СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД И ИЗУЧЕНИЕ ПЕРИОДА ГЕНЕРАЦИИ ЛИСТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МОЛОКА НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ С ТЕЛЛУРИТОМ

Сагдуллаева Г.У.

Бухарский государственный медицинский институт имени Абу Али ибн Сино, доцент кафедры медицинской биологии

Аннотация: В последние годы вспышки токсикоинфекций, вызываемые листериями все чаще становятся объектами пристального внимания исследователей [7, 8]. Эти заболевания протекают тяжело, с высокой летальностью, особенно у детей раннего возраста и ослабленных больных. Патогенное действие оказывает преимущественно Listeria monocytogenes. В качестве основного метода диагностики листериозной инфекции используют бактериологический метод исследования – посев патологического материала на питательные среды с последующим выделением чистой культуры и изучением свойств, характеризующих ее патогенность [7, 8]. Исследование на обсемененность листерии проводят, применяя питательную среду с высоким содержанием хлорида натрия, обеспечивающего ее элективные свойства. В статье приводятся данные по выживаемости листерий в молоке, изучен период генерации листерий в молоке и молочных продуктах, а также проведена сравнительная оценка питательных сред для ускоренного выделения листерий из молока.

Ключевые слова: Listeria monocytogenes, мононуклеарный лейкоцитоз, психрофильность, теллурит-флоримицин-хлоридная среда; агаровые и бульонные культуры для листерий, оптический стандарт мутности.

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF NUTRIENT MEDIA AND STUDY OF THE GENERATION PERIOD OF LISTERIA ISOLATED FROM MILK ON NUTRIENT MEDIA WITH TELLURITE

Sagdullaeva Gulandam

Bukhara State Medical Institute named after Abu Ali ibn Sino, Associate Professor of the Department of Medical Biology.

Abstract: In recent years, outbreaks of toxic infections caused by listeria have increasingly become the objects of close attention of researchers [7, 8]. These diseases are severe and have a high mortality rate, especially in young children and debilitated patients. The pathogenic effect is mainly caused by Listeria monocytogenes. The main method of diagnosing listeriosis infection is a bacteriological research method – sowing pathological material on nutrient media, followed by isolation of a pure culture and studying the properties characterizing its pathogenicity [3, 6]. Research on the contamination of listeria is carried out using a nutrient medium with a high content of sodium chloride, which ensures its elective properties. The article provides data on the survival of listeria in milk,

examines the generation period of listeria in milk and dairy products, and provides a comparative assessment of nutrient media for accelerated isolation of listeria from milk.
Key words: Listeria monocytogenes, mononuclear leukocytosis, psychrophilicity, tellurite-chlorimycin-chloride medium; agar and broth cultures for listeria, optical turbidity standard.

Актуальность. Листериоз – инфекционная бактериальная инфекция, поражающая животных и человека. У человека заболевание вызывает вид Listeria monocytogenes – спонтанное и экспериментальное заражение сопровождается мононуклеарным лейкоцитозом. Заболевание протекает в большинстве случаев с поражением нервной ткани или в виде ангинозно-септической формы

Из организма больного животного возбудитель выделяется с мочой, испражнениями, носовым отделяемым, молоком и околоплодной жидкостью (1). От человека возбудитель был выделен (7) из спинномозговой жидкости больного менингитом, при листериозном энцефалите.

Особая опасность листериоза возникла в связи с установленной контаминацией пищевых продуктов листериями (3). Были зафиксированы крупные вспышки листериоза людей с высоким уровнем смертности при употреблении пищевых продуктов животного происхождения (молоко, молочные продукты, сыры, мороженое (2). Эти случаи подчеркнули важность за производством и употреблением пищевых продуктов в связи с возможной их контаминацией листериями. В связи с этим листериоз получил наименование “пищевой инфекции”. В настоящее время листерии обнаруживаются в пищевых продуктах, значительная устойчивость листерий во внешней среде, трудность клинического и лабораторного диагноза требует усовершенствования методов индикации, выделении листерий из пастеризованного и свежего молока, а также изучения сроков выживаемости листерий в молоке и молочных продуктах (4).

В настоящее время всё более актуальной становится проблема пищевого листериоза.

Цель работы: изучении периода генерации листерий в молоке для выяснения роли молока и молочных продуктов в передаче листериозной инфекции, а также изучение в сравнительном аспекте питательных сред для выделения листерий из молока.

Материалы и методы. Исследования проводились со следующими штаммами культур листерий: 9-72, 9-127, 2795/ 5. Для изучения периода генерации и сроков выживаемости листерий в свежем и пастеризованном молоке, контаминированное листериями молоко инкубировали при различных температурных режимах: в термостате при 35 °С, 45 °С , 50С °С, в условиях бытового холодильника при: +1-2°С , -0,1 до 0,4°С. Через каждые 30, 40, 60 минут делали высевы на различные питательные среды.

Рост на питательнқх средах после высева наблюдался медленно, что указывает на то, что листерии медленно размножающиеся бактерии, время удвоения их численности при 35°С, 45 °С , 50С °С (молоко) - 41 мин. У чувствительных людей листериоз могут вызвать всего 100 клеток L. monocytogenes (5), поэтому даже непродолжительный период хранения пищевого продукта с листериями при температуре бытового холодильника в течение 1,5-3 дней, может сделать продукт опасным для здоровья.

Микроорганизмы, встречающиеся в свежем непастеризованном молоке способны сдерживать размножение листерий, в связи с этим численность листерий, например, в свежем и охлажденном молоке не более 100 клеток в 1 мл.

Немаловажным обстоятельством в изучении эпизоотологии листериоза является психрофильная природа листерий. Нами была изучена динамика выживаемости листерий в свежем и пастеризованном молоке при следующих температурных режимах - +4 °С и +20 °С.

В молоке листерии активно размножались и максимальное их количество наблюдали на 4-5 день при +4 °С и на 4 день при +20 °С. Наиболее интенсивное размножение листерий было отмечено при +4 °С, что объясняется психрофильностью листерий. Этот факт также подтверждают многочисленные вспышки листериоза связанные с употреблением в пищу молочных продуктов, хранящихся в холодильниках.

Для выделении листерий на питательных средах были изучены в сравнительном аспекте эффективность ряда питательных сред для выделения листерий из молока (табл. 1).

Были испытаны следующие питательные среды: теллурит-флоримицин-хлоридная среда; агар Мартена; мясо-пептонный агар с теллуритом калия; мясо-пептонный печеночный агар с 1% глюкозы и 2% глицерина; мясо-пептонный агар; индикаторная среда с бромтимоловым синим, для приготовления которой к 1000 мл МППА добавляли 60 мл индикатора 2% водного раствора бромтимолового синего, исходный цвет среды темно-зеленый, возбудитель листериоза при росте изменяет его до желтого; колонии листерий в первые 24 ч. роста дымчато-серого цвета, а через 36-48 ч. становились золотисто-желтыми; индикаторная среда с бромкрезоловым пурпуровым индикатором (на 1000 мл МППА добавляют 60 мл 2% раствора бромкрезолового пурпурового индикатора); мясо-пептонный бульон с добавлением 8,5% хлористого натрия; МППБ с роданистым калием; МПБ.

Из суточных агаровых культур листерий штаммов 9-72, 9-127, 2795/ 5 готовили взвесь, содержащую 1 млрд. микробных клеток в 1 мл по оптическому стандарту мутности. После микроскопии и исследования в реакции агглютинации делали разведения ее в стерильном и в свежем непастеризованном молоке от 1:100 до 1:100000. По 0,1 мл каждого разведения наносили на поверхность среды в чашках Петри и инкубировали при 37^0С. При культивировании на жидких питательных средах в

последующем делали пересев на плотные среды и определяли наличие колоний, их количество, морфологию и т.д.

Интенсивный рост наблюдался вблизи поверхности среды, что указывало на склонность листерий к ускоренному росту при показателях кислородного потенциала ниже такового в воздухе. Посевы на плотных средах просматривали в проходящем свете, используя осветитель типа ОИ-31 с голубым светофильтром. Колонии листерий в проходящем свете в отличие от колоний других микроорганизмов имеют голубую окраску с зеленоватым оттенком и мелкозернистую структуру, с запахом творога или молочной сыворотки, обусловленный накоплением продуктов углеводного обмена. Кроме того, готовили мазки и окрашивали их по Граму. Для контроля использовали тесты по исследованию чистых культур листерий.

Эффективность питательных сред оценивали по времени роста листерий и количеству колоний с учетом разведения исследуемого материала.

Наиболее эффективными для выделения листерий из искусственно инфицированного молока оказались: из плотных питательных сред – теллурит-флоримицин-хлоридная среда, МПА с теллуритом калия; из жидких – МППБ с роданистым калием и МПБ с 8,5% хлористого натрия (табл.1)

На теллурит-флоримицин-хлоридной среде в первые сутки наблюдали рост в виде мельчайших колоний, на вторые сутки они приобретали черный цвет за счет восстановления теллурита калия до металлического теллура.

На жидких средах – МППБ с роданистым калием и МПБ с добавлением 8,5% хлористого натрия – рост проявлялся в виде едва заметной опалесценции. При посеве на эти среды разведения 1:100000 листерии вырастали в 100% случаев, при использовании с этой целью остальных жидких питательных сред рост в 100% случаев имело место лишь при посеве разведения 1:100000 и менее.

Табл.1.

Эффективность ряда питательных сред для выделения листерий из молока

Питательные среды	Выросло колоний при посеве разных разведений			
	1:100	1:1000	1:10000	1:100000
Теллурит-флоримицин-хлоридная среда	740 ± 23,2	80 ± 5,2	12 ± 1,5	1
МППА с 0,5% глюкозы и 1% глицерина	420 ± 33,2	30 ± 12,9	3± 1.4	-
Агар Мартена	640 ± 11,6	45 ± 1 5,8	7 ± 1.2	-
Среда с бромтимоловым ±синим	650 ± 17,4	30 ± 2,9	8 ± 1.2	-
Среда с бромкрезоловымпурпуровым	400 ± 40,6	25 ± 1,7	7 ± 1.2	-
МПА с теллуритом калия	800 ± 62,8	70 ± 5,8	10 ± 2.6	1
МППБ с роданистым калием	500± 19,3	75 ± 2,9	10 ± 2.6	1

МПБ с 8,5% хлористого натрия	600 ± 11,6	60 ±2,9	7 ± 1.1	1
МПБ	300 ± 11,6	40 ± 2,9	2 ± 5.8	-
МПА	410 ± 17,4	50 ± 1,7	3 ± 1.4	-

Выводы: Результаты проведенного исследования свидетельствуют о надлежащем качестве питательных сред для выделения листерий, в том числе их высокой чувствительности и специфичности. Эти среды могут быть использованы для выделения листерий из пищевых продуктов, в частности из молока, контаминированного листериями, грудного молока, смывов, воды, а также клинических материалов. Так как листерии в последнее время выделяют при вспышках пищевых отравлений, когда быстрота получения результатов является определяющим фактором, анализ с помощью эффективных питательных сред дает возможность быстро выявить и дифференцировать контаминацию продуктов питания при массивной обсемененности.

Использованная литература:

1.Бакулов И.А. Листериоз человека и животных. М., Колос, 2000 г.

2.Бутко М.П. К вопросу о выделении листерий из пищевых продуктов. М., Колос, 2001 г.. 3.Васильев А.Д. Роль пищевых продуктов в распространении листериоза. Ветеринария.-2008, №4.

3.Ганнушкин М.С. и др. Использование метода флуоресцирующих антител для ускоренной диагностики бруцеллеза и листериоза животных.М., Колос, 2003 г.

4.Дмитровский А.М., Степанов В.М., Мусабекова И.И. и др. Экологические и социальные аспекты листериоза. В сборнике «Проблемы профилактики инфекционных заболеваний в популяции Казахстана» Алматы – 2002, с. 486-489.

5.Инструкция по эпидемиологии, эпизоотологии, профилактике и лечению листериоза у людей и животных. 17 октября 2002 г., 30 с.

6.Родина Л.В., Маненкова Г.М., Тимошков В.В. Факторы и пути заражения листериозом населения. Журнал эпидемиологии и инфекционных болезней. №4, 2002 с. 48-49

7. Сагдуллаева Г.У. Патогенез листериозной инфекции. Монография. Бухара, 2023 г

8.Сагдуллаева Г.У. Изучение периода генерации листерий, выделенных из молока на питательных средах с теллуритом. Журнал Евразийский Союз Ученых. №.6-5 (75), с.28-30.

9.Сагдуллаева Г.У. Эпизоотологические и эпидемиологические особенности листериоза, общая и специфическая профилактика листериоза животных и человека. Журнал Образование, наука и инновационные идеи в мире. № 33, ч.1, 2023