

МРНТИ 68.41.35

З.А. ЛАТЫПОВА*, Л.С. АУБЕКЕРОВА, Ш.Т. САРБАКАНОВА,
Р.А. КЕРИМБАЕВА, Е.Б. ШАКИБАЕВ
ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»,
Алматы, Казахстан
*zalinal@list.ru

ХАРАКТЕРИСТИКА *LISTERIA MONOCYTOGENES*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МЯСА РАЗНЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ

doi: 10.53729/MV-AS.2022.01.07

Аннотация

Проведено исследование выделенной культуры листерий, полученной из мяса животных, произведенного в разных областях Казахстана, изучены их культурально-морфологические, биохимические свойства и антибиоткорезистентность. Всего проанализировано 50 проб мяса разного вида (говядина, баранина, свинина, конина и курица). В исследуемых пробах мяса был обнаружен наиболее значимый для общественного здравоохранения патоген *Listeria monocytogenes*. Полученные культуры *Listeria monocytogenes* проверяли на антимикробную резистентность к 14 антибиотикам. Выделенная культура *Listeria monocytogenes* проявила устойчивость к 6 антибиотикам: ампициллину (10 мкг/диск), цефадроксилу (30 мкг/диск), тетрациклину (30 мкг/диск), амоксициллину (10 мкг/диск), цефиксиму (5 мкг/диск) и полимиксину -Б (100 мкг/диск).

Ключевые слова: пищевая безопасность, мясо, *Listeria monocytogenes*, антибиоткорезистентность

В результате появления эмерджентных патогенов значительно возросли риски заболеваний, связанных с употреблением пищи, особенно у людей с ослабленным иммунитетом (дети, пожилые люди, онкобольные и т.д.). Одной из таких эмерджентных инфекций считается листериоз. *Listeria monocytogenes* является возбудителем листериоза у человека и животных. В настоящее время данное заболевание считается одним из наиболее значимых пищевых инфекций в мире. Основными факторами передачи листериоза являются молоко и молочные продукты, мясо животных и птиц, овощи и морепродукты [1,2,3,4,5,6]. *Listeria monocytogenes* может передаваться через обсемененные продукты питания на любом этапе их получения и переработки. Главную роль среди них играют молочные продукты, непастеризованное или некачественно пастеризованное молоко, сыры, масло и мороженое. Также контаминируются листериями пищевые продукты животного происхождения, обнаруживается патоген в варёных колбасах и сосисках, сыровяленых и сырокопчёных мясопродуктах, в полуфабрикатах.

В Республике Казахстан листериоз подлежит регистрации с 2002 года, с момента выхода приказа Министерства Здравоохранения и Министерства сельского хозяйства № 946/326 «О профилактике листериоза в Республике Казахстан».

По данным Мусаевой А.К. с соавторами [7] в стационарно неблагополучных по листериозу животноводческих хозяйствах Алматинской области, имеющих крупный и мелкий рогатый скот, листериоз обнаруживается у 10–30 % исследованных животных. В Казахском научно-исследовательском ветеринарном институте из 10 проб, предоставленных из хозяйств Алматинской области, в 2009 году выделен возбудитель листериоза в двух случаях (от 7 месячного теленка и 2-хлетней коровы), в 2011 году – в двух случаях (от 3-хлетней коровы и годовалой овцы); в 2014 году – в трех случаях (от 6 месячного теленка, овцы и 8 месячного

ягненка); а в 2015 году – в двух случаях (от коровы и быка-производителя), а в 2019 году – в десяти случаях (от телят, ягнят и свиней). В результате собственных исследований 50 проб мяса разного вида животных (говядина, баранина, свинина, конина и курица), произведенного в разных областях Казахстана (Алматинская, Западно-Казахстанская и Северо-Казахстанская области) в 8 пробах (3 пробы говядины, 4 пробы свинины и 1 проба баранины) была обнаружена *Listeria monocytogenes*.

Целью данного исследования было изучение свойств штаммов *Listeria monocytogenes*, выделенных из мяса разных видов животных.

Материалы и методы. Диагностические препараты, питательные среды и реактивы: питательные среды (МПБ (мясо-пептонный бульон), МПА (мясо-пептонный агар), агар МПБ (мясо-пептонный бульон), МПА (мясо-пептонный агар), агар для идентификации листерий Palsam, кровяной агар, агар Мюллера-Хинтона, растворы красителей (окраска по Граму), среды Гисса, стерильная дистиллированная вода, физиологический раствор.

Изучение биологических свойств выделенных микроорганизмов проводили в соответствии с правилами работы, согласно утвержденным приказам и инструкциям к наборам.

Применялись следующие методы исследования: бактериологический, биохимический.

Всего для исследований отобрано 50 проб мяса разных видов животных (говядина, баранина, свинина, конина и курица). Пробы мяса отбирались на рынках в соответствии с ГОСТ Р 51447-99 (ИСО 3100-1-91).

Микробиологические исследования мяса проводили согласно ГОСТ Р 54354-2011 «Мясо и мясные продукты. Общие требования и методы микробиологического анализа».

Отбор проб осуществляли из цельной туши в количестве 50 г. Далее из каждой пробы мяса из глубины мышечных волокон отбирали кусочки размером 1х1 см. Опытные образцы измельчали ножницами и растирали в ступке до однородного состояния. Навеску мяса помещали в пробирку с заранее приготовленным МПБ и встряхивали. Полученную суспензию высевали на чашки Петри с МПА. Чашки Петри с посевами помещали в термостат на 24 часа при температуре 37 °С. После 24 часов культивирования из выращенного материала делали мазки и окрашивали по Граму. Для этого фиксированный мазок окрашивали карболовым раствором генцианового фиолетового в течение 1-2 минут. В течение 1 минуты обрабатывали мазок раствором Люголя, обесцвечивали спиртом в течение 10-20 сек, промывали водой. Затем окрашивали мазок водным раствором фуксина Пфейффера в течение 1-2 минуты.

Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам проводили диско-диффузным методом с применением бумажных дисков с антибиотиками и методом серийных разведений антибиотика в плотной среде (агар Мюллера-Хинтона) (МУК4.2 1890-04 МЗ РФ, 2004). Результаты интерпретировали согласно инструкции к дискам. Чувствительность антибиотиков оценивали по диаметру зоны задержки роста, на основании чего листерии характеризовали как чувствительные, умеренно чувствительные или устойчивые. Препараты для определения антибиотикорезистентности выбирали с учетом спектра антимикробной активности микроорганизмов, а также доступных и часто используемых в ветеринарной практике. Также учитывали природную устойчивость листерий к антибиотикам. После инкубации в течение 20 часов измеряли диаметр зоны торможения роста микроорганизма и относили выделенные микроорганизмы к чувствительным,

умеренно чувствительным или резистентным к антибиотикам.

Для определения чувствительности к антибиотикам использовали суточную бульонную культуру листерий, не контаминированную посторонней микрофлорой. В работе использовали стандартные бумажные диски с антибиотиками: амикацином (30 мкг/диск), ампициллином (10 мкг/диск), цефадроксилом (30 мкг/диск), норфлоксацином (10 мкг/диск), клиндамицином (2 мкг/диск), тетрациклином (30 мкг/диск), ципрофлоксацином (5 мкг/диск), амоксициллином (10 мкг/диск), тобрамицином (10 мкг/диск), ломефлоксацином (10 мкг/диск), нитиллином (30 мкг/диск), офлоксацином (5 мкг/диск), цефиксимом (5 мкг/диск), полимиксином – Б (100 мкг/диск).

В стерильные чашки Петри диаметром 100 мм разливали по 25 мл МПА. Перед посевом чашки Петри с агаром выдерживали в термостате в течение 48 часов. Бактериальную суспензию (суточную бульонную культуру) в количестве 0,1 см³ наносили на поверхность агара и равномерно распределяли шпателем, после чего стерильным пинцетом накладывали диски, пропитанные антибиотиками. В каждую чашку Петри помещали 7 дисков. После аппликации дисков чашки Петри инкубировали при температуре 37 °С в течение 18-20 часов. Оценку результатов проводили по наличию зон задержки роста микроорганизмов вокруг дисков. Отсутствие роста тест-организма на расстоянии более 15 мм от диска с антибиотиком указывало на чувствительность культуры к данному антибиотику [8]. Если испытуемый микроорганизм развивался в непосредственной близости от диска, пропитанного антибиотиком, то данный микроорганизм оценивали, как устойчивый к его действию. Диаметр зон задержки роста с учетом диаметра самого диска измеряли с точностью до 1 мм.

Результаты и обсуждение. *Культурально-морфологические свойства.* Колонии листерий на плотной питательной среде мелкие, с приподнятыми краями, с заостренным или приподнятым центром, края колоний ровные, поверхность шероховатая с блестящим белым или голубоватым оттенком (S-форма) (рисунок 1).

Микроскопия мазков полученной культуры - мелкие грамположительные палочки с закругленными концами, расположенные попарно (рисунок 2).

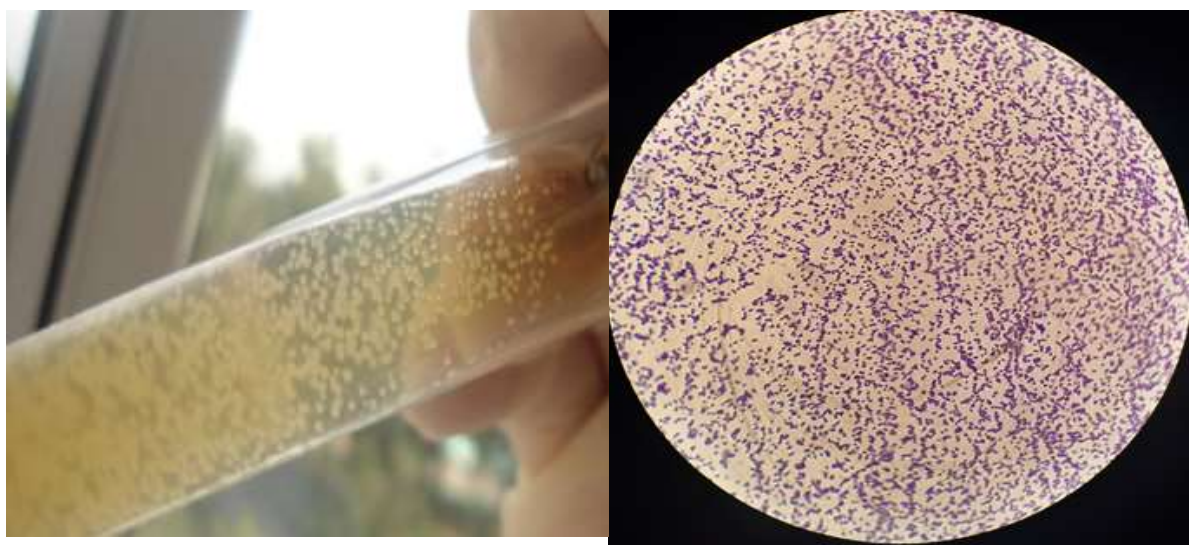


Рисунок 1 - Рост *L. monocytogenes* на МПА

Рисунок 2 - *L. monocytogenes* в мазке, окрашенном по Граму

Через 24 ч после появления роста колоний производили пересев на селективную диагностическую среду Palsam. Через 24 часа инкубирования на селективной среде Palsam наблюдали обильный рост мелких, серовато-зелёных или оливково-зелёных колоний с чёрным ореолом, диаметром 0,5-1,0 мм. Через 48 часов колонии приобретали зеленую окраску, имели углубление, окруженное чёрным ореолом. При формировании сплошного роста производили пересев штрихами на 2-3 чашки Петри с селективной дифференциально-диагностической средой для получения изолированных колоний (рисунок 3).



Рисунок 3 – Рост листерий на селективной среде Palsam

Биохимические свойства. У выделенных штаммов листерий выраженная каталазная активность (листерии расщепляли перекись водорода с образованием O_2), штаммы ферментировали глюкозу, мальтозу, манит. Бактерии не ферментировали лактозу, арабинозу, дульцит, инулин, сорбит, не образовывали индол и сероводород, не разжижали желатин, не восстанавливали нитраты в нитриты (рисунок 4).



Рисунок 4 - Биохимические свойства *L. monocytogenes* (1 - тест на каталазную активность, 2-посев суточных культур на среды Гисса: слева направо: 1 - лактоза, 2 - манит, 3 - мальтоза и 4 - глюкоза)

Антибиотикочувствительность. Изучена чувствительность к 14 антибактериальным препаратам 8 штаммов листерий, выделенных из мяса. Результаты исследований приведены в таблице.

Таблица – Чувствительность к антибиотикам штаммов листерий, выделенных из мяса (говядина, свинина, баранина)

№	Антибиотик	Содержание в диске, мкг	Зона задержки роста, мм	Чувствительность
1	Амикацин АК ³⁰	30	22	Ч
2	Ампициллин АР ¹⁰	10	-	R
3	Цефадроксил CFR ³⁰	30	-	R
4	Норфлоксацин NX ¹⁰	10	23	Ч
5	Клиндамицин CD ²	2	10	УЧ
6	Тетрациклин ТЕ ³⁰	30	-	R
7	Ципрофлоксацин CFL ⁵	5	20	Ч
8	Амоксициллин АХ ¹⁰	10	-	R
9	Тобрамицин ТОВ ¹⁰	10	11	УЧ
10	Ломефлоксацин LOM ¹⁰	10	22	Ч
11	Нитиллин NET ³⁰	30	15	УЧ
12	Офлоксацин OF ⁵	5	19	Ч
13	Цефиксим CFM ⁵	5	-	R
14	Полимиксин –Б РВ ^{100U}	100	-	R
Примечание: Ч-чувствительный; УЧ- умеренно чувствительный				

Из таблицы видно, что все 8 штаммов *L. Monocytogenes*, выделенных из мяса, проявили чувствительность к антибиотикам фторхинолонового ряда (норфлоксацину (10 мкг/диск), ломефлоксацину (10 мкг/диск), офлоксацину (5 мкг/диск) и аминогликозидам (амикацину (30 мкг/диск)), умеренно чувствительны к клиндамицину (2 мкг/диск), тобрамицину (10 мкг/диск), нитиллину (30 мкг/диск). 3 культуры листерий проявили резистентность к ампициллину (10 мкг/диск), 1 - цефадроксилу (30 мкг/диск), 1-тетрациклину (30 мкг/диск), 2- амоксициллину (10 мкг/диск), 1 -цефиксиму (5 мкг/диск) и 1 - полимиксину (100 мкг/диск).

Заключение. Все выделенные штаммы *Listeria* обладали типичными культурально-морфологическими и биохимическими свойствами (характер роста, морфология патогена, биохимические свойства). Установлена резистентность листерий к 6 антибиотикам: ампициллину, цефадроксилу, тетрациклину, амоксициллину, цефиксиму, полимиксину - Б.

Присутствие *Listeria* в образцах мяса, наличие антибиотикорезистентности у штаммов, свидетельствует о высокой опасности для здоровья людей мясной продукции, продаваемой на рынках.

Финансирование

Работа выполнена в рамках ПЦФ МСХ РК (2018-2020 гг.) по проекту «Разработать программу контроля пищевой безопасности животноводческой продукции на всех стадиях непрерывной цепочки «производство - потребление».

Литература:

- 1 Ефимочкина Н.Р. Некоторые закономерности появления эмерджентных пищевых патогенов // Вопросы питания, 2006. Т.75, № 4. С. 9-15.
- 2 Листерия, передаваемый через продукты питания // Бюллетень ВОЗ. 1988. Т.66;

С.1-4.

3 Кнize А.В., Бузун А.И., Шарма Р.К. Эпизоотическая ситуация по листериозу в странах мира и России // Материалы Международного симпозиума "Листериоз на рубеже тысячелетий". Российская Академия сельскохозяйственных наук. ВНИИВВМ. Покров. 1999. С. 118-123. 2.

4 Котляров В.М. Проблема листериоза на рубеже тысячелетий // Там же. С. 48-52.

5 Зайцева Е.А., Федянина Л.Н. О неспецифической профилактике листериоза // Тихоокеанский медицинский журнал, Владивосток, 2010, №4, С. 5-7.

6 Пискунов А.В. Усовершенствование методов выделения и идентификации *Listeria monocytogenes* // Дисс. на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук, Владимир, 2013, с.27.

7 Мусаева А.К., Егорова Н.Т., Даугалиева А.Т., Досанова А.К. Диагностика листериоза животных и биологические свойства листерий // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. Москва, 2016, № 3.

8 Карпов Т.И, Ермолева С.А., Лопырев И.В. Новые методы идентификации *Listeria monocytogenes* // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2001, № 3. – С. 266-273.

З.А. ЛАТЫПОВА*, Л.С. АУБЕКЕРОВА, Ш.Т. САРБАКАНОВА,
Р.А. КЕРИМБАЕВА, Е.Б. ШАКИБАЕВ

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС, Алматы, Қазақстан
*zalinal@list.ru

ӨРТҮРЛІ ЖАНУАРЛАР ТҮРЛЕРІНІҢ ЕТІНЕН БӨЛІНІП АЛЫНҒАН *LISTERIA MONOCYTOGENES* СИПАТТАМАСЫ, АЛМАТЫ. «ҚАЗАҚ ҒЫЛЫМИ-ЗЕРТТЕУ ВЕТЕРИНАРИЯ ИНСТИТУТЫ» ЖШС

Түйін

Сипаттамалық зерттеу Қазақстанның әр түрлі аймақтарында өндірілген жануарлар етінен бөлінген листерий штаммдарын бөліп алу, анықтау және сипаттау мақсатында жүргізілді. Барлығы 50 түрлі сынама талданды (сиыр еті, қой еті, шошқа еті, жылқы еті және тауық еті). Алынған сынамаларда қоғамдық денсаулыққа әсері жоғары *Listeria monocytogenes* патогені анықталды. Алынған *Listeria monocytogenes* культурасын 14 түрлі антибиотикке қарсы төзімділігі тексерілді. Листерийден бөлінген культура 6 антибиотиктерге төзімділік көрсетті: ампициллин (10 мкг/диск), цефадроксил (30 мкг/диск), тетрациклин (30 мкг/диск), амоксициллин (10 мкг/диск), цефиксим (5 мкг/диск), полимиксин-б (100 мкг/диск).

Түйін сөздер: тағам қауіпсіздігі, ет, *Listeria monocytogenes*, антибиотикке төзімділік.

IRSTI 68.41.35

Z.A. LATYPOVA*, L.S. AUBEKEROVA, Sh.T. SARBAKANOVA,
R.A. KERIMBAYEVA, E.B. SHAKIBAEV
Kazakh Scientific Research Veterinary Institute LLP, Almaty, Kazakhstan
*zalinal@list.ru

CHARACTERISTICS OF *LISTERIA MONOCYTOGENES* ISOLATED FROM MEAT OF DIFFERENT ANIMAL SPECIES

doi: 10.53729/MV-AS.2022.01.07

Summary

A study of the isolated listeria culture obtained from animal meat produced in different regions of Kazakhstan was conducted, their cultural-morphological, biochemical properties and antibiotic resistance were studied. In total, 50 samples of meat of various types (beef, lamb, pork, horse meat and chicken) were analyzed. The pathogen *Listeria monocytogenes*, the most significant for public health, was found in the studied meat samples.

The obtained cultures of *Listeria monocytogenes* were tested for antimicrobial resistance to 14 antibiotics. The isolated culture of *Listeria monocytogenes* showed resistance to 6 antibiotics: ampicillin (10 mcg/disc), cefadroxyl (30 mcg/disc), tetracycline (30 mcg/disc), amoxicillin (10 mcg/disc), cefixim (5 mcg/disc) and polymyxin-B (100 mcg/disc).

Keywords: food safety, meat, *Listeria monocytogenes*, antibiotic resistance.

Because of the appearance of emergent pathogens, the risks of diseases associated with food consumption have significantly increased, especially in people with weakened immunity (children, the elderly people, cancer patients, etc.). Listeriosis is considered one of such emergent infections. *Listeria monocytogenes* is the causative agent of listeriosis in humans and animals. Currently, this disease is considered one of the most significant food infections in the world. The main factors of listeriosis transmission are milk and dairy products, animal and poultry meat, vegetables and seafood [1, 2, 3, 4, 5, 6]. *Listeria monocytogenes* can be transmitted through seeded foods at any stage of their production and processing. Dairy products, unpasteurized or poorly pasteurized milk, cheese, butter and ice cream play the main role among them. Food products of animal origin are also could be contaminated with listeria; a pathogen is found in boiled sausages and sausages, dried and smoked meat products, in semi-finished products.

In the Republic of Kazakhstan, listeriosis has been subject to registration since 2002, since the release of the order of the Ministry of Health and the Ministry of Agriculture No. 946/326 "On the prevention of listeriosis in the Republic of Kazakhstan".

According to Musayeva A.K. and co-authors, listeriosis is found in 10-30% of the animals studied in livestock farms in Almaty region that are permanently disadvantaged by listeriosis, having large and small cattle. In the Kazakh Scientific Research Veterinary Institute, from 10 samples provided from farms of the Almaty region of the Republic of Kazakhstan in 2009, the causative agent of listeriosis was isolated in two cases (from a 7-month-old calf and a 2-year-old cow), in 2011 - in two cases (from a 3-year-old cow and a one-year-old sheep); in 2014 – in three cases (from a 6-month-old calf, sheep and 8-month-old lamb); and in 2015 - in two cases (from a cow and a bull-producer), and in 2019 - in 10 cases (from calves, lambs and pigs). As a result of our own research, 50 samples of meat of different types of animals (beef, lamb, pork, horse meat and chicken) produced in different regions of Kazakhstan (Almaty, West Kazakhstan and North

Kazakhstan regions) in 8 samples (3 samples of beef, 4 samples of pork and 1 sample of lamb) *Listeria monocytogenes* was detected.

The purpose of this study was to investigate the properties of *Listeria monocytogenes* strains isolated from meat of different animal species.

Materials and methods. Diagnostic preparations, nutrient media and reagents: nutrient media (MPB (meat-peptone broth), MPA (meat-peptone agar), MPB agar (meat-peptone broth), MPA (Meat-peptone agar), Palcam *Listeria* Identification Agar, Blood Agar, Muller-Hinton agar, Dye solutions (Gram staining), Hiss media, sterile distilled water, saline solution.

The study of the biological characteristics of the isolated microorganisms was carried out in accordance with the rules of operation, according to the approved orders and instructions for the kits.

The following research methods were used: bacteriological, biochemical.

In total, 50 samples of meat of different animal species (beef, lamb, pork, horse meat and chicken) were selected for research. Meat samples were taken in the markets in accordance with GOST R 51447-99 (ISO 3100-1-91).

Microbiological studies of meat were carried out according to GOST R 54354-2011 "Meat and meat products. General requirements and methods of microbiological analysis".

Sampling was carried out from a whole carcass in the amount of 50 g. Further, pieces of 1x1 cm in size were taken from each meat sample from the depth of muscle fibers. The prototypes were crushed with scissors and ground in a mortar to a homogeneous state. The meat sample was placed in a test tube with pre-prepared BCH and shaken. The resulting suspension was sown on Petri dishes with MPA. Petri dishes with crops were placed in a thermostat for 24 hours at a temperature of 37 ° C. After 24 hours of cultivation, smears were made from the grown material and colored according to Gram. To do this, a fixed smear was stained with a carbolic solution of gentian violet for 1-2 minutes. The smear was treated with Lugol solution for 1 minute, discolored with alcohol for 10-20 seconds, washed with water. Then the smear was stained with an aqueous solution of fuchsin Pfeiffer for 1-2 minutes.

Determination of the sensitivity of microorganisms to antibiotics was carried out by the disco-diffuse method using paper disks with antibiotics and the method of selective dilution of an antibiotic in a dense medium (Muller-Hinton agar) (MUK4.2 1890-04 of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2004). The results were interpreted according to the instructions for the disks. The sensitivity of antibiotics was assessed by the diameter of the growth retardation zone, on the basis of which *Listeria* was characterized as sensitive, moderately sensitive or resistant. Preparations for the determination of antibiotic resistance were selected taking into account the spectrum of antimicrobial activity of microorganisms, as well as available and frequently used in veterinary practice. The natural resistance of *Listeria* to antibiotics was also taken into account. After incubation, the diameter of the microbial growth inhibition zone was measured for 20 hours and the isolated microorganisms were classified as sensitive, moderately sensitive or resistant to antibiotics.

To determine the sensitivity to antibiotics, a daily broth culture of *Listeria* was used, which was not contaminated with extraneous microflora. Standard paper discs with antibiotics were used in the work: amikacin (30 mcg/disc), ampicillin (10 mcg/disc), cefadroxyl (30 mcg/disc), norfloxacin (10 mcg/disc), clindamycin (2 mcg/disc), tetracycline (30 mcg/disc), ciprofloxacin (5 mcg/disc), amoxicillin (10 mcg/disc), tobramycin (10 mcg/disc), lomefloxacin (10 mcg/disc), nitillin (30 mcg/disc), ofloxacin (5 mcg/disc), cefixim (5 mcg/disc), polymixin -B (100 mcg/disc).

25 ml MPA were poured into sterile Petri dishes with a diameter of 100 mm. Before sowing, Petri dishes with agar were kept in a thermostat for 48 hours. Bacterial suspension (daily broth culture) in an amount of 0.1 cm^3 was applied to the surface of the agar and evenly distributed with a spatula, after which disks impregnated with antibiotics were applied with sterile tweezers.

7 discs were placed in each Petri dish. After applying the discs, Petri dishes were incubated at a temperature of 37°C for 18-20 hours upside down. The results were evaluated based on the presence of microbial growth retardation zones around the disks. The absence of growth of the test organism at a distance of more than 15 mm from the disk with the antibiotic indicated the sensitivity of the culture to this antibiotic [7, 8]. If the test microorganism developed in the immediate vicinity of a disk impregnated with an antibiotic, that this microorganism was evaluated as resistant to its action. The diameter of the growth retardation zones, taking into account the diameter of the disk itself, was measured with an accuracy of 1 mm.

Results and discussion. *Cultural and morphological properties.* *Listeria* colonies on a dense nutrient medium are small, with raised edges, with a pointed or raised center, the edges of the colonies are smooth, the surface is rough with a shiny white or bluish tint (S-shape) (Figure 1).

Microscopy of smears of the resulting culture - small gram-positive rods with rounded ends arranged in pairs. (Figure 2).

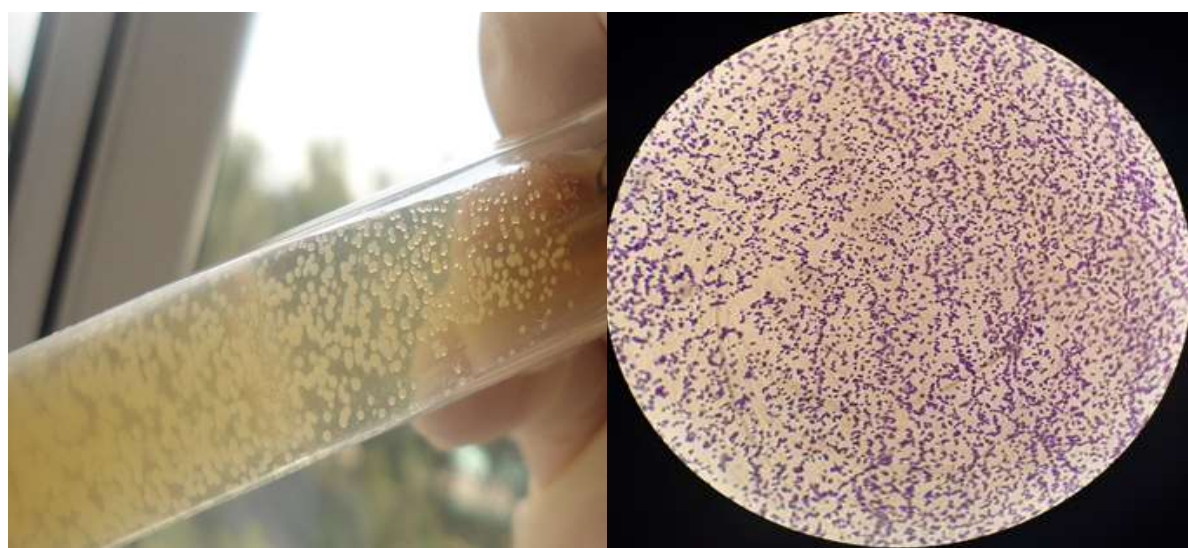


Figure 1 - Growth of *L.monocytogenes* by MPA

Figure 2 - *L. monocytogenes* in a Gram-stained smear

24 hours after the appearance of colony growth, transplanting was performed on a selective diagnostic medium Palcam. After 24 hours of incubation on a selective medium of Palcam, abundant growth of small, grayish-green or olive-green colonies with a black halo, 0.5-1.0 mm in diameter, was observed. After 48 hours, the colonies acquired a green color, had a recess surrounded by a black halo. During the formation of continuous growth, strokes were transplanted into 2-3 Petri dishes with a selective differential diagnostic medium to obtain isolated colonies (Figure 3).



Figure 3 – Listeria growth on selective Palcam medium

Biochemical properties. The isolated strains of listeria have pronounced catalase activity (listeria split hydrogen peroxide to form O₂), the strains fermented glucose, maltose, manitol. The bacteria did not ferment lactose, arabinose, dulcitol, inulin, sorbitol, did not form indole and hydrogen sulfide, did not dilute gelatin, did not reduce nitrates to nitrites (Figure 4).

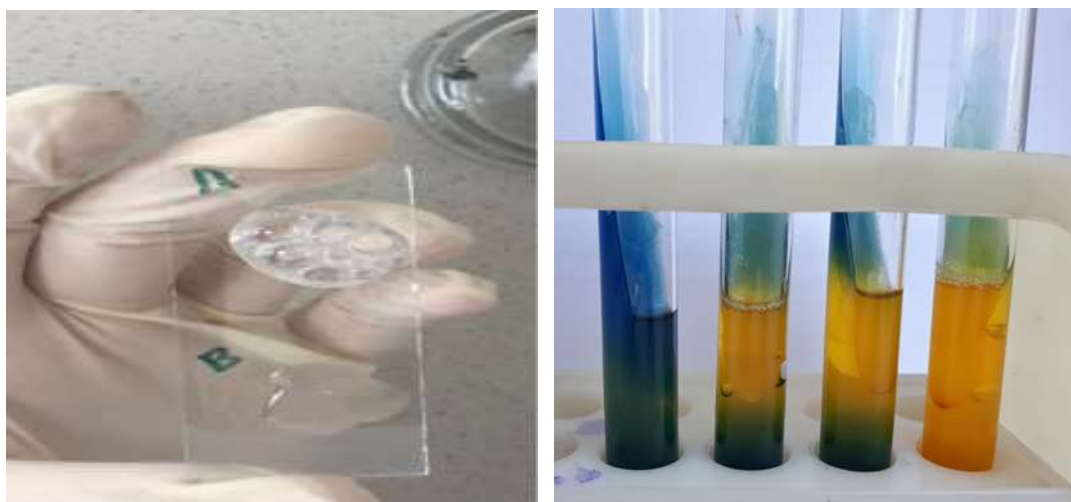


Figure 4 - Biochemical characteristics of *L. monocytogenes* (1 - test for catalase activity, 2 - sowing of daily crops on Gis media: from left to right: 1 - lactose, 2 - manitol, 3 - maltose and 4 - glucose)

Antibiotic sensitivity. Sensitivity to 14 antibacterial drugs of 8 strains of listeria isolated from meat was studied. The results of the studies are shown in the table.

Table – Antibiotic sensitivity of listeria strains isolated from meat (beef, pork, lamb)

№	Antibiotic	The content in the disk, mcg	Growth retardation zone, mm	Sensitivity
1	2	3	4	5
1	Amikacin AK ³⁰	30	22	S
2	Ampicillin AR ¹⁰	10	-	R

Continuation of the table

1	2	3	4	5
3	Cefadroxyl CFR ³⁰	30	-	R
4	Norfloxacin NX ¹⁰	10	23	S
5	Clindamycin CD ²	2	10	MS
6	Tetracycline TE ³⁰	30	-	R
7	Ciprofloxacin CFL ⁵	5	20	S
8	Amoxicillin AX ¹⁰	10	-	R
9	Tobramycin TOB ¹⁰	10	11	MS
10	Lomefloxacin LOM ¹⁰	10	22	S
11	Nitillin NET ³⁰	30	15	MS
12	Ofloxacin OF ⁵	5	19	S
13	Cefixime CFM ⁵	5	-	R
14	Polymyxin-B PB ^{100U}	100	-	R
Note: S-sensitive; MS- moderately sensitive; R - resistant.				

The table shows that all 8 strains of *L. Monocytogenes* isolated from meat showed sensitivity to fluoroquinolone antibiotics (norfloxacin (10 mcg/disc), lomefloxacin (10 mcg/disc), ofloxacin (5 mcg/disc) and aminoglycosides (amikacin (30 mcg/disc)), moderately sensitive to clindamycin (2 mcg/disc), tobramycin (10 mcg/disc), nitillin (30 mcg/disc). 3 listeria cultures showed resistance to ampicillin (10 mcg/disc), 1 - cefadroxyl (30 mcg/disc), 1-tetracycline (30 mcg/disc), 2- amoxicillin (10 mcg/disc), 1 -cefixim (5 mcg/disc) and 1 - polymyxin (100 mcg/disc).

Conclusion. All isolated *Listeria* strains had typical cultural-morphological and biochemical properties (growth pattern, pathogen morphology, biochemical properties). *Listeria* resistance to 6 antibiotics has been established: ampicillin, cefadroxyl, tetracycline, amoxicillin, cefixim, polymyxin - B.

The presence of *Listeria* in meat samples, the presence of antibiotic resistance in strains, indicates a high risk to human health of meat products sold on the markets.

Financing

The work was carried out within the framework of the targeted financing program of the Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan (2018-2020) under the project "To develop a program for monitoring the food safety of livestock products at all stages of the continuous chain "production - consumption".

References:

- 1 Efimochkina N.R. Nekotorye zakonomernosti pojavlenija jemerdzhentnyh pishhevyh patogenov; Voprosy pitaniya, 2006. T.75, № 4. S. 9; 15.
- 2 Listerioz, peredavaemyj cherez produkty pitaniya; Bjulleten' VOZ. 1988. T.66; S.1;4.
- 3 Knize A.V., Buzun A.I., Sharma R.K. Jepizooticheskaja situacija po listeriozu v stranah mira i Rossii; Materialy Mezhdunarodnogo simpoziuma "Listerioz na rubezhe tysjacheletij". Rossijskaja Akademiya sel'skohozjajstvennyh nauk. VNIIVVM. Pokrov. 1999. S. 118;123. 2.
- 4 Kotljarov V.M. Problema listerioza na rubezhe tysjacheletij; Tam zhe. S. 48;52.

5 Zajceva E.A., Fedjanina L.N. O nespecificheskoj profilaktike listerioza; Tihookeanskij medicinskij zhurnal, Vladivostok, 2010, №4, S. 5;7.

6 Piskunov A.V. Usovershenstvovanie metodov vydelenija i identifikacii Listeria monocytogenes; Diss. na soiskanie uchenoj stepeni kandidata veterinarnyh nauk, Vladimir, 2013, s.27.

7 Musaeva A.K., Egorova N.T., Daugalieva A.T., Dosanova A.K. Diagnosis of animal listeriosis and biological properties of Listeria // International Journal of Applied and Fundamental Research. Moscow, 2016, No. 3.

8 Karpov T.I., Ermoleva S.A., Lopyrev I.V. Novye metody identifikacii Listeria monocytogenes; Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija.; 2001, № 3.; S. 266; 273.