ (0,76 ÷ 1,24)	99,99
Достоверность различий (p)	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	–

Определение комплекса показателей в контаминированном стафилококком мясном фарше через 5 ч инкубации при комнатной температуре показало снижение величины КОЕ/мл в 37,5 раза. При этом общая численность клеток в суспензии, а также количество живых и мертвых бактерий были статистически однозначными, ($p > 0,05$). Следовательно, процесс увеличения процента ЖНК с 97,33% до 99,99% (подъем на 2,6%) (рисунок 2) и указанное снижение числа КОЕ/мл через 5 ч инкубации связаны с утратой этой частью популяции способности к росту и формированию колоний на обычной питательной среде и переходом в некультивируемое состояние. Аналогичные тенденции в формировании колоний были обнаружены на тест-пластинах Petrifilm™.

Как известно, такая потеря культивируемости бактериями, как правило, обусловлена стрессом, возникшим в окружающей среде. По-видимому, для клеток *S. aureus* 209P, выросших в бульоне при 37°С до логарифмической фазы и которыми искусственно контаминировали куриный фарш, изменение питательного субстрата и температурного режима с 37°С на (21 ± 1) °С могло стать стрессовым фактором. Результатом такого стрессового воздействия явился переход клеток в ЖНК. Внесение в фарш клеток *S. aureus* в логарифмической фазе роста привело к количественному увеличению ЖНК бактерий через 5 ч инкубации проб в неоптимальных условиях.

Поскольку *S. aureus* является опасным патогеном, реализация потенциальной возможности обнаруженных нами жизнеспособных некультивируемых клеток микроба вновь реверсировать к активному физиологическому состоянию может привести к тяжелой интоксикации после использования в пищевых целях куриного фарша, в котором в dormantном состоянии присутствовал стафилококк [9, 10, 8].

Таким образом, проведенные эксперименты с мясным фаршем (интактным, готовым к употреблению и экспериментально зараженным *S. aureus* 209P), позволили доказать наличие присутствующих там ЖНК бактерий (до 99,9%).

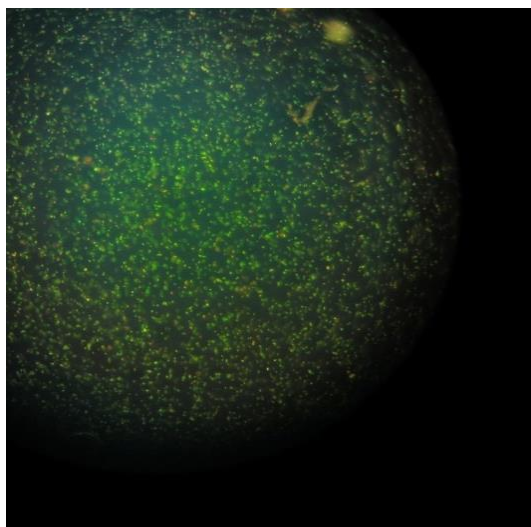


Рисунок 1 – Люминесцентная микроскопия фарша, загрязненного *S. aureus* 209P, в 0 ч

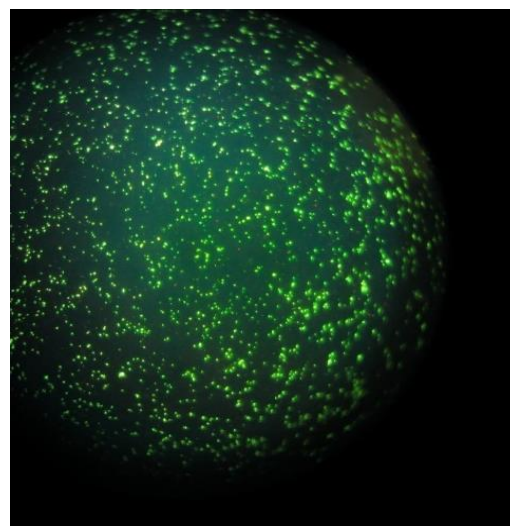


Рисунок 2 – Люминесцентная микроскопия фарша, загрязненного *S. aureus* 209P, через 5 ч

В экспериментах с искусственной контаминацией мясного фарша использовали культуру *E. coli* AB1157 и штамм *Salmonella enterica* Typhimurium 79, клетки которых на 99,9% перешли в состояние ЖНК после длительного инкубирования в условиях трофического и осмотического стрессов в безбелковом растворе 3% NaCl. Результаты изучения представлены в таблице 3 и рисунках 3, 4. Как видно из таблицы 3, общее среднее количество клеток микроорганизмов, а также число живых и мертвых клеток в образцах осталось в статистически однозначных пределах при $p > 0,05$. Однако величина КОЕ/мл достоверно выросла через 7 суток ($p < 0,05$) как для кишечной палочки, так и для сальмонеллы. При этом уровень ЖНК *E. coli* AB1157 снизился с 99,9% до 99,7% (рисунок 3), а для *Salmonella enterica* Typhimurium - до 99,6% (рисунок 4).

Таблица 3 – Результаты микробиологической экспертизы мясного фарша, экспериментально загрязненного *E. coli* AB1157 и *Salmonella enterica* Typhimurium

Фарш, загрязненный <i>E. coli</i> AB1157									
Срок инкубации (сут.)	$\times 10^7$ общее количество клеток/мл ($\bar{X} \pm m$)	$\times 10^7$ КОЕ/мл ($\bar{X} \pm m$)	Количество клеток с Live/Dead (%) ($\bar{X} \pm m$)						Среднее количество ЖНК (%)
			супернатант		на стекле		фарш		
			живые	мертвые	живые	мертвые	живые	мертвые	
0	21,9 \pm 2,4	0,006 \pm 0,00066	88 \pm 8	12 \pm 2	98 \pm 10	2 \pm 0	91 \pm 9	9 \pm 3	99,9
7	16,6 \pm 1,8	0,043 \pm 0,0047	100	0	100	0	100	0	99,7
Достоверность различий (p)	>0,05	<0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	
Фарш, загрязненный <i>Salmonella enterica</i> Typhimurium 79									
0	18,4 \pm 2,0	0,005 \pm 0,0055	20 \pm 2	80 \pm 8	100	0	100	0	99,9
7	15,9 \pm 1,7	0,062 \pm 0,0068	100	0	100	0	100	0	99,6
Достоверность различий (p)	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	

Наиболее вероятно, что даже в условиях холодильника происходило размножение оставшейся культивируемой (незначительной) части популяции микроорганизмов и дополнительно к этому происходила реверсия ЖНК к активному состоянию с начавшейся затем пролиферацией бактерий.

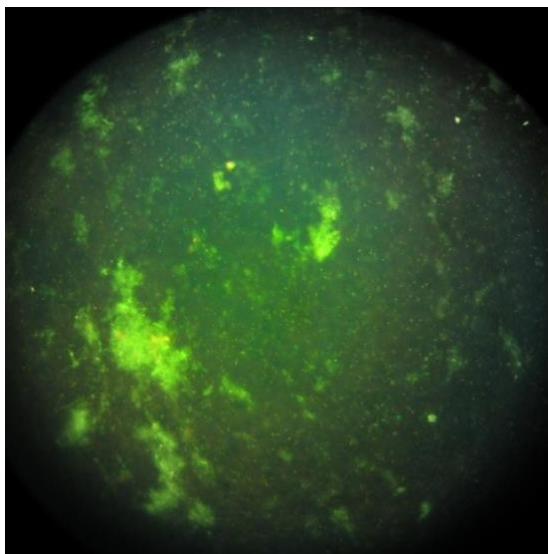


Рисунок 3 – Люминесцентная микроскопия фарша, загрязненного *E. coli* AB1157

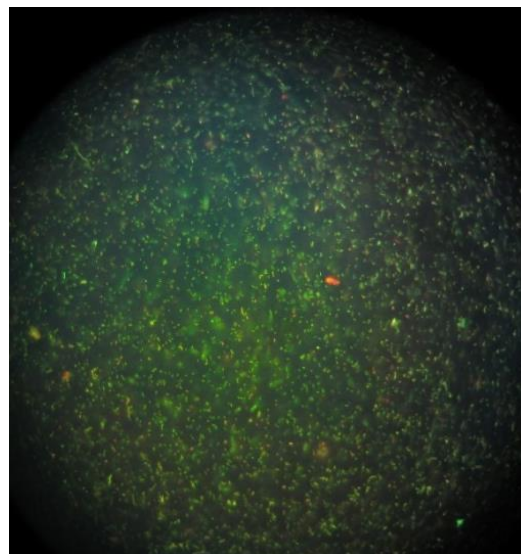


Рисунок 4 – Люминесцентная микроскопия фарша, загрязненного *Salmonella enterica* Typhimurium 79

Следовательно, содержащиеся в фарше ЖНК оставались жизнеспособными и опасными, т.к. увеличение количества погибших или инактивированных клеток в материале не выявлено. Следует учитывать, что ЖНК, попадающие в пищевые продукты или присутствующие в составе остаточной микробиоты, допустимой нормативной документацией, могут представлять опасность, так как при определенных условиях они могут расти, размножаться и вызывать болезни пищевого происхождения.

Заклучение. Таким образом, нами показана возможность присутствия и сохранения жизнеспособных некультивируемых бактерий в свежей продукции из мяса птицы. Биоопасность такой пищевой продукции, связанная с выявлением ЖНК бактерий, указывает на целесообразность введения обязательных исследований на наличие dormantных клеток микроорганизмов-контаминантов и последующей антибактериальной обработки продуктов при высоком уровне их инфицирования жизнеспособными некультивируемыми клетками.

Conclusion. Thus, we have shown the possibility of the presence and preservation of viable but non-culturable bacteria in fresh poultry products. The biohazard nature of such food products associated with the detection of VBNC bacteria indicates the need of the introduction of mandatory examination for the presence of dormant cells of microorganisms-contaminants and the subsequent antibacterial treatment of products with a high level of their contamination by viable but nonculturable cells.

Список литературы. 1. Анализ использования бактериофагов в качестве безопасных средств микробной деkontaminации пищевых продуктов / А. М. Абдуллаева [и др.] // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2020. – № 2 (34). – С. 220–227. – DOI 10.36871/vet.san.hyg.ecol.202002016. 2. Изучение антибиотикорезистентности сальмонелл, выделенных от животных и из пищевых продуктов животного происхождения на территории Российской Федерации / О. Н. Виткова [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2015. – № 2. – С. 11–15. 3. Способ экспресс-детекции жизнеспособных микроорганизмов в мясе и мясных продуктах : патент 2755766 Российская Федерация, МПК С1 G01N 33/12 / А. М. Абдуллаева, Л. П. Блинкова, Б. В. Уша, Ю. Д. Пахомов ; № 2020126113 ; заявл. 05.08.2020 ; опубл. 05.08.2020 // Бюллетень. – № 27. – С. 10. 4. Продвижения идей по повышению качества пищевой продукции, рационального потребления пищевой продукции, как важнейшей составляющей укрепления здоровья // Роспотребнадзор [Электронный ресурс]. – 2020. – Режим доступа : <https://zpp.rosпотребнадзор.ru/info/stat/202831>. – Дата доступа : 18.08.2020. 5. Bacteriophages and bacteriocins as anti-contaminants of chicken meat products / A. M. Abdullaeva [et al.] // Journal of Hygienic Engineering and Design : Macedonia. – 2020. – Vol. 33. 6. Nonculturable forms of bacteria in lyophilized probiotic preparations / L. P. Blinkova [et al.] // Functional Foods in Health and Disease. – 2014. – Vol. 4. № 2. – P. 66–76. 7. FoodNet: An Active Surveillance System Bacterial Foodborne Diseases in the United States / United States department of Agriculture, Food Safety Inspection Service Report to Congress. – 1998. 8. Induction and resuscitation of viable but nonculturable bacteria from different taxonomic groups / Yu. D. Pakhomov [et al.] // Gorteria Journal. – 2021. – Vol. 34, № 4. – P. 229–235. 9. Conversion of viable but nonculturable *Vibrio cholerae* to the culturable state by co-culture with eukaryotic cells / M. Senoh [et al.] // Microbiol. and Immunol. – 2010. – Vol. 54, № 9. – P. 502–507. 10. Current perspectives on viable but non-culturable state in foodborne pathogens / X. Zhao [et al.] // Front : Microbiol. – 2017. – Vol. 8, № 580. – P. 1–32. – DOI 10.3389/fmicb.2017.00580.

References. 1. Analiz ispol'zovaniya bakteriofagov v kachestve bezopasnykh sredstv mikrobnoj dekontaminacii pishchevykh produktov / A. M. Abdullaeva [i dr.] // Problemy veterinarnoj sanitarii, gigeny i ekologii. – 2020. – № 2 (34). –

S. 220–227. – DOI 10.36871/vet.san.hygiene.col.202002016. 2. *Izuchenie antibiotikorezistentnosti sal'monell, vydelennyh ot zhivotnyh i iz pishchevyh produktov zhivotnogo proiskhozhdeniya na territorii Rossijskoj Federacii / O. N. Vitkova [i dr.] // Veterinariya Kubani. – 2015. – № 2. – S. 11–15.* 3. *Sposob ekspress-detekcii zhiznesposobnyh mikroorganizmov v myase i myasnnyh produktah : patent 2755766 Rossijskaya Federaciya, MPK C1 G01N 33/12 / A. M. Abdullaeva, L. P. Blinkova, B. V. Usha, YU. D. Pahomov ; № 2020126113 ; zayavl. 05.08.2020 ; opubl. 05.08.2020 // Byulleten'. – № 27. – S. 10.* 4. *Prodvizheniya idej po povysheniyu kachestva pishchevoj produkcii, racional'nogo potrebleniya pishchevoj produkcii, kak vazhnejshoj sostavlyayushchej ukrepleniya zdorov'ya // Rospotrebnadzor [Elektronnyj resurs]. – 2020. – Rezhim dosputa : <https://zpp.rospotrebnadzor.ru/info/stat/202831>. – Data dostupa : 18.08.2020.* 5. *Bacteriophages and bacteriocins as anti-contaminants of chicken meat products / A. M. Abdullaeva [et al.] // Journal of Hygienic Engineering and Design : Macedonia. – 2020. – Vol. 33.* 6. *Nonculturable forms of bacteria in lyophilized probiotic preparations / L. P. Blinkova [et al.] // Functional Foods in Health and Disease. – 2014. – Vol. 4. № 2. – P. 66–76.* 7. *FoodNet: An Active Surveillance System Bacterial Foodborne Diseases in the United States / United States department of Agriculture, Food Safety Inspection Service Report to Congress. – 1998.* 8. *Induction and resuscitation of viable but nonculturable bacteria from different taxonomic groups / Yu. D. Pakhomov [et al.] // Gorteria Journal. – 2021. – Vol. 34, № 4. – P. 229–235.* 9. *Conversion of viable but nonculturable Vibrio cholerae to the culturable state by co-culture with eukaryotic cells / M. Senoh [et al.] // Microbiol. and Immunol. – 2010. – Vol. 54, № 9. – P. 502–507.* 10. *Current perspectives on viable but non-culturable state in foodborne pathogens / X. Zhao [et al.] // Front : Microbiol. – 2017. – Vol. 8, № 580. – P. 1–32. – DOI 10.3389/fmicb.2017.00580.*

Поступила в редакцию 12.10.2022.

DOI 10.52368/2078-0109-2022-58-4-127-134
УДК 636.2.082.25:636.2.033:575.174.015

ГЕНОМНАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ QTL-АССОЦИИРОВАННЫХ SNP С ОБЩИМИ ДЛЯ КАЗАХСКОЙ БЕЛОГОЛОВОЙ И АУЛИЕКОЛЬСКОЙ ПОРОД ФЕНОТИПИЧЕСКИМИ ЭФФЕКТАМИ

*Белая Е.В. ORCID ID 0000-0003-1786-0341, **Бейшова И.С. ORCID ID 0000-0001-5293-2190,
***Шулинский Р.С. ORCID ID 0000-0002-7699-8589, **Ковальчук А.М. ORCID ID 0000-0002-4106-4954,
**Ульянов В.А. ORCID ID 0000-0002-7500-1601

*УО «Белорусский государственный педагогический университет имени Максима Танка»,
г. Минск, Республика Беларусь

**НАО «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана»,
г. Уральск, Республика Казахстан

***Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь

*В статье представлены результаты полногеномного поиска QTL-ассоциированных SNP с фенотипическими эффектами у казахского белоголового и аулиекольского скота. Было установлено 6 общих для двух пород участков генома (общей протяженностью 192,8 МБ п.н.), 7 породоспецифичных участков для казахской белоголовой (общей протяженностью 19,52 МБ п.н.) и 12 породоспецифичных – для аулиекольской породы (общей протяженностью 15,10 МБ п.н.). Из 479 общепородных QTL-ассоциированных SNP (161 по признаку живой массы при рождении, 224 по признаку живой массы при отъеме, 10 – живая масса в 12 месяцев и 84 – среднесуточный привес) только 44 локализованы в участках генома наибольшего сходства у двух пород и 1 – в участке, породоспецифичном для казахской белоголовой породы. Значительная часть установленных нами QTL-ассоциированных SNP описана также другими авторами, проводившими полногеномный поиск у других пород. При этом исследование в основном проведено на чипе Illumina BovineSNP50 BeadChip с меньшей плотностью покрытия, что отчасти объясняет отсутствие данных по другим, выявленным нами полиморфизмам. Гены-кандидаты, в которых локализованы QTL-ассоциированные SNP, общие для обеих пород, в основном кодируют внутриклеточные белки, транслируемые во всех типах тканей и участвующие в общеорганизменных метаболических и физиологических процессах. Относительно внутригеномной локализации, можно отметить, что по большей части общепородные QTL-ассоциированные SNP расположены внутри интронов либо в регуляторных областях генов-кандидатов. **Ключевые слова:** аулиекольская порода, казахская белоголовая порода, полногеномный поиск ассоциаций, полиморфный сайт, фенотипический эффект.*

GENOMIC LOCALIZATION OF QTL ASSOCIATED SNP WITH PHENOTYPIC EFFECTS COMMON TO KAZAKH WHITE-HEADED AND AULIEKOL BREEDS

*Belaya A.V., **Beishova I.S., ***Shulinski R.S., **Kovalchuk A.M., **Ulyanov V.A.

*«Belarusian State Pedagogical University Named after Maxim Tank», Minsk, Belarus

**NJSC «West Kazakhstan Agrarian and Technical University named after Zhanqir Khan», Uralsk, Kazakhstan

***Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

The article presents the results of a genome-wide search for QTL associated SNP with phenotypic effects in Kazakh white-headed and Auliekol cattle. There were determined 6 genomic regions common for the two breeds (with a total length of 192.8 mB bp), 7 breed-specific regions for the Kazakh white-headed (total length of 19.52 mB bp), and 12 breed-specific for the Auliekol breed (total length of 15, 10 mB bp). Of the 479 breed-wide QTL associated SNP (161 for birth weight, 224 for weaning weight, 10 for body weight at 12 months, and 84 for average daily weight gain), only 44 are