

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СУБСТАНЦИЙ НА ОСНОВЕ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ ПЕРЕПЕЛОВ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Ключевые слова: листерия, *Listeria monocytogenes*, биологически активная субстанция, эмбриональные ткани, стимулятор роста микроорганизмов, культивирование, биологические свойства микробы, вакцина.

Резюме: Вакцинное производство нередко сталкивается с проблемой, связанной со снижением интенсивности накопления бактериальной массы, причиной которой является снижение качества сырья для питательных сред и нестандартность последних. Для решения данной проблемы, при производстве вакцины против листериоза сельскохозяйственных животных, были предложены биологически активные субстанции на основе эмбриональных тканей перепелов (ФГЭП и СРМП), обладающие потенциальными стимулирующими свойствами по отношению к листерии. Целью исследования явилась сравнительная оценка ростостимулирующего действия ФГЭП и СРМП на *Listeria monocytogenes* вакцинного штамма «АУФ» и ее биологические свойства. В ходе исследований установлена оптимальная стимулирующая доза изучаемых субстанций – 1 % к объему агара Хоттингера. Наилучшим стимулирующим эффектом по отношению к *L. monocytogenes* обладает СРМП, добавление которого к агару Хоттингера увеличивает количество выросших колоний в 1,7 раза по сравнению со средой без добавок (контроль). Установлено отсутствие негативного влияния изучаемых субстанций в дозе 1 % на морфологические, культуральные, тинкториальные, биохимические, гемолитические свойства и подвижность *L. monocytogenes*, определяющие ее видовые характеристики. Полученные данные открывают перспективы для использования исследуемых стимуляторов роста в цикле изготовления вакцины против листериоза сельскохозяйственных животных.

Введение

Технология изготовления бактериальных вакцин – это многопрофильная проблема, одним из решений которой является разработка современных процессов культивирования микроорганизмов, благодаря которой, возможно увеличить выход конечного продукта и получить эффективные ветеринарные препараты [1].

Несмотря на четко отработанные механизмы производства вакцин и устоявшиеся технологические регламенты, на определенных этапах их изготовления возникают некоторые трудности.

Так, определенные проблемы возникают на этапе культивирования микроорганизмов, в том числе и при производстве «Вакцины сухой, живой, против листериоза сельскохозяйственных животных из штамма АУФ», успешно применяющейся на территории Российской Федерации для профилактики листериоза [2, 3]. Есть сведения о снижении интенсивности накопления биомассы микроорганизмов в процессе производственного культивирования из-за нестандартности питательных сред и мясных гидролизатов [1, 3]. Зачастую ис-

пользуются среды лабораторного и производственного приготовления, которые получают с применением низкокачественных компонентов. В сырье для приготовления питательных сред могут содержаться антибиотики, химикаты, нитраты и токсические продукты [4, 5, 6, 7, 8, 9, 10].

Решением проблемы выхода бактерии за счет снижения качества питательных сред, по мнению ряда авторов, может являться использование стимуляторов роста микроорганизмов [11, 12, 13, 14, 15]. Эти вещества, действуя как катализатор [16, 17] за счет добавления в небольших количествах, не влияют на состав среды, а, следовательно, не требуют изменения технической документации.

Для испытания в качестве стимуляторов роста листерий были апробированы ферментативный гидролизат эмбриональный перепелиный (ФГЭП) и стимулятор роста микроорганизмов перепелиный (СРМП) изготовленные на основе эмбрионально-яичной массы перепелов. Так как биологические свойства микроорганизмов (культуральные, морфологические, тинкториальные, биохимические, гемолити-

ческие, подвижность) отражают уровень их метаболизма и обуславливают функциональные особенности и характер роста, считаем необходимым оценить влияние изучаемых субстанций на данные показатели *L. monocytogenes*.

Материалы и методы исследований

В работе использован слабовирулентный штамм АУФ *Listeria monocytogenes*, использующийся в процессе изготовления вакцины сухой, живой, против листериоза сельскохозяйственных животных. Штамм для работы получали из архива ФКП «Ставропольская биофабрика».

Изучаемые субстанции ФГЭП и СРМП изготовлены на базе проблемной научно-исследовательской лаборатории экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии и иммунобиотехнологии ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет». ФГЭП представляет собой ферментативный гидролизат из эмбрионально-яичной массы перепелов [18], а СРМП – кислотный гидролизат из эмбрионально-яичной массы перепелов, изготовленный с применением оригинального комплекса биотехнологических манипуляций, направленных на получение пептидсодержащего препарата [19].

Для оценки стимулирующего действия ФГЭП и СРМП изучаемые субстанции в выбранных дозировках добавляли к расплавленному агару Хоттингера при тщательном перемешивании перед разливкой по чашкам Петри.

Результаты исследования культурально-морфологических свойств, выращенных микроорганизмов, учитывали визуально, путем подсчета и измерения диаметра выросших колоний, а также при микроскопии мазков, приготовленных из супочных культур, выросших на плотных питательных средах и окрашенных по Граму.

Для исследований были отобраны по десять серий ФГЭП и СРМП. Изучали влияние субстанции каждой серии на биологические свойства *Listeria monocytogenes*.

Способность сбраживать углеводы, подвижность, бета-гемолитическую активность листерий определяли согласно МУК 4.2.1122-02 [20].

Подвижность листерий оценивали по характеру роста культуры в уколе столбика ПЖА.

Бета-гемолитическую активность листерий определяли по образованию зон просветления за счет растворения эритроцитов вокруг колоний при посеве на по-

верхность кровяного агара, приготовленного с добавлением стерильной дефибринированной крови барана.

Способность культуры сбраживать углеводы оценивали при ее пересеве на среды Гисса, содержащие следующие сахара: рамнозу, арабинозу, лактозу, маннит, маннозу, инозит, сахарозу, глюкозу, ксилозу, мальтозу. Наличие ферментативной активности в отношении углеводов определяли по изменению окраски сред за счет образования кислоты.

Каталазную активность культуры определяли в соответствии с ГОСТ 30425 [21] по способности каталазы разлагать перекись водорода с выделением пузырьков газа.

Морфологию и размер бактериальных клеток оценивали с помощью программного обеспечения Zena 2012 Pro на бинокулярном микроскопе исследовательского уровня Axio Imager 2 (A2) (Carl Zeiss Microscopy). Полученные результаты обработаны с помощью программы Primer of Biostatistics (Version 4.03).

Результаты и обсуждение

Для установления оптимальных стимулирующих доз ФГЭП и СРМП были выбраны следующие концентрации субстанций: 0,1%, 0,5%, 1%, 1,5%, 2% к объему питательной среды. При их выборе мы опирались на исследования Н.В. Пановой (2006) и И.Н. Ткаченко (2009), изучавших стимуляторы роста для широкого круга микроорганизмов.

Культуры *Listeria monocytogenes* вносили в количестве 100 микробных клеток в чашки Петри с агаром Хоттингера с добавлением ФГЭП и СРМП в выбранных дозах. В качестве контроля использовали агар Хоттингера без добавления стимуляторов. Культуры выращивали при температуре 37 ± 1 °C в течение 24 часов в термостате. Через 24 ч производили подсчет выросших колоний, результаты отображены в таблице.

Результаты, отраженные в таблице, свидетельствуют, что при добавлении к агару Хоттингера как ФГЭП, так и СРМП во всех концентрациях, количество выросших колоний по сравнению с контролем увеличивается (при $P<0,05$). При этом в обоих случаях максимальное число выросших колоний зафиксировано на чашках со средами, включающими субстанции в дозе 1 %. В средах с добавлением ФГЭП оно превышает контроль в 1,3 раза, а с добавлением «СРМП» – в 1,7 раза.

Таблица. Ростовые качества агара Хоттингера с добавлением ФГЭП и СРМП, n=10

Концентрация стимулятора, %	Количество чашек Петри	Агар Хоттингера с ФГЭП	Агар Хоттингера с СРМП
		Посев микроорганизмов 100 м.к.	
2	5	70,3±1,9	93,3±2,6
1,5	5	69,1±1,7	95,6±2,9
1,0	5	71,1±1,9	94,1±2,9
0,5	5	67,2±2,3	80,6±2,0
0,1	5	62,8±1,5	76,1±1,7
Контроль – агар Хоттингера	5		55,6±1,2

Примечание: статистическая достоверность приведена по тексту

Интересным оказался тот факт, что число колоний возрастает по мере увеличения дозировки стимуляторов до 1 %. Очевидно, при больших дозах утрачивается стимулирующих эффект, а вносимая субстанция, в зависимости от изменчивости условий культивирования, в ряде случаев может использоваться как питательный компонент.

При оценке мазков, приготовленных с агара Хоттингера с добавлением ФГЭП, СРМП и без добавок (контроль), установлено, что во всех случаях *L. monocytogenes* представляет собой грамположительную, прямую или слегка изогнутую палочковидную бактерию с закругленными краями, шириной 0,3–0,5 мкм, длиной 1–2 мкм. Клетки располагаются в препарате параллельно или под углом друг к другу, группами или одиночно. Морфология бактерии полностью соответствует классическому характеру росту, установленному для данного микроорганизма (по Берджи).

При изучении характера роста *L. monocytogenes* на агере Хоттингера с добавлением ФГЭП и СРМП через 24 часа после засева в обоих случаях на чашках Петри наблюдали появление мелких, круглых, полупрозрачных, слабовыпуклых, с ровным краем колоний в S-форме, имеющих голубоватый оттенок, что полностью соответствует культуральным свойствам данного микроорганизма и не отличается от вида колоний на агере без добавок.

Микроорганизмы синтезируют большое количество ферментов, главной функцией которых является ускорение и регуляция всех химических реакций, необходимых для их жизнедеятельности, поэтому исследование ферментативной активности листерий в процессе оценки влияния стимуляторов роста считаем принципиаль-

ным моментом. Установлено, что *Listeria monocytogenes*, предварительно культивированная на агере Хоттингера с добавлением ФГЭП, СРМП и без добавок (контроль), на средах Гисса, сбраживает с образованием кислоты без газа рамнозу, маннозу, сахарозу, глукозу, мальтозу, не утилизирует арабинозу, лактозу, маннит, инозит, ксилозу, что является характерными биохимическими свойствами микроорганизма.

Listeria monocytogenes является каталазоположительной. Известно, что оксидоредуктазы, к которым относится каталаза, ускоряют внутриклеточные окислительно-восстановительные процессы в бактериях, поэтому сохранение листерий данного свойства отражает эффективность стимулирующего действия субстанции.

При смешивании с перекисью водорода на предметном стекле культуры листерий, взятой из отдельных колоний, выросших на агере Хоттингера с добавлением ФГЭП, СРМП и без добавок (контроль), во всех случаях наблюдали образование пузырьков, что свидетельствует о положительной реакции на каталазу.

Характерным фактором патогенности *Listeria monocytogenes* являются секретируемые белки α- и β-гемолизины, способствующие ее гемолитической активности на кровяном агере. Исключение влияния изучаемых субстанций на данный показатель считаем важнейшим этапом нашей работы, поскольку это подтверждает сохранность патогенных свойств вакциниального штамма листерий.

Культура *Listeria monocytogenes*, выросшая на агере Хоттингера с добавлением ФГЭП и СРМП и без добавок, при культивировании на кровяном агере на всех чашках Петри образует колонии, окруженные характерной зоной просветления

– β-гемолизом, что соответствует классическому характеру роста листерий на кровяном агаре.

При оценке подвижности листерий, культивированных на агаре Хоттингера с добавлением ФГЭП, СРМП и без добавок, установлено, что во всех пробирках с ПЖА листерия образует характерный рост в виде зонтика вдоль линии укола, свидетельствующий о подвижности микробы.

Вышеописанные характеристики биологических свойств *Listeria monocytogenes*, по нашему мнению, свидетельствуют о том, что использование разработанных стимуляторов роста не противоречит принципиальному требованию к вакцинному штамму микроорганизма – сохранению стабильности его характеристик, что является важнейшим моментом для вакцинного производства.

Выводы и заключение

Из результатов исследований следу-

ет, что субстанции ФГЭП и СРМП, добавленные к агару Хоттингера в дозах 0,1; 0,5; 1; 1,5; 2 % при культивировании *Listeria monocytogenes*, оказывают стимулирующее действие на микроорганизм. Оптимальный стимулирующий эффект достигнут при добавлении к среде субстанций в количестве 1 %, при этом ростостимулирующий эффект СРМП выше, чем у ФГЭП. При культивировании листерий на агаре Хоттингера с изучаемыми субстанциями, микроорганизм проявил типичные для него биологические свойства: морфологические, культуральные, тинкториальные, биохимические, гемолитические и подвижность, идентичные свойствам листерий, выращенным без добавления стимуляторов. Этот факт подтверждает отсутствие негативного влияния изучаемых стимуляторов роста на *Listeria monocytogenes* и открывает перспективы их использования при производстве вакцины против листериоза сельскохозяйственных животных.

Библиографический список:

- Павленко И. В. Разработка основных технологических процессов промышленного производства сухой вакцины против листериоза сельскохозяйственных животных: дис. ... канд. бiol. наук / И. В. Павленко. – Щелково, 2003. – 123 с.
- Светлакова Е. В. Совершенствование способов повышения выживаемости микробных клеток в сухих живых вакцинах и пробиотиках: дис. ... канд. бiol. наук / Е. В. Светлакова. – Ставрополь, 2003. – 164 с.
- Павленко И. В. Совершенствование промышленной биотехнологии производства сухих живых бактериальных препаратов и оценка их эффективности: дис. ... д-ра. техн. наук / И. В. Павленко. – Щелково, 2013. – 453 с.
- Геладзе В. Ш. Изыскание универсальных питательных сред для культивирования аэробных и анаэробных микроорганизмов / В. Ш. Геладзе, Ситьков В. И., Заерко В. И. [и др.] // Диагностика, лечение и профилактика заболеваний сельскохозяйственных животных: Сб. науч. тр. Ставроп. ГСХА. – Ставрополь, 1998. – С. 30–31.
- Рябов В. Г. Содержание микроэлементов и пестицидов в мясе бычков при откорме / В. Г. Рябов, В. К. Генкель, Н. В. Волкова // Материалы международной конф. «Загрязненность экологических систем токсикантами и актуальные вопросы современной фармакологии и токсикологии. Подготовка кадров». – Троицк, 1996. – С. 124–126.
- Поляк М. С. Питательные среды для медицинской микробиологии / М. С. Поляк, В. И. Сухаревич, М. Э. Сухаревич. – С-Пб, 2002. – 80 с.
- Вартанова Н. О. Создание новой синтетической среды для культивирования *Helicobacter pylori* / Н. О. Вартанова, В. Г. Арзуманян, О. А. Сердюк, Р. М. Темпер // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2005. – Т. 139. – № 5. – С. 538–543.
- Султанов З. З. Разработка и усовершенствование технологий получения микробиологических питательных основ и сред: дис. ... д-ра бiol. наук / З. З. Султанов. – Махачкала, 2008. – 271 с.
- Waguespack M. Eliminating residue in «Bob» veal calves / M. Waguespack // Anim. Health Nutrit, 1986. – Т. 41. – № 6. – Р. 28–30.
- Corrigan P. J. Pesticide residues in Australian meat / P. J. Corrigan, P. Seneviratne // Veter. Rec. – 1989. – Т.125. – № 8. – Р. 181–184.
- Баронец Н. Г. Получение стимуляторов роста микроорганизмов из лекарственных растений: дис. ... канд. бiol. наук / Н. Г. Баронец. – Москва, 2004. – 132 с.
- Старцева О. Л. Совершенствование биотехнологии производства питательных сред для культивирования чумного микробы на основе сырья животного и растительного происхождения: дис. ... канд. бiol. наук / О. Л. Старцева. – Ставрополь, 2005. – 182 с.
- Панова Н. В. Разработка нового стимулятора роста микроорганизмов и изучение его влияния на их биологические свойства на примере некоторых вакциновых штаммов бактерий / Н. В. Панова. – Ставрополь, 2006. – 173 с.
- Ткаченко И. Н. Разработка и оценка качества новых питательных сред и стимуляторов роста микроорганизмов на основе активированных гидролизатов из молок рыб и вермикультуры: дис. ... канд. бiol. наук / И. Н. Ткаченко. – Ставрополь, 2009. – 168 с.
- Курилова А. А. Разработка питательных сред на основе сырья растительного происхождения для культивирования возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы: дис. ... канд. бiol. наук / А. А. Курилова. – Ставрополь, 2009. – 149 с.
- Никитина В. А. Изыскание эффективной дрожжевой питательной среды для культивирования бактерий / В. А. Никитина, В. И. Бобрышев, Ф. И. Кафизова // Ученые записки Казанского гос. ветеринарного ин-та им. Н. Э. Баумана. – Казань, 1979. – С. 132–134.
- Macfarlane D. E. Improved media for the culture of *Neisseria gonorrhoeae* / D. E. Macfarlane, T. E. Elian-Jones // J. Microbiol., 1980. – Vol. 13. – № 4. – Р. 595–607.
- Пат. 2525637 РФ. Питательная среда плотная для культивирования возбудителя листериоза / Л. С.

- Катунина, А. Н. Куличенко, И. С. Тюменцева, Е. В. Жданова, Л. Д. Тимченко, И. В. Ржепаковский, М.Н. Сизоненко, О. А. Романенко, Н. В. Жаринова, О. И. Коготкова // заяв. 12.11.2012, опубл. 08.2014. – Бюл. № 23.
19. Пат. 2535980 РФ. Способ получения стимулятора роста *Listeria monocytogenes* из активированной эмбрионально-яичной массы перепелок / Л. Д. Тимченко, М. Н. Сизоненко, И. В. Ржепаковский, И. Н. Ткаченко, В. Н. Вакулин // заяв. 22.03.2013, опубл. 20.12.2014. – Бюл. № 35.
20. Организация контроля и методы выявления бактерий *Listeria monocytogenes* в пищевых продуктах: МУК 4.2.1122-02. – М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2002. – 31 с.
21. Консервы. Метод определения промышленной стерильности: ГОСТ 30425. – М.: Стандартинформ, 2011. – 16 с.

References:

1. Pavlenko I. V. Razrabotka osnovnykh tehnologicheskikh processov promyshlennogo proizvodstva suhoy vakciny protiv listerioza selskohozyaystvennyh zhivotnyh [Development of the main technological processes of industrial production of dry vaccine against listeriosis of farm animals]: dis. ... kand. biol. nauk / I. V. Pavlenko. – Schelkovo, 2003. – 123 s.
2. Svetlakova E. V. Sovershenstvovanie sposobov povysheniya vyzhivaemosti mikrobnykh kletok v suhikh zhivykh vakcinah i probiotikakh [Improvement of methods for increasing the survival of microbial cells in dry live vaccines and probiotics]: dis. ... kand. biol. nauk / E. V. Svetlakova. – Stavropol, 2003. – 164 s.
3. Pavlenko I. V. Sovershenstvovanie promyshlennoy biotekhnologii proizvodstva suhikh zhivykh bakterialnyh preparatov i ocenka ikh effektivnosti [Improvement of industrial biotechnology for production of dry live bacterial preparations and evaluation of their effectiveness]: dis. ... d-ra tehn. nauk / I. V. Pavlenko. – Schelkovo, 2013. – 453 s.
4. Geladze V. Sh. Izyskanie universalnyh pitatelnyh sred dlya kultivirovaniya aerobnyh i anaerobnyh mikroorganizmov [Research of universal nutrient media for the cultivation of aerobic and anaerobic microorganisms] / V. Sh. Geladze, Sitkov V. I., Zaerko V. I. [i dr.] // Diagnostika, lechenie i profilaktika zabolevaniy selskohozyaystvennyh zhivotnyh: Sb. nauch. tr. Stavrop. GSHA. – Stavropol, 1998. – S. 30–31.
5. Ryabov V.G. Soderzhanie mikroelementov i pesticidov v myase bychkov pri otkorme [Content of trace elements and pesticides in meat of bull-calves during fattening] / V. G. Ryabov, V. K. Genkel, N. V. Volkova // Materialy mezdunar. konf. «Zagryaznennost ekologicheskikh sistem toksikantami i aktualnye voprosy sovremennoy farmakologii i toksikologii. Podgotovka kadrov». – Troick, 1996. – S. 124–126.
6. Polyak M. S. Pitatelnye sredy dlya medicinskoy mikrobiologii [Nutrient media for medical microbiology] / M. S. Polyak, V. I. Suharevich, M. E. Suharevich. – S-Pb, 2002. – 80 s.
7. Vartanova N. O. Sozdanie novoy sinteticheskoy sredy dlya kultivirovaniya *Helicobacter pylori* [Creation of a new synthetic medium for the cultivation of *Helicobacter pylori*] / N. O. Vartanova, V. G. Arzumanyan, O. A. Serdyuk, R. M. Temper // Byulleten eksperimentalnoy biologii i mediciny. – 2005. – T. 139. – № 5. – S. 538–543.
8. Sultanov Z. Z. Razrabotka i usovershenstvovanie tekhnologii polucheniya mikrobiologicheskikh pitatelnyh osnov i sred [Development and improvement of technologies for obtaining microbiological nutrient bases and media]: dis. ... d-ra biol. nauk / Z. Z. Sultanov. – Mahachkala, 2008. – 271 s.
- 9–10. Vide supra.
11. Baronec N. G. Poluchenie stimulyatorov rosta mikroorganizmov iz lekarstvennyh rastenij [Obtaining growth stimulators of microorganisms from medicinal plants]: dis. ... kand. biol. nauk / N. G. Baronec. – Moskva, 2004. – 132 s.
12. Starceva O. L. Sovershenstvovanie biotekhnologii proizvodstva pitatelnyh sred dlya kultivirovaniya chumnogo mikroba na osnove syrya zhivotnogo i rastitelnogo proishozhdeniya [Improvement of biotechnology of production of nutrient media for cultivation of plague microbe based on animal and vegetable raw materials]: dis. ... kand. biol. nauk / O. L. Starceva. – Stavropol, 2005. – 182 s.
13. Panova N. V. Razrabotka novogo stimulyatora rosta mikroorganizmov i izuchenie ego vliyanija na ih biologicheskie svoystva na primere nekotoryh vakcinnih shammov bakterij [Development of a new stimulant for the growth of microorganisms and study of its effect on their biological properties on the example of some vaccine strains of bacteria] / N. V. Panova. – Stavropol, 2006. – 173 s.
14. Tkachenko I. N. Razrabotka i ocenka kachestva novyh pitatelnyh sred i stimulyatorov rosta mikroorganizmov na osnove aktivirovannyh gidrolizatov iz molok ryb i vermiculturnyj [Development and assessment of the quality of new nutrient media and growth stimulators of microorganisms based on activated hydrolysates from fish milk and vermiculture]: dis. ... kand. biol. nauk / I. N. Tkachenko. – Stavropol, 2009. – 168 s.
15. Kurilova A. A. Razrabotka pitatelnyh sred na osnove syrya rastitelnogo proishozhdeniya dlya kultivirovaniya vozбудiteley chumy, holery, sibirskoy yazyvy [Development of nutrient media on the basis of raw materials of plant origin for the cultivation of pathogens of plague, cholera, anthrax]: dis. ... kand. biol. nauk / A. A. Kurilova. – Stavropol, 2009. – 149 s.
16. Nikitina V. A. Izyskanie effektivnoy drozhzhevoy pitatelnoy sredy dlya kultivirovaniya bakterij [Search for an effective yeast nutrient medium for bacterial culture] / V. A. Nikitina, V. I. Bobryshev, F. I. Kafizova // Uchenye zapiski Kazanskogo gos. veterinarnogo in-ta im. N. E. Baumana. – Kazan, 1979. – S. 132–134.
17. Vide supra.
18. Pat. 2525637 RF. Pitatelnaya sreda plotnaya dlya kultivirovaniya vozбудitelya listerioza [The nutrient medium is dense for the cultivation of the causative agent of listeriosis] / L. S. Katunina, A. N. Kulichenko, I. S. Tyumenceva, E. V. Zhdanova, L. D. Timchenko, I. V. Rzhepakovskiy, M. N. Sizonenko, O. A. Romanenko, N. V. Zharinova, O. I. Kogotkova // заяв. 12.11.2012, опубл. 20.08.2014. – Byul. № 23.
19. Pat. 2535980 RF. Sposob poluchenija stimulyatora rosta *Listeria monocytogenes* iz aktivirovannoy embrionalno-yaichnoy massy perepelok [A method for obtaining a growth stimulator *Listeria monocytogenes* from activated embryonic-egg mass quail] / L. D. Timchenko, M. N. Sizonenko, I. V. Rzhepakovskiy, I. N. Tkachenko, V. N. Vakulin // заяв. 22.03.2013, опубл. 20.12.2014. – Byul. № 35.
20. Organizaciya kontrolya i metody vyvayleniya bakterij *Listeria monocytogenes* v pischevyh produktah [Control organization and methods for detection of *Listeria monocytogenes* in food products]: MUK 4.2.1122-02. – M.: Federalnyy centr Gossanepidnadzora Minzdrava Rossii, 2002. – 31 s.
21. Konservy. Metod opredeleniya promyshlennoy sterilnosti [Method for determining industrial sterility]: GOST 30425. – M.: Standartinform, 2011. – 16 s.

Sizonenko M. N., Timchenko L. D., Rzhepakovskiy I. V., Katunina L. S.
INFLUENCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES ON THE BASIS
OF EMBRYONIC TISSUES OF DERIVATIVES ON THE BIOLOGICAL
PROPERTIES OF *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Key Words: listeriosis, *Listeria monocytogenes*, biologically active substance, embryonic tissues, micro-organisms growth stimulator, cultivation, biological properties of the microbe, vaccine.

Abstract: In the production of vaccines, there is a decrease in the intensity of bacterial mass accumulation often. The reason for this problem is a decrease in the quality of raw materials for nutrient media. In the production of vaccines against listeriosis in farm animals, we have proposed biologically active substances based on embryonic quail tissues, which have potential stimulating properties with respect to listeria. The aim of the study was a comparative evaluation of the growth-stimulating effect of FGEP and CPMP on *Listeria monocytogenes* (vaccine strain «AUF»). During of the study the optimal stimulating dose of the studied substances was established. It is 1 % to the volume of Hottinger agar. The best stimulating effect to *L. monocytogenes* has CPMP, the addition of which to the Hottinger agar increases the number of colonies by a factor of 1,7 compared with the medium without additives (control). There is no negative effect of substances at a dose of 1 % on the morphological, cultural, tinctorial, biochemical, hemolytic properties and mobility of *L. monocytogenes*. The data obtained open up prospects for using the investigated growth stimulants in the vaccine production cycle against listeriosis in farm animals.

Сведения об авторах:

Сизоненко Марина Николаевна, младший научный сотрудник проблемной научно-исследовательской лаборатории (ПНИЛ) экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии и иммунобиотехнологии ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет», д. 1, ул. Пушкина, г. Ставрополь, Россия, 355009; e-mail: risha_veresk@mail.ru

Тимченко Людмила Дмитриевна, доктор вет. наук, профессор, заведующая проблемной научно-исследовательской лабораторией (ПНИЛ) экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии и иммунобиотехнологии ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»; д. 1, ул. Пушкина, г. Ставрополь, Россия, 355009; e-mail: l_timchenko@mail.ru

Ржепаковский Игорь Владимирович, канд. биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник проблемной научно-исследовательской лаборатории (ПНИЛ) экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии, иммунобиотехнологии ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»; д. 1, ул. Пушкина, г. Ставрополь, Россия, 355009; e-mail: 78igorr@mail.ru

Катунина Людмила Семеновна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории питательных сред ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», г. Ставрополь.

Author affiliation:

Sizonenko Marina Nikolaevna, Junior Researcher of problem scientific-research Laboratory «Experimental immunomorphology, immunopathology, immunobiotechnology» FSAEI of HE «North-Caucasian Federal University»; house 1, Pushkin str., Stavropol city, 355009, Russia; e-mail: risha_veresk@mail.ru

Timchenko Lyudmila Dmitrievna, D. Sc. in Veterinary Medicine, Professor, Head of problem scientific-research Laboratory «Experimental immunomorphology, immunopathology, immunobiotechnology» FSAEI of HE «North-Caucasian Federal University»; house 1, Pushkin str., Stavropol city, 355009, Russia; e-mail: l_timchenko@mail.ru

Rzhepakovsky Igor Vladimirovich, Ph. D. of Biology, Associate Professor, Leading Researcher of problem scientific-research Laboratory «Experimental immunomorphology, immunopathology, immunobiotechnology» FSAEI of HE «North-Caucasian Federal University»; house 1, Pushkin str., Stavropol city, 355009, Russia; e-mail: 78igorr@mail.ru

Katunina Lyudmila Semenovna, Ph. D. of Biology, Senior Researcher of Laboratory culture media Stavropol Research Anti-plague Institute; house 13–15, Sovetskaya str., Stavropol city, 355035, Russia