

УДК 616.981.136:631.46

Т.В. МЕКА-МЕЧЕНКО, Л.Е. НЕКРАСОВА, У.А. ИЗБАНОВА, Л.Ю. ЛУХНОВА,  
Т.Н. КУНИЦА, В.Г. МЕКА-МЕЧЕНКО, Э.Ж. БЕГИМБАЕВАКазахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. Масгута Айкимбаева  
Агентства по защите прав потребителей Республики Казахстан, г. Алматы**СОХРАНЕНИЕ ЛИСТЕРИЙ В ПОЧВЕ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ  
ТЕМПЕРАТУРАХ**

Мека-Меченко Т.В.

Представлены результаты экспериментов по сохранению листерий в почвенных субстратах при температурах 20°C и 6°C.

**Ключевые слова:** листерии, листериоз, штаммы, свойства, почва, температура

**Л**истериоз (*listeriosis* – лат.) – природно-антропоургическая инфекционная болезнь, характеризующаяся множеством источников инфекции, многообразием факторов и путей передачи возбудителя, а также полиморфной клинической картиной. Заболевание вызывается микроорганизмами рода *Listeria*, поражает человека, сельскохозяйственных и диких животных и в настоящее время является одной из широко распространенных бактериальных инфекций. Основные эпидемиологические закономерности этой инфекции обусловлены тем, что возбудители способны обитать не только в организме хозяина, но и в объектах окружающей среды.

Листерии имеют широкие адаптативные способности, которые позволяют им размножаться в сапрофитической среде в различных природных субстратах. Возбудитель листериоза (*Listeria monocytogenes*) сохраняется и размножается в различных, абсолютно контрастных по своим характеристикам, экологических нишах: теплокровный организм животных и человека, растения, морские и речные гидробионты, вода, почва [1]. Листерии довольно устойчивы во внешней среде, они длительно сохраняются в испражнениях, почве, зерне, во льду, длительно существуют и размножаются в мясе и молоке при 4-6°C. Листерии выдерживают прогревание до 58°C, а при 70°C они погибают только через 20-30 мин. [2, 3]. Высокая метаболическая пластичность листерий обуславливает возможность перехода их от сапрофитической фазы к паразитической и наоборот. Почва является одним из основных мест обитания этих бактерий, что является известным фактом и доказано выделением этого микроба из почвенных субстратов [4].

Показана способность *Listeria monocytogenes* длительно существовать в почве при различных температурах [5]. Выживаемость листерий в объектах внешней среды (воде, почве, навозе, зерне и в производственных помещениях) достаточно велика. Поэтому загрязнённые листериями объекты внешней среды опасны в эпизоотологическом и эпидемиологическом отношениях.

**Материал и методы**

В работе использовали 5 штаммов листерий *L. monocytogenes* 1 серовара различного происхождения: №№12, 31, 2э, 180, 82, обладавшие типичными культурально-морфологическими, биохимическими свойствами.

Для изучения сохранения листерий был поставлен эксперимент длительностью 14 месяцев с образцами тёмно-каштановой почвы, являющейся основным видом почвы города Алматы. Опыт проводили в двух температурных режимах: 20°C и 6°C. Пробы почвы инокулировали взвесью листерий в дозе 10<sup>6</sup> м.к./г. 1 раз в месяц пробы почвы высевали на агар Хоттингера с добавлением налидиксовой кислоты и трипофлавином. Максимальную концентрацию листерий определяли подсчетом колоний, выросших на чашках среды (lg КОЕ).

Идентификацию выросших культур листерий проводили с помощью стандартных бактериологических и биохимических тестов и использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР).

**Результаты**

Взятые в эксперимент штаммы листерий неодинаково приспособились к обитанию в почве. Штамм листерий 2э высевался в течение месяца; штамм 82 в течение 7 месяцев при температуре почвы 20°C. Высевы из почвы этих же штаммов при температуре 6°C были положительными. Остальные три штамма 12, 31, 180 сохраняли свою жизнеспособность при обеих температурах в течение всего срока наблюдения (14 месяцев). Стабилизация численности клеток отмечалась у этих трех штаммов после 11 месяцев сохранения в почве, то есть произошла адаптация популяции этих культур к условиям обитания в почве.

Температурный режим влиял на высеваемость листерий из почвы. К 11 месяцам эксперимента высеваемость листерий при низкой температуре (6°C) была на 3 lg выше ( $p < 0,05$ ), чем при высокой температуре (20°C).

Температура влияла и на биологические свойства листерий. «Холодовые» (6°C) варианты культур сохраняли свою биохимическую активность, но ферментировали



Рисунок 1 – Диссоциированный в R-форму штамм листерий после 14 месяцев пребывания в почве при температуре 20°C

сахара с замедлением. Это объясняется гетерогенностью популяции культур, в которую входили микробы с утратой биохимической активности и сохранившие свои исходные свойства.

При температуре эксперимента 20°C отмечались различия в биохимической активности штаммов *L. monocytogenes* 12, 31, 180 от исходных. Эти штаммы приобрели способность ферментировать лизин. Эти же штаммы при 20°C были не способны разлагать крахмал.

После 14 месяцев пребывания в почве при температуре 20°C была отмечена диссоциация штаммов листерий в R-форму (рис. 1): R-формы колоний, с шероховатой, гранулярной поверхностью, имеющие прозрачный однородный центр и сплюснутую волнистой периферию, при этом происходила потеря вирулентности и гемолитической активности, снижение агглютинабельности.

При микроскопии мазков, окрашенных по Граму, отмечались клетки, имеющие неопределенную окраску, иногда даже грамотрицательную. Вероятно, при сохранении листерий в почве при температуре 20°C происходят изменения в структуре клеточной стенки. Изменялась и морфология клеток: длинные извитые нити.

Изменения свойств листерий носили обратимый характер: после 3-5 пассажей культур на агаре Хоттингера при 37°C штаммы приобретали все свойства исходных.

В эксперименте же с «холодовыми» культурами (6°C) все штаммы сохраняли свои культурально-морфологические и биохимические свойства.

#### Обсуждение

В эксперименте подтверждена способность листерий сохраняться в почве. Низкая температура (6°C) обеспечивала стабильное сохранение биологических свойств *L. monocytogenes* в почве, нежели более высокая (20°C) температура. Отмеченная в эксперименте замедленная ферментативная активность листерий при 6°C согласуется с литературными данными [6].

#### Вывод

Результаты экспериментов по сохранению листерий в почвенных субстратах при температурах 20° и 6°C под-

твердили имеющиеся данные по выживаемости листерий в почве, что важно в эпизоотологическом и эпидемиологическом отношениях.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Беляков В.Д., Литвин В.Ю. Патогенные бактерии, общие для человека и растений // Патогенные бактерии в сообществах. – М., 1994. – С. 13-14
- 2 Лобзин Ю.В. Руководство по инфекционным болезням. – Санкт-Петербург, 2000. – С. 60-63
- 3 Покровский В.И., Пак С.Г., Бойко Н. И., Данилкин Б.К. Инфекционные болезни и эпидемиология. – М.: ГЭОТАР-медиа, 2007. – С. 648-654
- 4 Джанаев Г.Г., Фарниев А.Т. Влияние удобрений на интенсивность микробиологических процессов // Изв. АН СССР. – Сер. Биол. – 1980. – №5. – С. 754-761
- 5 БузOLEVA Л.С., Исачкова Л.М., Исаченко А.С., Сомов Г. П. Влияние температуры на изменчивость *Listeria monocytogenes* при длительном обитании в проточных почвенных колонках // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2004. – №2. – С. 29-33
- 6 Фиштейн Г.Н. Об изменчивости физиологических признаков микроорганизмов // Микробиология. – 1985. – №54(4). – С. 560-562

#### Т Ұ Ж Ы Р Ы М

**Т.В. МЕКА-МЕЧЕНКО, Л.Е. НЕКРАСОВА,  
У.А. ИЗБАНОВА, Л.Ю. ЛУХНОВА, Т.Н. КУНИЦА,  
В.Г. МЕКА-МЕЧЕНКО, Э.Ж. БЕГІМБАЕВА**

Қазақстан Республикасы Тұтынушылар құқықтарын қорғау агенттігінің «Мәсғұт Айқымбаев атындағы Қазақ карантинді және зоонозды жұқпалы аурулар ғылыми орталығы» РМҚК, Алматы қ.

#### ТҮРЛІ ТЕМПЕРАТУРАЛАР КЕЗІНДЕ ТОПЫРАҚТАҒЫ ЛИСТЕРИЙЛЕРДІҢ САҚТАЛУЫ

Мақалада 20° және 6°C температураларда топырақ субстратілеріндегі листерийлердің сақталуы жөніндегі тәжірибелердің нәтижелері ұсынылған.

**Зерттеулердің мақсаты:** өртүрлі температуралар кезінде топырақта *Listeria monocytogenes* штамдарының сақталу мүмкіндігі мен ұзақтығын тәжірибе жүзінде зерделеу.

**Материалдар мен әдістер:** Жұмыста шығу тегі өртүрлі, әдеттегі өсірінді-морфологиялық, биохимиялық қасиеттері бар 1 серовардың №№12, 31, 2э, 180, 82 *L. monocytogenes* листерийінің 5 штаммы пайдаланылды. Листерийлердің сақталуын зерттеу үшін 20°C және 6°C температуралық режимдерінде қара-сарғылт топырақ үлгілерімен ұзақтығы 14 айлық тәжірибе қойылды. Стандартты бактериологиялық және биохимиялық тесттер мен полимеразды тізбекті реакция (ПТР) қолданылды.

**Нәтижелері:** Тәжірибеге алынған листерий штамдары топырақта тіршілік етуге біркелкі бейімделмеген. Топырақ температурасы 20°C болғанда листерийдің бір штаммы келесі ай бойына – 7 ай ішінде себілді. 6°C температура кезінде осы штамдардың топырақтағы себінділері оң нәтиже көрсеткен. Листерийдің қалған үш штаммы байқаудың бүкіл мерзімі (14 айдың) ішінде екі температурада да өзінің тіршілік ету қабілетін сақтап қалған.

Температура листерийдің биологиялық қасиеттеріне де әсер еткен. Өсірінділердің «салқындық» (6°C) нұсқалары өзінің биохимиялық белсенділігін сақтаған, бірақ қантты баяу ферменттеген. Тәжірибенің 20°C кезінде *L. monocytogenes* үш штаммының бастапқы штамдарға қарағанда штамдардың биохимиялық белсенділігінде айырмашылықтар байқалған.

20°C температура кезінде топырақта 14 ай болғаннан кейін листерий штамдарының R-пішінге диссоциациялануы, жасушалар морфологиясының өзгеруі мен Грам бойынша өңделу қабілеті байқалған. Өзгерістер қайтымды сипатқа ие болған. «Салқын» (6°C) өсірінділермен тәжірибеде барлық штамдар өзінің өсірінді-морфологиялық және биохимиялық қасиеттерін сақтаған.

**Талқылау:** Тәжірибеде листерийдің топырақта сақтау қабілеті реттелді. Төмен температура (6°C) жоғары (20°C) температураға қарағанда *L. monocytogenes* биологиялық қасиеттерінің топырақта тұрақты сақталуын қамтамасыз еткен.

**Қорытынды:** 20° және 6°C температуралар кезінде топырақ субстраттарында листерийдің сақталуы жөніндегі тәжірибелер нәтижелері топырақтағы листерийдің тіршілікке қабілеті жөнінде бар деректерді растады, бұл эпизоотологиялық және эпидемиологиялық қатынастарда маңызды.

**Негізгі сөздер:** *листерийлер, листериоз, штамдар, қасиеттер, топырақ, температура.*

#### S U M M A R Y

**T.V. MEKA-MECHENKO, L.E. NEKRASOVA,  
U.A. IZBANOVA, L.Yu. LUKHNOVA, T.N. KUNITSA,  
V.G. MEKA-MECHENKO, E.Zh. BEGIMBAYEVA**

*Republican State Enterprise "Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Diseases named after Masgut Aikimbayev" under the Agency for Consumer Rights Protection of the Republic of Kazakhstan, Almaty c.*

#### CONSERVATION OF LISTERIA IN the SOIL AT DIFFERENT TEMPERATURES

The article presents the results of experiments on the conservation of *Listeria* in the soil substrates at temperatures of 20° and 6°C.

The goal of the research is an experimental study of the possibility and duration of *Listeria monocytogenes* strains of conservation in the soil at different temperatures.

**Materials and methods:** We used five strains of *Listeria L.*

*monocytogenes* from 1 serovar of different origin: No 12, 31, 2э, 180, 82, possessing the typical cultural-morphological, biochemical properties. To study the conservation of *Listeria* an experiment was performed with 14 months period of duration with the samples of dark brown soil under the temperature conditions: 20°C and 6°C. We used the standard bacteriological and biochemical tests and polymerase chain reaction (PCR).

**Results:** The strains of *Listeria* taken for the experiment have adapted to life in the soil differently. With the soil temperature of 20°C one strain of *Listeria* was seeded during a month, and another one – during 7 months. Seeding from the soil of the same strains at 6°C were positive. The remaining three strains of *Listeria* retained their viability at both temperatures throughout the observation period (14 months).

The temperature influenced the biological properties of *Listeria*. "Cold" (6°C) versions of cultures retained their biochemical activity, but fermented sugar with a slowdown. At the experimental temperature of 20°C there were observed differences in the biochemical activity of three strains of *L. monocytogenes* in comparison with the original ones.

After 14 months of staying in soil at 20°C there were marked the dissociation of strains of *Listeria* to the R-form, change in the cells morphology and the ability of coloring by Gram. The changes were reversible. In the same experiment with "cold" cultures (at 6°C), all the strains retained their cultural-morphological and biochemical properties.

**Discussion:** The experiment confirmed the ability of *Listeria* to persist in the soil. The low temperature (6°C) ensured the stable preservation of biological properties of *L. monocytogenes* in the soil, rather than higher (20°C) temperature.

**Conclusions:** The results of experiments for conservation of *Listeria* in soil substrates at temperatures 20° and 6°C confirmed the existing data on survival of *Listeria* in the soil, that is important in epizootological and epidemiological aspects.

**Key words:** *Listeria, listeriosis, strains, properties, soil, temperature.*