

УДК:619:579.869.1

**ИЗМЕНЧИВОСТЬ БИОМОРФОЛОГИЧЕСКИХ
СВОЙСТВ *LISTERIA MONOCYTOGENES* В
РЕЗУЛЬТАТЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ**

*Кулагина С.П., аспирант, ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии,
Покров, Россия*

Ключевые слова: *Фенотипическая нестабильность, длительное хранение, коллекция изолятов.*

*В статье приведены данные о биоморфологических свойствах культур *L. monocytogenes* длительно хранившихся в лиофилизированном состоянии.*

Микроорганизмы являются одним из наиболее существенных компонентов биосферы. Создание и поддержание коллекций микроорганизмов как способ сохранения биоразнообразия является актуальной экологической проблемой. В настоящее время хранение микроорганизмов в жизнеспособном состоянии осуществляется в коллекциях культур, которые создаются при большинстве микробиологических лабораторий, а также биотехнологических производствах и используются как в промышленных, так и в исследовательских целях. Главной задачей консервации микроорганизмов является обеспечение их долгосрочного хранения с поддержанием высокой жизнеспособности и предупреждением мутационных изменений, то есть в состоянии максимально близком к естественному [Литвин В.Ю., Гинцбург А.Л., 1998]. Существует мнение, что в процессе коллекционного хранения бактериальная клетка фенотипически нестабильна и при ее хранении возможны изменения биологических свойств, обусловленные мутациями [Сидякина Т.М., 1985; Sharp R. J., 1984; Ashwood-Smith M. J., 1985]. Так, например, при лиофилизации, некоторых бактериальных культур наблюдали необратимые повреждения клеточных мембран, ядерного аппарата, ДНК, РНК, белков, ослабление пигментации, нарушение окислительного метаболизма, снижение общего уровня антибиотической активности и многие другие изменения [Горшков О.В., 2000; Филиппова С.Н., 2012]. Длительное хранение также может приводить и к гибели значительной части популяций, что особенно нежелательно при хранении коллекционных

культур. На сохранение жизнеспособности и биологических свойств культур существенное влияние оказывают способ консервации, выбор стабилизатора и многое другое. При правильно подобранном режиме консервации удается длительно сохранять изоляты микроорганизмов с их исходными характеристиками. Так, Гришина Т.А. (2004) приводит данные о сохранении редких коллекционных культур возбудителя сапа на протяжении длительного периода без изменения у них биологических свойств.

В ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии за 55-летний период его существования собрана коллекция, насчитывающая свыше 600 изолятов *L. monocytogenes*, циркулировавших на территории бывшего СССР, РФ и различных зарубежных стран в периоды с 40-х годов прошлого века и до настоящего времени. Хранение некоторых культур осуществляется в коллекции уже на протяжении 50 лет.

Целью данной работы являлось изучение биологических свойств изолятов *L. monocytogenes*, хранившихся в коллекции ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии на протяжении 38 лет в лиофилизированном состоянии.

Материалы и методы. В работе использовали 7 изолятов *L. monocytogenes*, выделенных от овец на территории Алтайского края.

После регидратации штаммов из лиофилизированного состояния из биологических свойств тестировали тинкториальные, антигенные свойства, подвижность, биохимическую активность (продукция индола, каталазы, оксидазы, сероводорода, проба на ацетоин, гемолитическая, гликолитическая активности) и патогенность для лабораторных животных.

Результаты и их обсуждение. В результате проведенных экспериментов установлено, что 5 из 7 изученных изолятов сохранили жизнеспособность через 38 лет их хранения в лиофилизированном состоянии. У 2-х изолятов наблюдали снижение жизненной активности – рост на питательных средах проявился спустя 48 ч инкубации. Изучение остальных биологических свойств показало, что они соответствуют свойствам типового представителя вида *L. monocytogenes* - все клетки имели форму палочек, окрашивались по Грамму положительно, вызвали опалесценцию бульона в жидких питательных средах, формировали колонии в S-форме на твердых средах, не продуцировали индола, сероводорода, оксидазы, образовывали каталазу в тесте с перекисью водорода, обладали выраженной подвижностью при комнатной температуре. Клетки всех изолятов вступали в специфическое взаимодействие с антителами

сыворотки I серологической группы, образовывали ацетон из глюкозы и вызывали лизис эритроцитов барана по β -типу. 6 из 7 изолятов лизировались фагом L2A, один изолят оказался устойчивым к воздействию обоих фагов (L2A и L4A). Все без исключения изоляты ферментировали с образованием кислоты без газа лактозу, глюкозу, мальтозу, рамнозу, сорбит, салицин, эскулин и фруктозу. 2 изолята не разлагали сахарозу. Все без исключения изоляты вызывали формирование гнойного кератоконъюнктивита при постановке пробы Антона на морских свинках и гибель мышей при парентеральной инокуляции патогена. У 3-х из 7 изолятов наблюдали повышенные показатели LD_{50} для беспородных белых мышей – 10^7 м.г., тогда как для остальных изолятов эти показатели находились в пределах $10^5 - 10^6$ м.г., что соответствует вирулентности свежeweделeяемых изолятов.

Таким образом, изучение биологических свойств изолятов *L. monocytogenes* после 38 лет хранения показало, что примененный в ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии способ хранения культур листерий обеспечивает сохранение у них жизнеспособности и не оказывает существенного влияния на изменение их биоморфологических характеристик.

Библиографический список:

1. Филиппова С. Н., Сургучева Н. А., Гальченко В. Ф. Многолетнее хранение коллекционных культур актинобактерий //Микробиология. М.- Том: 81,-2012. – С. 682.
2. Гришина Т.А., Тимофеева Е.В., Спиридонов В.А. Оценка результатов хранения музейных штаммов возбудителя сапа в течении длительного периода. Саратов; 2004- С. 40-42 .
3. Литвин В.Ю., Гинцбург А.Л. Эпидемиологические аспекты экологии бактерий. М. 1998. –С. 256.
4. Сидякина, Т. М. Консервация микроорганизмов / Т. М. Сидякина. - Пушкино: ОНТИ НЦБИ, 1985. – С. 63.
5. Ashwood -Smith M. J.; Sharp R. J Genetic damage is not produced by normal cryopreservation procedures involving either glycerol or dimethyl sulfoxide: a cautionary note, on possible effects of dimethyl sulfoxide // Cryobiology. – 1985. – 22. – P/ 427-433
6. Mazur P., Limits of low temperatures and reduced water content and water activities // Orig. Life.- 1980.- 10, N 2.- P. 137-159.

VARIABILITY OF THE BIOMORPHOLOGICAL PROPERTIES OF LISTERIA MONOCYTOGENES DURING LONG STORAGE

*Kulagina S., PhD student SSINRRIVV&M of RAAS
Pokrov, Russia*

Keywords: *Phenotypic instability, long-term storage, the collection of isolates.*

*The article presents the data about of the biomorphological properties of crops *L. monocytogenes* during long store in the lyophilized state.*

УДК 579.842.23

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ И СРАВНИТЕЛЬНАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ
YERSINIA RUCKERI, YERSINIA ENTEROCOLITICA,
YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS**

*Логинова Е.Г., аспирант факультета ветеринарной медицины
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П. А. Столыпина»,
Ульяновск, Россия*

Ключевые слова: *Yersinia ruckeri, Yersinia enterocolitica, Yersinia pseudotuberculosis, биохимические свойства, иерсиниоз, болезни рыб, псевдотуберкулез.*

Иерсинии (*Yersinia*) – род палочковидных грамм-отрицательных факультативно-анаэробных бактерий из сем. *Enterobacteriaceae*. Психрофилы. Патогенны для многих животных, а также и для человека. Близки к представителям родов *Salmonella* и *Pasteurella*.

Род *Yersinia* включает следующие виды: *Y. pestis, Y. pseudotuberculosis, Y. enterocolitica, Y. aldovae, Y. bercovieri, Y. frederiksenii, Y. intermedia, Y. kristensenii, Y. mollaretii, Y. rohdei, Y. ruckeri*.

Иерсиниозы в настоящее время зарегистрированы во всех странах мира, независимо от климатической зоны. *Y. pseudotuberculosis* по сво-