

УДК 631.847.2. + 631.175:633.2/3

ОБОСНОВАНИЕ КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ ВЛИЯНИЯ ФАКТОРОВ СРЕДЫ НА ПАТОГЕННЫЕ СВОЙСТВА ЛИСТЕРИЙ, КОНТАМИНИРУЮЩИХ ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ

Бузолева Л.С.

ФГБУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова СО РАМН, Владивосток;
ФГОАУ ВПО Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, e-mail: buzoleva@mail.ru

Показано значение пищевого пути передачи листериоза, как одного из наиболее опасных заболеваний. Определены пищевые продукты, имеющие значение как наиболее значимые факторы передачи инфекции. Рассмотрены абиотические и биотические факторы среды, оказывающие влияние на биологические свойства листерий, обитающих в почве и воде. Определено значение температуры, как наиболее значимого фактора среды в формировании вирулентности у возбудителей сапрозоонозов. Показано влияние биоты, ассоциированной с листериями, контаминирующими пищевые продукты, в том числе в составе биопленок, на изменение биологических свойств патогенных бактерий. Определена необходимость комплексной оценки влияния абиотических и биотических факторов среды на формирование патогенного потенциала у *Listeria monocytogenes*.

Ключевые слова: *Listeria monocytogenes*, абиотические и биотические факторы среды, пищевые продукты, факторы патогенности, изменчивость

SUBSTANTIATION OF COMPLEX IMPACT ASSESSMENTS OF ENVIRONMENTAL FACTORS ON PATHOGENIC PROPERTIES OF LISTERIA CONTAMINATING FOODSTUFFS

Buzoleva L.S.

Institute of Epidemiology and Microbiology of G.P. Somova RAMS, Vladivostok;
Far Eastern Federal University, Vladivostok, e-mail: buzoleva@mail.ru

It was shown the importance of food transmission of listeriosis, as one of the most dangerous diseases. It was identified foods that are the most important factors of transmission. It was considered abiotic and biotic environmental factors that influence on the biological properties of listeria which was founded in soil and water. It was determined the temperature, as the most significant environmental factor in the formation of the virulence of a pathogen. It was shown the influence of biota which is associated with *Listeria*, contaminating food, including in the biofilms on the biological properties of pathogenic bacteria. It was determined the necessity of a comprehensive assessment of the impact of abiotic and biotic factors on the formation of pathogenic potential in *Listeria monocytogenes*.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, abiotic and biotic factors of the environment, food, pathogenicity factors, the variability

В условиях высокого антропогенного загрязнения окружающей среды, а также роста иммунодефицита у населения, резко обострилась проблема пищевых инфекций человека и животных. В 80-х гг. XX столетия в пятерку наиболее опасных пищевых бактериальных инфекций вошел листериоз [12]. Алиментарный путь передачи возбудителя, эпидемический характер заболевания, полиморфизм клинических проявлений, тяжесть течения, а также высокий уровень летальности (24–40%) явились основанием для разработки мер профилактики, связанных, в первую очередь, с контролем безопасности пищевых продуктов [14, 22].

В настоящее время не вызывает сомнения факт, что готовая продукция пищевой индустрии, играет ведущую роль в возникновении и распространении листериозных инфекций. Так, спорадические случаи и эпидемические вспышки последнего десятилетия, прежде всего, связывают с употреблением готовых молочных, мясных,

рыбных продуктов, подвергшихся соответствующей обработке [5, 2, 14, 18, 22, 16]. Многочисленные литературные источники сообщают, что *L. monocytogenes* обнаруживается в широком спектре пищевых продуктов и были выявлены, по крайней мере, из 30 видов продукции растительного и животного происхождения [15, 10]. В настоящее время в литературе доказана и широко освещена ведущая роль в распространении листериозной инфекции таких пищевых продуктов как молоко, сыры, сливочное масло, колбасы, мясные полуфабрикаты, салаты [19, 22, 11].

Значение пищевого пути передачи листериозной инфекции хорошо иллюстрируют данные Центра по контролю и профилактике заболеваний США [7], показавшие, что у 64% больных листериозом в холодильнике был найден хотя бы один продукт, контаминированный листериями. Например, из 3063 образцов готовой к употреблению пищи во Флориде (США), 91 (2,97%) образец оказался положитель-

ным на присутствие *L. monocytogenes* [24]. В Сингапуре с 1999 по 2000 год, зарегистрировано 58 (1,4%) случаев листериоза с пищевым путем заражения. Из 3000 протестированных продуктов, 1,3% оказались загрязнены листериями [8].

Но, в литературе представлены, в основном, эпидемиологические данные, которые не дают возможности определить доминирующую роль того или иного продукта, как субстрата, в распространении инфекции. Кроме того, не ясны механизмы регуляции численности патогенных бактерий, загрязняющих пищевые продукты, а также изменчивости их биологических свойств, в том числе, вирулентных, что возможно исследовать только экспериментальным путем.

Рассматривая пищевые продукты, как экологическую нишу, занимаемую листериями, как правило, основное внимание исследователей уделяется изучению динамики численности патогенных бактерий под влиянием определенных абиотических факторов, используя математическое моделирование данных параметров в зараженных пищевых субстратах [6].

Зарубежные и отечественные данные свидетельствуют об исключительно широких адаптивных способностях *L. monocytogenes*, обитающих в объектах внешней среды, таких как почва, вода, растения и т.д.) [4, 23]. Описана изменчивость биологических свойств внеорганизменных популяций листерий, включая вирулентность, при их обитании в почве и воде [4, 17]. Очевидно, что на процессы размножения и биологические свойства *L. monocytogenes*, загрязняющих пищевые продукты, также оказывают влияние такие абиотические факторы как, температура, длительность хранения, вид продукта, упаковка в вакуум и т.д.

Температура является важнейшим фактором окружающей среды, запускающим процесс перестройки обмена веществ в бактериальной клетке, влияющим на скорость ферментативных реакций, характер метаболизма и факторы патогенности листерий. В бактериальных клетках происходят морфологические изменения, являющиеся одним из универсальных механизмов адаптации и обеспечивающие их функциональную полноценность [4].

На сегодняшний день, температурный фактор играет важную роль при хранении пищевых продуктов. Хорошо известно, что *L. monocytogenes* являются факультативными психрофилами. Высокие термоадаптационные способности позволяют им выживать в температурном диапазоне

от 1,7 до 45°C и поддерживать интенсивность своего метаболизма на необходимом для жизни уровне даже при низких положительных температурах [4, 23]. Это связано с тем, что листерии обладают целым комплексом генетико-биохимических механизмов, позволяющих данным бактериям адаптироваться к изменяющимся температурным условиям, что способствует выживанию популяции во многих объектах окружающей среды. Одним из механизмов термоадаптации, является индукция и репрессия генов, действующих на изоферментном уровне, регулирующая запуск синтеза «холодовых» и «тепловых» изоферментов. При этом установлено, что количество «холодовых» изоферментов у листерий достоверно выше, чем количество «тепловых» [4].

Тем не менее, температурный фактор нельзя отделять от других параметров среды обитания микроба, так как по существу, адаптация относится ко всему комплексу условий, в которых существует популяция микроорганизмов. *L. monocytogenes* способны осваивать разные экологические ниши, используя для существования различные субстраты (вода, почва, растения, пищевые продукты). Состав этих сред оказывает влияние на изменение их биологических свойств. Помимо абиотических, на биологию возбудителя оказывают влияние и биотические факторы среды, так как листерии входят в состав биоценозов с сапрофитными микроорганизмами, загрязняющими пищевые продукты. Известно, что в почвенных и водных биоценозах регуляция численности листерий в микробных сообществах может осуществляться посредством экзогенных метаболитов [3]. В отношении пищевых продуктов такого рода исследования не проводились.

Важнейшим механизмом адаптации *L. monocytogenes* является их способность к существованию и размножению в составе биопленок, образуемых на твердых поверхностях и контактирующих с пищевым сырьем на производстве, что способствует их распространению. Бактерии в составе биопленки фенотипически отличаются от планктонных форм. Они медленнее растут, вероятно, из-за меньшей обеспеченности питанием и кислородом, что приводит к снижению уровня метаболизма [21]. Установлено, что клетки *L. monocytogenes* входящие в биопленку, более устойчивы к воздействию дезинфектантов, применяемых в пищевой промышленности, таким как хлориндиоксид, пероксиды, йодофор, нейтрализующие аммонийные соединения и др. [20].

В составе биопленок листерии контактируют с сапрофитной микрофлорой, обсеменяющей пищевые продукты, что оказывает влияние на биологические свойства патогенов. Так, совместное культивирование *L. monocytogenes* с сопутствующей микрофлорой мясных продуктов показало, что метаболиты и антимикробные агенты *Enterococcus durans*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* и *Staphylococcus sciuri* при температурах 4 и 37°C ингибировали скорость адсорбции и образование биопленок листериями [13, 25].

Только в единичных работах встречаются сообщения об изменении патогенных свойств (усиление адгезии с клетками аденокарциномы человека (HT-29)) *L. monocytogenes*, обитающих на пищевых продуктах (молоко, копченый лосось) [9, 17]. При этом исследования изменения вирулентности проводились только на отдельных видах продуктов или под воздействием какого-то опеределенного фактора, чаще всего температуры или pH [1].

Таким образом, анализ литературных источников показывает, что проблема пищевого листериоза остается актуальной, о чем свидетельствует увеличение вспышек и спорадических случаев в последние десятилетия. При этом основными факторами передачи *L. monocytogenes* являются пищевые продукты, первостепенное значение из которых, по данным литературы, играют молочные, мясные и рыбные изделия. Но эпидемиологические исследования не дают ответа на вопрос, какие продукты предпочтительнее для листерий в качестве питательного субстрата и как меняются их биологические и патогенные свойства в зависимости от вида контаминируемого продукта и условий его хранения. Рядом авторов доказано влияние абиотических факторов среды обитания на изменение биологии и патогенного потенциала листерий, занимающих различные экологические ниши (почва, вода, простейшие). Вопросы изменчивости *L. monocytogenes*, контаминирующих пищевые продукты по-прежнему остаются малоизученными. Показано, что воздействие некоторых абиотических факторов вызывает адаптационные изменения, приводящие к образованию биопленок и некультивируемых клеток *L. monocytogenes*. Вероятно, что в проявлении данных стратегий существования определенную роль играют и биотические взаимодействия. Однако, характер взаимодействий возбудителя, ассоциированного с микрофлорой пищевых продуктов, изучен недостаточно и односторонне.

Комплексный подход к изучению влияния факторов среды (абиотических и биотических) на размножение и биологические свойства листерий, контаминирующих пищевые продукты, позволит выделить наиболее значимые из них и показать механизмы, способствующие ускорению размножения *L. monocytogenes* и усилению их вирулентных свойств.

Список литературы

1. Зайцева Е.А., Сомов Г.П. Влияние температуры на адгезивные свойства листерий // Журн. микробиол. эпидемиол. и иммунол. – 2006. – № 3. – С. 20–23.
2. Колбасов Д.В., Цыбанова В.А., Фирсова Т.Е. Выявление патогенных листерий в рыбной продукции. // Профилактика, диагностика и лечение инфекционных болезней, общих для людей и животных: материалы Международн. науч. конф. (Ульяновск, 21-13 июня, 2006 г.) – Ульяновск, 2006. – С. 105–110.
3. Сидоренко М.Л. Влияние летучих метаболитов бактерий рода *Pseudomonas* на размножение патогенных бактерий // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2001. – № 7. – С. 131.
4. Сомов Г.П., Бузолева Л.С. Адаптация патогенных бактерий к абиотическим факторам окружающей среды. – Владивосток: ОАО Примполияграфкомбинат, 2004. – 167 с.
5. Тартаковский И.С., Малеев В.В., Ермолаева С.А. Листерии: роль в инфекционной патологии человека и лабораторная диагностика. – М.: Медицина для всех, 2002. – 200 с.
6. Aarnisalo K., Sheen S., Raaska L., Tamplin M.J. Modelling transfer of *Listeria monocytogenes* during slicing of 'gravad' salmon // Food Microbiol. – 2007. – Vol. 118. – P. 69–78.
7. CDC. Multistate outbreak of listeriosis – United State // MMWR Morb Mortal Wkly rep. – 2000. – Vol. 49. – P. 1129–1130.
8. Chua Sin Bin. Food Control Department, Ministry of the Environment and Published in Food News, Singapore General Hospital. – Dec., 2000. – P. 3–5.
9. Conte M.P., Longhi C., Petrone G., Polidoro M. Modulation of actA gene expression in *Listeria monocytogenes* by iron. // J. Med. Microbiol. – 2000. – Vol. 49. – P. 681–683.
10. Karakolev, R. Incidence of *Listeria monocytogenes* in beef, pork, raw-dried and raw-smoked sausages in Bulgaria // J. Food Control. – 2009. – Vol. 20. – № 10. – P. 953–955.
11. Kongo J.M., Malcata F.X., Ho A.J. Detection and characterization of *Listeria monocytogenes* in Sao Jorge (Portugal) cheese production // J. Dairy Sci. – 2006. – Vol. 89, № 11. – P. 4456–4461.
12. Liston, J. Microbial hazards of seafood consumption. Toxins, bacteria and viruses are the principal causes of seafoodborne // J. Food Technol. – 1990. – Vol. 44, № 12. – P. 58–62.
13. Leriche, V., Carpentier B. Limitation of adhesion and growth of *Listeria monocytogenes* on stainless steel surfaces by *Staphylococcus sciuri* biofilms. // J. Appl. Microbiol. – 2000. – Vol. 4. – P. 594–605.

14. Mead, P.S., Slutsker L., Dietz Y. Food – related inness and death in the United States // *J. Emerg. Infect. Dis.* – 1999. – Vol. 5. – P. 607–625.
15. Mena C., Almeda C., Carneiro L. Incidence of *Listeria monocytogenes* in different food products commercialized in Portugal // *J. Food Microbiol.* – 2004. – Vol. 21, № 2. – P. 213–216.
16. Mengesha D., Zewde B.M., Toquin M. Occurrence and distribution of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in ready-to-eat and raw meat products // *Berliner and Münchener tierärztliche wochenschrift.* – 2009. – Vol. 122, № 1-2. – P. 20-24
17. Midelet-Bourdin G., Leleu G., Copin S. Modification of a virulence-associated phenotype after growth of *Listeria monocytogenes* on food // *J. Appl. Microbiol.* – 2006. – Vol. 101, № 2. – P. 300–308.
18. Nakamura H., Hatanaka M., Ochi K. *Listeria monocytogenes* isolated from cold-smoked fish products in Osaka City, Japan. // *Int. J. Food Microbiol.* – 2004. – Vol. 94. – № 3. – P. 323–328.
19. Olsen S.J., Patrick M., Hunter S.B. Multistate outbreak of *Listeria monocytogenes* infection linked to delicatessen turkey meat // *J. Clin. Infect. Dis.* – 2005. – Vol. 40. – P. 962–967.
20. Somers E.B., Wong A.C.L. Efficacy of two cleaning and sanitizing combinations on *Listeria monocytogenes* biofilms formed at low temperature on a variety of materials on the presence of ready-to-eat meat residue // *J. Food Prot.* – 2004. – Vol. 76. – P. 2218–2229.
21. Tetz V.V., Korobov V.P., Artemenco N.K. Extracellular phospholipids of isolated bacterial communities // *Biofilms* – 2004. – Vol.1, Iss. 03. – P. 149–155.
22. Wagner M., Melzner D., Bago Z. Outbreak of clinical listeriosis in sheep: evaluation from possible contamination routes from feed to raw produce and humans // *J. Vet. Med. Infect.* – 2005. – Vol. 52. – P. 278–283.
23. Wemekamp-Kamphuis H.H., Sleator R.D., Wouters J.A. Molecular and physiological analysis of the role of osmolyte growth of *Listeria monocytogenes* at low temperatures // *J. Appl. Environ. Microbiol.* – 2004. – Vol. 70. – P. 2912–2918.
24. Yuelian S., Liu Y., Zhang Y. Isolation and Characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat foods in Florida // *J. Appl. Environ. Microbiol.* – 2006. – Vol. 72, № 7. – P. 5073–5076.
25. Zhao, T., Doyle M.P., Zhao P. Control of *Listeria monocytogenes* in a biofilm by competitive-exclusion microorganisms // *J. Appl. Environ. Microbiol.* – 2004. – Vol. 70. – P. 3996–4003.