

УДК 579.869.1:635

ФОРМИРОВАНИЕ БИОПЛЕНОК *LISTERIA MONOCYTOGENES* ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С КЛЕТКАМИ ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР

Г.В. ГОДОВА², В.И. ПУШКАРЕВА¹, Е.А. КАЛАШНИКОВА²,
А.А. ОВОД², Л.В. ДИДЕНКО¹, А.Н. КНЯЗЕВ², С.А. ЕРМОЛАЕВА¹

(¹ ФГБУ Научно-исследовательский институт эпидемиологии
и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Министерства здравоохранения РФ,
² РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева)

С помощью каллусов пекинской капусты (*Brassica pekinensis* L.) и листового салата (*Lactuca sativa* L.) изучены стадии формирования биопленок *Listeria monocytogenes* EGD и его аттенуированного мутанта, лишённого листериолизина O, — *L. monocytogenes* Δ hly. Методами световой и сканирующей электронной микроскопии выявлено, что биопленки на поверхности каллусов формируются чрезвычайно быстро (18-24 ч). При формировании биопленок мистериями на неорганической поверхности образуется менее тонкий слой матрикса, при этом отмечен гетероморфизм культур мистерий. Гистологические исследования инфицированных каллусов выявили фитопатогенное воздействие на модельные растения *L. monocytogenes* EGD, в отличие от *L. monocytogenes* Δ hly. Контаминация овощных культур вирулентными листериями представляет потенциальную эпидемиологическую угрозу.

Ключевые слова: биопленки, *Listeria monocytogenes*, каллусы, листериолизин O.

Теоретические предпосылки о патогенных бактериях, общих для млекопитающих и растений, были сформулированы В.Ю. Литвиным [5, 6] еще в 90-х гг. прошлого века, однако доказательной экспериментальной базы на то время не имелось, поэтому развитие данного направления началось лишь в последние десятилетия, причем независимо в разных странах — преимущественно в США, а также в России [1, 2, 6, 8, 9, 12].

Современная пищевая индустрия направлена на внедрение новых технологий и новых продуктов, которые приводят к изменению пищевого поведения населения, к отказу от национальных традиций в пользу так называемого биогенного питания, а также на внедрение вегетарианства, фаст-фуда, введение в рацион проростков ряда агрокультур: люцерны, бобов, клевера, редиса и других растений, не подвергающихся тепловой обработке, которые наряду с привычными овощными культурами занимают все больший удельный вес в питании современных жителей городов. Следствием структурных изменений в рационе является возникновение вспышек пищевых инфекций, часто неясной этиологии, которые всегда носят резонансный характер и нередко остаются нерасшифрованными, с невыявленными резервуарами и источниками возбудителя [12].

Листерия — тяжелое инфекционное заболевание животных и людей, по современным представлениям, относящееся к классу сапронозов (сапрозоонозов). *Listeria monocytogenes* — грамположительные факультативно-анаэробные палочки

с весьма небольшим набором факторов патогенности (7 белков), основным из которых является белок — листериолизин О, синтезирующийся благодаря гену hly А, который воздействует на цитоплазматическую мембрану клеток как высших, так и низших эукариот (простейших) [10].

Незначительный удельный вес листериоза в структуре инфекций с пищевым путем передачи (от нескольких десятков до 2000 случаев в год) не умаляет значимости проблемы в связи с высокой летальностью — от 26 до 43% [17, 18, 22]. Следует отметить, что заболеванию подвержены лица с иммунодефицитными состояниями, онкологические больные, люди преклонного возраста, дети, беременные женщины и др. Затруднительность этиологической расшифровки листериоза требует специализированных лабораторий, поэтому статистика фиксирует лишь видимые события.

Для листерий характерна убиквитарность: они распространены в различных почвах, богатых гумусом, соленых и пресных водоемах, сточных водах; регулярно выделяются из гидробионтов, от домашних и диких животных — овец, крупного рогатого скота, свиней, собак, кошек, грызунов, что свидетельствует о полигостальности возбудителя. Поскольку основным природным резервуаром листерий, как и других возбудителей сапронозов, служат почвы и водоемы [7, 9], межпопуляционные взаимоотношения в их биоценозах наиболее значимы для циркуляции и резервации данных микроорганизмов.

Важными особенностями листерий являются их психротрофные свойства (способность к размножению при низких положительных температурах), а также устойчивость к замораживанию, высушиванию и воздействию других абиотических факторов. Это лишь подтверждает общность свойств листерий с другими возбудителями сапронозов (иерсинии, кампилобактеры, эризипелотрикссы), некоторыми видами грибов (возбудителями глубоких микозов и т.д.).

Поскольку основной путь заражения листериозом — алиментарный, среди факторов передачи мясные изделия преобладают, однако роль сыров, рыбных продуктов и овощей доказана при расшифровке ряда эпидемических вспышек [13], причем возбудители пищевых инфекций формируют биопленки на продуктах питания, что представляет особую эпидемиологическую опасность [11].

Изучение биопленок как самостоятельное направление в микробиологии началось благодаря появлению нового поколения микроскопов — сканирующего электронного и конфокального сканирующего лазерного (КСЛМ). Последний позволяет получать трехмерное изображение моно- и поливидовых биопленок, формируемых различными микроорганизмами, в режиме реального времени [16].

Давно известна способность бактерий, в том числе патогенных, адгезировать (прикрепляться) на различных поверхностях и субстратах окружающей среды (частицы почвы, ризосфера растений, кутикула ракообразных и др.). Это свойство микроорганизмов универсально: оно проявляется и на «неживых» поверхностях — стекле, пластике, тефлоне и т.д. [19-21], а также на пищевых субстратах и кормах для животных [3, 11].

Представляется важным изучение биопленок возбудителей пищевых инфекций на овощах, не подлежащих тепловой обработке в условиях, имитирующих пищевое производство.

Цель данной работы — изучение взаимодействия *Listeria monocytogenes* с растительными клетками на популяционном и клеточном уровнях, а также возможности формирования биопленки на каллусах овощных культур.

Материалы и методы

В экспериментах использованы: вирулентный штамм *L. monocytogenes* EGDe и его deletированный мутант Δhly с удаленным фактором патогенности — листериолизином O [23]. Листерии культивировали на жидкой и плотной среде ВНИ (Difco), а при высевах из каллусов — на селективной среде Palkam (Hi-media) при температуре 30 °С в течение 1-3 сут.

Идентификацию и биохимические свойства изолятов листерий из растительных тканей оценивали на тест-системах API-Listeria (Bio — Merieux). При сомнительных результатах посевов — с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), с парой праймеров Prs1 — Prs2, являющихся родоспецифическими, направляющих амплификацию фрагмента гена *prs*, кодирующего белок фосфорибозилпирофосфат-синтазу, необходимый в общем метаболизме бактериальной клетки, не связанный с патогенностью. Нуклеотидные последовательности Prs1: gcattg cgt gaa get ggc gca ac; Prs2: sag aag cat ttt cat gaa c. Продукт длиной 220 н.п. получается в ПЦР со всеми *Listeria* spp.

Каллусы разных видов капусты и листового салата выращивали на среде Мурасиге — Скуга [4] в чашках Петри при влажности воздуха 70%, освещенности 5000 люкс в течение 30 сут. Масса посадочного инокулюма растительных клеток составляла 0,25 г.

Для изучения формирования биопленки на каллусных культурах пробоподготовку контаминированных образцов (10^6 м.к./г) осуществляли путем фиксации по Ito-Kamovsky, с последующим напылением слоя золота или углерода толщиной 5 нм с помощью напылительной установки (SPI Inc, США). Препараты анализировались в двухлучевом электронном микроскопе Quanta 200 3D (FEI Company, США).

Заражение каллусов для бактериологических исследований проводили с помощью шприца, вводя бактериальную суспензию в агар под каждый каллус в дозе 10^7 м.к./мл. В качестве контроля оставляли каллусы, под которые вводили по 1,0 мл изотонического раствора NaCl. Посевы исследовали в динамике (через 1-3-5-7 сут. после заражения клеточных культур) путем посева суспензии из гомогенизированных в изотоническом растворе хлористого натрия каллусов (Disperser T 10 basic IKA, Германия) на селективную среду для количественного учета листерий по КОЕ. Перед измельчением каждый каллус отмывали гентамицином (100 мкг/г) для элиминации наружных контаминантов с последующим отмыванием от антибиотика изотоническим раствором.

Для гистологических исследований каллусных тканей фиксация образцов осуществлялась в течение 3 сут. при комнатной температуре в растворе уксусной кислоты и 95%-го этилового спирта в соотношении 3:1, с последующей промывкой тканей в дистиллированной воде. Затем следовала проводка образцов через «батарею спиртов» от 70 до 96 °С для обезвоживания. После обработки смолами и отвердителями образцы подвергались резке на микротоме Reichert-jung (Германия), после чего полученные срезы препарата помещались на предметное стекло и подсушивались в течение 5 мин.

Микроскопические исследования образцов проводили в проходящем свете с помощью микроскопа Axio Imager M1 (Zeiss, Германия) при максимальном увеличении $\times 2000$. Микрофотоснимки сделаны цифровой камерой AxioCam MRm и обработаны с использованием программы Axio Vision.

Статистическая обработка проводилась по программе Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft, 2007).

Результаты

При бактериологическом исследовании инфицированных растительных тканей установлено, что поверхностные смывы с каллусов искомым бактериям не содержали, листерии изолировали только из гомогената ткани. Динамика численности листерий обоих штаммов напоминает параболическую кривую (рис. 1). В первые сутки после заражения листерии штамма EGD, так же как и его изогенного мутанта, проникали в растительные ткани и их концентрация была практически одинаковой — $6,8 \lg \text{KOE}$. В этот период каллусы не изменяли цвета и выглядели как интактные растения. Начиная с 3-х сут., каллусы, зараженные *L. monocytogenes* EGD, прекращали рост, желтели, выявленная численность листерий была высокой и составляла 10^7KOE/г . Образцы каллусов, зараженные аттенуированными листериями, выглядели обычно, однако при посевах гомогената отмечена столь же высокая численность бактерий — 10^7KOE/г . Через 7 дней сокультивирования наблюдалась мацерация и распад тканей каллусов, зараженных *L. monocytogenes*; напротив, каллусы, инфицированные авирулентными листериями, сохраняли нормальный внешний вид и практически прежнюю численность бактерий — 10^7KOE/г .

Таким образом, при изучении динамики численности листерий изогенных штаммов, взаимодействующих с каллусами, установлено, что микроорганизмы хорошо размножались в ассоциации как с живыми, так и с мертвыми растительными клетками каллусной культуры, однако при гибели каллусов, зараженных *L. monocytogenes* EGD, их концентрация не снижалась, по-видимому, бактерии использовали в качестве источника питания лизированные клетки растительных тканей. Аналогичные опыты, проведенные на модели пекинской капусты, выявили сходную динамику роста как вирулентного, так и аттенуированного штаммов листерий в ассоциации с растительными клетками (рис. 2). Интактные контрольные каллусы в течение периода исследований не видоизменялись.

Культуральные, морфологические и биохимические свойства изолятов листерий, полученных в ходе экспериментов, не изменялись, однако скорость роста культуры после посевов замедлялась до 48 ч.

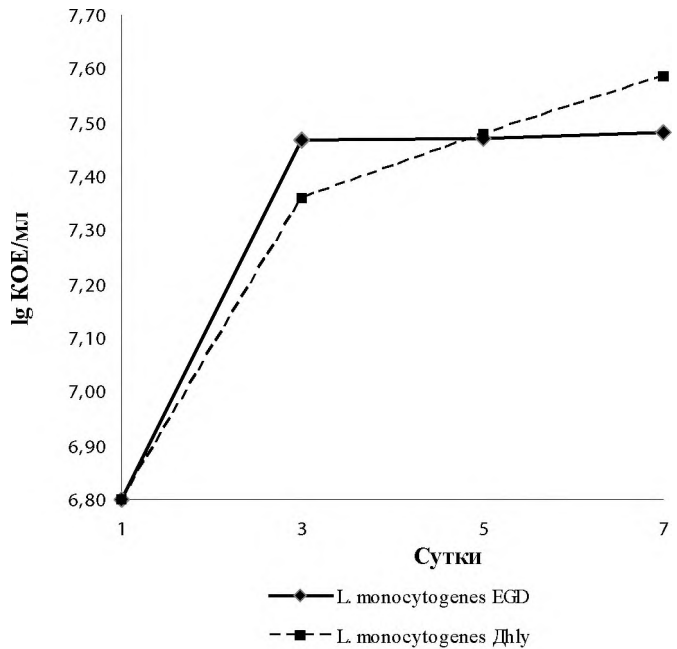


Рис. 1. Численность *L. monocytogenes* в ассоциации с листовым салатом, 25 °C

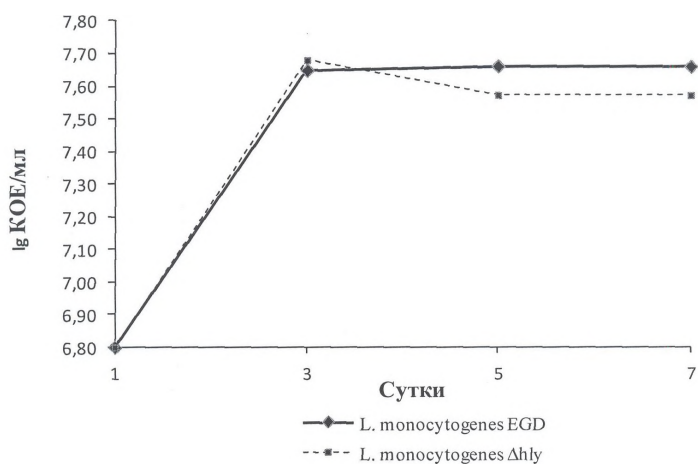
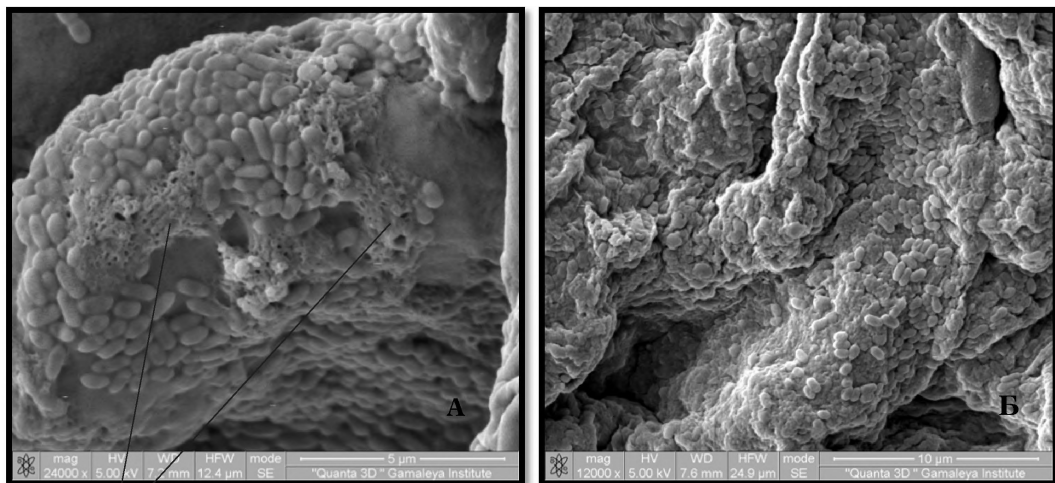


Рис. 2. Численность *L. monocytogenes* в ассоциации с пекинской капустой, 25 °С

рией обоих штаммов (вирулентного и аттенуированного) уже через 18-24 ч можно наблюдать начальный этап формирования биопленки — адгезию бактерий, не равноценную на различных участках тканей (от нескольких десятков до нескольких тысяч клеток). Заметны отдельные фрагменты ранней биопленки. Морфологических изменений листерий на данных образцах отмечено не было (рис. 3). Зафиксирована

На следующем этапе необходимо было выявить механизм прикрепления (адгезии) листерий к растительным тканям овощных культур на модели листового салата, поскольку ранее доказано, что эпидемиологическую опасность представляют не единичные бактерии — возбудители пищевых инфекций, а их сообщества, колонизирующие различные продукты питания, размножаясь на их поверхности и формируя устойчивые биопленки [3,11].

При контаминации каллусов культурой листерий



Участки с аморфными пористыми массами

Рис. 3. Формирование биопленки листериями на каллусах: А — *L. monocytogenes* EGD, Б — *L. monocytogenes* Δhly

активная колонизация каллусных клеток листериями, заполнившими не только поверхностные структуры растительных тканей, но и межклеточные каналы. Биопленочный матрикс более выражен, заметны делящиеся листерии, что свидетельствует о максимальной численности популяции. Следует отметить на некоторых клетках инвагинации клеточных стенок, что, по-видимому, является следствием токсического воздействия листерий EGD на клетки-хозяева. Анализ многочисленных снимков позволил выявить, что «неполноценные» листерии, лишённые листериолизина, обладали такой же способностью адгезировать поверхность растений, что согласуется также с данными популяционной динамики.

Визуальный ряд интактных каллусов (контроль) демонстрирует скопление клеток на плотной питательной среде: каллусная культура гетерогенна и представлена как молодыми клетками, так и более старыми, о чем свидетельствуют их размеры и форма (вытянутая, округлая, многогранная). Отдельные клетки каллусной ткани имеют большую вакуоль, которая занимает примерно 70% от общего объема (рис. 4).

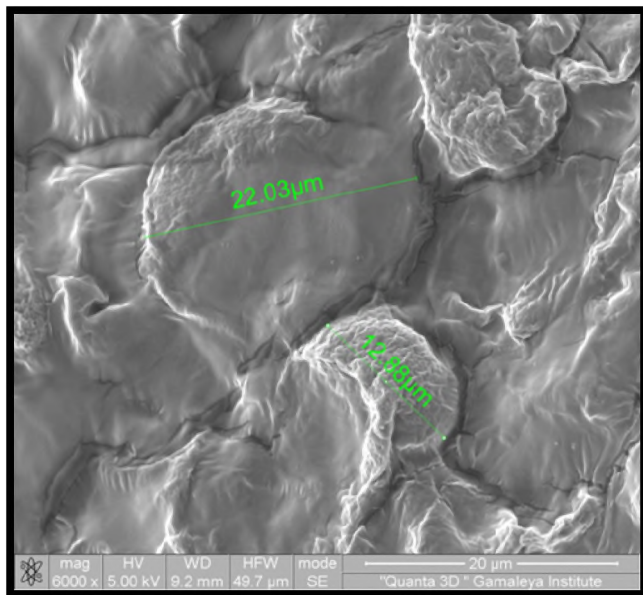
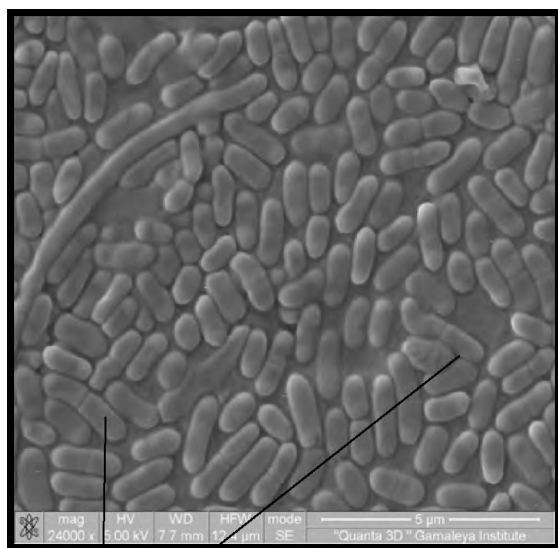


Рис. 4. Контроль. Ортогональная проекция каллусов, дающая трехмерное изображение, выявляющее сложную архитектуру объектов: многослойные скопления клеток, грибовидные выросты, межклеточные каналы, извилистость клеточных стенок

Контрольные культуры листерий изогенных штаммов, выращенных на неорганической поверхности при температуре 25°C в течение суток, также формируют биопленки, однако чрезвычайно тонкие, вуалеобразные, а листерии в них представлены нитевидными и палочковидными формами; присутствуют клетки в стадии деления (рис. 5).

Гистологические исследования

Взаимодействие изогенных штаммов листерий с растительными тканями агрокультур исследовали в динамике: через 18, 24 и 36 ч после заражения. В первые сутки морфология каллусов, зараженных *L. monocytogenes* обоих штаммов, оставалась сходной. Контрольная культура была представлена морфологически гетерогенными клетками с четко выраженной клеточной стенкой толщиной около 1 мкм. Большую часть клетки занимала цитоплазма, а на некоторых срезах видны хлоропласты и ядро. Однако уже в ранние сроки отмечено проникновение как вирулентных, так и аттенуированных листерий в межклеточное пространство без повреждения клеток-хозяев.



Бактерии в стадии деления

Рис. 5. Формирование биопленки листериями на неорганической поверхности

В более поздние сроки (48-72 ч) ситуация претерпевала значительные изменения. При взаимодействии с патогенными листериями растительные клетки значительно увеличивались в размерах (рис. 6), существенно деформировались, истончались клеточные стенки, которые образовывали значительное число выпячиваний либо втягиваний стенок внутрь клетки-хозяина. По-видимому, вначале клетки листерий были адгезированы на стенках клеток каллусной культуры, далее листерии проникали внутрь растительных клеток путем разрушения их стенок и локализовались внутри вакуолей. При значительном скоплении листерий наблюдалось полное разрушение каллусных клеток. Ответная реакция растительных клеток на вторжение в них листерий заключалась в формировании электронно-плотных участков в цитоплазме. Считается, что это происходит при синтезе определенных липидов, а также фенольных

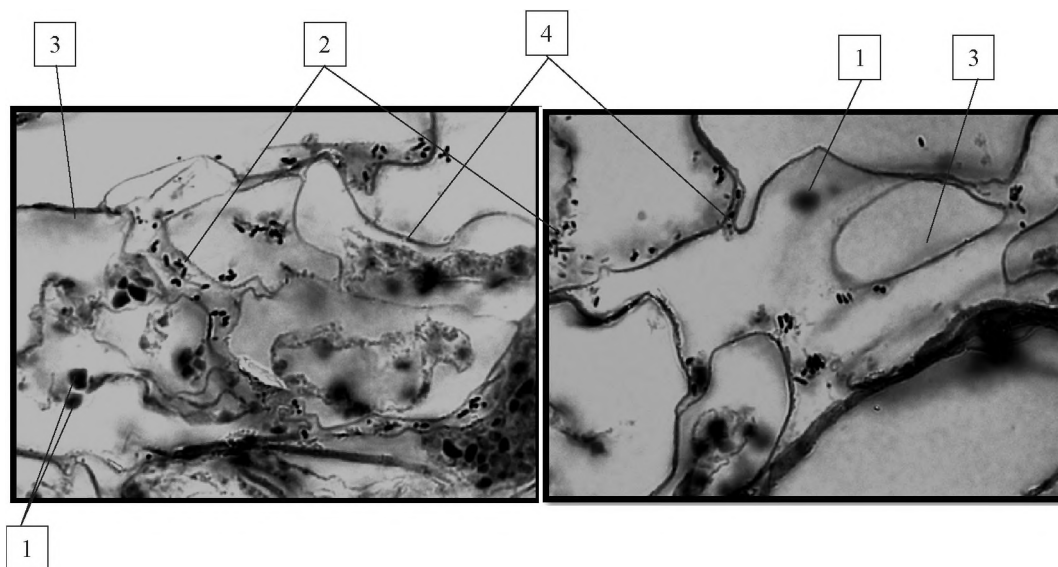


Рис. 6. *L. monocytogenes* EGD в толще каллусной ткани (32 мкм): 1 — фенольные комплексы; 2 — листерии; 3 — отслоение цитоплазмы от клеточной стенки; 4 — деградация клеточных стенок

веществ, образуемых растительными клетками в стрессовых ситуациях, в данном случае при участии *L. monocytogenes*.

При исследовании взаимоотношений аттенуированного штамма листерий с растительными клетками выявлена локализация бактерий в межклеточном пространстве без проникновения внутрь каллусных клеток и без цитопатогенного эффекта (рис. 7).

Таким образом, популяционная динамика патогенных листерий, а также их взаимодействие с клетками каллуса, исследованное методами СЭМ, микроскопии в проходящем свете, выявило цитопатогенное воздействие бактерий, не относящихся к паразитам растений, однако вызывающее тяжелые инфекции у человека и животных при алиментарном пути заражения. Напротив, аттенуированный штамм не оказывал фитопатогенного воздействия на растительные клетки, хотя бактерии проникали в межклеточное пространство и сохранялись в нем в высокой концентрации.

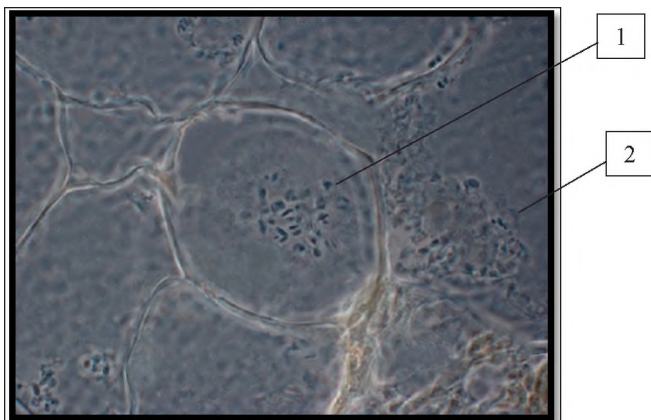


Рис. 7. *L. monocytogenes* Дыу в толще каллусной ткани (32 мкм): 1 — неразрушенная клетка с внутриклеточными листериями; 2 — межклеточные листерии

Обсуждение

Особенности взаимоотношений микро- и макроорганизмов определяются посредством формирования соответствующих биотических связей, которые отражают характер и уровень взаимодействий. В результате реализуется тот или иной механизм передачи инфекций. Возбудители сапронозов, обитающие в окружающей среде, только тогда обретают эпидемиологическое значение, когда появляется возможность передачи их из естественных мест обитания человеку в результате перехода от сапрофитического к паразитическому способу их существования [6]. Прежде чем вызвать заражение людей, эти возбудители зачастую концентрируются в благоприятных для них объектах окружающей среды (и в пищевых растениях также), в результате чего образуется пул возбудителей, достаточный для формирования инфицирующей дозы, которая может преодолеть иммунные барьеры организма. Например, крупные вспышки псевдотуберкулеза на Дальнем Востоке возникали в 97,5% случаев после употребления в пищу капусты либо салатов из свежих овощей. Расшифровка всех случаев заболеваний на протяжении многих лет доказала основную роль овощей как резервуара и источника возбудителя псевдотуберкулеза. Взаимоотношения с растениями детально охарактеризованы для *Yersinia pseudotuberculosis* и ряда овощных и дикорастущих культур: белокочанной капусты, женьшеня и др. [8]. Установлена также способность иерсиний проникать в каллусные растительные клетки данных растений и размножаться в этих условиях. По воздействию на клетки-хозяева возбудители инфекций человека напоминали фитопатогены, о чем ранее не было известно.

Адгезия *L. monocytogenes* к абиотическим поверхностям хорошо изучена и определяется не специфическими свойствами бактерии, такими как наличие поверхностного заряда, гидрофобность и способность к донорно-акцепторному переносу электронов между клеточной стенкой листерий и материалом поверхности [14, 15]. Известно, что интерналин А — белок, участвующий в индукции фагоцитоза, влияет на эффективность формирования биопленок при взаимодействии листерий с клетками млекопитающих. Однако остаются неизвестными молекулярные механизмы, имеющие значение при взаимодействии листерий и отдельных белков с растительными клетками при формировании ранних биопленок. Предполагается, что растения, синтезирующие аттрактанты (гидрофильные аминокислоты, углеводы, фитогормоны, ферменты и пр.), могут инициировать образование биопленок на поверхностных структурах растительных тканей.

Библиографический список

1. Годова Г.В., Пушкарева В.П., Калашикова Е.А. и др. Овощные растения как возможные резервуары листерий // Известия ТСХА. 2009. Вып. 4. С. 80-89.
2. Годова Г.В., Туманова О.В. Персистенция сальмонелл в ризосфере и растениях // Доклады ТСХА. 2007. Вып. 279. Ч. 2. С. 187-190.
3. Дробяценок М.Л., Пушкарева В.П. Возможная роль субстратов агрокомплекса в заражении свиней иерсиниозом // Ветеринария. 2011. № 6. С. 33-35.
4. Калашикова Е.Л., Кочиева Е.З., Миронова О.Ю. Практикум по сельскохозяйственной биотехнологии. М.: Колос, 2006. 154 с.
5. Литвин В.Ю., Пушкарева В.П. Факторы патогенности бактерий: функции в окружающей среде // ЖМЭИ. Прилож. 1. 1994. С. 83-87.
6. Литвин В.Ю., Гинцбург А.Л., Пушкарева В.П. и др. Эпидемиологические аспекты экологии бактерий. М.: Фармарус-принт, 1998. 257 с.
7. Литвин В.Ю., Сомов Г.П., Пушкарева В.П. Сапронозы как природноочаговые болезни // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2010. № 1. С. 10-16.
8. Персиянова Е.В. Характеристика взаимоотношений *Yersinia pseudotuberculosis* с растительными клетками: Автореф. дис. канд. биол. наук. Владивосток, 2008. 22 с.
9. Пушкарева В.П. Патогенные бактерии в почвенных и водных сообществах: Дис. докт. биол. наук. М., 1994. 220 с.
10. Пушкарева В.П., Ермолаева (Литвин В.Ю.) Патогенные листерии и почвенные простейшие: сопряженность жизненных циклов // Успехи совр. биологии. 2008. Т. 128. № 3. С. 245-251.
11. Пушкарева В.П., Литвин В.Ю., Дробяценок М.Л. Эпидемиологическая опасность формирования биопленок в условиях пищевого производства // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2011. № 2. С. 17-23.
12. Пушкарева В.П., Литвин В.Ю., Ермолаева С.Л. Растения как резервуар и источник возбудителей пищевых инфекций // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2012. № 2. С. 10-20'
13. Тартаковский П.С., Малеев В.В., Ермолаева С.Л. Листерии: роль в инфекционной патологии человека и лабораторная диагностика // Медицина для всех. М., 2002. 195 с.
14. Briandet K, Meylhetie T, Maher C. *Listeria monocytogenes* Scott A: Cell Surface Charge, Hydrophobicity, and Electron Donor and Acceptor Characteristics under Different Environmental Growth Conditions // Appl. Environ. Microbiol. 1999. Vol. 65. P. 5328-5333.
15. Chavant P., Martinie B., Mevtheue T. *Listeria monocytogenes* L028: Surface physico-chemical properties and ability to form biofilms at different temperatures and growth phases // Appl. Environ. Microbiol. 2002. Vol. 68. P. 728-737.
16. Costerton J. W, Veeh R., Shirtliff M. et al. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections // J. Clin Invest. 2003. Vol. 112 (10). P. 1466-1477.
17. Dreux N.C. Fate of *Listeria* spp. on parsley leaves grown in laboratory and field cultures // J. Appl. Microbiol. 2007. Vol. 103. P. 1821-1827. '

18. Farber J.M., Peterkin P.I. *Listeria monocytogenes* a food — bome pathogen//Microbiol. 1991. Rev. 55. P. 476-511.
19. Gazzola S, Cocconcelli PS. Vancomycin heteresistance and biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* from food//Microbiology. 2008. № 154. P. 3224-3231.
20. Houdt R.V, Michiels C. W. Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface //Appl. Microbiol. 2010. № 109 (4). P. 1117-1131.
21. Pan J. and Ren D. Quorum sensing inhibitors: a patent Overview // Expert Opin Ther Pat. 2009. V. 19. P. 1581-1601.
22. Slutsker L., Evans M.C., Schuchat A. Listeriosis. ASM Press, Washington. 2000. 106 p.
23. Vazquez-Boland J.A., Kuhn M., Berche P. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants // Clin. Microbiol. Rev. 2001. Vol. 14. P. 584-640.

BIOFILM FORMATION BY LISTERIA MONOCYTOGENES WHEN INTERACTING WITH VEGETABLE CROP CELLS

G.V. GODOVA², V.I. PUSHKAREVA¹, E.A. KALASHNIKOVA²,
A.A. OVOD², L.V. DIDENKO¹, A.N. KNYAZEVA², S.A. ERMOLAEVA¹

(¹ Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after N .F. Gamaleya of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, RSAU-MAA named after K.A. Timiryazev)

Chinese cabbage (Brassica pekinensis L.) and lettuce (Lactuca sativa L.) calluses were used to study the stages of Listeria monocytogenes EGD biofilm formation and of its attenuated mutant devoid of listeriolysin O — Listeria monocytogenes Ahly. Methods of light and scanning electronic microscope investigation have revealed that biofilms formation on the callus surface occurs extremely fast (18—24 hours). When biofilms are formed by listeria on inorganic surface the matrix layer is thinner, heteromorphism of listeria cultures being observed. Histological analysis of infected calluses proved that Listeria monocytogenes EGD has a phytopathogenic effect on the model plants in contrast to L. monocytogenes Ahly. Contamination of vegetable crops by virulent listeria is a potential epidemiological danger.

Key words: biofilms, Listeria monocytogenes, calluses, listeriolysin O.

Годова Галина Владимировна — к. б. н., доцент кафедры микробиологии и иммунологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (125550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (499) 976-09-66); e-mail: godova@list.ru).

Пушкарева Валентина Ивановна — д. б. н., вед. науч. сотр. лаборатории экологии возбудителей инфекций НИИЭМ имени Н.Ф. Гамалеи (123098, г. Москва, ул. Гамалеи, 18; тел.: (499) 193-73-61); e-mail: vpushkareva@iribox.ru).

Калашникова Елена Анатольевна — д. б. н., проф. кафедры генетики и биотехнологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (125550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (499) 976-40-72).

Овод Артем Артурович — студент 4-го курса факультета почвоведения, агрохимии и экологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (125550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (967) 050-48-73); e-mail: belosom@ambler.ru).

Диденко Любовь Васильевна — д. м. н., зав. лабораторией анатомии микроорганизмов НИИЭМ имени Н.Ф. Гамалеи (123098, г. Москва, ул. Гамалеи, 18; тел.: (499) 193-73-61).

Князев Андрей Николаевич — к. б. н., доцент кафедры генетики и биотехнологии (125550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (499) 976-08-94).

Ермолаева Светлана Александровна — д. б. н., зав. лабораторией экологии возбудителей инфекций НИИЭМ имени Н.Ф. Гамалеи (123098. г. Москва, ул. Гамалеи, 18; тел.: (499) 193-73-61).