

УДК 579.2

ГЕМОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИЙ РОДА *LISTERIA*

Гранкина А., студентка 3 курса факультета ветеринарной
медицины и биотехнологии

Научный руководитель – Сульдина Е.В., ассистент
ФГБОУ ВО Ульяновская ГСХА

Ключевые слова: листерии, *L.monocytogenes*, идентификация, гемолитическая активность, CAMP-тест.

Работа посвящена выявлению возможности идентификации полевого штамма листерий *L. ugsha* до вида на основании результатов разложения углеводов с образованием кислоты, исследования лицитиназной активности на желточной среде и желточной среде с добавлением активированного угля и гемолитической активности на кровяном агаре и в CAMP-тесте.

Листерии – грамположительные палочковидные бактерии. Для листерий характерна сложная таксономическая структура. В настоящее время род *Listeria* включает 16 видов. В РФ значение имеют 7 видов *L.monocytogenes*, *L.ivanovii*, *L.grayi*, *L.murrayi*, *L.innocua*, *L.seeligeri*, *L.welshimeri*, а патогенными для человека и животных являются 2 вида *L.monocytogenes* и *L.ivanovii* [1-6].

В ранее проведенных исследованиях по определению биохимических особенностей метаболизма углеводов бактериями рода *Listeria* и выявлению лицитиназной активности, нами установлено, что этих двух тестов в совокупности с изучением морфологии клеток и культуральных свойств, для типирования клинического штамма до вида не достаточно. Референс-штаммы патогенного *L.monocytogenes*, и не патогенного *L.innocua*, и клинический штамм *L. ugsha* одинаково разлагали сахарозу, лактозу, глюкозу, фруктозу и рамнозу, и не разлагали раффинозу и ксилозу, а лицитиназную активность на желточной среде с добавлением 0,5% активированного угля и без него проявлял только референс-штамм *L.ivanovii*.

В связи с этим целью нашей работы было выявить возможность идентификации полевого штамма листерий *L. ugsha* до вида на основании результатов разложения углеводов с образованием кислоты, исследования лицитиназной и гемолитической активности.

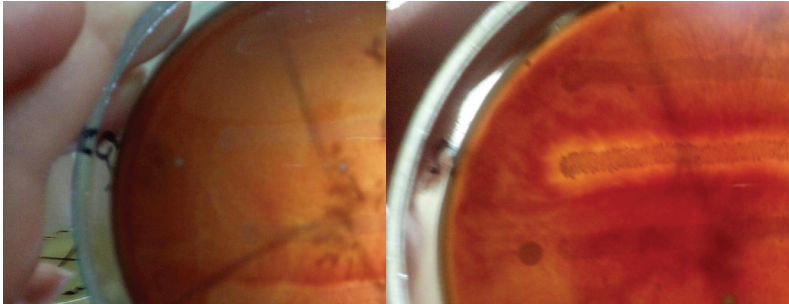
Гемолизин листерий экспрессируется при культивировании, как на жидких, так и на твердых питательных средах, причем скорость и уровень его продукции зависят от состава среды, температуры инкубации и фазы роста. Качественную оценку гемолитической активности листерий принято определять на классическом кровяном агаре, состоящем из 1,5% мясопептонного агара с добавлением 5% дефибринированной крови барана. При этом исследуемую суточную бульонную культуру микроорганизма высевают на поверхность кровяного агара. Посевы инкубируют при $(36\pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 24...48 ч, после чего производят учет результатов визуально по наличию узкой прозрачной зоны лизиса эритроцитов вокруг колоний или просветлению среды под колониями, свидетельствующему о гемолизе, который лучше виден при удалении последних с поверхности агара (рис. 1).



Рисунок 1 - Гемолитическая активность листерий

Для повышения чувствительности выявления гемолитической активности у листерий в микробиологической практике была предложена тест-система, основанная на феномене синергизма с *Rhodococcus equi* и *Staphylococcus aureus* - CAMP-тест. Суть CAMP-теста заключается в следующем: двухсуточные культуры гемолитических штаммов *Rhodococcus equi* и *Staphylococcus aureus* высевают на кровяной агар двумя параллельными вертикальными линиями на расстоянии 4...5 см друг от друга. Между вертикальными линиями культур *R. equi* и *S. aureus* засевают параллельными горизонтальными линиями исследуемые культуры листерий на расстоянии друг от друга не менее 1 см и отступающими от вертикальных линий на 0,5 см. Посевы инкубируют при $(36\pm 1)^\circ\text{C}$

в течение 24 ч. Оценку и учет результатов ведут по наличию гемолиза (просветление среды) в зоне роста испытуемых штаммов/изолятов листерий, соседствующих с вертикальными штрихами культур *R. equi* и *S. aureus* (рис. 2-3).



Рисунки 2-3 - Модификация CAMP-теста для листерий

В результате проведенных исследований установлено, что гемолитическую активность на кровяном агаре проявлял только референс-штамм *L. ivanovii*, а при постановке CAMP-теста зоны β -гемолиза наблюдалось только в близи *Rhodococcus equi*. Характерный β -гемолиз на кровяном агаре для *L. monocytogenes* не выражен, так что наличие гемолитической активности остается под вопросом, а использование этого свойства гемолитической активности для листерий обосновано только при видовой дифференциации *L. ivanovii*. Соответственно, для идентификации полевого штамма листерий *L. ugsha* до вида на основании результатов разложения углеводов с образованием кислоты и исследования лицитиназной и гемолитической активности недостаточно. Необходимо продолжать идентификацию с использованием дополнительных тестов.

Библиографический список

1. Сульдина Е.В. Применение метода молекулярно-генетического анализа для видовой идентификации мяса/Е.В. Сульдина, О.Л. Колбасова, С.В. Мерчина//Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии Материалы V-й Всероссийской (с международным участием) студенческой научной конференции. Ульяновск. -2012. -С. 227-231.
2. Сульдина Е.В. Применение метода Real-time PCR для видовой идентификации мясного сырья в мелкоизмельченных полуфабрикатах и

- готовых мясных продуктах/Е.В. Сульдина, О.Л. Колбасова, С.В. Мерчина//Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии Материалы V-й Всероссийской (с международным участием) студенческой научной конференции. Ульяновск. -2012. -С. 236-240.
3. Сульдина Е.В. Определение видовой принадлежности мясного сырья в мелкоизмельченных полуфабрикатах и готовых мясных продуктах методом ДНК-диагностики/Е.В. Сульдина, О.Л. Колбасова, С.В. Мерчина//Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии Материалы V-й Всероссийской (с международным участием) студенческой научной конференции. Ульяновск. -2012. -С. 231-235.
 4. Сульдина Е.В. Определение видовой принадлежности мяса методом полимеразной цепной реакции в режиме «Реального» времени/Е.В. Сульдина, О.Л. Колбасова, С.В. Мерчина//Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии Материалы V-й Всероссийской (с международным участием) студенческой научной конференции. Ульяновск. -2012. -С. 241-244.
 5. Разработка системы фаготипирования листерий / Е.Н. Ковалева, Д.А. Васильев, Е.В. Сульдина // Инфекция и иммунитет. – 2014. – сентябрь, специальный выпуск – С. 87-88.
 6. Выделение бактериофагов бактерий рода *Listeria* / Д.А. Васильев, Е.Н. Ковалева, Е.В. Сульдина // Инфекция и иммунитет. – 2014. – сентябрь, специальный выпуск – С. 69-70.

HEMOLYTIC ACTIVITY OF BACTERIA OF THE GENUS *LISTERIA*

Grankina A., Suldina E.V.

Key words: *Listeria*, *L.monocytogenes*, identification, hemolytic activity, CAMP-test.

The work is devoted to identifying possible identification field strain *L. ughsha* to *Listeria* species based on results of the decomposition of carbohydrates to form acid litsinaznoy research activity in the yolk vitelline medium and medium supplemented with activated charcoal and hemolytic activity on blood agar and CAMP-test.