

Мышиная модель пищевой листериозной инфекции, вызываемая *Listeria monocytogenes*

А.И.Борзилов, О.В.Коробова, Т.И.Комбарова, Е.С.Перескокова, Е.А.Ганина

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Разработана модель пищевой инфекции у мышей линии BALB/c с антибиотик-индуцированным дисбиозом кишечника, вызываемой двумя штаммами *Listeria monocytogenes* – MA554 и BB1. Внутривентрикулярное введение культур листерий в дозе 10^8 КОЕ приводит к длительной персистенции листерий в желудочно-кишечном тракте мышей. Летальность среди инфицированных животных составляет 20–40%. В ходе исследований была определена динамика колонизации кишечника интактных мышей и мышей с дисбиозом кишечника культурами *L. monocytogenes* MA554 и *L. monocytogenes* BB1, изучены патоморфологические изменения и функциональные нарушения в органах. Пригодность разработанных моделей кишечного листериоза у мышей была проверена в экспериментах по лечению. В качестве антибактериальных препаратов использовали антибиотики, активные *in vitro* в отношении тест-штаммов листерий, – ко-тримоксазол и комбинацию ампициллина с гентамицином. Показано, что антибиотикотерапия пищевой листериозной инфекции, начатая через 3 ч после заражения, повышает выживаемость подопытных животных и санирует их организм от бактерий *L. monocytogenes*. Более позднее начало терапии (через 3 суток после инфицирования) приводит к менее выраженному защитному действию и снижает обсемененность фекалий клетками листерий. Полученные нами результаты свидетельствуют о пригодности разработанной нами мышиной модели пищевой листериозной инфекции для оценки эффективности антибактериальных препаратов *in vivo*.

Ключевые слова: *Listeria monocytogenes*, мышиная модель, листериоз, пищевая инфекция, антибиотикотерапия

Для цитирования: Борзилов А.И., Коробова О.В., Комбарова Т.И., Перескокова Е.С., Ганина Е.А. Мышиная модель пищевой листериозной инфекции, вызываемая *Listeria monocytogenes*. Бактериология. 2022; 7(4): 44–56. DOI: 10.20953/2500-1027-2022-4-44-56

Mouse model of nutritional listeria infection caused by *Listeria monocytogenes*

A.I.Borzilov, O.V.Korobova, T.I.Kombarova, E.S.Pereskokova, E.A.Ganina

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

A model of foodborne infection in BALB/c mice with antibiotic-induced intestinal dysbiosis caused by two strains of *Listeria monocytogenes*, MA554 and BB1, was developed. Intragastric administration of listeria cultures at the dose of 10^8 CFU leads to long-term persistence of listeria in the gastrointestinal tract of mice. Mortality among infected animals is 20–40%. The dynamics of colonization of the intestines of intact mice and mice with intestinal dysbiosis by *L. monocytogenes* MA554 and *L. monocytogenes* BB1 cultures has been determined and pathomorphological changes and functional disorders in organs have been studied. The suitability of the developed models of intestinal listeriosis in mice has been tested in treatment experiments. Antibiotics active *in vitro* against listeria test strains have been used as antibacterial drugs – co-trimoxazole and a combination of ampicillin with gentamicin. It has been shown that antibiotic therapy of foodborne listeriosis infection, started 3 hours after infection, increases the survival rate of experimental animals and sanitizes their body from *L. monocytogenes* bacteria. A later start of therapy (3 days after infection) leads to a less pronounced protective effect and reduces the contamination of faeces with listeria cells. Our results indicate the suitability of the mouse model of food-borne listeriosis infection for evaluating the effectiveness of antibacterial drugs *in vivo*.

Key words: *Listeria monocytogenes*, mouse model, listeriosis, foodborne infection, antibiotic therapy

For citation: Borzilov A.I., Korobova O.V., Kombarova T.I., Pereskokova E.S., Ganina E.A. Mouse model of nutritional listeria infection caused by *Listeria monocytogenes*. Bacteriology. 2022; 7(4): 44–56. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2022-4-44-56

Для корреспонденции:

Борзилов Александр Иосифович, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биологических испытаний ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская область, г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 360-147
E-mail: borzilov@obolensk.org

Статья поступила 30.11.2022 г., принята к печати 28.12.2022 г.

For correspondence:

Alexander I. Borzilov, PhD, Leading Researcher of the Biological Testing Laboratory, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор

Address: 24 "Quarter A" Territory, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, 142279, Russian Federation
Phone: (4967) 360-147
E-mail: borzilov@obolensk.org

The article was received 30.11.2022, accepted for publication 28.12.2022

Бактерии *Listeria monocytogenes* являются возбудителями пищевой инфекции у человека. Они широко распространены в природе и способны длительное время выживать в окружающей среде [1]. Основным путем заражения людей листериозом – алиментарный, т.е. через продукты питания [2, 3]. Среди возбудителей пищевых инфекций листериоз не занимает лидирующих позиций, как, например, сальмонеллез или кампилобактериоз, но склонен к более тяжелому клиническому течению и худшему прогнозу [4, 5]. Смертность среди людей, заболевших листериозом, может достигать 30% [6, 7]. Тяжесть листериозной инфекции и разнообразие форм ее проявления во многом связаны со способностью листерий проникать из кишечника внутрь макроорганизма и преодолевать гематоэнцефалический и плацентарный барьеры [6, 8]. В группу риска по заболеваемости листериозом входят люди со сниженным иммунитетом [9, 10], дети и старики [11, 12], беременные женщины [13].

Нормальная микрофлора кишечника человека препятствует его колонизации клетками *L. monocytogenes*. Изменение состава микробиоты под воздействием антибиотиков снижает защиту слизистой оболочки кишечника и подавляет иммунную систему организма [14, 15]. В этих случаях листериоз может развиваться даже при очень низкой заражающей дозе патогена [16].

Важную роль в защите кишечника от патогенных микроорганизмов играют бактерии нормофлоры, которые являются продуцентами бактериоцинов и подавляют патогенные микроорганизмы, в т.ч. и *L. monocytogenes* [17–19]. Длительная персистенция *L. monocytogenes* в кишечнике человека связана с их природной способностью формировать биопленки [20].

Трудности терапии листериоза связаны со способностью возбудителя к внутриклеточной и внеклеточной персистенции, а также с природной устойчивостью к некоторым антибиотикам [7, 13, 21]. Многочисленные исследования показали, что большинство штаммов *L. monocytogenes* чувствительны к действию β-лактамов антибиотиков пенициллинового ряда, аминогликозидам, тетрациклинам, гликопептидам, фторхинолонам последнего поколения, макролидам, карбапенемам, триметоприм/сульфаметоксазолу, но устойчивы к цефалоспорином и гентамицину [22–26]. Доля полирезистентных штаммов листерий различного происхождения составляет от 23 до 49% [24, 25].

Традиционные схемы антибиотикотерапии листериоза включают использование пенициллина и ампициллина отдельно или в комбинации с гентамицином [27, 28]. Синергизм этих препаратов показан в экспериментах *in vitro* [29, 30]. Также для лечения применяют амоксициллин, ко-тримоксазол, эритромицин, доксициклин, левомицетин [31, 32].

Разработка эффективных противолISTERИОЗНЫХ препаратов и схем их применения напрямую связана с проведением исследований *in vivo*. Наиболее распространенная животная модель листериозной кишечной инфекции – мышиная модель. Однако воспроизведение экспериментального листериоза при внутрижелудочном способе заражения, как правило, требует введения большой дозы культуры вирулентного штамма. Так, например, для моделирования нелетальной пищевой листериозной инфекции мышью заражают культурой *L. monocytogenes* в дозе 10^8 – 10^{10} КОЕ [33]. Использование в качестве модельных животных мышей с индуцированным

иммунодефицитом позволяет существенно снизить инфицирующую дозу. Показано, что заражающая доза штамма *L. monocytogenes* F5817 (серотип 4b) при внутрижелудочном введении иммунокомпетентным мышам линии C57Bl/6j приблизительно на 4 порядка выше, чем для тех же мышей с индуцированным иммунодефицитом [34].

Различные линии мышей отличаются по восприимчивости к листериозной инфекции. Мыши линий A/J, BALB/c, Bu/J значительно более чувствительны к кишечной листериозной инфекции, чем мыши C57Bl/6. Экспериментальные данные показали, что LD₅₀ *L. monocytogenes* Scott A (серотип 4b) при внутрижелудочном введении мышам линии A/J составляет 10^6 КОЕ, а мышам линии C57Bl/6 – 10^8 КОЕ [35]. Различия в составе микробиоты кишечника, способной повлиять на восприимчивость к инфекции, у этих линий мышей отсутствовали [36].

Большинство штаммов *L. monocytogenes*, используемых для моделирования кишечной инфекции, были авирулентны для мышей, что заставляло исследователей применять высокую (10^8 КОЕ) заражающую дозу [37]. Однако имеется сообщение о более вирулентных штаммах, способных вызывать генерализованную инфекцию у здоровых мышей при низких заражающих дозах (LD₅₀ = $3,16 \times 10^3$ КОЕ) при введении в желудок. Важно отметить, что одни штаммы оказались более вирулентными при внутрибрюшинном введении, а другие – при внутрижелудочном [38].

Внутрижелудочное заражение беременных самок аутбредных мышей CD-1 используют для исследования способности листерий преодолевать плацентарный барьер, вызывая тем самым внутриутробную колонизацию, потерю плода или неонатальные осложнения. Диссеминация клеток штаммов *L. monocytogenes* F6214-1, PAS351 и F6212 серотипа 4b, а также штамма 10403S серотипа 1/2a в дозе 10^8 и 10^9 КОЕ происходила уже через 48–74 ч после инфицирования [39, 40].

Целью наших исследований была разработка модели пищевой листериозной инфекции у мышей линии BALB/c, пригодность которой для оценки эффективности антибактериальных препаратов была проверена в экспериментах по антибиотикотерапии листериоза.

Материалы и методы

Бактериальные культуры

В работе использовали два штамма *L. monocytogenes* из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболensk»: штамм MA554 (инв. № В-9071) и штамм ББ1 (инв. № В-7495). Оба штамма чувствительны к ампициллину (≤ 1 мкг/мл), гентамицину (МПК ≤ 4 мкг/мл), ко-тримоксазолу (МПК $\leq 0,06$ мкг/мл по триметоприму).

Питательные среды, антибиотики

Для культивирования штаммов *L. monocytogenes* использовали плотную питательную среду №1 ГРМ (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) с добавлением 2% гемолизированной крови. Питательную среду Мюллера–Хинтона с добавлением 1% глюкозы (Hi-Media, Индия) применяли для определения чувствительности бактериальных штаммов к антибиотикам. В качестве селективной среды для выявления листерий в фекалиях мышей использовали агаризированную среду ПАЛ с селективной добавкой (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия).

Стрептомицина сульфат (ГК «Бионит», Россия) назначали животным для индуцирования дисбиоза кишечника у мышей.

Ампициллина натриевая соль (PanReac Appli Chem, Испания), гентамицин (KRKA, Словения) и ко-тримоксазол (Biocraft, Германия) являлись препаратами для лечения экспериментального листериоза.

Лабораторные животные

В экспериментах *in vivo* в качестве модельных животных использовали мышей линии BALB/c (самцы/самки, вес 15–18 г). Модельных животных содержали в стандартных условиях в соответствии с международными нормами и требованиями. Мыши имели свободный доступ к воде и корму (ООО «Лабораторкорм», Москва). Мышей размещали в поликарбонатных клетках (Lab Products Inc., США) группами не более 6 животных в каждой. За животными велось ежедневное ветеринарное наблюдение. Умерших в процессе эксперимента мышей удаляли из клеток по мере обнаружения.

Моделирование дисбактериоза кишечника у мышей

Для подавления нормальной микрофлоры кишечника подопытным мышам давали антибиотик стрептомицин, который широко используют для моделирования бактериальных кишечных инфекций [41]. Препарат давали животным с питьевой водой (5 г/л) в течение 5 дней до заражения.

Заражение лабораторных животных

Бактериальную взвесь для инфицирования животных готовили из ночной агаровой культуры. Выросшие характерные колонии суспендировали в физиологическом растворе, содержащем 1/15 М калий-натриевый фосфатный буфер с рН 7,2. Бактериальные взвеси доводили до плотности 3,7 по стандарту оптической мутности МакФарланда, что приблизительно соответствует 2×10^9 КОЕ/мл. Затем делали последовательные разведения суспензий до достижения необходимой концентрации клеток *L. monocytogenes*. Культуры вводили мышам внутрижелудочно в объеме 0,5 мл с помощью металлического изогнутого зонда соответствующего размера (Stanford Equipment, США). Контроль количества клеток во взвеси осуществляли путем высева по 0,1 мл из соответствующих разведений исходной взвеси на плотную питательную среду №1 ГРМ с добавлением гемолизированной крови. Посевы инкубировали в течение 24 ч при температуре 37°C.

Изучение динамики пищевой листериозной инфекции

Развитие кишечной листериозной инфекции исследовали на мышах линии BALB/c, заражая их внутрижелудочно культурами исследуемых штаммов в дозах 10^7 и 10^8 КОЕ. Для повышения чувствительности к листериозной инфекции перед заражением животным из опытных групп давали в течение 5 дней стрептомицин с питьевой водой. За сутки до заражения и далее животным давали воду без стрептомицина. Контрольные животные на протяжении всего эксперимента не получали антибиотика.

Динамику колонизации кишечника листериями у экспериментальных животных оценивали по степени обсемененности фекалий этими бактериями через 3 ч и ежедневно в течение 14 дней после заражения.

Для выявления функциональных и морфологических изменений внутренних органов в процессе развития пищевой листериозной инфекции через 7 дней после инфицирования делали общий и биохимический анализ крови. В это же время

проводили гистологические исследования внутренних органов мышей – тонкого и толстого кишечника, печени, селезенки, тимуса, легких, головного мозга.

Клинический анализ крови

Общий анализ крови проводили на автоматическом гематологическом анализаторе PCE-90Vet (High Technology, США) в соответствии с руководством по использованию прибора. Для сбора крови применяли микропробирки с K2-ЭДТА.

Биохимический анализ крови

Биохимический анализ крови (аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), щелочная фосфатаза (ЩФ), общий белок, глюкоза, креатинин) проводили на полуавтоматическом биохимическом анализаторе StatFax-3300 (Awareness Technology, США) с использованием жидких реактивов UTS (ООО «Юнимед», Россия).

Сбор и анализ фекалий

Мышей (5 голов) из клетки содержания пересаживали в стерильные клетки без подстила, корма и воды. Через 30–40 мин после пересадки животных возвращали в клетки для содержания. Фекалии, оставшиеся на дне клетки от исследуемой группы, стерильным пинцетом собирали в маркированные микроцентрифужные пробирки типа Эппендорф, взвешивали и передавали для проведения бактериологического анализа.

Фекалии мышей растирали в стерильных фарфоровых ступках с добавлением кварцевого песка и физиологического раствора до получения однородной суспензии с концентрацией 0,1 г/мл. Полученные гомогенаты (цельные и их десятикратные разведения) высевали на поверхность питательного агара. В качестве питательной среды для выявления культуры листерий использовали питательную среду – ПАЛ-агар с селективной добавкой. Посевы инкубировали при температуре 37°C в течение 24 ч.

Гистологическое исследование органов и тканей

Гистологические исследования проводили через 7 дней после заражения мышей BALB/c. В качестве контроля использовали интактных мышей той же линии. Исследовали тонкий и толстый кишечника, печень, селезенку, тимус, легкие и головной мозг.

Полученные образцы помещали во флакон с 50 мл 4%-го раствора параформа. Через 24 ч экспозиции раствор параформа заменяли на свежий. Исследованию подвергали гистологические срезы органов, окрашенные гематоксилином и эозином по стандартной методике. Анализ гистологических препаратов проводили с использованием микроскопа Nikon Eclipse 80i и программы анализа изображения NIS Elements F4.60.00. Определяли наличие признаков воспалительно-некротических изменений в исследуемых образцах.

Антибиотикотерапия летальной листериозной инфекции

Валидацию разработанных моделей кишечной листериозной инфекции проводили на примере их антибиотикотерапии. В качестве инфицирующих тест-штаммов использовали *L. monocytogenes* ББ1 и *L. monocytogenes* МА554, поскольку они оказались наиболее патогенными для мышей, интенсивно колонизировали кишечник животных и более длительное время персистировали в нем. Перед заражением в течение 5 дней все животные получали с питьевой водой стрептомицин. Для заражения мышей линии BALB/c (самцы/самки, 16–18 г) использовали суточные агаровые культуры листерий, выра-

ценные на плотной питательной среде при температуре 37°C, заражающая доза – 10⁸ КОЕ.

Для лечения экспериментальной листериозной инфекции использовали ко-тримоксазол или комбинацию ампициллина с гентамицином. Лечение различных групп животных начинали через 3 ч (экстренная терапия) или 72 ч (отложенная терапия) после заражения. Продолжительность курса лечения – 5 дней. Разовые дозы ампициллина, гентамицина и ко-тримоксазола составили 100, 20 и 250 мг/кг (по триметоприму) соответственно. Ампициллин и гентамицин вводили мышам подкожно отдельно по 0,2 мл 2 раза в сутки. Ко-тримоксазол назначали внутривенно один раз в день.

Экспериментальные группы мышей №1 и №2 лечили ко-тримоксазолом, а №3 и №4 – ампициллином с гентамицином. Лечение в группах №1 и №3 начинали через 3 ч после заражения, в группах №2 и №4 – на 3-и сутки инфекции. Контрольную группу мышей не лечили. Все группы включали 10 мышей, предварительно обработанных стрептомицином. За животными наблюдали в течение 10 дней с момента заражения, отмечая случаи гибели. В конце срока наблюдения собирали фекалии (пулами) от мышей из экспериментальных и контрольных групп для определения количества в них клеток *L. monocytogenes*. Кроме того, после эвтаназии выживших определяли наличие патогена в селезенке и головном мозге мышей. Эффективность лечения экспериментального листериоза оценивали по степени санации кишечника, наличию клеток патогена в органах и выживанию инфицированных мышей.

Статистические методы

Статистическую обработку результатов (вычисление среднего арифметического значения и стандартного отклонения, двухсторонний критерий Стьюдента) проводили с использованием статистических ресурсов программы Microsoft Excel 2010 и статистической программы Statistica 10.

Результаты исследования

Модель пищевой листериозной инфекции у мышей

Изучение динамики развития кишечной листериозной инфекции у мышей показало, что предварительная обработка

животных стрептомицином (группа SM+) способствует более эффективной персистенции листерий в кишечнике по сравнению с контролем. В первые 6 суток после заражения мышей культурой штамма *L. monocytogenes* MA554 концентрация листерий в фекалиях животных держалась на уровне 6,0 LOG₁₀ КОЕ/г у опытных и контрольных животных (табл. 1). Однако начиная с 7-х суток количество клеток *L. monocytogenes* MA554 в фекалиях животных группы SM+ возрастало и достигало 8,41 LOG₁₀ КОЕ/г к 10-м суткам, тогда как у контрольных животных рост обсемененности был незначительным – до 6,88 LOG₁₀ КОЕ/г. К концу наблюдения обсемененность фекалий у мышей из экспериментальной группы снижалась до 7,77 LOG₁₀ КОЕ/г, у мышей контрольной группы – до 6,63 LOG₁₀ КОЕ/г.

Снижение заражающей дозы *L. monocytogenes* MA554 до 10⁷ КОЕ приводило к более низкому уровню колонизации кишечника мышей. Количество листерий в фекалиях мышей после инфицирования в группе SM+ постепенно снижалось с 1-х суток (7,08 LOG₁₀ КОЕ/г) по 7-е сутки (5,85 LOG₁₀ КОЕ/г) и далее не изменялось до 14-х суток (табл. 1). В контрольной группе через сутки после заражения концентрация листерий в фекалиях составляла 4,32 LOG₁₀ КОЕ/г, а через 2 нед. опускалась до 3,94 LOG₁₀ КОЕ/г.

Следует отметить, что в экспериментальной и контрольной группах выпало по одной мыши на 4-е и 8-е сутки соответственно.

Внутрижелудочное введение культуры штамма *L. monocytogenes* ББ1 в дозе 10⁸ КОЕ мышам линии BALB/c с антибиотик-индуцированным дисбиозом приводило к устойчивой персистенции листерий в кишечнике в течение первых 10 дней: концентрация листерий в фекалиях держалась на высоком уровне – от 6,67 до 8,92 LOG₁₀ КОЕ/г (табл. 2). Максимальный уровень колонизации был на 3-и сутки после введения культуры. К 14-му дню инфекции содержание клеток *L. monocytogenes* ББ1 в каловых массах мышей снижалось до 4,71 LOG₁₀ КОЕ/г.

У здоровых (контрольных) мышей до 13-х суток экспериментальной инфекции количество клеток листерий было на 1–3 порядка ниже, чем у мышей с дисбактериозом. Максимальный показатель обсемененности фекалий листе-

Таблица 1. Обсемененность (LOG₁₀ КОЕ/г) фекалий клетками *L. monocytogenes* MA554 инфицированных мышей линии BALB/c

Доза заражения	Группа	Сутки после заражения											
		3 ч	1	2	3	6	7	8	9	10	13	14	
10 ⁸ КОЕ	Sm+	7,99	6,37	6,01	6,03	6,07	7,88	8,3	8,33	8,41	8,28	7,77	
	Контроль	8,22	5,03	5,7	6,07	6,07	6,07	6,82	6,86	6,88	6,56	6,63	
10 ⁷ КОЕ	Sm+	6,75	7,08	6,75	-	-	5,85	-	-	5,33	-	5,26	
	Контроль	7,55	4,32	4,38	-	-	5,77	-	-	4,81	-	3,94	

Таблица 2. Обсемененность (LOG₁₀ КОЕ/г) фекалий клетками *L. monocytogenes* ББ1 инфицированных мышей линии BALB/c (самцы/самки)

Доза заражения	Группа	Сутки после заражения											
		3 ч	1	2	3	6	7	8	9	10	13	14	
10 ⁸ КОЕ	Sm+	7,97	7,78	8,06	8,92	6,67	7,12	7,25	7,31	7,34	6,54	4,71	
	Контроль	8,71	6,29	6,34	7,54	6,05	5,52	5,54	5,53	5,56	3,7	<2	
10 ⁷ КОЕ	Sm+	5,52	6,31	8,57	-	-	6,16	-	-	7,36	-	4,67	
	Контроль	7,78	4,37	7,15	-	-	5,42	-	-	5,26	-	<2	

риями был отмечен на 1-е сутки после заражения – 8,71 LOG₁₀ КОЕ/г. К концу 2-й недели уровень контаминации фекалий клетками *L. monocytogenes* ББ1 у мышей из контрольной группы снижалась ниже чувствительности метода (<100 КОЕ/г).

Снижение заражающей дозы *L. monocytogenes* ББ1 до 10⁷ КОЕ практически не отразилось на характере колонизации кишечника листериями. У мышей, обработанных стрептомицином, максимальная концентрация клеток бактерий этого штамма в фекалиях была на 3-и сутки после заражения – 8,57 LOG₁₀ КОЕ/г. В контроле этот показатель составлял на 1,5 порядка ниже – 7,15 LOG₁₀ КОЕ/г. К 14-м суткам в группе Sm+ количество листерий в каловых массах мышей снижалось до 4,67 LOG₁₀ КОЕ/г, а у интактных животных листерии отсутствовали (табл. 2).

Общий анализ крови, проведенный на 7-е сутки после внутрижелудочного заражения мышей линии BALB/c культурами штаммов ББ1 и МА554 в дозе 10⁸ КОЕ, не выявил статистически значимых изменений ($p > 0,05$) в формуле крови животных по сравнению с контрольными животными (табл. 3).

На 7-е сутки инфекции также оценивали некоторые биохимические показатели крови (АЛТ, АСТ, ЩФ, общий белок, глюкоза) у мышей, инфицированных тест-штаммами *L. monocytogenes*. Полученные результаты показали, что заражение штаммом ББ1 не приводило к достоверным ($p > 0,05$) изменениям количества печеночных ферментов, общего белка и глюкозы (табл. 4). В то же время у мышей, зараженных культурой *L. monocytogenes* МА554, наблюдалось статистически значимое повышение количества общего белка ($p < 0,01$) и АЛТ ($p < 0,005$), снижение уровня ЩФ ($p < 0,01$) в сыворотке крови по сравнению с контролем.

Результаты биохимического анализа крови мышей, инфицированных культурами патогенных листерий, показали, что штамм МА554 вызывает функциональные отклонения в печени по сравнению со штаммом ББ1, следовательно, характер экспериментальной листериозной инфекции у мышей зависит от штамма-возбудителя.

Через неделю после внутрижелудочного заражения мышей линии BALB/c культурами *L. monocytogenes* ББ1 и *L. monocytogenes* МА554 в дозе 10⁸ КОЕ было проведено гистологическое исследование внутренних органов мышей (тонкий кишечник, толстый кишечник, печень, селезенка, тимус, легкие, головной мозг) с целью выявления патоморфологических изменений.

Микроскопическое исследование срезов тонкого кишечника мышей, зараженных штаммом ББ1, выявило увеличение количества бокаловидных клеток в эпителиальном слое кишечных ворсинок по сравнению с контролем. Кроме того, сами клетки увеличены в размерах. В просвете кишечника определяется большое количество слизи. В ворсинках имеется клеточная инфильтрация собственной пластинки слизистой. Инфильтрат состоит из лимфоцитов, количество которых несколько увеличено по сравнению с контролем (рис. 1А).

В случае штамма МА554 в эпителии слизистой оболочки тонкой кишки встречаются единичные бокаловидные клетки, которые слабо заметны среди цилиндрических клеток. Изменения в собственной пластинке слизистой оболочки отличаются от контроля высокой интенсивностью клеточной

Таблица 3. Показатели крови мышей линии BALB/c из контрольных и опытных групп на 7-й день после заражения культурой *L. monocytogenes* ББ1 и МА554 в дозе 10⁸ КОЕ

Показатель	Ед. изм.	Контроль	<i>L. monocytogenes</i>	
			штамм ББ1	штамм МА554
Лейкоциты	×10 ⁹ /л	6,2 ± 1,6	8,9 ± 3,9	6,4 ± 2,6
Лимфоциты	×10 ⁹ /л	3,9 ± 1,2	3,1 ± 1,7	2,7 ± 0,5
Моноциты	×10 ⁹ /л	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0,3 ± 0,1
Гранулоциты	×10 ⁹ /л	2,1 ± 1,0	5,4 ± 3,2	3,3 ± 2,1
Лимфоциты	%	63,0 ± 12,3	36,7 ± 16,0	45,7 ± 10,5
Моноциты	%	4,0 ± 0,9	4,3 ± 1,3	5,2 ± 0,7
Гранулоциты	%	33,1 ± 11,5	59,0 ± 17,1	49,1 ± 11,1
Эритроциты	×10 ¹² /л	9,85 ± 0,44	9,92 ± 1,50	9,46 ± 0,56
Гемоглабин	г/л	142 ± 6	142 ± 17	138 ± 9
Гематокрит %	%	44,2 ± 2,5	44,9 ± 6,2	43,6 ± 2,7
Средний объем эритроцита	фл	44,9 ± 0,9	45,4 ± 0,6	46,1 ± 0,6
Среднее содержание гемоглобина в эритроцитах	пг	14,4 ± 0,2	14,3 ± 0,5	14,6 ± 0,3
Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах	г/л	321 ± 8	315 ± 6	316 ± 4
Ширина распр. эритроцитов	–	20,8 ± 3,5	18,3 ± 3,5	16,4 ± 2,5
Тромбоциты	×10 ⁹ /л	638 ± 90	589 ± 171	746 ± 247
Средний объем тромбоцита	фл	4,6 ± 0,2	4,8 ± 0,2	5,0 ± 0,3
Ширина распр. тромбоцитов		16,0 ± 0,3	16,0 ± 0,5	16,6 ± 0,5
Тромбокрит	%	0,290 ± 0,039	0,283 ± 0,075	0,376 ± 0,142

В таблице представлены средние значения ($n = 5$) и стандартные отклонения.

инфильтрации, а также изменением клеточного состава инфильтрата. Наряду с лимфоцитами в инфильтрате содержится большое количество плазматических клеток (рис. 1Б).

У контрольных животных покровный эпителий слизистой оболочки кишки состоит из плотно расположенных высоких цилиндрических клеток. Бокаловидные клетки, другой тип входящих в эпителиальный слой клеток, т.е. клетки, выделяющие слизь, встречаются редко, имеют небольшие размеры. Под эпителием кишечных ворсинок, в собственной пластинке слизистой оболочки, находится небольшое количество лимфоцитов (рис. 1В).

Гистологическое исследование срезов толстого кишечника мышей, зараженных культурой *L. monocytogenes* ББ1, выявило увеличение количества и размера бокаловидных клеток по сравнению с контролем. В просвете кишки содержится много слизи. Инфильтрация стромы слизистой оболочки сохраняется на уровне контроля и по интенсивности инфильтрации и по клеточному составу (рис. 2А).

Внутрижелудочное введение мышам BALB/c культуры *L. monocytogenes* МА554 приводило к увеличению количества бокаловидных клеток в слизистой оболочке толстого кишеч-

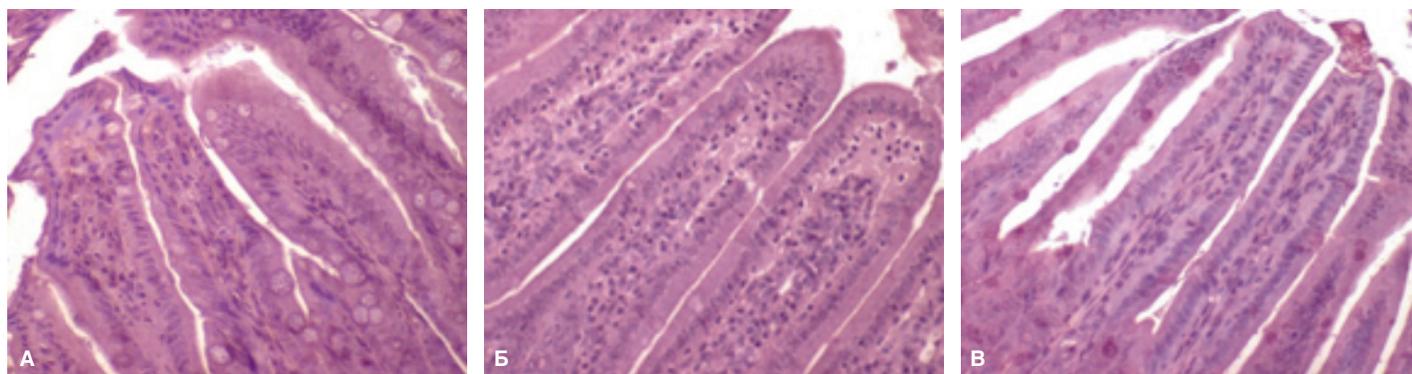


Рис. 1. Микрофотографии срезов тонкой кишки мышей BALB/c, инфицированных *L. monocytogenes*.

А – *L. monocytogenes* ББ1. Повышенное содержание бокаловидных клеток в эпителии кишечных ворсинок. Увеличение $\times 20$; Б – *L. monocytogenes* МА554. Выраженная клеточная инфильтрация собственной пластинки слизистой. Увеличение $\times 20$; В – Контроль (без заражения). Норма. Увеличение $\times 20$.

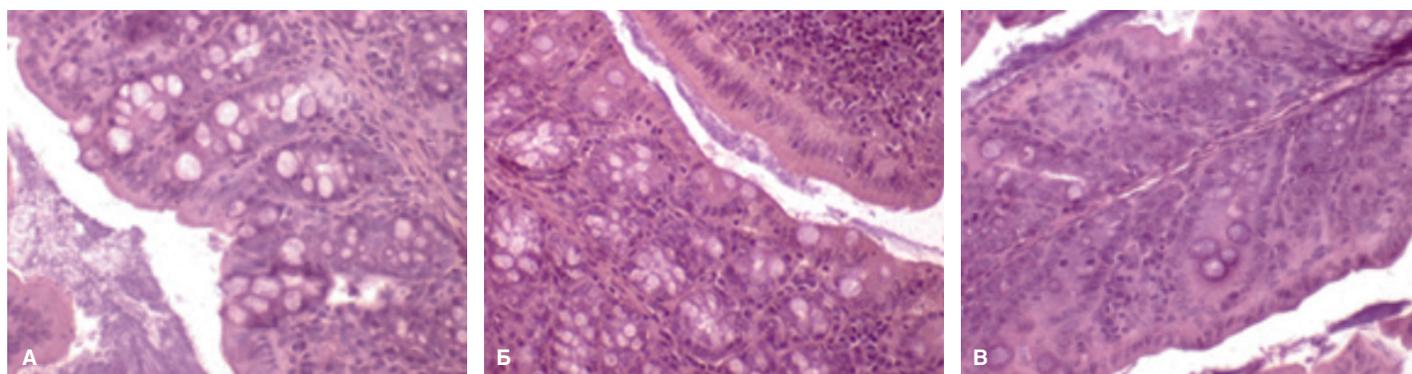


Рис. 2. Микрофотографии срезов толстой кишки мышей BALB/c, инфицированных *L. monocytogenes*.

А – *L. monocytogenes* ББ1. Повышенное содержание бокаловидных клеток большого размера. Увеличение $\times 20$; Б – *L. monocytogenes* МА554. Слизистая содержит небольшое количество бокаловидных клеток. Выраженная клеточная инфильтрация стромы толстой кишки. Увеличение $\times 20$; В – Контроль (без заражения). Норма. Увеличение $\times 20$.

ника по сравнению с контролем. Однако размер бокаловидных клеток и содержание слизи в просвете кишечника меньше, чем при заражении штаммом ББ1. В строме кишки находится множество лимфоцитов и плазматических клеток (рис. 2Б).

У контрольных животных слизистая оболочка имеет обычное строение и содержит большое количество бокаловидных клеток, что в норме характерно для толстой кишки. В строме складок имеется небольшое количество лимфоцитов, плазматических клеток и единичных полиморфноядерных лейкоцитов (рис. 2В).

При микроскопическом исследовании срезов печени мышей, инфицированных *L. monocytogenes* ББ1, было установлено, что в паренхиме имеются мелкие скопления гистиоцитов – клеток округлой и вытянутой формы. Редко встречаются более крупные очаги этих клеток. Наряду с гистиоцитами в очагах находятся полиморфноядерные лейкоциты, единичные лимфоциты. Отмечается лизис окружающих очаги гепатоцитов. Вне очагов клетки паренхимы сохраняют нормальное строение (рис. 3А).

В случае штамма МА554 в печени в большом количестве обнаруживаются лимфоциты, которые заполняют просветы печеночных капилляров, образуют очаговые рыхлые инфильтраты. Кроме того, встречаются смешанные очаги из лимфоцитов и гистиоцитов. У некоторых мышей в паренхиме печени выявлены обширные участки некротизированной ткани (рис. 3Б).

У интактных животных клетки паренхимы печени, гепатоциты, расположены в виде тяжей, между которыми проходят кровеносные капилляры. В капиллярах находится небольшое количество эритроцитов (рис. 3В).

При гистологическом изучении препаратов селезенки мышей, инфицированных культурой *L. monocytogenes* ББ1, установлено, что красная пульпа – многоклеточная. В красной пульпе появляется большое количество нейтрофилов, тогда как в контроле преобладают лимфоциты. Наблюдаются очаговые скопления макрофагов. Лимфоидных фолликулов меньше, чем в селезенках животных из контрольной группы. Фолликулы имеют небольшие размеры, преимущественно без центров размножения (рис. 4А).

У мышей, зараженных культурой штамма МА554, в селезенке увеличена площадь красной пульпы и белой пульпы по сравнению с контролем. Основными клетками в красной пульпе являются лимфоциты. Кроме того, имеются скопления плазматических клеток, очаги из макрофагов, а также нейтрофилы (рис. 4Б).

В селезенке интактных мышей красная пульпа заполнена лимфоцитами. В поле зрения встречаются единичные полиморфноядерные лейкоциты и плазматические клетки. Лимфоидные фолликулы в белой пульпе небольших размеров, без центров размножения (рис. 4В).

У мышей, инфицированных культурой *L. monocytogenes* ББ1, было обнаружено уменьшение размеров тимуса. Микроскопическое исследование показало уменьшение ши-

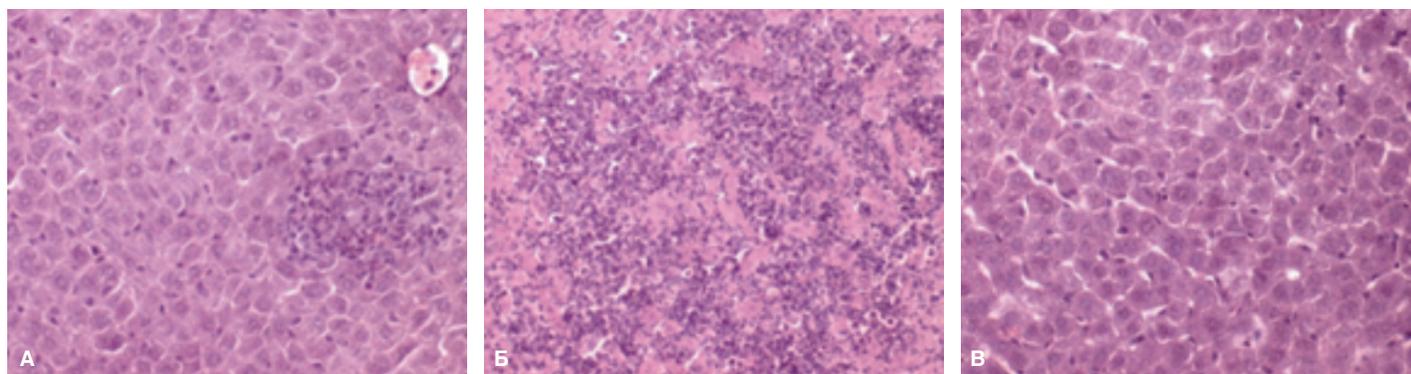


Рис. 3. Микрофотографии срезов печени мышей BALB/c, инфицированных *L. monocytogenes*. А – *L. monocytogenes* ББ1. Мелкие скопления гистиоцитов, лейкоцитов и лимфоцитов. Наблюдается лизис гепатоцитов. Увеличение $\times 20$; Б – *L. monocytogenes* МА554. Обширный участок некроза в паренхиме. Увеличение $\times 20$; В – Контроль (без заражения). Норма. Увеличение $\times 20$.

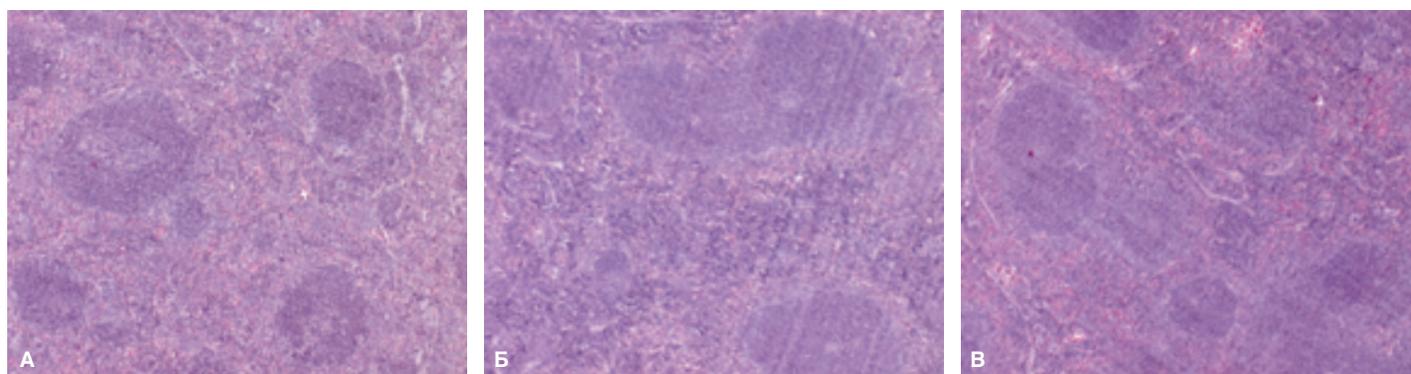


Рис. 4. Микрофотографии срезов селезенки мышей BALB/c, инфицированных *L. monocytogenes*. А – *L. monocytogenes* ББ1. Большое количество нейтрофилов в красной пульпе. Уменьшение количества лимфоидных фолликулов по сравнению с контролем. Увеличение $\times 4$; Б – *L. monocytogenes* МА554. Увеличены размеры лимфоидных фолликулов. Интенсивная инфильтрация лимфоцитами красной пульпы. Увеличение $\times 4$; В – Контроль (без заражения). Норма. Увеличение $\times 4$.

рины корковой зоны в дольках тимуса. У некоторых животных активная убыль лимфоцитов из корковой зоны приводила к состоянию, когда плотность лимфоцитов в корковом веществе становится заметно меньше, чем в мозговом веществе: происходит инверсия слоев (рис. 5А).

Листерозная кишечная инфекция, вызываемая штаммом *L. monocytogenes* МА554, не приводит к изменению величины тимуса по сравнению с контрольными животными. Однако микроскопическое исследование выявило расширение площади коркового вещества в его дольках. Площадь мозгового вещества в тимусе снижена (рис. 5Б).

У контрольных интактных мышей во всех долях тимуса имеется широкий корковый слой, состоящий из большого

количества лимфоцитов, плотно расположенных в эпителиальной ткани. Мозговое вещество в центральной части долек содержит меньшее количество клеток (рис. 5В).

Микроскопическое исследование легких и головного мозга интактных и инфицированных листериозом мышей не выявило в них отклонений от нормы (рис. 6, 7).

Антибиотикотерапия экспериментальной листериозной инфекции

Схемы лечения экспериментальной листериозной инфекции были одинаковы для обоих использованных штаммов *L. monocytogenes* (табл. 5).

Выживаемость мышей, инфицированных культурой *L. monocytogenes* ББ1, в лечебных группах №1 (ко-тримоксазол, 3 ч), №2 (ко-тримоксазол, 72 ч) и №4 (ампициллин + гентамицин, 72 ч) составила 60, 60 и 70% соответственно (рис. 8). Уровень смертности мышей в контрольной группе (без лечения) составил 40%. Хороший лечебный эффект наблюдался в группе животных, которых начинали лечить ампициллином с гентамицином через 3 ч после заражения, все мыши оставались живыми. Гибель животных в лечебных группах наблюдалась в период с 3-х по 7-е сутки, в контрольной – с 3-х по 5-е сутки.

Раннее начало лечения (через 3 ч после заражения) приводило к хорошему санирующему эффекту. В фекалиях всех мышей, выживших на 10-е сутки, листерии отсутствовали. Животные, получавшие ко-тримоксазол или ампициллин с

Таблица 4. Результаты биохимического анализа крови мышей BALB/c после внутрижелудочного введения культур *L. monocytogenes* штаммов ББ1 и МА554 через 7 суток после заражения в дозе 10^8 КОЕ

Показатель	Ед. изм.	Контроль	Штамм ББ1	Штамм МА554
Общий белок	г/л	84,7 ± 0,5	86,7 ± 5,1	94,3 ± 3,2
Глюкоза	ммоль/л	7,78 ± 0,69	6,34 ± 0,24	7,44 ± 0,31
АСТ	МЕ/л	200,9 ± 4,8	179,7 ± 19,2	221,3 ± 41,3
АЛТ	МЕ/л	37,1 ± 0,9	39,5 ± 13,4	57,7 ± 6,0
ЩФ	МЕ/л	230,5 ± 79,8	228,5 ± 8,3	181,8 ± 48,4

В таблице представлены средние значения (n = 5) и стандартные отклонения.

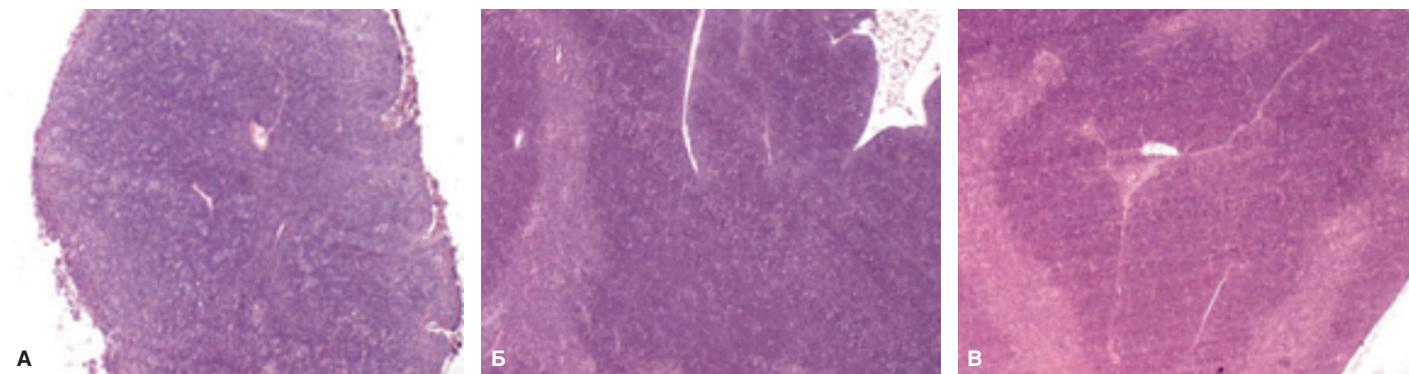


Рис. 5. Микрофотографии срезов тимуса мышей BALB/c, инфицированных *L. monocytogenes*.

А – *L. monocytogenes* ББ1. Значительное уменьшение корковой зоны. Увеличение $\times 4$; Б – *L. monocytogenes* МА554. Гиперплазия коркового вещества. Увеличение $\times 4$; В – Контроль (без заражения). Норма. Увеличение $\times 4$.

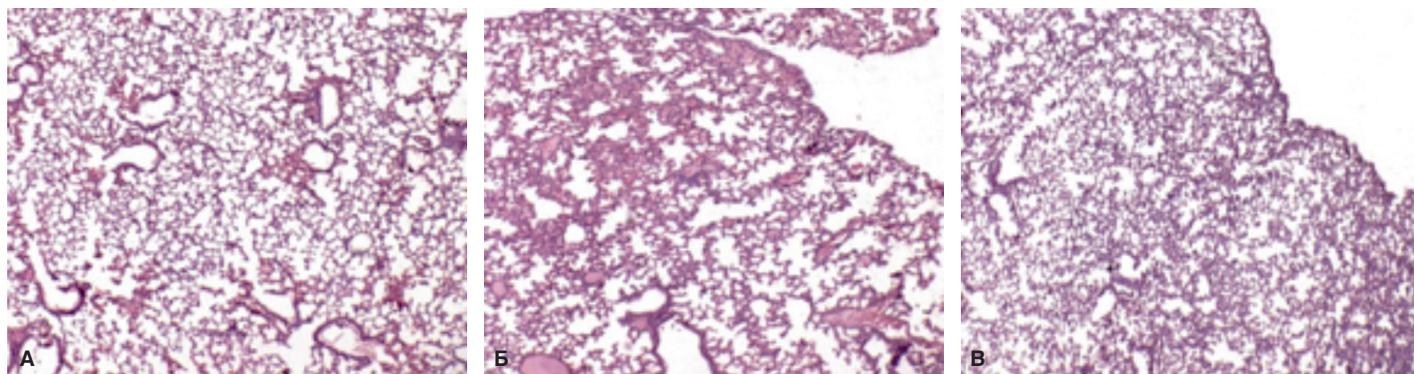


Рис. 6. Микрофотографии срезов легких мышей BALB/c, инфицированных *L. monocytogenes*.

А – *L. monocytogenes* ББ1. Патологические изменения отсутствуют. Увеличение $\times 4$; Б – *L. monocytogenes* МА554. Патологические изменения отсутствуют. Увеличение $\times 4$; В – Контроль (без заражения). Норма. Увеличение $\times 4$.

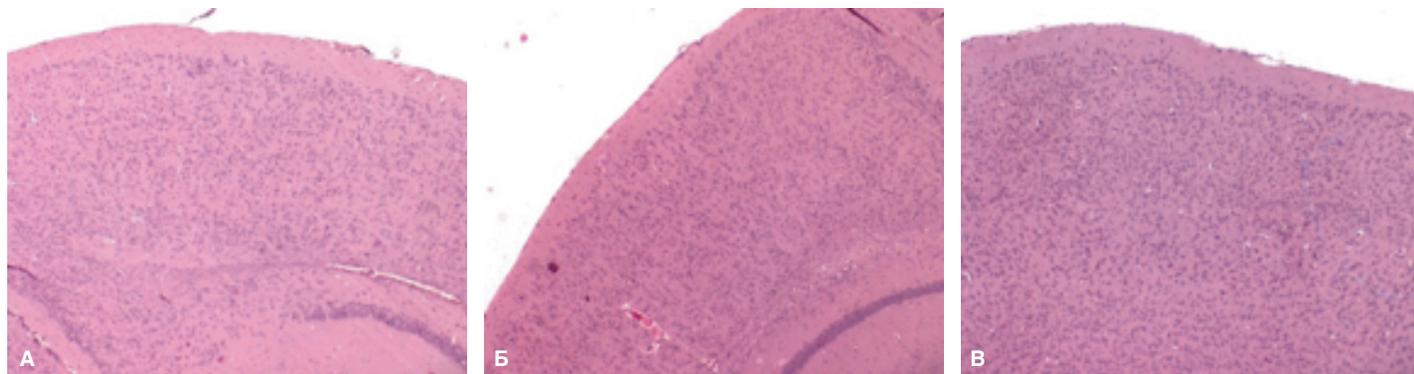


Рис. 7. Микрофотографии срезов головного мозга мышей BALB/c, инфицированных *L. monocytogenes*.

А – *L. monocytogenes* ББ1. Патологические изменения отсутствуют. Увеличение $\times 4$; Б – *L. monocytogenes* МА554. Патологические изменения отсутствуют. Увеличение $\times 4$; В – Контроль (без заражения). Норма. Увеличение $\times 4$.

гентамицином с началом терапии через 72 ч, оставались носителями листерий. Концентрация клеток *L. monocytogenes* ББ1 в фекалиях мышей достигало 4,27 и 3,52 LOG₁₀ КОЕ/г (табл. 6). Однако этот уровень обсемененности каловых масс был значительно ниже, чем у контрольных животных (6,11 LOG₁₀ КОЕ/г). Снижение обсемененности фекалий клетками листерий свидетельствует о терапевтической эффективности поздней антибиотикотерапии. Следует отметить, что у всех выживших животных культура *L. monocytogenes* ББ1 отсутствовала в селезенке и головном мозге, тогда как у павших животных присутствовала.

Антибиотикотерапия пищевой листериозной инфекции, вызываемой внутрижелудочным инфицированием мышей BALB/c культурой *L. monocytogenes* МА554, показала свою эффективность. Лучшие результаты были получены при ран-

нем начале лечения экспериментального кишечного листериоза ко-тримоксазолом (группа №1) или комбинацией ампициллина с гентамицином (группа №3). Выживаемость мышей в обоих случаях составила 100%. Более позднее начало терапии этими препаратами защищало от гибели 90% (группа №2) и 80% (группа №4) животных соответственно. Следует отметить, что уровень смертности среди нелеченых животных был невысоким и составлял 20%. Гибель мышей наблюдалась в период с 3-х по 8-е сутки после заражения (рис. 9).

Бактериологические исследования, направленные на оценку санирующего действия антибактериальных препаратов при лечении экспериментальной кишечной инфекции, вызванной *L. monocytogenes* МА554, установили, что раннее начало применения ко-тримоксазола или комбинации ампициллина с гентамицином приводит к полной элиминации ли-

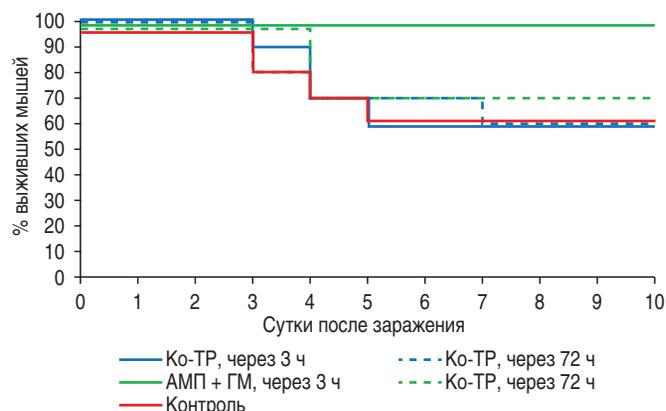


Рис. 8. Выживаемость мышей BALB/c после инфицирования культурой *L. monocytogenes* ББ1 в дозе 10^8 КОЕ и последующей антибиотикотерапии.

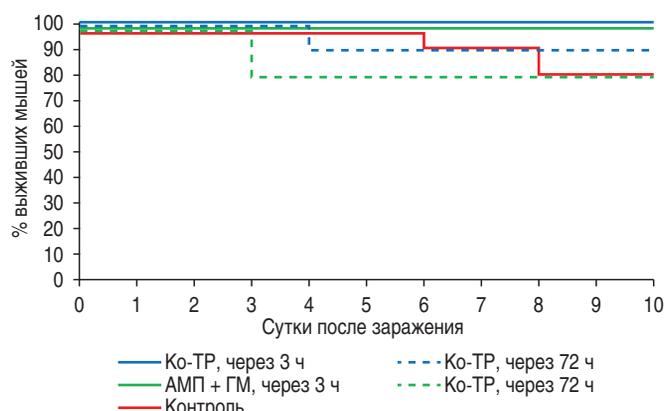


Рис. 9. Выживаемость мышей BALB/c после инфицирования культурой *L. monocytogenes* MA554 в дозе 10^8 КОЕ и последующей антибиотикотерапии.

стерий из кишечника мышей. В фекалиях всех выживших мышей из этих экспериментальных групп культура патогена отсутствовала (табл. 7). Эффективность антибиотикотерапии снижалась при ее начале на 3-и сутки после заражения. Так, например, в группе животных, леченых ампициллином и гентамицином, обсемененность фекалий листериями составляла 3,53 LOG10 КОЕ/г, что, впрочем, приблизительно на 2 порядка ниже, чем в контрольной группе (5,08 LOG10 КОЕ/г).

Санирующее действие ко-тримоксазола при позднем начале терапии кишечной листериозной инфекции было менее выраженным по сравнению с действием ампициллина с гентамицином. Уровень контаминации мышинных фекалий клетками *L. monocytogenes* MA554 был чуть ниже контрольного показателя и достигал 4,85 LOG10 КОЕ/г.

Как и в случае штамма ББ1, у всех выживших мышей *L. monocytogenes* MA554 отсутствовала в селезенке и голов-

ном мозге, в то же время у павших животных возбудитель инфекции обнаруживался в этих органах.

Обсуждение

Модели пищевой (кишечной) инфекции, вызываемые различными штаммами *L. monocytogenes*, достаточно широко используют в исследованиях по оценке специфической активности вакцинных препаратов и антибиотиков, изучению патогенеза листериоза [29, 30, 33–35, 39]. Мыши являются наиболее привлекательным видом лабораторных животных для моделирования благодаря их невысокой стоимости и доступности.

В данной статье мы описали разработанные нами мышинные модели пищевой листериозной инфекции, вызываемые двумя тест-штаммами (MA554 и ББ1) *L. monocytogenes* из

Таблица 5. Схемы лечения экспериментальной листериозной инфекции

№ группы	Препарат	Начало лечения	Разовая доза	Способ введения	Курс, дни	Кол-во мышей в группе
1	Ко-тримоксазол	Через 3 ч	250 мг/кг × 1 р/д	в/ж	5	10
2		Через 72 ч	250 мг/кг × 1 р/д	в/ж	5	10
3	Ампициллин + гентамицин	Через 3 ч	100 + 20 мг/кг × 2 р/д	п/к	5	10
4		Через 72 ч	100 + 20 мг/кг × 2 р/д	п/к	5	10
5	Контроль (без лечения)	–	–	–	–	10

Таблица 6. Эффективность антибиотиков при лечении экспериментальной кишечной листериозной инфекции у мышей линии BALB/c, инфицированных внутрижелудочно культурой *L. monocytogenes* ББ1 в дозе 10^8 КОЕ

Лечение	Обсемененность фекалий на 10-е сутки после заражения, LOG10 КОЕ/г	Гибель*	Средний срок гибели, сутки
Ко-тримоксазол, 3 ч	<2,0	4/10	4,0
Ко-тримоксазол, 72 ч	4,27	4/10	4,3
Ампициллин + гентамицин, 3 ч	<2,0	0/10	–
Ампициллин + гентамицин, 72ч	3,52	3/10	4,0
Контроль	6,11	4/10	3,8

* указано отношение павших мышей к общему количеству животных в группе.

Таблица 7. Эффективность антибиотиков при лечении экспериментальной кишечной листериозной инфекции у мышей линии BALB/c, инфицированных внутрижелудочно культурой *L. monocytogenes* MA554 в дозе 10^8 КОЕ

Лечение	Обсемененность фекалий на 10-е сутки после заражения, LOG10 КОЕ/г	Количество павших мышей*	Средний срок гибели, сутки
Ко-тримоксазол, 3 ч	<2,0	0/10	–
Ко-тримоксазол, 72 ч	4,85	1/10	4,0
Ампициллин + гентамицин, 3 ч	<2,0	0/10	–
Ампициллин + гентамицин, 72ч	3,53	2/10	3,0
Контроль	5,08	2/10	4,0

* указано отношение павших мышей к общему количеству животных в группе.

коллекции патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболенск». В предварительных исследованиях было установлено, что эти штаммы вирулентны для мышей линии BALB/c. Среднелетальная доза штаммов MA554 и ББ1 при внутрибрюшинном введении мышам составила $6,9 \times 10^4$ и $7,0 \times 10^4$ КОЕ соответственно. При внутрижелудочном заражении штаммами MA554 и ББ1 в дозе 10^9 КОЕ наиболее чувствительными оказались мыши линий C57BL/6, BALB/c и DBA (данные не представлены). Для моделирования пищевой инфекции мы выбрали мышей линии BALB/c. Другие исследователи также отмечают большую чувствительность к листериозу линейных лабораторных мышей, в т.ч. и мышей BALB/c [35]. Тем не менее относительно невысокая чувствительность иммунокомпетентных модельных животных к листериозу побудила нас повысить чувствительность мышей к инфекции при внутрижелудочном заражении. Хорошо известно, что кишечная микробиота играет важную роль в предотвращении колонизации кишечника болезнетворными микроорганизмами [14]. Подавление нормальной кишечной микрофлоры при применении антибиотиков значительно повышает риск его колонизации патогенными бактериями, в т.ч. *L. monocytogenes*. Поэтому мы индуцировали у мышей BALB/c дисбиоз кишечника по методу, предложенному Wadolowski E.A. et al. [41], с некоторыми изменениями. Мышам давали стрептомицин с питьевой водой в течение 5 дней перед заражением. Благодаря этому мы повысили чувствительность модельных животных к пищевой листериозной инфекции. При этом персистенция листерий в кишечнике мышей продолжалась в течение не менее 14 суток, а обсемененность фекалий клетками листерий была значительно выше, чем в контроле. На 14-е сутки после инфицирования количество клеток *L. monocytogenes* MA554 и *L. monocytogenes* ББ1 в фекалиях мышей составляло 7,77 и 4,71 LOG₁₀ КОЕ/г соответственно. В это же время концентрация листерий в фекалиях мышей с нормальной микрофлорой была более низкой – 6,63 и <2 LOG₁₀ КОЕ/г соответственно. Такую же заражающую дозу для моделирования кишечной листериозной инфекции использовали некоторые другие исследователи [33, 37].

Гистологические исследования органов мышей BALB/c, инфицированных внутрижелудочно культурами *L. monocytogenes* ББ1 и *L. monocytogenes* MA554, выявили некоторые различия в патоморфологических изменениях, связанные с этими штаммами. При сравнении микроскопической картины тонкого кишечника у мышей установлено, что в первом случае культура патогена вызывает раздражающее действие (увеличение количества активных бокаловидных клеток эпителия слизистой оболочки) на кишечник, а во втором – иммунозависимую реакцию (интенсивная инфильтрация лимфоцитами слизистой оболочки). В толстом кишечнике происходят аналогичные изменения. Следует отметить, что у животных, инфицированных культурой *L. monocytogenes* MA554, в отличие от контрольных мышей и мышей, зараженных *L. monocytogenes* ББ1, инфильтрация слизистой оболочки лимфоцитами более выражена, часто встречаются обширные скопления лимфоцитов.

В паренхиме печени мышей, зараженных штаммами ББ1 и MA554, формируются очаги воспаления. Однако штамм MA554 приводит к более тяжелому повреждению печени – образованию обширных некрозов в паренхиме.

На 7-е сутки после инфицирования мышей культурой штамма ББ1 происходит истощение лимфоидной ткани в их селезенке и увеличивается количество нейтрофилов (клеток воспаления) в красной пульпе. В случае штамма MA554 в селезенке наблюдаются признаки иммуностимулирующего действия: усиление пролиферации лимфоцитов в фолликулах и накопление лимфоцитов в белой и красной пульпе.

Гистологическое исследование тимуса мышей, инфицированных внутрижелудочно культурами штаммов листерий ББ1 и MA554, выявило существенные различия: для штамма ББ1 характерно уменьшение количества лимфоцитов в корковой зоне и ее сужение, а для штамма MA554 – увеличение количества лимфоцитов и расширение площади корковой зоны.

Гематологические исследования показали отсутствие значимых отклонений изменения в формуле крови мышей BALB/c, инфицированных штаммами ББ1 и MA554 *L. monocytogenes*. Биохимический анализ крови мышей, инфицированных внутрижелудочно культурами листерий, показал, что через неделю после заражения значительные изменения биохимических показателей крови происходят только в случае штамма *L. monocytogenes* MA554. В сыворотке крови инфицированных животных отмечается повышение уровня АЛТ, общего белка, снижение количества ЩФ. Существенные отклонения от нормы показателей печеночных ферментов свидетельствуют о серьезных функциональных нарушениях в печени. Эти данные согласуются с результатами гистологических исследований, в которых были выявлены тяжелые патологические изменения в печени (обширные некрозы) мышей, инфицированных культурой штамма MA554.

Поскольку цель работы заключалась в разработке модели пищевой листериозной инфекции, пригодной для оценки *in vivo* эффективности антибактериальных препаратов, мы провели эксперименты по лечению листериоза у мышей, вызываемого штаммами ББ1 и MA554 *L. monocytogenes*. Кишечную листериозную инфекцию у мышей BALB/c с антибиотик-ассоциированным дисбиозом кишечника вызывали внутрижелудочным введением культур *L. monocytogenes* ББ1 и *L. monocytogenes* MA554 в дозе 10^8 КОЕ. Лечение экспериментальной листериозной инфекции начинали через 3 и 72 ч после заражения. В качестве антибактериальных препаратов использовали антибиотики, рекомендованные для лечения листериоза, – ко-тримоксазол, комбинация ампициллина с гентамицином [31, 32]. Курс терапии составил 5 дней. Результаты экспериментального лечения показали, что разработанные нами модели пищевой листериозной инфекции позволяют оценивать эффективность различных антибактериальных препаратов, определять их активность *in vivo* в зависимости от схемы лечения.

Ампициллин в сочетании с гентамицином давал лучший лечебный результат, чем ко-тримоксазол при лечении листериоза, обусловленного штаммом ББ1, причем этот эффект наблюдался как при раннем начале лечения (через 3 ч после заражения), так и при позднем (через 3 дня после заражения). Выживаемость мышей была на 40 и 10% соответственно выше, чем в контрольной группе (без лечения). При раннем начале лечения все выжившие животные в лечебных группах были санированы от листерий, тогда как при позднем начале лечения фекалии мышей оставались контаминированными клетками *L. monocytogenes* ББ1. Тем не менее уро-

вень обсемененности фекалий листериями был на 2–3 порядка ниже, чем в контроле. Ко-тримоксазол не повышал выживаемость мышей от кишечной листериозной инфекции при обоих схемах терапии. Тем не менее этот антибиотик снижал обсемененность фекалий мышей листериями на 2 порядка при позднем начале лечения и санировал кишечник при ранней терапии.

Экспериментальная пищевая инфекция, обусловленная внутрижелудочным введением 10^8 КОЕ *L. monocytogenes* MA554, вызывала гибель только 20% мышей BALB/c с индуцированным дисбиозом кишечника и стойкую колонизацию их кишечника. Лечение кишечного листериоза ко-тримоксазолом и комбинацией ампициллина с гентамицином, как и в случае со штаммом ББ1, дало положительный эффект. Раннее начало курса антибиотикотерапии приводило к максимальному результату: 100% животных выжили и излечились от листериоза. Введение мышам ко-тримоксазола при отложенном начале лечения лишь на 10% увеличивало количество выживших животных по сравнению с контролем. Назначение ампициллина с гентамицином не повышало выживаемость мышей. Кроме того, на 10-е сутки после заражения у всех животных из лечебных групп с поздним началом лечения в фекалиях имелись листерии, но их количество было на 1–1,5 порядка ниже, чем в контрольной группе мышей.

Таким образом, эксперименты по лечению пищевой листериозной инфекции у мышей линии BALB/c, обусловленной штаммами *L. monocytogenes* ББ1 и *L. monocytogenes* MA554, показали пригодность разработанных моделей для оценки эффективности антибактериальных препаратов.

Заключение

В ходе исследований разработаны две модели листериозной пищевой инфекции, обусловленные штаммами *L. monocytogenes* MA554 или *L. monocytogenes* ББ1. Кишечный листериоз индуцируют на мышах линии BALB/c с дисбиозом кишечника, заражая их культурами тест-штаммов внутрижелудочно в дозе 10^8 КОЕ. После заражения листерии длительное время (не менее 2 нед.) персистируют в кишечнике модельных животных. При этом уровень смертности среди инфицированных мышей может достигать 20–40%.

Характер развития экспериментального пищевого листериоза у мышей позволяет использовать разработанные нами модели для оценки эффективности антибактериальных препаратов. Основными критериями оценки активности препаратов и схем их применения являются показатели выживаемости инфицированных животных, содержание листерий в фекалиях модельных животных и их органах.

Результаты экспериментального лечения кишечной листериозной инфекции показали, что активные *in vitro* в отношении *L. monocytogenes* MA554 и *L. monocytogenes* ББ1 ко-тримоксазол и комбинация ампициллина с гентамицином оказывают хороший лечебный эффект при пятидневном курсе применения. Раннее начало антибиотикотерапии приводит к полной санации кишечника инфицированных животных, а также к снижению смертности среди мышей. Более позднее начало антибиотикотерапии дает меньший лечебный эффект: наблюдается снижение обсемененности фекалий

мышей клетками листерий. Полученные результаты свидетельствуют о том, что предложенные нами модели кишечной листериозной инфекции пригодны для оценки *in vivo* эффективности антибактериальных препаратов.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Financial support

The work was carried out within the framework of the sectoral program of Rosпотребнадзор

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература

1. Carpentier B, Cerf O. Reviewe persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises. Int J Food Microbiol. 2011;145(1):1-8. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.005
2. Orsi RH, Bakker HCD, Wiedmann M. *Listeria monocytogenes* lineages: genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. Int J Med Microbiol. 2011;301(2):79-796. DOI: 10.1016/j.ijmm.2010.05.002
3. Swaminathan B, Gerner-Smidt P. The epidemiology of human listeriosis. Infect. 2007;9(10):1236-43. DOI: 10.1016/j.micinf. 2007.05.011
4. Бакулов ИА, Котляров ВМ, Шестиперова ТИ. Эпидемиологические и эпизоотологические аспекты листериоза. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1994;5:100-5.
5. Mead PS, Slutsker L, Dietz V. Food-related illness and death in the United States. Emerging Infect Dis. 1999;5:607-626. DOI: 10.3201/eid0505.990502
6. Lecuit M. Human listeriosis and animal models. Microbes Infect. 2007;9:1216-25. DOI: 10.1016/j.micinf.2007.05.009
7. Southwick FS, Purich DL. Intracellular pathogenesis of listeriosis. N Engl J Med. 1996;334(12):770-776. DOI: 10.1056/NEJM199603213341206
8. Doran KS, Banerjee A, Disson O, Lecuit M. Concepts and mechanisms: crossing host. Cold Spring Harbor Perspect. Med. 2013;3(7):a010090. DOI: 10.1101/cshperspect.a010090
9. Becattini S, Littmann ER, Carter RA. Commensal microbes provide first line defense against *Listeria monocytogenes* infection. J Exp Med. 2017;214(N):1973-89. DOI:10.1084/jem.20170495
10. Louria DB, Hensle T, Armstrong D, Collins HS. Listeriosis complicating malignant disease. A new association. Ann Intern Med. 1967;67(2):260-281. DOI: 10.7326/0003-4819-67-2-261
11. Jurado RL, Farley MM, Pereira E, Harvey RC. Increased risk of meningitis and bacteremia due to *Listeria monocytogenes* in patients with human immunodeficiency virus infection. Clin Infect Dis. 1993;17(2):224-227. DOI: 10.1093/clinids/17.2.224
12. Goulet V, Hedberg C, Le Monnier A, de Valk H. Increasing incidence of listeriosis in France and other European countries. Emerg Infect Dis. 2008;14(5):734-740. DOI: 10.3201/eid1405.071395
13. Koch J, Stark K. Significant increase of listeriosis in Germany – epidemiological patterns 2001–2005. Euro Surveill. 2006;11(6):85-88.
14. Caballero S, Pamer EG. Microbiota-mediated inflammation and antimicrobial defense in the intestine. Annu Rev Immunol. 2015;33:227-256. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032713-120238

15. Becattini S, Taur Y, Pamer EG. Antibiotic-Induced changes in the intestinal microbiota and disease. *Trends Mol Med.* 2016;22(6):458-78. DOI: 10.1016/j.molmed.2016.04.003
16. Schnupf P, Portnoy DA. Listeriolysin O: a phagosome-specific lysine. *Microbes Infect.* 2007;9(10):1176-87. DOI: 10.1016/j.micinf.2007.05.005
17. Zhu WM, Liu W, Wu DQ. Isolation and characterization of a new bacteriocin from *Lactobacillus gasseri* KT7. *J Appl Microbiol.* 2000;88:877-86. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2000.01027
18. Corr SC, Li Y, Riedel CU, O'Toole PW, Hill C, Gahan CG. Bacteriocin production as a mechanism for the anti-infective activity of *Lactobacillus salivarius* UCC118. *Proc Natl Acad.* 2007;104(18):7617-21. DOI: 10.1073/pnas.0700440104
19. Delgado S, O'Sullivan E, Fitzgerald G, Mayo B. Subtractive screening for probiotic properties of *Lactobacillus* species from the human gastrointestinal tract in the search for new probiotics. *J Food Sci.* 2007;72:M310-M315. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2007.00479.x
20. Travier L, Guadagnini S, Gouin E, Dufour A. Act A promotes *Listeria monocytogenes* aggregation, intestinal colonization and carriage. *PLoS Pathog.* 2013;9:e1003131.
21. Orsi RH, den Bakker HC, Wiedmann M. *Listeria monocytogenes* lineages: Genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. *Int J Med Microbiol.* 2011 Feb;301(2):79-96. DOI: 10.1016/j.ijmm.2010.05.002
22. Smith GA, Marquis H, Jones S, Johnston NC, Portnoy DA, Goldfine H. The two distinct phospholipases C of *Listeria monocytogenes* have overlapping roles in escape from a vacuole and cell-to-cell spread. *Infect Immun.* 1995;63(11):4231-4237. DOI: 10.1128/IAI.63.11.4231-4237.1995
23. De Almeida RN, Chesca AC, da Silva AD, Cecilia E. Antimicrobial sensitivity of *Listeria monocytogenes* isolated from beef. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal.* 2018;12(3). DOI: 10.5935/1981-2965.20180025
24. Noll M, Kleta S, Al Dahouk S. Antibiotic susceptibility of 259 *Listeria monocytogenes* strains isolated from food, food-processing plants and human samples in Germany. *J Infect Public Health.* 2018 Jul-Aug;11(4):572-577. DOI: 10.1016/j.jiph.2017.12.007
25. Conter M, Paludi D, Zanardi E, Ghidini S, Vergara A, Ianieri A. Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol.* 2009 Jan 15;128(3):497-500. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.10.018
26. Panera-Martínez S, Rodríguez-Melcon C, Serrano-Galan V, Alonso-Calleja C, Capita R. Prevalence, quantification and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* in poultry preparations. *Food Control.* 2022;135:108608. DOI: 10.1016/j.foodcont.2021.108608
27. Allerberger F, Wagner M. Listeriosis: a resurgent foodborne infection. *Clin Microbiol Infect.* 2010 Jan;16(1):16-23. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.03109.x
28. Davis JA, Jackson CR. Comparative antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes*, *L. innocua*, and *L. welshimeri*. *Microb Drug Resist.* 2009;15(1):27-32. DOI: 10.1089/mdr.2009.0863
29. Azimi PH, Koranyi K, Lindsey KD. *Listeria monocytogenes*: synergistic effects of ampicillin and gentamicin. *Am J Clin Pathol.* 1979;72:974-977. DOI: 10.1093/ajcp/72.6.974
30. Moellering Jr RC, Medoff G, Leech I. Antibiotic synergism against *Listeria monocytogenes*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1972;1(1):30-34. DOI: 10.1128/aac.1.1.30
31. Методические рекомендации №11 от 2001 г. Листериоз: утверждены Председателем Комитета здравоохранения 04 апреля 2001 г.: разработаны инфекционной клинической больницей №1 Комитета здравоохранения, МГМСУ, ИПВИ им. М.П.Чумакова ПАМН.
32. Страчунский ЛС, Белоусова ЮБ, Козлова СН. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. Под ред. Страчунского Л.С.. НИИАХ СГМА, 2002; 381 с.
33. Audurier A, Pardon P, Marly J, Lantier F. Experimental infection of mice with *L. monocytogenes* and *L. innocua*. *Ann Microbiol.* 1980;131B(1):47-57.
34. Golnazarian CA, Donnelly CW, Pintauro SJ, Howard DB. Comparison of infectious dose of *Listeria monocytogenes* F5817 as determined for normal versus compromised C57b1/6j mice. *J Food Prot.* 1989;52(10):696-701. DOI: 10.4315/0362-028X-52.10.696
35. Czuprynski CJ, Faith N.G., Steinberg H. A/J mice are susceptible and C57BL/6 mice are resistant to *Listeria monocytogenes* infection by intragastric inoculation. *Infect Immun.* 2003;71(2):682-689. DOI: 10.1128/IAI.71.2.682-689.2003
36. Bergmann S, Beard PM, Pasche B, Lienenklaus S, Weiss S, Gahan CG. Influence of internalin A murinisation on host resistance to orally acquired listeriosis in mice. *Microbiol.* 2013;13(90):2-16. DOI: 10.1186/1471-2180-13-90
37. Czuprynski CJ, Theisen C, Brown JF. Treatment with the antigranulocyte monoclonal antibody RB6-8C5 impairs resistance of mice to gastrointestinal infection with *Listeria monocytogenes*. *Infect Immun.* 1996;64(9):3946-49. DOI: 10.1128/IAI.64.9.3946-3949.1996
38. Zachar Z, Savage DC. Microbial interference and colonization of the murine gastrointestinal tract by *Listeria monocytogenes*. *Infect Immun.* 1979;23(1):168-74. DOI: 10.1128/IAI.23.1.168-174.1979
39. Suyemot MM, Hamrick TS, Spears PA. Extruterine Listeriosis in the Gravid Mouse Influences Embryonic Growth and Development. *PLoS ONE.* 2013;8(8):1-6. DOI: 10.1371/journal.pone.0072601
40. Schleich WF, Chase DP, Badley A. A model of food-borne *Listeria monocytogenes* infection in the Sprague-Dawley rat using gastric inoculation: development and effect of gastric acidity on infective dose. *Int J Food Microbiol.* 1993;18(1):15-24. DOI: 10.1016/0168-1605(93)90003-Y
41. Wadolkowski EA, Burris JA, O'Brien AD. Mouse model for colonization and disease caused by enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Infect Immun.* 1990 Aug;58(8):2438-45. DOI: 10.1128/iai.58.8.2438-2445.1990

References

1. Carpentier B, Cerf O. Reviewe persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises. *Int J Food Microbiol.* 2011;145(1):1-8. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.005
2. Orsi RH, Bakker HCD, Wiedmann M. *Listeria monocytogenes* lineages: genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. *Int J Med Microbiol.* 2011;301(2):79-796. DOI: 10.1016/j.ijmm.2010.05.002
3. Swaminathan B, Gerner-Smidt P. The epidemiology of human listeriosis. *Infect.* 2007;9(10):1236-43. DOI: 10.1016/j.micinf.2007.05.011
4. Bakulov IA, Kotlyarov VM, Shestiperova TI. Epidemiological and epizootological aspects of listeriosis. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology.* 1994;5:100-5. (In Russian).
5. Mead PS, Slutsker L, Dietz V. Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infect Dis.* 1999;5:607-626. DOI: 10.3201/eid0505.990502
6. Lecuit M. Human listeriosis and animal models. *Microbes Infect.* 2007;9:1216-25. DOI: 10.1016/j.micinf.2007.05.009
7. Southwick FS, Purich DL. Intracellular pathogenesis of listeriosis. *N Engl J Med.* 1996;334(12):770-776. DOI: 10.1056/NEJM199603213341206
8. Doran KS, Banerjee A, Disson O, Lecuit M. Concepts and mechanisms: crossing host. *Cold Spring Harbor Perspect. Med.* 2013;3(7):a010090. DOI: 10.1101/cshperspect.a010090
9. Becattini S, Littmann ER, Carter RA. Commensal microbes provide first line defense against *Listeria monocytogenes* infection. *J Exp Med.* 2017;214(N):1973-89. DOI:10.1084/jem.20170495
10. Louria DB, Hensle T, Armstrong D, Collins HS. Listeriosis complicating malignant disease. A new association. *Ann Intern Med.* 1967;67(2):260-281. DOI: 10.7326/0003-4819-67-2-261
11. Jurado RL, Farley MM, Pereira E, Harvey RC. Increased risk of meningitis and bacteremia due to *Listeria monocytogenes* in patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis.* 1993;17(2):224-227. DOI: 10.1093/clinids/17.2.224

12. Goulet V, Hedberg C, Le Monnier A, de Valk H. Increasing incidence of listeriosis in France and other European countries. *Emerg Infect Dis*. 2008;14(5):734-740. DOI: 10.3201/eid1405.071395
13. Koch J, Stark K. Significant increase of listeriosis in Germany – epidemiological patterns 2001–2005. *Euro Surveill*. 2006;11(6):85-88
14. Caballero S, Pamer EG. Microbiota-mediated inflammation and antimicrobial defense in the intestine. *Annu Rev Immunol*. 2015;33:227-256. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032713-120238
15. Becattini S, Taur Y, Pamer EG. Antibiotic-Induced changes in the intestinal microbiota and disease. *Trends Mol Med*. 2016;22(6):458-78. DOI: 10.1016/j.molmed.2016.04.003
16. Schnupf P, Portnoy DA. Listeriolysin O: a phagosome-specific lysine. *Microbes Infect*. 2007;9(10):1176-87. DOI: 10.1016/j.micinf. 2007.05.005
17. Zhu WM, Liu W, Wu DQ. Isolation and characterization of a new bacteriocin from *Lactobacillus gasseri* KT7. *J Appl Microbiol*. 2000;88:877-86. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2000.01027
18. Corr SC, Li Y, Riedel CU, O'Toole PW, Hill C, Gahan CG. Bacteriocin production as a mechanism for the anti-infective activity of *Lactobacillus salivarius* UCC118. *Proc Natl Acad*. 2007;104(18):7617-21. DOI: 10.1073/pnas.0700440104.
19. Delgado S, O'Sullivan E, Fitzgerald G, Mayo B. Subtractive screening for probiotic properties of *Lactobacillus* species from the human gastrointestinal tract in the search for new probiotics. *J Food Sci*. 2007;72:M310-M315. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2007.00479.x
20. Travier L, Guadagnini S, Gouin E, Dufour A. Act A promotes *Listeria monocytogenes* aggregation, intestinal colonization and carriage. *PLoS Pathog*. 2013;9:e1003131.
21. Orsi RH, den Bakker HC, Wiedmann M. *Listeria monocytogenes* lineages: Genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. *Int J Med Microbiol*. 2011 Feb;301(2):79-96. DOI: 10.1016/j.ijmm.2010.05.002
22. Smith GA, Marquis H, Jones S, Johnston NC, Portnoy DA, Goldfine H. The two distinct phospholipases C of *Listeria monocytogenes* have overlapping roles in escape from a vacuole and cell-to-cell spread. *Infect Immun*. 1995;63(11):4231-4237. DOI: 10.1128/IAI.63.11.4231-4237.1995
23. De Almeida RN, Chesca AC, da Silva AD, Cecilia E. Antimicrobial sensitivity of *Listeria monocytogenes* isolated from beef. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*. 2018;12(3). DOI: 10.5935/1981-2965.20180025
24. Noll M, Kleta S, Al Dahouk S. Antibiotic susceptibility of 259 *Listeria monocytogenes* strains isolated from food, food-processing plants and human samples in Germany. *J Infect Public Health*. 2018 Jul-Aug;11(4):572-577. DOI: 10.1016/j.jiph.2017.12.007
25. Conter M, Paludi D, Zanardi E, Ghidini S, Vergara A, Ianieri A. Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol*. 2009 Jan 15;128(3):497-500. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.10.018
26. Panera-Martínez S, Rodríguez-Melcon C, Serrano-Galan V, Alonso-Calleja C, Capita R. Prevalence, quantification and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* in poultry preparations. *Food Control*. 2022;135:108608. DOI: 10.1016/j.foodcont.2021.108608
27. Allerberger F, Wagner M. Listeriosis: a resurgent foodborne infection. *Clin Microbiol Infect*. 2010 Jan;16(1):16-23. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.03109.x
28. Davis JA, Jackson CR. Comparative antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes*, *L. innocua*, and *L. welshimeri*. *Microb Drug Resist*. 2009;15(1):27-32. DOI: 10.1089/mdr.2009.0863
29. Azimi PH, Koranyi K, Lindsey KD. *Listeria monocytogenes*: synergistic effects of ampicillin and gentamicin. *Am J Clin Pathol*. 1979;72:974-977. DOI: 10.1093/ajcp/72.6.974
30. Moellering Jr RC, Medoff G, Leech I. Antibiotic synergism against *Listeria monocytogenes*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1972;1(1):30-34. DOI: 10.1128/aac.1.1.30
31. Methodological Recommendations No 11 of 2001 Listeriosis: approved by the Chairman of the Health Committee on April 04, 2001: developed by the Infectious Clinical Hospital No 1 of the Health Committee, MGMSU, IPVI named after M.P.Chumakov RAMS.
32. Strachunsky LS, Belousova YuB, Kozlova SN. Practical guide to anti-infective chemotherapy. Edited by LS Strachunsky. NIIAH SGMA, 2002; 381 p. (In Russian).
33. Audurier A, Pardon P, Marly J, Lantier F. Experimental infection of mice with *L. monocytogenes* and *L. innocua*. *Ann Microbiol*. 1980;131B(1):47-57.
34. Golnazarian CA, Donnelly CW, Pintauro SJ, Howard DB. Comparison of infectious dose of *Listeria monocytogenes* F5817 as determined for normal versus compromised C57b1/6j mice. *J Food Prot*. 1989;52(10):696-701. DOI: 10.4315/0362-028X-52.10.696
35. Czuprynski CJ, Faith N.G., Steinberg H. A/J mice are susceptible and C57BL/6 mice are resistant to *Listeria monocytogenes* infection by intragastric inoculation. *Infect Immun*. 2003;71(2):682-689. DOI: 10.1128/IAI.71.2.682-689.2003
36. Bergmann S, Beard PM, Pasche B, Lienenklaus S, Weiss S, Gahan CG. Influence of internalin A murinisation on host resistance to orally acquired listeriosis in mice. *Microbiol*. 2013;13(90):2-16. DOI: 10.1186/1471-2180-13-90
37. Czuprynski CJ, Theisen C, Brown JF. Treatment with the antigranulocyte monoclonal antibody RB6-8C5 impairs resistance of mice to gastrointestinal infection with *Listeria monocytogenes*. *Infect Immun*. 1996;64(9):3946-49. DOI: 10.1128/IAI.64.9.3946-3949.1996
38. Zachar Z, Savage DC. Microbial interference and colonization of the murine gastrointestinal tract by *Listeria monocytogenes*. *Infect Immun*. 1979;23(1):168-74. DOI: 10.1128/IAI.23.1.168-174.1979
39. Suyemot MM, Hamrick TS, Spears PA. Extruterine Listeriosis in the Gravid Mouse Influences Embryonic Growth and Development. *PLoS ONE*. 2013;8(8):1-6. DOI: 10.1371/journal.pone.0072601
40. Schlech WF, Chase DP, and Badley A. A model of food-borne *Listeria monocytogenes* infection in the Sprague-Dawley rat using gastric inoculation: development and effect of gastric acidity on infective dose. *Int J Food Microbiol*. 1993;18(1):15-24. DOI: 10.1016/0168-1605(93)90003-Y
41. Wadolkowski EA, Burris JA, O'Brien AD. Mouse model for colonization and disease caused by enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Infect Immun*. 1990 Aug;58(8):2438-45. DOI: 10.1128/iai.58.8.2438-2445.1990

Информация о соавторах:

Коробова Ольга Васильевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биологических испытаний ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Комбарова Татьяна Ивановна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биологических испытаний ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Перескокова Евгения Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории биологических испытаний ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Ганина Елена Анатольевна, научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Information about co-authors:

Olga V. Korobova, PhD (Biological Sciences), Senior Researcher of the Biological Testing Laboratory, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор

Tatiana I. Kombarova, PhD (Biological Sciences), Senior Researcher of the Biological Testing Laboratory, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор

Evgenia S. Pereskokova, Junior Researcher of the Biological Testing Laboratory, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор

Elena A. Ganina, Researcher of the Biological Testing Laboratory, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор