

ОЦЕНКА БАКТЕРИОЦИНОГЕННОСТИ ИНДИГЕННЫХ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ, ПОЛУЧЕННЫХ С ТУШ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Батаева Д.С.,* Соколова О.В., Зайко Е.В., Пашкова В.В.

Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, Москва, Россия

Ключевые слова: бактериоцины, антибиотикорезистентность, молочнокислые бактерии, халяльный убой, *Salmonella typhimurium*, мясо

Аннотация

Исследованы туши крупного рогатого скота ритуального убоя (халяль) с латеральной и медиальной стороны с целью выявления индигенных штаммов молочнокислых микроорганизмов, способных продуцировать бактериоцины. Из 36 штаммов микроорганизмов, выделенных из смывов, отобранных с туш, только 14 были использованы для дальнейшего исследования и идентифицированы как молочнокислые бактерии (МКБ). При изучении их бактериоциногенности по методике двухслойных агаров модифицированного состава, была доказана высокая ингибирующая эффективность в отношении роста патогенного микроорганизма *Salmonella typhimurium*, только 6 выделенных штаммов молочнокислых бактерий. Использование данного метода оценки позволит не только выявить наличие способности МКБ продуцировать бактериоцины, но и изучить их антагонистическую активность в отношении многих изучаемых микроорганизмов, которые являются индикаторами соблюдения различных режимов технологических процессов. Наличие таких микроорганизмов в мясе позволит увеличить срок хранения мяса, за счет подавления роста близкородственных лактобацилл, некоторые из которых являются микроорганизмами порчи, а также рост условно-патогенной и патогенной микрофлоры. Кроме этого, применение молочнокислых бактерий, обладающих бактериоциногенностью, в технологии производства сырокопченых колбас позволит снизить риск производства небезопасной продукции. Таким образом, наличие в мясе индигенных МКБ является дополнительным фактором, обеспечивающим протекание желательных биохимических процессов и безопасность сырокопченых колбас.

Original scientific paper

ASSESSMENT OF THE BACTERIOCINOGENICITY OF INDIGEN LACTOBACILLUS ONTO CATTLE CARCASSES

Dagmara S. Bataeva*, Olga V. Sokolova, Elena V. Zajko, Victoria V. Pashkova

V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Key words: Bacteriocin, antibiotic resistance, *Lactobacillus*, halal slaughter, *Salmonella typhimurium*, meat

Abstract

Cattle carcasses of ritual slaughter (Halal) from the lateral and medial side were investigated in order to identify the indigenous strains of lactic acid microorganisms capable of producing bacteriocins. Only 14 strains, from 36 strains of microorganisms isolated from washings taken from carcasses, were used for further research and identified as lactobacillus. In the study of their bacteriocinogenicity by the method of two-layer agars of modified composition, high inhibitory efficiency was proved with respect to the growth of the pathogen *Salmonella typhimurium*, only 6 isolated strains of lactobacillus. The use of this method of evaluation will not only reveal the presence of the ability of the lactobacillus to produce bacteriocins, but also to study their antagonistic activity against many of the studied microorganisms, which are indicators of compliance with various modes of technological processes. The presence of such microorganisms in the meat will increase the shelf life of meat, due to the suppression of the growth of closely related lactobacillus, some of which are spoilage microorganisms, as well as the growth of opportunistic and pathogenic microflora. In addition, the use of lactobacillus with bacteriocinogenicity in the production technology of raw sausages will reduce the risk of production of unsafe products. Thus, the presence of indigenous lactobacillus in meat is an additional factor that ensures the flow of desired biochemical processes and the safety of raw smoked sausages.

Введение

В настоящее время во всем мире колоссальное внимание уделяют безопасности пищевых продуктов. Особое место занимает защита продуктов питания от воздействия ксенобиотиков, к которым

относят и микробные контаминанты, особенно патогенные бактерии. Обеспечение микробиологической безопасности производимой продукции является приоритетным направлением пищевой отрасли.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Батаева Д.С., Соколова О.В., Зайко Е.В., Пашкова В.В. Оценка бактериоциногенности индигенных молочнокислых бактерий, полученных с туш крупного рогатого скота. Теория и практика переработки мяса. 2018;3(2):22-32. DOI 10.21323/2414-438X-2018-3-2-22-32

FOR CITATION: Bataeva D. S., Sokolova O. V., Zaiko E. V., Pashkova V.V. Assessment of the bacteriocinogenicity of indigen lactobacillus onto cattle carcasses. Theory and practice of meat processing. 2018;3(2): 22-32. (In Russ.) DOI 10.21323/2414-438X-2018-3-2-22-32

В совокупности с нейротоксическим эффектом, возникающим в результате воздействия окружающей среды, контаминированная патогенами пища несет большую опасность для здоровья человека.

Несмотря на внедрение различных программ предотвращения микробной контаминации и борьбы с патогенными микроорганизмами — проблема не теряет своей актуальности. Ситуация отягощается возрастающей устойчивостью ряда патогенов к химическим веществам, в т.ч. к антибиотикам [1].

В связи с выявлением антибиотикорезистентности патогенных микроорганизмов, обнаруженных в пищевых продуктах, предлагаются разные подходы для сдерживания их размножения. Особенно стремительное развитие получили биологические методы. За рубежом активно применяют бактериофаги. Причем позиционируют их как альтернативные химическим веществам средства борьбы с патогенами и как агентов, продлевающих сроки годности продукции [2,3,4].

Среди прочих биологических мер борьбы с патогенами — использование бактериоцинов. Бактериоцины — антибиотикоподобные вещества, обладающие бактерицидным или бактериостатическим эффектом, были открыты в середине 1960-х годов, тогда же начались исследования их свойств. Несмотря на богатую историю изучения бактериоцинов, их потенциал еще не полностью раскрыт. Современный высокий уровень диагностических возможностей позволяет более глубоко и всесторонне изучать свойства бактериоцинов. Бактериоцины — это гетерогенные пептиды, выделяемые различными микроорганизмами, в т.ч. и молочнокислыми бактериями [5].

Механизм действия бактериоцинов в отношении патогенных микроорганизмов связывают с нарушением проницаемости цитоплазматической мембраны последних. Бактериоцины принято разделять на два класса — лантибиотики — пептиды, содержащие необычные аминокислоты (например, лантионин) и короткие термоустойчивые полипептиды, не содержащие таких аминокислот. Ряд авторов склоняются к мнению, что эти пептиды обладают способностью образовывать поры в цитоплазматической мембране, в результате чего происходит лизис клетки патогена [6,7,8,9,10].

Наиболее известный бактериоцин — это низин, который синтезируется кокковым штаммом *Streptococcus lactis*. В настоящее время низин используют в качестве консерванта при производстве некоторых пищевых продуктов [11].

Для мясной промышленности, в качестве продуцентов бактериоцина, наибольший интерес представляют микроорганизмы, составляющие непатогенный пул индигенной микрофлоры.

Таким образом, целью настоящего исследования являлось выявление и изучение индигенных молоч-

нокислых бактерий (МКБ) микробиома туш крупного рогатого скота ритуального убоя (халяль) для оценки их бактериоциногенности.

Объекты и методы

Объектами исследования являлись смывы, отобранные с латеральной и медиальной стороны передней четвертины туш крупного рогатого скота сразу после. Для исключения контаминации туш сторонними микроорганизмами, которые могут быть внесены посредством сухой и/или мокрой обработки, забор смывов осуществляли с поверхности туш халяльного убоя. При халяльном убое не используются операции мойки туш, благодаря чему не происходит изменение исходного микробиома. Смывы отбирали с двух зон грудного и реберного отрубов каждой полутуши как с внутренней, так и с внешней поверхности. Забор смывов осуществляли стерильными губками, смоченными 10 см³ физиологического раствора, с каждой зоны площадью не менее 100 см². Затем губки помещали в стерильный пакет, добавляли забуференную пептонную воду объемом 90 см³ и посредством ряда десятикратных разведений производили посев в питательные среды. Поскольку целью нашей работы являлось изучение бактериоциногенности молочнокислых бактерий, первичной задачей исследования было выделить МКБ с объекта исследования.

Для селекции молочнокислых микроорганизмов из полученных смывов, был приготовлен ряд десятикратных разведений и проведен их посев в плотную питательную среду MRS глубинным методом. Посевы инкубировали в течение 3 сут при температуре (30±2)°С. По окончании инкубирования, чашки Петри просматривали на предмет выявления колоний с типичным для молочнокислых микроорганизмов ростом (имеющих форму линзы или звездчатую форму) с целью отбора их для дальнейшего исследования. Типичные колонии пересевали в жидкую среду MRS-бульон, где в оптимальных условиях при температуре (30±2)°С проводили накопление биомассы клеток. Наличие роста микроорганизмов определяли по помутнению бульона в нижней части пробирки. Помутнение бульона в придонном пространстве пробирки является характерным признаком развития микроорганизмов с микроаэрофильным и анаэробным типом дыхания, к которым относят молочнокислые бактерии. Продолжительность культивирования составляла от одних до 5 суток. В случае отсутствия роста в течение 5 суток или роста, отличающегося от указанного выше — посевы дальнейшему исследованию не подвергались.

Для оценки принадлежности выделенных бактерий к молочнокислым микроорганизмам, согласно ГОСТ 10444.11–2013 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета мезофильных молочнокислых микроорганизмов», была проведена следующая комплексная

оценка каждого выделенного штамма, предположительно относящегося к молочнокислым бактериям: рост на среде MRS при 30 °С; образование каталазы; оценка микроскопического препарата: по Граму и на спорообразование. Молочнокислые микроорганизмы характеризуются способностью расти на плотных и жидких питательных средах MRS при 30 °С, они не образуют каталазу и по Граму окрашиваются положительно, при этом в микроскопическом препарате могут быть как кокки так и палочки, последние из которых не образуют спор. Культуры, идентифицированные как молочнокислые — пересевали на полужидкую среду MRS с целью дальнейшего хранения и дальнейшего изучения. Остальные микроорганизмы выбраковывали.

Для определения бактериоциногенности отобранных культур микроорганизмов, использовали модифицированную методику двухслойных агаров Ульриха Шиллингера и Фридриха-Карл Люки [12].

Согласно методике, предложенной этими исследователями, необходимо было вносить бактериоцин в лунки зараженного патогенными микроорганизмами, агара. Бактериоцин диффундировал в агар, в результате чего визуализировалась зона ингибирования роста патогенного микроорганизма. Из-за небольшой площади визуализации результатов, мы модифицировали методику. Для этого использовали две специализированные питательные среды. Первая среда — модифицированный MRS-агар (MRS-mod), следующего состава: неселективная жидкая среда MRS; глюкозы — 0,2%; агар-агара — 0,3%; вторая среда — мягкий агар (МА) имеющий в своем составе: пептон — 15 г, дрожжевой экстракт — 3 г, NaCl — 6 г, глюкоза — 1 г, агар-агар — 7 г.

Для проведения исследования подготавливали точную культуру молочнокислых бактерий на бульоне MRS, которую с помощью бактериологической петли наносили касанием на поверхность MRS-mod в определенной точке. Затем чашки инкубировали вверх крышками при температуре (30±2) °С в течение 3 сут, для максимального накопления и диффузии бактериоцина в питательную среду. По окончании инкубирования поверх MRS-mod заливали тонкий слой мягкого агара, инокулированного тест-штабмом. В качестве тест-штабма была выбрана культура *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, являющаяся распространенным возбудителем токсикоинфекций. Мягкий агар заражали тест-штабмом *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 с титром 10⁶ КОЕ/см³, и вновь помещали термостат для инкубирования крышками вверх. Образцы инкубировали при температуре (37±1) °С в течение 24–48 ч.

Согласно рабочей гипотезе, за период инкубирования в среде MRS-mod молочнокислые микроорганизмы должны размножиться, вырабатывая бактериоцин, который диффундирует в агар, а затем при нанесении

второго слоя агара с тест-штабмом *Salmonella typhimurium*, бактериоцин должен препятствовать росту патогена.

Результаты и обсуждение

Молочнокислые бактерии обладают большим потенциалом использования в связи с их широким спектром потенциальной антагонистической активности. Применение бактериоцинов, продуцируемых молочнокислыми бактериями, позиционируют как агенты, способные заменить антибиотики и повысить безопасность мяса [13,14,15].

Наиболее перспективными молочнокислыми бактериями с точки зрения их потенциала применения как ингибиторов патогенов, считают индигенные молочнокислые бактерии, то есть изолированные из естественной среды. Как правило, бактерии, обладающие потенциалом бактериоциногенности выделяют из пищевых продуктов [16,17,18,19].

Логично предположить, что мясоперерабатывающей отрасли целесообразнее всего применять бактериоцины, изолированные из индигенной микрофлоры мяса. Поскольку микроорганизмы с мяса могут быть наиболее приспособлены к нему и быть наиболее конкурентноспособны, чем выделенные из других источников, было проведено исследование его.

Как правило, молочнокислые бактерии выделяют из ферментированных мясных продуктов [20,21], то есть из уже готовых к употреблению. В нашей работе предпосылкой к исследованию индигенной микрофлоры туш служило предположение, что молочнокислая микрофлора попадает в мясные продукты на первоначальных стадиях переработки, то есть на этапе убоя, нутровки и обвалки туш.

В результате мониторинга латеральной и медиальной сторон туш крупного рогатого скота на наличие молочнокислых бактерий, с плотной питательной среды MRS было выбрано 36 колоний микроорганизмов для дальнейшего исследования. Из них были отобраны только те, формы колоний которых, на селективном агаре, являлись типичными для молочнокислых микроорганизмов: в форме трехлучевой звезды или линзы (Рис. 1). На этом этапе из исследования было исключено 15 образцов. Из оставшихся 21 штаммов все окрашивались положительно по Граму, однако 2 оказались каталазоположительными, предположительно *Brochothrix thermosphacta*, и не имели типичную для молочнокислых микроорганизмов микроскопическую картину. Согласно исследованиям канадских ученых, бактерии *Brochothrix thermosphacta* способны развиваться совместно с молочнокислыми бактериями, достигая высоких титров [22].

Дальнейшие исследования 19 штаммов проводили культивируя на бульоне MRS. При оценке характера роста отобранных колоний на этой жидкой питательной среде, не все микроорганизмы проявили рост

типичный для микроаэрофильных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, к которым относятся искомые прокариоты. На Рис.2 представлена иллюстрация из справочника со схемой типичного роста микроаэрофильных микроорганизмов (а) и фотография роста на бульоне экспериментального образца (б).

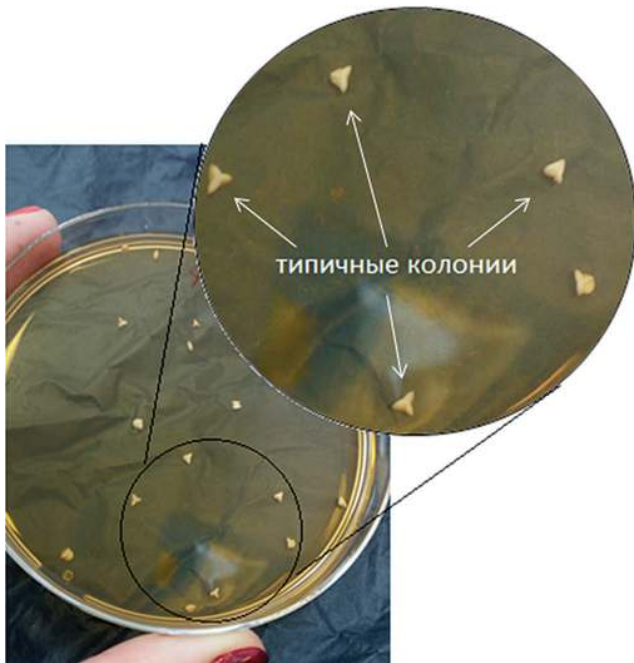


Рис. 1. Типичный рост МКБ на плотной питательной среде MRS

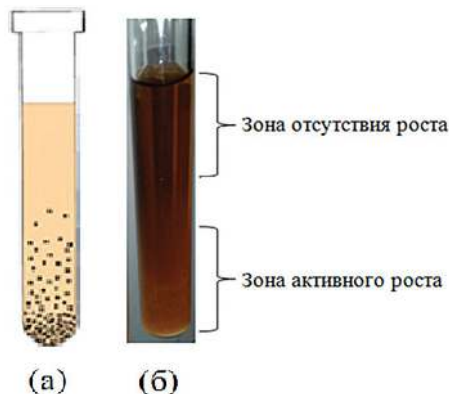


Рис. 2. Типичный рост МКБ в бульоне MRS для облигатных анаэробных микроорганизмов: (а) — схема; (б) — фотография пробирки с ростом одного из исследованных образцов

Таким образом, после изучения культурально-морфологических свойств из 36 культур микроорганизмов, выделенных из смывов с туш КРС, для изучения способности образовывать бактериоцин были отобраны только 14 штаммов.

На Рис. 3,4,5,6 представлены фотографии, полученные в результате эксперимента на 3 штаммах МКБ.

На Рис. 3 представлена фотография контрольного образца МА, зараженного тест-штаммом, в который не были внесены молочнокислые бактерии. В результате роста тест-штамма наблюдается сплошная плотная мутность данного агара, что подтверждает способность данного агара обеспечить рост *Salmonella typhimurium*.

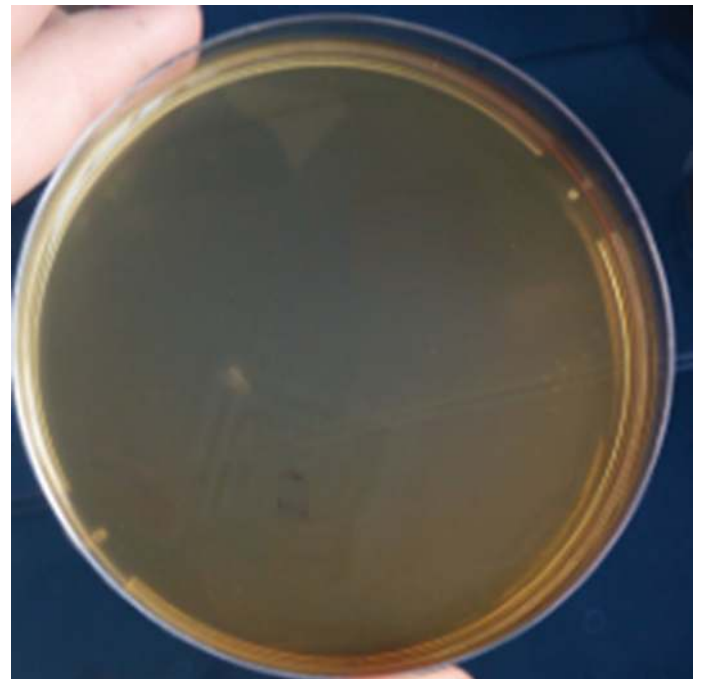


Рис. 3. Фотография роста *Salmonella typhimurium* в МА (контрольный образец)

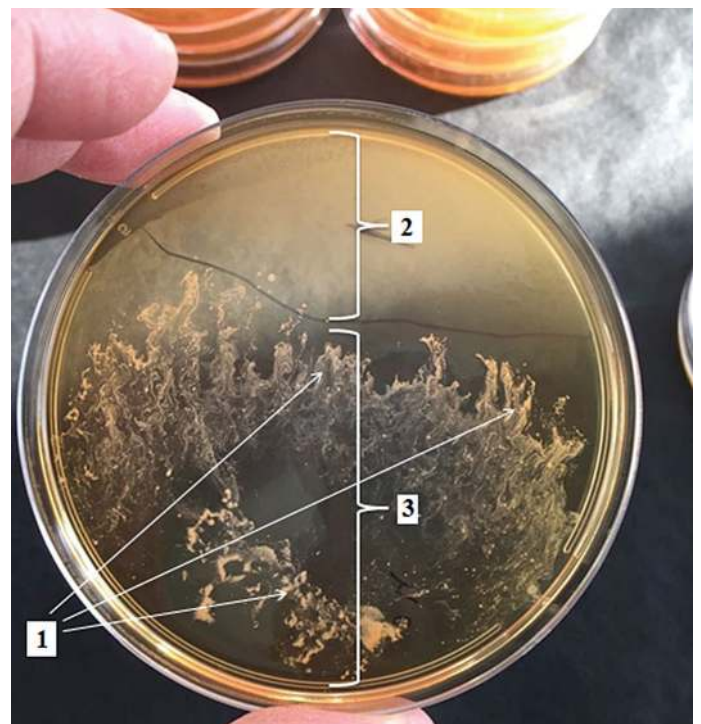


Рис. 4. Фотография чашки Петри с ростом *Salmonella typhimurium* поверх роста МКБ: 1 — рост колоний МКБ в нижнем слое агара; 2 — зона сплошного роста *Salmonella typhimurium* в верхнем слое агара; 3 — зона отсутствия роста *Salmonella typhimurium* в верхнем слое агара

На Рис. 4,5,6 представлены фотографии экспериментальных образцов после культивирования *Salmonella typhimurium* поверх роста МКБ на чашках Петри. Поскольку среда MRS-mod является полужидким агаром, молочнокислые бактерии растут на ней ближе к дну чашки Петри с образованием расплывшихся колоний причудливых форм, они показаны стрелками и отмечены цифрой «1». Согласно методике исследова-

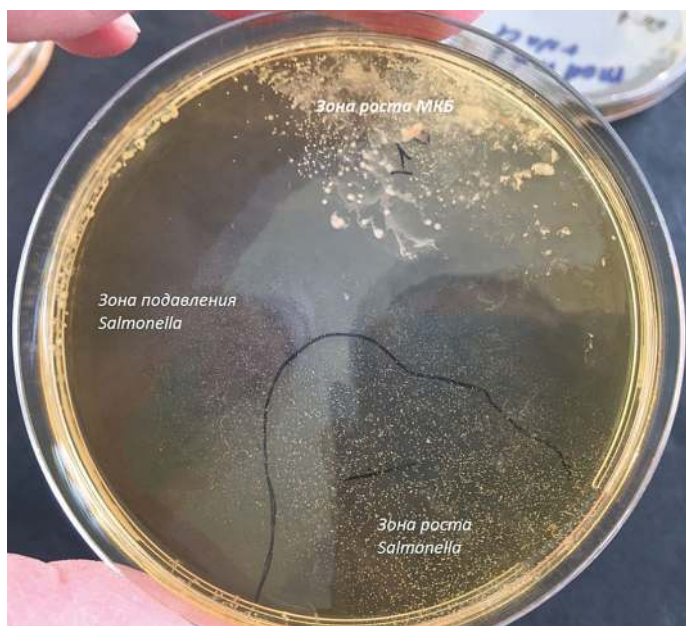


Рис. 5. Фотография чашки Петри с ростом *Salmonella typhimurium* поверх роста МКБ

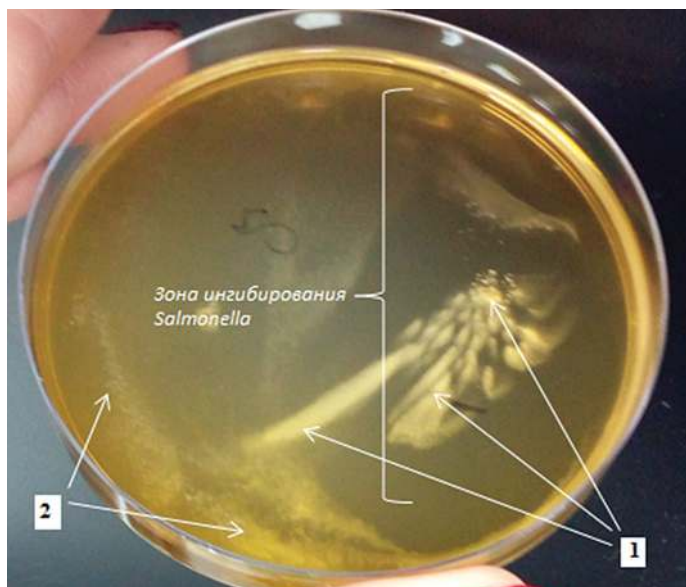


Рис. 6. Фотография чашки Петри с ростом *Salmonella typhimurium* поверх роста МКБ: 1 — рост колоний МКБ в нижнем слое агара; 2 — зона роста *Salmonella typhimurium* в верхнем слое агара

ния, на поверхность MRS-mod с предварительно выросшими молочнокислыми бактериями, был нанесен МА, зараженный *Salmonella typhimurium*.

На Рис. 4 видно, что область агара, где как предполагается должен был быть бактериоцин, отмеченная цифрой «2», потеряла прозрачность из-за роста тест-штамма. В тоже время в зоне роста молочнокислых бактерий среда осталась полностью прозрачной. Цифрой «3» на Рис. 4 показана прозрачная зона, что является результатом ингибирования роста *Salmonella typhimurium* молочнокислыми бактериями. Данный факт может быть результатом отсутствия экзогенно продуцируемого бактериоцина данным видом МКБ или антагонистической активностью только нативной культуры.

На Рис. 5 проведена граница между зонами роста и подавления тест-штамма вторым из исследуемых МКБ. В отличие от роста представленного на Рис. 4, характер роста *Salmonella typhimurium* на Рис. 5 характеризуется отсутствием роста как в зоне видимого роста МКБ, так и зоне его отсутствия. Это является доказательством того что данный штамм МКБ обладает бактериоциногенностью.

На Рис. 6 результаты аналогичны результатам, представленных на Рис. 5. Третий штамм МКБ продуцирует бактериоцин, но отличается культурально-морфологическим характером роста.

Из представленных рисунков видно, что зона подавления роста тест-штамма *Salmonella typhimurium* в присутствии двух из трех исследованных МКБ достигали 3/4 площади чашки Петри, что наглядно демонстрирует высокую антагонистическую активность исследованных МКБ и их бактериоцинов. В результате скрининга МКБ на бактериоциногенность для дальнейшего исследования были отобраны, как наиболее перспективные, только 6 штаммов молочнокислых бактерий.

Использование данного метода оценки позволит не только выявить наличие способности МКБ продуцировать бактериоцины, но и изучить антагонистическую активность как нативной культуры, так и их бактериоцинов в отношении многих изучаемых микроорганизмов, которые многие исследователи позиционируют как индикаторы корректного протекания технологических процессов [23]. Наличие таких индигенных микроорганизмов в мясе возможно позволит за счет минимальных барьерных технологий, таких как вакуумная упаковка или МГА, увеличить срок хранения мяса [24]. В том числе за счет подавления роста близкородственных лактобацилл, некоторые из которых являются микроорганизмами порчи [25], а также рост условно-патогенной и патогенной микрофлоры [26]. Кроме этого, применение молочнокислых бактерий, обладающих бактериоциногенностью, в технологии производства сырокопченых колбас позволит снизить риск производства небезопасной продукции. Таким образом, наличие в мясе индигенных МКБ является дополнительным фактором, обеспечивающим протекание желательных биохимических процессов и безопасность сырокопченых колбас [20,27].

Выводы

В результате мониторинга туш крупного рогатого скота были отобраны индигенные МКБ обладающие бактериоциногенностью в отношении патогенного тест-штамма *Salmonella typhimurium*. Подтверждена рабочая гипотеза о накоплении бактериоцина в питательной среде. Экспериментально доказано, что выбранные для исследования индигенные молочнокислые бактерии мяса обладают бактериоциногенностью и могут быть применены для снижения роста патогенных микроорганизмов.

Introduction

Currently, the world pays great attention to food safety. A special place is the protection of food from the effects of xenobiotics, which include microbial contaminants, especially pathogenic bacteria. Ensuring microbiological safety of products is a priority direction of the food industry.

In conjunction with the neurotoxic effect resulting from environmental exposure, food contaminated with pathogens is a great danger to human health.

Despite the introduction of various programs to prevent microbial contamination and control of pathogens — the problem does not lose its relevance. The situation is aggravated by the increasing resistance of a number of pathogens to chemicals, including antibiotics [1].

In connection with the detection of antibiotic resistance of pathogenic microorganisms found in food products, different approaches to deter their reproduction are proposed. Especially rapid development of biological methods. Bacteriophages are actively used abroad. Moreover, they are positioned as alternative to chemical substances means of controlling pathogens and as agents that prolong the shelf life of products [2,3,4].

Among other biological measures to combat pathogens is the use of bacteriocins. Bacteriocins-antibiotic-like substances with bactericidal or bacteriostatic effect, were discovered in the mid of 1960s, at the same time began to study their properties. Despite the rich history of bacteriocin research, their potential has not been fully disclosed yet. The current high level of diagnostic capabilities allows a more in-depth and comprehensive study of the properties of bacteriocins. Bacteriocins are heterogeneous peptides secreted by various microorganisms, including *Lactobacillus* [5].

The mechanism of action of bacteriocins against pathogenic microorganisms is associated with a violation of the permeability of the cytoplasmic membrane of the latter. Bacteriocins are divided into two classes — lantibiotics — peptides containing unusual amino acids (for example, lanthionin) and short heat-resistant polypeptides that do not contain such amino acids. A number of authors are inclined to believe that these peptides have the ability to form pores in the cytoplasmic membrane, resulting in cell lysis of the pathogen [6,7,8,9,10].

The most well — known bacteriocin is nisin, which is synthesized by the coccal strain *Streptococcus lactis*. Currently, nisin is used as a preservative in the production of some foods [11].

For the meat industry, as producers of bacteriocin, the most interesting are the microorganisms that make up the non-pathogenic pool of the indigenous microflora.

Thus, the aim of this study was to identify and study the indigenous *Lactobacillus* of the carcass microbiome of cattle of ritual slaughter (Halal) to assess their bacteriocinogenicity.

Objects and methods

The objects of the study were flushes selected from the lateral and medial sides of the anterior quarter of cattle carcasses immediately after. To exclude contamination of carcasses by third-party microorganisms that may be deposited by dry and/or wet processing, the collection of swabs was carried out from the surface of carcasses Halal slaughter. When Halal slaughter is not used washing operations carcasses, so there is no change in the original microbiome. Washings were taken from two zones of thoracic and rib cuts of each half-carcass both from the inner and outer surface. Sampling of washings was carried out with sterile sponges moistened with 10 cm³ of saline solution from each zone with an area of not less than 100 cm². Then the sponges were placed in a sterile package, a buffered peptone water with a volume of 90 cm³ was added, and a number of tenfold dilutions were used to sow in nutrient media. Since the aim of our work was to study the bacteriocinogenicity of *Lactobacillus*, the primary objective of the study was to identify the *Lactobacillus* from the object of study.

For selection of lactic acid microorganisms from the received washouts, a number of tenfold dilutions were prepared and their sowing in the dense nutrient medium of MRS was carried out by deep method. The crops were incubated for 3 days at a temperature of (30±2)°C at the end of incubation, Petri dishes were examined to identify colonies with a typical growth of lactic acid microorganisms (having a lens shape or a star shape) in order to select them for further study. Typical colonies were passaged in liquid medium MRS-broth, where in optimum conditions at temperature (30±2)°C conducted with the accumulation of biomass of cells. The presence of microbial growth was determined by the turbidity of the broth in the lower part of the tube. The turbidity of the broth in the bottom space of the tube is a characteristic feature of the development of microorganisms with microaerophilic and anaerobic type of respiration, which include *Lactobacillus*. The duration of cultivation ranged 1 to 5 days. In the absence of growth within 5 days or growth different from the above — crops were not further investigated.

To assess the belonging of isolated bacteria to lactic acid microorganisms, according to GOST 10444.11–2013 «Microbiology of food and animal feed. Methods of detection and calculation of mesophilic lactic acid microorganisms», the following comprehensive assessment of each isolated strain, presumably related to lactic acid bacteria, was carried out: growth on the MRS medium at 30°C; catalase formation; evaluation of the microscopic preparation: by gram and by spore formation. Lactic acid microorganisms are characterized by the ability to grow on dense and liquid nutrient media MRS at 30°C, they do not form catalase and gram stained positively, while in the microscopic preparation can be both cocci and sticks, the latter of which do not form a dispute. Culture, identified as lactic acid — passaged in a semi-liquid environment of the MRS

for the purpose of long storage and further study. Other microorganisms were culled.

To determine bacteriocinogenic selected cultures of microorganisms used a modified two-layer technique agar Ulrich Shillinger и Frededich-Karl Lücke [12].

According to the method proposed by these researchers, it was necessary to introduce bacteriocin into the wells of the infected pathogenic microorganisms, agar. Bacteriocin diffused to agar, resulting in a visualized zone of inhibition of growth of the pathogen. Due to the small area of visualization of the results, we have modified the technique. Two specialized nutrient media were used for this purpose. The first medium-modified MRS-agar (MRS-mod), the following composition: non-selective liquid medium MRS; glucose-0,2%; agar-agar-0,3%; the second medium-soft agar (MA) having in its composition: pepton — 15 g, yeast extract — 3 g, NaCl — 6 g, glucose — 1 g, agar-agar — 7 g.

To conduct the study, daily culture of lactabacillus was prepared on the MRS broth, which was applied by touching the surface of the MRS-mod at a certain point using a bacteriological loop. The cups were then incubated with the lids upwards at a temperature of $(30\pm 2)^{\circ}\text{C}$ for 3 days, for maximum accumulation and diffusion of bacteriocin into the culture medium. At the end of incubation, a thin layer of soft agar, inoculated with a test strain was poured over the MRS-mod. As a test strain was chosen culture *Salmonella typhimurium* ATSS14028, which is a common causative agent of toxicoinfections. Soft agar was infected with a test strain of *Salmonella typhimurium* ATSS14028 with a titer of 10^6 KOE / cm^3 , and the thermostat was again placed for incubation with lids up. The samples were incubated at a temperature $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$ for 24–48 h.

According to the working hypothesis, during the incubation period in the MRS-mod environment, lactic acid microorganisms must multiply, producing bacteriocin, which diffuses into the agar, and then when applying the second layer of agar with the test strain *Salmonella typhimurium*, bacteriocin should prevent the growth of the pathogen.

Results and discussion

Lactobacillus has potential for use due to their wide range of potential antagonistic activity. The use of bacteriocins produced by lactabacillus is positioned as agents capable of replacing antibiotics and increasing the safety of meat [13,14,15].

The most promising lactabacillus from the point of view of their potential as inhibitors of pathogens, consider the indigenous lactabacillus, that is, isolated from the natural environment. As a rule, bacteria that have the potential of bacteriocinogenic isolated from food products [16,17,18,19].

It is logical to assume that the meat processing industry is most appropriate to use bacteriocins isolated from the indigenous microflora of meat. Since microorganisms from meat can be most adapted to it and be most competitive than those isolated from other sources, a study of it was conducted.

As a rule, lactabacillus are isolated from fermented meat products [20,21], that is, from ready-to-use. In our work, the premise of the study of the indigenous microflora of carcasses was the assumption that the lactic microflora enters the meat products at the initial stages of processing, that is, at the stage of slaughter, nutrition and boning of carcasses.

As a result of monitoring the lateral and medial sides of cattle carcasses for the presence of lactic acid bacteria, with a dense nutrient medium, MRS36 microbial colonies were selected for further research. Only those forms of colonies of which, on selective agar, were typical for lactic acid microorganisms: in the form of a three-beam star or a lens (Figure 1). At this stage, 15 samples were excluded from the study. Of the remaining 21 strains, all were positively gram-stained, but 2 were catalozopositive, presumably *Brochothrix thermosphacta*, and did not have a typical lactic acid microorganisms microscopic picture. According to studies by canadian scientists, the bacteria *Brochothrix thermosphacta* can develop together with lactabacillus, reaching high titers [22].

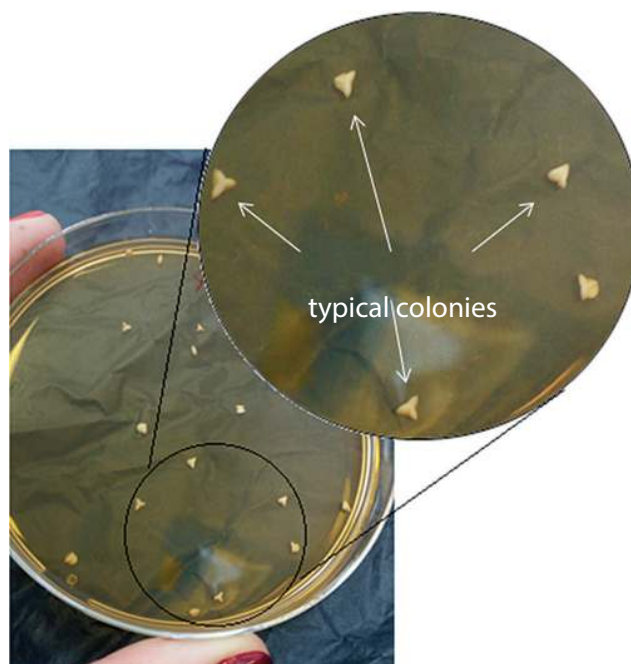


Figure 1. Typical growth of μb in dense MRS nutrient medium

Further studies are 19 conducted by cultivating the strains in MRS broth. When assessing the growth pattern of the selected colonies in this liquid nutrient medium, not all microorganisms showed growth typical of microaerophilic and facultative anaerobic microorganisms, which include the required prokaryotes. For Figure 2 the illustration from the reference book with the scheme of typical growth of microaerophilic microorganisms (a) and the photo of growth on the broth of the experimental sample (b) is presented.

Thus, after studying the cultural and morphological properties of 36 cultures of microorganisms isolated from the washings from cattle carcasses, to study the ability to form bacteriocin were selected only 14 strains.

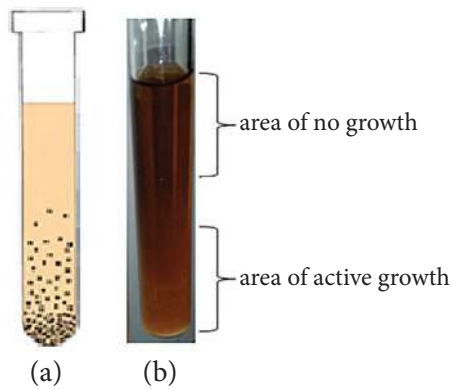


Figure 2. Typical growth of lactobacillus in MRS broth for obligate anaerobic microorganisms: (a) — scheme; (b) — photograph of the test tube with the growth of one of the studied samples

For Figures 3,4,5,6 photographs, obtained in the experiment, 3 strains of the lactobacillus.

For Figure 3 a photograph of a control sample of CS infected with a test strain that has not been infested with lactobacillus is presented. As a result of the growth of the test strain, a continuous dense turbidity of the agar is observed, which confirms the ability of this agar to ensure the growth of *Salmonella typhimurium*.

For Figure 4,5,6 photos of experimental samples after cultivation of *Salmonella typhimurium* on top of growth of lactobacillus on Petri dishes are presented. Since the MRS-mod environment is a semi-liquid agar, lactobacillus grow on it closer to the bottom of the Petri dish with the formation of vague colonies of bizarre shapes, they are shown by arrows and marked with the number «1». According to the research methodology, CS infected with *Salmonella typhimurium* was applied to the surface of MRS-mod with pre-grown lactobacillus.

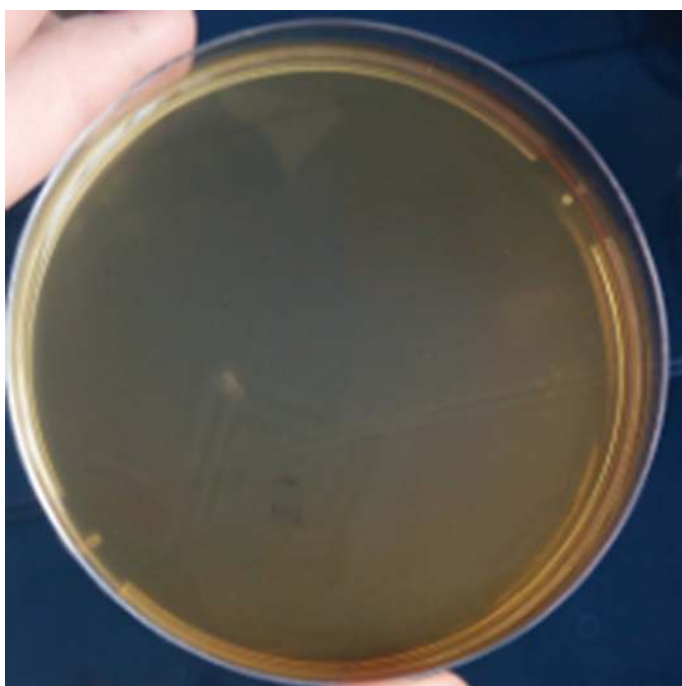


Figure 3. Photo of *Salmonella typhimurium* growth in CS (control sample)

For Figure 4 it can be seen that the area of agar, where it was supposed to be bacteriocin, marked with the number «2», lost transparency due to the growth of the test strain. At the same time in the zone of lactobacillus growth the environment remained completely transparent. Figure 3 and Figure 4 shows a transparent zone, which is the result of inhibiting the growth of *Salmonella typhimurium* lactobacillus. This fact may be the result of the absence of exogenously produced bacteriocin by this type of lactobacillus or antagonistic activity of only the native culture.

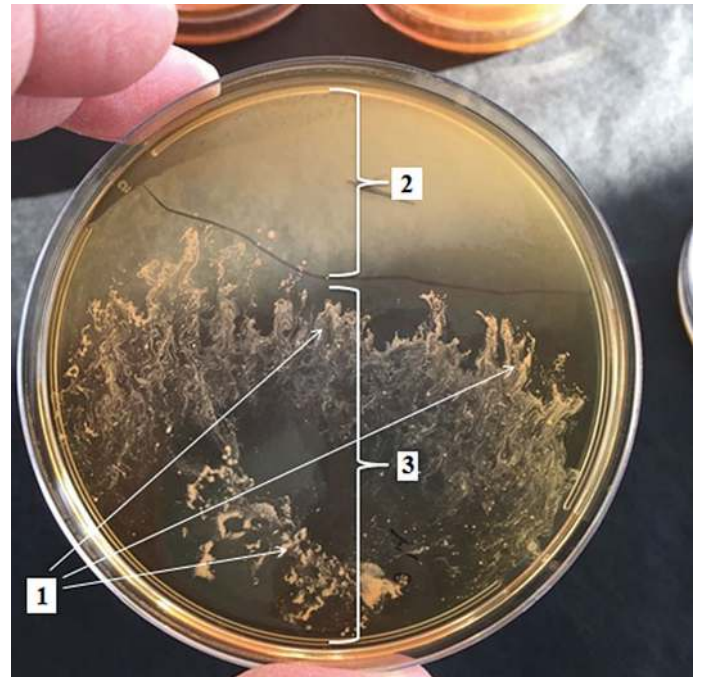


Figure 4. Photograph of Petri dishes with growth of *Salmonella typhimurium* on top of the growth of lactobacillus: 1 — of lactobacillus colonies in the lower layer of agar; 2 — zone of continuous growth of *Salmonella typhimurium* in the upper layer of agar; 3 — zone of absence of growth of *Salmonella typhimurium* in the upper layer of agar

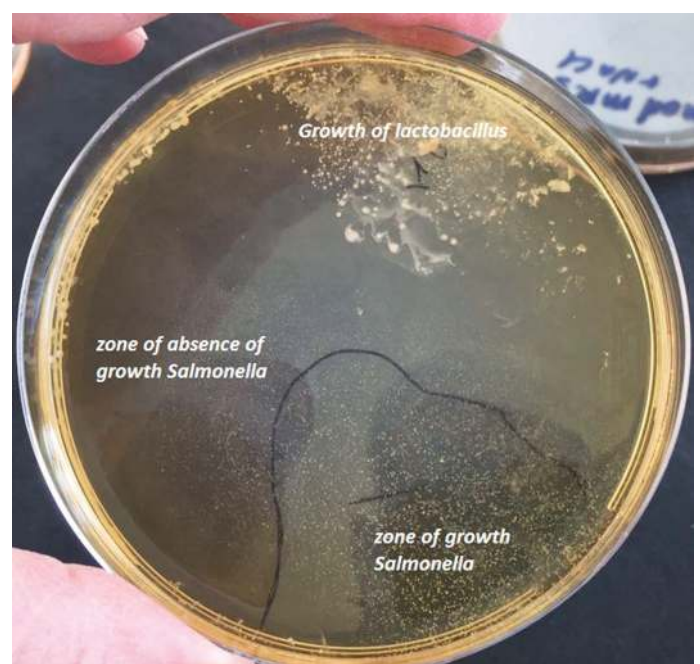


Figure 5. Photograph of Petri dishes with growth of *Salmonella typhimurium* on top of the growth of lactobacillus



Figure 6. Photograph of Petri dishes with growth of *Salmonella typhimurium* on top of the growth of lactobacillus: 1 — Growth of lactobacillus colonies in the lower layer of agar; 2 — growth zone of *Salmonella typhimurium* in the upper layer of agar

For Figure 5 the boundary between the growth and suppression zones of the test strain of the second of the studied lactobacillus was determined. In contrast to the growth shown in Pic.4, the growth pattern of *Salmonella typhimurium* in pic.5 it is characterized by the absence of growth in the zone of visible growth of lactobacillus, and the zone of its absence. This is proof that this strain lactobacillus has bacteriocinogenic.

For Figure 6 the results are similar to those shown in Figure 6.5. The third strain of lactobacillus produces bacteriocin, but differs in the cultural and morphological nature of growth.

The presented figures show that the growth suppression zone of the test strain *Salmonella typhimurium* in the pres-

ence of two of the three studied lactobacillus reached 3/4 of the Petri dish area, which clearly demonstrates the high antagonistic activity of the studied lactobacillus and their bacteriocins. As a result of the screening of lactobacillus for bacteriocinogenicity, only 6 strains of lactobacillus were selected for further study as the most promising.

The use of this method of evaluation will not only reveal the presence of the ability of lactobacillus to produce bacteriocins, but also to study the antagonistic activity of both the native culture and their bacteriocins in relation to many studied microorganisms, which many researchers position as indicators of the correct flow of technological processes [23]. The presence of such indigenous microorganisms in meat may allow to increase the shelf life of meat due to minimal barrier technologies, such as vacuum packaging or MGA [24]. In particular, due to the suppression of the growth of closely related lactobacilli, some of which are spoilage microorganisms [25], as well as the growth of opportunistic and pathogenic microflora [26]. In addition, the use of lactic acid bacteria with bacteriocinogenicity in the production technology of raw sausages will reduce the risk of production of unsafe products. Thus, the presence of indigenous lactobacillus in meat is an additional factor that ensures the flow of desired biochemical processes and the safety of raw smoked sausages [20,27].

Summary

As a result of monitoring of cattle carcass were selected indigenous lactobacillus has bacteriocinogenic against pathogenic test strain *Salmonella typhimurium*. The working hypothesis about the accumulation of bacteriocin in the nutrient medium was confirmed. Experimentally proved, that the chosen for the study of indigenous lactobacillus of meat have bacteriocinogenic and can be applied to reduce the growth of pathogenic microorganisms.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Юшина, Ю.К., Батаева, Д.С., Соколова, О.В. (2017). Микробные контаминанты мяса: что нового? *Всё о мясе*, 4, 37–39
2. Anany, H., Brovko, L.Y., El Arabi, T., Griffiths, M.W. Taylor, T.M. (2015). Bacteriophages as antimicrobials in food products: Applications against particular pathogens. *Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality*. Chapter 5. Woodhead Publishing, 89–116.
3. Akhtar, M., Viazis, S., Christensen, K., Kraemer, P., Diez-Gonzalez, F. (2017). Isolation, characterization and evaluation of virulent bacteriophages against *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 75, 108–115
4. Yeh, Y., Purushothaman, P., Gupta, N., Ragnone, M., Verma, S.C., de Mello, A.S. (2017). Bacteriophage application on red meats and poultry: Effects on *Salmonella* population in final ground products. *Meat science*, 127, 30–34
5. Кудлай, Д.Г., Лиходец, В.Г. (1966). Бактериоциногенная. Л., Медицина. — 203 с.
6. Venema, K., Venema, G., Kok, J. (1995). Lactococcal bacteriocins: mode of action and immunity. *Trends Microbiology*, 3(8), 299–303
7. Enfedaque, J., Ferrer, S., Guasch, J.F., Tomás, J., Regué, M. (1996). Identification of *E.coli* surface components involved in bacteriocin binding and translocation. *Canadian Journal of Microbiology*, 42(1), 19–26
8. Nissen-Meyer, J., Holo, H., Havarstein, L.S., Sletten, K., Nes, I.F. (1992). A novel lactococcal bacteriocin whose activity depends on the complementary action of two peptides. *Journal of Bacteriology*, 174(17), 5686–5692
9. Nissen-Meyer, J., Granly Larsen, A., Sletten, K., Daeschel, M., Nes, I.F. (1993). Purification and characterization of plantaricin A, a *Lactobacillus plantarum* bacteriocin whose activity depends on the action of two peptides. *Journal of General Microbiology*, 139(9), 1973–1978
10. Cleveland, J., Montville, T.J., Nes, I.F., Chikindas, M.L. (2001). Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 71(1), 1–20
11. Сарафанова, Л.А. (2011). Пищевые добавки. Энциклопедия. М, Профессия. — 776 с. ISBN: 978–5–904757–25–0
12. Schillinger, U., Lücke, F.K. (1989). Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(8), 1901–1906
13. Chikindas, M.L., Weeks, R., Drider, D., Chistyakov, V.A., Dicks, L.M. (2018). Functions and emerging applications of bacteriocins. *Current Opinion in Biotechnology*, 49, 23–28
14. Woraprayote, W., Malila, Y., Sorapukdee, S., Swetwathana, A., Benjakul, S., Visessanguan, W. (2016). Bacteriocins from lactic acid bacteria and their applications in meat and meat products. *Meat Science*, 120, 118–132

15. Ahmad, V., Khan, M.S., Jamal, Q.M.S., Alzohairy, M.A., Al Karaawi, M.A., Siddiqui, M.U. (2017). Antimicrobial potential of bacteriocins in therapy, agriculture and food preservation. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 49(1), 1–11

16. Barman, S., Ranjan Ghosh, R., Mandal, N.C. (2018). Production optimization of broad spectrum bacteriocin of three strains of *Lactococcus lactis* isolated from homemade buttermilk. *Annals of Agrarian Science*. in press. <https://doi.org/10.1016/j.aasci.2018.05.004>

17. An, Y., Wang, Y., Liang, X., Yi, H., Zuo, Z., Xu, X., Zhang, D, Yu, C., Han, X. (2017). Purification and partial characterization of M1-UVs300, a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* isolated from fermented sausage. *Food Control*, 81, 211–217

18. Mohammadi, F., Eshaghi, M., Razavi, S., Sarokhalil, D.D., Talebi, M., Pourshafie, M.R. (2018). Characterization of bacteriocin production in *Lactobacillus* spp. isolated from mother's milk. *Microbial Pathogenesis*. 118. 242–246

19. Devi Avaiyarasi, N., David Ravindran, A., Venkatesh, P., Arul, V. (2016). In vitro selection, characterization and cytotoxic effect of bacteriocin of *Lactobacillus sakei* GM3 isolated from goat milk. *Food Control*, 69, 124–133

20. Swetwathana, A., Visessanguan, W. (2015). Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for safety improvements of traditional Thai fermented meat and human health. *Meat Science*, 109, 101–105

21. Ben Belgacem, Z., Ferchichi, M., Prévost, H., Dousset, X., Manai, M. (2008). Screening for anti-listerial bacteriocin-producing

lactic acid bacteria from «Gueddid» a traditionally Tunisian fermented meat. *Meat Science*, 78(4), 513–521

22. Collins-Thompson, D.L., Lopez, G.R. (1982). Control of *Brochothrix thermosphacta* by *Lactobacillus* Species in Vacuum Packed Bologna. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 15(4), 307–309

23. Quested, T.E., Cook, P.E., Gorris, L.G.M., Cole, M.B. (2010). Trends in technology, trade and consumption likely to impact on microbial food safety. *International Journal of Food Microbiology*, 139(SUPPL. 1), S29-S42

24. Mills, J., Donnison, A., Brightwell, G. (2014). Factors affecting microbial spoilage and shelf-life of chilled vacuum-packed lamb transported to distant markets: A review. *Meat Science*, 98(1), 71–80

25. Domínguez-Manzano, J., Jiménez-Díaz, R. (2013). Suppression of bacteriocin production in mixed-species cultures of lactic acid bacteria. *Food Control*, 30(2), 474–479

26. Fegan, N., Jenson, I. (2018). The role of meat in foodborne disease: Is there a coming revolution in risk assessment and management? *Meat Science*, in press <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.04.018>

27. Castro, S.M., Kolomeytseva, M., Casquete, R., Silva, J., Teixeira, P., Castro, S.M., Queirós, R., Saraiva, J.A. (2017). Biopreservation strategies in combination with mild high pressure treatments in traditional Portuguese ready-to-eat meat sausage. *Food Bioscience*, 19, 65–72

REFERENCES

1. Yushina, Y.K., Bataeva, D.S., Sokolova, O.V. (2017). Microbial meat containments: what's new? *Vsyo o myase*, 4, 37–39. (in Russian)

2. Anany, H., Brovko, L.Y., El Arabi, T., Griffiths, M.W. Taylor, T.M. (2015). Bacteriophages as antimicrobials in food products: Applications against particular pathogens. Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality. Chapter 5. Woodhead Publishing, 89–116.

3. Akhtar, M., Viazis, S., Christensen, K., Kraemer, P., Diez-Gonzalez, F. (2017). Isolation, characterization and evaluation of virulent bacteriophages against *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 75, 108–115

4. Yeh, Y., Purushothaman, P., Gupta, N., Ragnone, M., Verma, S.C., de Mello, A.S. (2017). Bacteriophage application on red meats and poultry: Effects on *Salmonella* population in final ground products. *Meat science*, 127, 30–34

5. Kudlay, D.G., Likhodetc, V.G. (1966). Bacteriocinogeny. Leningrad: Meditsina. — 203 p.

6. Venema, K., Venema, G., Kok, J. (1995). Lactococcal bacteriocins: mode of action and immunity. *Trends Microbiology*, № 3(8), 299–303

7. Enfedaque, J., Ferrer, S., Guasch, J.F., Tomás, J., Regué, M. (1996). Identification of *E.coli* surface components involved in bacteriocin binding and translocation. *Canadian Journal of Microbiology*, 42(1), 19–26

8. Nissen-Meyer, J., Holo, H., Havarstein, L.S., Sletten, K., Nes, I.F. (1992). A novel lactococcal bacteriocin whose activity depends on the complementary action of two peptides. *Journal of Bacteriology*, 174(17), 5686–5692

9. Nissen-Meyer, J., Granly Larsen, A., Sletten, K., Daeschel, M., Nes, I.F. (1993). Purification and characterization of plantaricin A, a *Lactobacillus plantarum* bacteriocin whose activity depends on the action of two peptides. *Journal of General Microbiology*, 139(9), 1973–1978

10. Cleveland, J., Montville, T.J., Nes, I.F., Chikindas, M.L. (2001). Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 71(1), 1–20

11. Sarafanova, L.A. (2011). Nutritional supplements. Encyclopedia. M: Profession. — 776 p. ISBN: 978–5–904757–25–0

12. Schillinger, U., Lücke, F.K. (1989). Antibacterial activity of *Lactobacillus sakei* isolated from meat. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(8), 1901–1906

13. Chikindas, M.L., Weeks, R., Drider, D., Chistyakov, V.A., Dicks, L.M. (2018). Functions and emerging applications of bacteriocins. *Current Opinion in Biotechnology*, 49, 23–28

14. Woraprayote, W., Malila, Y., Sorapukdee, S., Swetwathana, A., Benjakul, S., Visessanguan, W. (2016). Bacteriocins from lactic acid bacteria and their applications in meat and meat products. *Meat Science*, 120, 118–132

15. Ahmad, V., Khan, M.S., Jamal, Q.M.S., Alzohairy, M.A., Al Karaawi, M.A., Siddiqui, M.U. (2017). Antimicrobial potential of

bacteriocins: in therapy, agriculture and food preservation. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 49(1), 1–11

16. Barman, S., Ranjan Ghosh, R., Mandal, N.C. (2018). Production optimization of broad spectrum bacteriocin of three strains of *Lactococcus lactis* isolated from homemade buttermilk. *Annals of Agrarian Science*. in press. <https://doi.org/10.1016/j.aasci.2018.05.004>

17. An, Y., Wang, Y., Liang, X., Yi, H., Zuo, Z., Xu, X., Zhang, D, Yu, C., Han, X. (2017). Purification and partial characterization of M1-UVs300, a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* isolated from fermented sausage. *Food Control*, 81, 211–217

18. Mohammadi, F., Eshaghi, M., Razavi, S., Sarokhalil, D.D., Talebi, M., Pourshafie, M.R. (2018). Characterization of bacteriocin production in *Lactobacillus* spp. isolated from mother's milk. *Microbial Pathogenesis*. 118. 242–246

19. Devi Avaiyarasi, N., David Ravindran, A., Venkatesh, P., Arul, V. (2016). In vitro selection, characterization and cytotoxic effect of bacteriocin of *Lactobacillus sakei* GM3 isolated from goat milk. *Food Control*, 69, 124–133

20. Swetwathana, A., Visessanguan, W. (2015). Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for safety improvements of traditional Thai fermented meat and human health. *Meat Science*, 109, 101–105

21. Ben Belgacem, Z., Ferchichi, M., Prévost, H., Dousset, X., Manai, M. (2008). Screening for anti-listerial bacteriocin-producing lactic acid bacteria from «Gueddid» a traditionally Tunisian fermented meat. *Meat Science*, 78(4), 513–521

22. Collins-Thompson, D.L., Lopez, G.R. (1982). Control of *Brochothrix thermosphacta* by *Lactobacillus* Species in Vacuum Packed Bologna. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 15(4), 307–309

23. Quested, T.E., Cook, P.E., Gorris, L.G.M., Cole, M.B. (2010). Trends in technology, trade and consumption likely to impact on microbial food safety. *International Journal of Food Microbiology*, 139(SUPPL. 1), S29-S42

24. Mills, J., Donnison, A., Brightwell, G. (2014). Factors affecting microbial spoilage and shelf-life of chilled vacuum-packed lamb transported to distant markets: A review. *Meat Science*, 98(1), 71–80

25. Domínguez-Manzano, J., Jiménez-Díaz, R. (2013). Suppression of bacteriocin production in mixed-species cultures of lactic acid bacteria. *Food Control*, 30(2), 474–479

26. Fegan, N., Jenson, I. (2018). The role of meat in foodborne disease: Is there a coming revolution in risk assessment and management? *Meat Science*, in press <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.04.018>

27. Castro, S.M., Kolomeytseva, M., Casquete, R., Silva, J., Teixeira, P., Castro, S.M., Queirós, R., Saraiva, J.A. (2017). Biopreservation strategies in combination with mild high pressure treatments in traditional Portuguese ready-to-eat meat sausage. *Food Bioscience*, 19, 65–72

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Принадлежность к организации

Батаева Дагмара Султановна — кандидат технических наук, доцент, руководитель направления микробиологии, ведущий научный сотрудник лаборатории «Гигиена производства и микробиология», Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН
109316, Москва, ул. Талалихина, 26
Тел.: +7-495-676-60-11
E-mail: d.bataeva@fncps.ru
*автор для переписки

Соколова Ольга Вячеславовна — кандидат технических наук, старший научный сотрудник лаборатории «Гигиена производства и микробиология», Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН
109316 г. Москва, ул. Талалихина 26,
Тел.: +7-495-676-60-11
E-mail: o.sokolova@fncps.ru

Зайко Елена Викторовна — младший научный сотрудник лаборатории «Гигиена производства и микробиологии», Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН
Адрес: 109316 г. Москва, ул. Талалихина 26,
Тел.: +7-495-676-60-11
E-mail: e.zaiko@fncps.ru

Пашкова Виктория Витальевна — старший лаборант лаборатории «Гигиена производства и микробиологии», Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН
109316 г. Москва, ул. Талалихина 26,
Тел.: +7-495-676-60-11
E-mail: v.pashkova@fncps.ru

Критерии авторства

Ответственность за работу и предоставленные сведения несут все авторы.

Все авторы в равной степени участвовали в этой работе.

Батаева Д.С. разрабатывала научно-методические подходы к проведению работ, определяла объем исследований, анализировала полученные данные, выполняла описательную часть статьи и корректировала после подачи в редакцию
Соколова О.В. проводила обзор и анализ литературы, выполняла описательную часть

Зайко Е.В. отбирала объекты исследования, выполняла микробиологический анализ.

Пашкова В.В. выполняла подготовительные работы, микробиологические исследования.

Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Поступила 16.05.2018

AUTHOR INFORMATION

Affiliation

Dagmara S. Bataeva — candidate of technical sciences, docent, Head of the Direction of Microbiology, leading scientific worker of the Laboratory «Hygiene of production and microbiology», V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences
109316, Moscow, Talalikhina str., 26
Tel.: +7-495-676-60-11
E-mail: d.bataeva@fncps.ru
*corresponding author

Olga V. Sokolova — candidate of technical sciences, leading researcher worker of the Laboratory «Hygiene of production and microbiology», V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences
109316, Moscow, Talalikhina str., 26
Tel.: +7-495-676-60-11
E-mail: o.sokolova@fncps.ru

Elena V. Zaiko — senior research technician of the Laboratory «Hygiene of production and microbiology», V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences
109316, Moscow, Talalikhina str., 26
Tel.: +7-495-676-60-11
E-mail: e.zaiko@fncps.ru

Victoria V. Pashkova — junior laboratory assistant of the Laboratory «Hygiene of production and microbiology», V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences
109316, Moscow, Talalikhina str., 26
Tel.: +7-495-676-60-11
E-mail: v.pashkova@fncps.ru

Contribution

All authors bear responsibility for the work and presented data.

All authors made an equal contribution to the work.

Dagmara S. Bataeva developed scientific and methodological approaches to work, determined the scope of research, analyzed the data obtained, performed the narrative and corrected it after submitting to the editorial office.

Olga V. Sokolova conducted a review and analysis of the literature, carried out the descriptive part

Elena V. Zaiko selected research objects, carried out microbiological analysis.

Victoria V. Pashkova carried out preparatory work and microbiological analysis.

The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Received 16.05.2018