

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА  
И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ,  
НАУКИ И КАДРОВОЙ ПОЛИТИКИ

Учреждение образования  
«БЕЛОРУССКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ  
ОРДЕНОВ ОКТЯБРЬСКОЙ РЕВОЛЮЦИИ  
И ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ  
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ»

А. П. Дуктов, И. А. Ходырева, Л. А. Шамсуддин

# **МИКРОБИОЛОГИЯ**

## **ЧАСТНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ**

### **ПРАКТИКУМ**

*Рекомендовано учебно-методическим объединением  
по образованию в области сельского хозяйства  
в качестве учебно-методического пособия для студентов  
учреждений, обеспечивающих получение высшего образования  
I ступени по специальности 1-74 03 01 Зоотехния*

Горки  
БГСХА  
2021

УДК 579.2(075.8)

ББК 28.4я73

Д81

*Рекомендовано методической комиссией  
факультета биотехнологии и аквакультуры  
23.11.2021 (протокол № 3)  
и Научно-методическим советом БГСХА  
24.11.2021 (протокол № 3)*

Авторы:

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *А. П. Дуктов*;  
кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *И. А. Ходырева*;  
кандидат сельскохозяйственных наук *Л. А. Шамсуддин*

Рецензенты:

доктор ветеринарных наук, доктор биологических наук,  
профессор *П. А. Красочко*;  
кандидат ветеринарных наук *И. В. Зубовская*

**Дуктов, А. П.**

Д81

Микробиология. Частная микробиология. Практикум :  
учебно-методическое пособие / А. П. Дуктов, И. А. Ходырева,  
Л. А. Шамсуддин. – Горки : БГСХА, 2021. – 144 с.  
ISBN 978-985-882-172-2.

В пособии представлены современные методы использования биохимических свойств микроорганизмов. Изложены приемы исследования микрофлоры воды, почвы, кормов, навоза, молока, мяса. Включен словарь терминов. Практикум составлен в соответствии с типовой учебной программой.

Для студентов учреждений, обеспечивающих получение высшего образования I ступени по специальности 1-74 03 01 Зоотехния.

**УДК 579.2(075.8)**

**ББК 28.4я73**

**ISBN 978-985-882-172-2**

© УО «Белорусская государственная  
сельскохозяйственная академия», 2021

## ВВЕДЕНИЕ

Роль микробиологии как науки определяется значением микроорганизмов в природных процессах и в человеческой деятельности. Именно микроорганизмы обеспечивают протекание глобального круговорота элементов на нашей планете. Такие его стадии, как фиксация молекулярного азота, денитрификация или минерализация сложных органических веществ, были бы невозможны без участия микроорганизмов. На деятельности микроорганизмов основан целый ряд необходимых человеку производств продуктов питания.

Люди научились использовать микроорганизмы для очистки окружающей среды от различных природных и антропогенных загрязнений. В то же время многие микроорганизмы являются возбудителями заболеваний человека, животных, рыб, растений, а также вызывают порчу продуктов питания и кормов.

Для более точного понимания основных закономерностей микробиологии необходимо наличие знаний об общих принципах их развития и обитания микроорганизмов в объектах внешней среды, об основных группах микроорганизмов – возбудителях порчи продуктов и материалов, потенциальных возбудителях пищевых и кормовых отравлений, зооантропонозных болезней, о механизмах микробиологических процессов, протекающих при производстве пищевых продуктов и кормов; а также получение необходимых знаний о микромире и управлении микробиологическими процессами при приготовлении кормов, положительно влияющих на улучшение иммунитета животных и получение высококачественной продукции животноводства.

Практикум подготовлен в соответствии с программой по учебной дисциплине «Микробиология» для студентов учреждений, обеспечивающих получение высшего образования I ступени по специальности 1-74 03 01 Зоотехния.

## **Лабораторное занятие 1. МИКРОБИОТА НАВОЗА И СТОЧНЫХ ВОД ЖИВОТНОВОДЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ**

**Цель занятия:** изучить методы микробиологического исследования навоза и сточных вод животноводческих объектов.

**Материалы и оборудование:** пробы навоза, физиологический раствор, предметные стекла, пипетки, бактериологические петли, набор реактивов для окрашивания микроорганизмов по Граму, чашки Петри, МПА, микроскопы, термостат, газовые горелки, демонстрационный фото- и видеоматериал, справочный материал.

### **Ход занятия**

**Задание 1. Определить бактериальную загрязненность навоза. Приготовить препараты-мазки для микроскопии. Микроскопическую картину зарисовать в рабочей тетради.**

В зависимости от технологии содержания животных получают навоз, содержащий подстилочные материалы, именуемый как подстилочный навоз (влажность – 68–85 %), полужидкий (влажность – 86–92 %), жидкий (влажность – более 97 %). Удаление, обработку, хранение, транспортирование и использование навоза (помета) и стоков осуществляют с учетом требований охраны окружающей среды от загрязнений и исключения распространения возбудителей инфекционных и инвазионных болезней, в том числе социально опасных (зоонозов).

Навоз из животноводческих помещений удаляют механическими (скребковые транспортеры, скреперные установки, бульдозеры разных типов) или гидравлическими (самотечные системы непрерывного и периодического действия, гидросмыв) способами.

Одним из факторов, определяющих состав навоза, готового к применению, является способ его переработки и хранения. Хранение и переработка навоза происходит в специально отведенных местах – навозохранилищах. Для отходов животноводческих ферм это наземные или заглубленные бурты, для более жидких свиных экскрементов – лагуны. Далее происходит процесс естественного разложения бактериями.

Различают следующие способы хранения навоза:

- 1) плотный способ (анаэробный);
- 2) рыхло-плотный (аэробно-анаэробный);
- 3) рыхлый (аэробный).

При хранении навоза в первый период в рыхлосложенной массе бурно развивается разнообразная мезофильная микрофлора – аэробные неспороносные бактерии, грибы и частично актиномицеты. Через несколько дней, когда температура навоза поднимется до 60–70 °С, его уплотняют. В результате подъема температуры и удаления воздуха из навоза большая часть мезофильной микрофлоры отмирает. Некоторая часть актиномицетов и неспорообразующих бактерий переносит повышенную температуру в анабиотическом состоянии. Активно размножаться в разогретшемся навозе могут лишь термофильные и термотолерантные актиномицеты и бактерии. Последние представлены в основном спорообразующими формами (*Bac. subtilis*, *Bac. mesentericus*). Целлюлозу в горячем компосте разлагает термофильная бактерия *Clostridium thermocellum*.

В навозе содержится много органического вещества, в связи с чем он представляет собой хорошую среду для развития микроорганизмов. Их количество в навозе велико. Так, в 1 т навоза содержится до 10 кг микробной массы, а в 1 г – до 90 млрд. живых микробных клеток. Микроорганизмы не только используют питательные вещества навоза, но и формируют его. Благодаря деятельности микробов навоз приобретает свойства органического удобрения. Состав веществ в навозе непостоянен. Он зависит от соотношения твердых и жидких фракций, количества и состава корма, подстилки, вида животных и некоторых других факторов.

**Видовой состав микробиоты навоза и сточных вод животноводческих объектов.**

В навозе присутствуют аммонификаторы, нитрификаторы, денитрификаторы, возбудители брожения, плесневые грибы, а также часто обнаруживаются возбудители инфекционных заболеваний.

**Аммонификаторы** – физиологическая группа бактерий, использующих белки и аминокислоты в качестве энергетических субстратов, что сопровождается выделением в среду аммиака. Встречаются как спорообразующие формы (*Bacillus*), так и микроорганизмы, не образующие спор (*Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Mycobacterium*, *Proteus*) (рис. 1.1). Общее число подобных форм микроорганизмов достигает 200–300 млн. на 1 г навоза.

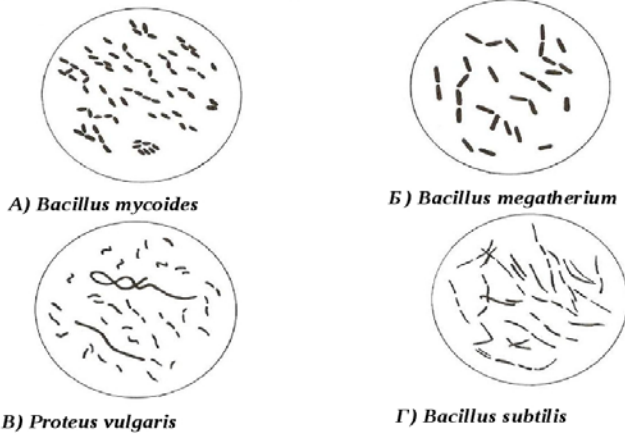


Рис. 1.1. Наиболее часто встречающиеся в навозе аммонификаторы

**Нитрификаторы:** группа автотрофных микроорганизмов, способных получать энергию для жизнедеятельности за счет окисления неорганических соединений азота. Делятся на две группы. Нитрификаторы первой группы (нитрозомона – *Nitrosomonas winogradsky*) окисляют аммиак до нитритов с образованием в качестве побочного продукта закиси азота; нитрификаторы второй группы (нитробактер – *Nitrobacter winogradsky*) окисляют нитрит в нитраты (рис. 1.2).

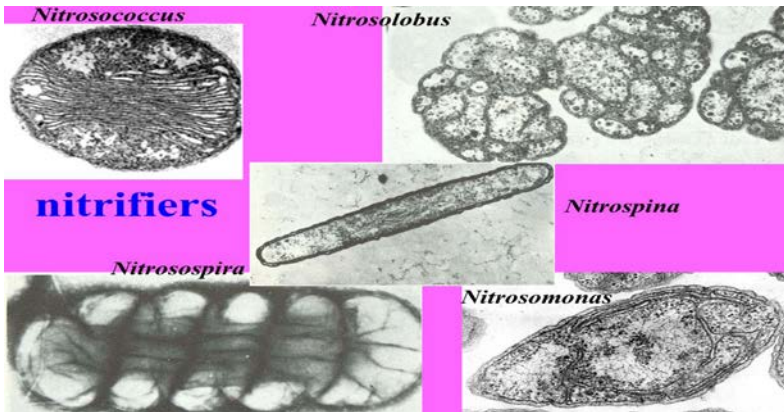


Рис. 1.2. Нитрификаторы

**Денитрификаторы.** С помощью этих микроорганизмов происходит естественный процесс восстановления нитратов и нитритов до аммиака и газообразного азота. В этом процессе участвуют бактерии родов *Pseudomonas*, *Bacillum* и др. (рис. 1.3).

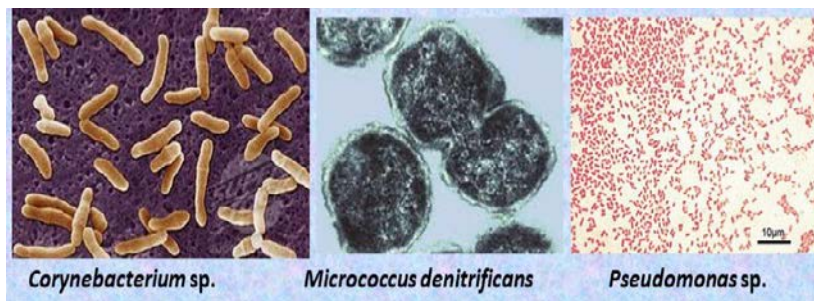


Рис. 1.3. Денитрификаторы

Денитрификация замыкает цикл азота и препятствует образованию токсических концентраций окислов азота. Однако наряду с аммонификаторами, нитрификаторами и денитрификаторами, возбудителями брожений, плесневыми грибами и актиномицетами в навозе могут содержаться возбудители инфекционных болезней (табл. 1.1).

Таблица 1.1. Бактериологический состав навозных стоков

Вид микроорганизмов	Навозные стоки	
	Свиньи	КРС
Бактерии группы кишечных палочек	$3,8 \cdot 10^6$	$3 \cdot 10^5$
Энтерококки	$0,2 \cdot 10^6$	$7 \cdot 10^5$
Стафилококки	$10^{10}-10^{12}$	$10^5-10^7$
Клостридии	$1,8 \cdot 10^2-4 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^2-1,6 \cdot 10^4$

Сальмонеллы определяются в большинстве отобранных проб и насчитывают от 22 до 59 штаммов. Из жидкой фракции свиного навоза выделяется от 11 до 21 штамма энтеропатогенной кишечной палочки.

Навозные стоки животноводческих комплексов могут быть фактором передачи более 100 инфекционных и паразитарных заболеваний

(бруцеллез, туберкулез, ящур и др.). Выживаемость бруцелл в неразбавленном навозе при температуре 25 °С составляет 20–25 суток, микобактерий туберкулеза – 475 дней, вируса ящура в летнее время – 42 суток, зимой (замерзший навоз) – 190 суток. С увеличением влажности навоза сроки выживаемости патогенных бактерий возрастают.

В навозе имеются и гниlostные спорообразующие бактерии: *Bacillus subtilis*, *Bac. mesentericus*, *Bac. megaterium*, *Bac. mycoides*.

На всех животноводческих (птицеводческих) фермах и комплексах должны быть предусмотрены способы и технические средства для обеззараживания навоза (помета). Предусмотренные проектом состав и конструктивные особенности сооружений линии удаления, подготовки навоза (помета), стоков должны обеспечивать постоянную возможность обеззараживания отходов в технологическом процессе, с учетом эпизоотической ситуации в отношении инфекционных, инвазионных болезней и ветеринарно-санитарных требований.

Под обеззараживанием навоза, помета понимается уничтожение в них возбудителей инфекционных болезней. В зависимости от ситуации навоз и помет обеззараживают следующими способами: **биологическим** (длительное выдерживание), **химическим** (хлором, аммиаком или формальдегидом) и **физическим** (термическая обработка или сжигание).

Биологические методы обеззараживания предусматривают длительное выдерживание, биотермическую обработку, анаэробное сбраживание и аэробное окисление. Естественное биологическое обеззараживание подстилочного и бесподстилочного навоза (помета), инфицированных неспорообразующими возбудителями болезней (кроме туберкулеза), осуществляется путем выдерживания в секционных навозохранилищах или прудах накопителях в течение 12 месяцев.

Секции хранилищ, заполненные полужидким навозом (пометом) с возбудителями болезней, укрывают торфом, опилками или обеззараженной массой навоза (помета) толщиной 10–20 см. Навоз, обсемененный микобактериями туберкулеза, обеззараживают выдерживанием в течение 2 лет. Бесподстилочный полужидкий навоз и помет с влажностью 85–92 % можно обеззараживать путем приготовления компостов с органическими сорбентами (измельченная солома, торф, опилки, кора, лигнин) и укладкой их в бурты. Для активного и эффективного протекания биотермических процессов в компостах должно в одинаковой мере соблюдаться каждое из следующих условий:

– оптимальная влажность компостной массы – 65–70 %;



- соотношение компонентов не менее 1:1;
- высокая гомогенность смеси;
- оптимальная реакция среды (рН 6,5–7,7);
- достаточная аэрация массы в процессе компостирования;
- положительный тепловой баланс;
- оптимальное соотношение углерода к азоту 20–30:1.

Контроль за эффективностью обеззараживания навоза (помета) и навозных стоков осуществляют микробиологическими методами по выживаемости индикаторных (санитарно-показательных) микроорганизмов: бактерий группы кишечных палочек, стафилококков и спор рода *Bacillus*.

При анаэробной ферментации жидкого навоза и помета контроль обеззараживания проводят по выживаемости кишечной палочки и энтерококков. При контаминации навоза и стоков возбудителями туберкулеза качество обеззараживания их контролируют по выживаемости стафилококков и энтерококков.

Качество обеззараживания при обсеменении органических отходов спорообразующими возбудителями сибирской язвы, эмфизематозного карбункула, а также возбудителями экзотических инфекций контролируют по наличию или отсутствию аэробных спорообразующих микроорганизмов рода *Bacillus*.

Обеззараживание органических отходов считают эффективным при отсутствии в 10 г (см<sup>3</sup>) пробы кишечных палочек, стафилококков, энтерококков или аэробных спорообразующих микроорганизмов в зависимости от вида возбудителей инфекционных болезней при трехкратном исследовании.

**Задание 2. Описать культуральные свойства выросших колоний исследуемого образца навоза путем посева разведений на мясопептонном агаре в чашки Петри.**

***Отбор проб для микробиологического исследования.***

Пробы навоза (помета), стоков и их фракций отбирают из верхних, средних и нижних слоев масс в технологической системе удаления, обработки (подготовки) и хранения навоза (помета) и стоков – из основных точек (сооружений) технологической линии, включая исходные образцы, а также при выходе стоков из производственной зоны животноводческих объектов.

### ***Микробиологическое исследование навоза.***

Отобранные образцы помещают в стерильную посуду и перемешивают. Из средней пробы отбирают 1 г навоза и переносят в пробирку с 99 мл стерильной воды. Получается разведение 1:100. Из этого разведения 1 мл переносят в пробирку с 9 мл стерильной воды. Получается разведение 1:1000 и т. д.

#### *Схема приготовления разведений.*

1 г навоза + 99 стерильной воды – 1:100;

1 мл разведения 1:100 + 9 мл стерильной воды – 1:1000;

1 мл разведения 1:1000 + 9 мл стерильной воды – 1:10000;

1 мл разведения 1:10000 + 9 мл стерильной воды – 1:100000.

Стерильными пипетками приготовленные разведения вносят по 1 мл в стерильные бактериологические чашки и заливают 10 мл расплавленного и охлажденного до температуры 45 °С мясоептонного агара. Содержимое чашек перемешивают круговыми движениями по ровной поверхности и дают агару застыть. Чашки Петри подписывают и помещают вверх дном в термостат при температуре 37 °С на 24 ч.

Количество выросших колоний подсчитывают в каждой чашке. Полученное число умножают на степень разведения. Результаты складывают и делят на число учтенных чашек. Получают среднее количество микроорганизмов в 1 г исследуемой пробы навоза.

Для определения патогенной и инфекционной микробиоты в навозе делают посеvy на различные специальные и дифференциально-диагностические среды с последующей идентификацией выделенных чистых культур возбудителей болезней.

### **Контрольные вопросы**

1. Отбор проб навоза (помета) и стоков животноводческих помещений для микробиологического исследования.
2. Видовой состав микробиоты навоза (помета) и стоков животноводческих помещений. Методы биотермической обработки навоза.
3. Контроль за эффективностью обеззараживания навоза и стоков.
4. Видовой состав патогенной и условно-патогенной микробиоты навоза (помета) и навозных стоков.
5. Методы обеззараживания навоза и сточных вод животноводческих объектов.

## **Лабораторное занятие 2.** **МИКРОБИОТА МОЛОКА И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ**

**Цель занятия:** изучить микробиологические методы исследования молока и молочных продуктов; качественный и количественный состав микробиоты молока и молочных продуктов.

**Материалы и оборудование:** пробы молока и молочных продуктов хорошего и сомнительного качества; пробирки с 9 мл физиологического раствора; чашки Петри; пипетки; бактериологические петли; предметные стекла, микроскопы; питательные среды, демонстрационные материалы (морфология микроорганизмов молочных продуктов, особенности роста колоний на питательных средах), реактивы для окрашивания мазков (метиленовый синий, раствор Люголя, фуксин).

### **Ход занятия**

**Задание 1. Освоить технику отбора проб молока и молочных продуктов для микробиологического анализа. Приготовить препараты-мазки из образцов свежих и сомнительного качества проб молока и молочных продуктов. Провести микроскопическое исследование препаратов.**

Молочные продукты высокого качества можно выработать только из доброкачественного молока. Доброкачественное молоко характеризуется нормальным химическим составом, оптимальными физико-химическими и микробиологическими показателями, определяющими его пригодность к переработке.

Изменение свойств и особенно микробиологических показателей сырого молока в значительной степени обусловлено жизнедеятельностью микроорганизмов, которые попадают в молоко при несоблюдении:

- санитарно-гигиенических правил дойки;
- санитарно-гигиенических условий содержания животных;
- чистоты поверхности вымени и кожных покровов животного;
- личной гигиены обслуживающего персонала;
- правил хранения и транспортирования молока.

Происхождение микрофлоры молока очень разнообразно. Микробы попадают в молоко уже в момент выдаивания. Некоторые микробы обитают в каналах сосков вымени и поэтому всегда находятся в выдо-

енном молоке. По данным ВНИМИ, в сборном молоке, отобранном непосредственно на животноводческих комплексах, общее количество бактерий колеблется в пределах от  $4,6 \cdot 10^4$  до  $1,2 \cdot 10^6$  в  $1 \text{ см}^3$ . Качество молока, особенно его бактериологические показатели, в значительной степени зависит от длительности и температуры его хранения. При охлаждении молока до температуры  $3^\circ\text{C}$  количество микроорганизмов уменьшается под действием бактерицидных веществ свежесвыдоенного молока в течение 2–40 ч. Затем наступает быстрое развитие микрофлоры с преобладанием развития молочнокислых бактерий. В неохлажденном молоке быстро развиваются микроорганизмы, вызывающие его скисание. Так, при температуре  $32^\circ\text{C}$  через 10 ч кислотность молока повышается в 2,8 раза, а число бактерий возрастает в 40 раз. Оптимальный срок хранения молока, охлажденного до температуры  $4\text{--}6^\circ\text{C}$ , – не более 12 ч. При более длительном хранении молока в условиях низких температур возникают пороки вкуса и консистенции.

В обычных условиях хранения молока видовой состав микроорганизмов постепенно изменяется, закономерно проходя пять фаз развития.

**1-я фаза** – бактерицидная – свежесвыдоенное молоко обладает бактерицидной активностью – способностью в определенный период подавлять развитие попавших в молоко микроорганизмов. Бактерицидные вещества поступают из крови животного в молочную железу. К ним относят иммуноглобулины (антитела), лейкоциты, лактенины. Они вызывают реакцию агглютинации, или склеивание клеток, последовательного воздействия на мембрану клетки (лизиса) с ее разрушением. Продолжительность бактерицидной фазы зависит от физиологического состояния животного, периода лактации, степени бактериальной обсемененности и температуры хранения молока.

**2-я фаза** – фаза смешанной микрофлоры, или переходная (длится до 12 ч), в течение которой обильно размножаются все попавшие в молоко микроорганизмы (до  $10^8$  КОЕ/мл).

**3-я фаза** – фаза молочнокислых стрептококков – наступает только при хранении молока при температуре выше  $10^\circ\text{C}$ . Длительность ее составляет 12–48 ч. Через 48 ч происходит резкий сдвиг pH, в результате чего большинство микроорганизмов отмирает или подавляется и наступает фаза **молочнокислых палочек**.

**4-я фаза** – дрожжево-плесневая – наступает при хранении молока в течение 3–4 недель, происходит достижение предельной кислотности,

накапливается молочная кислота и антибиотики, рост молочнокислых бактерий приостанавливается и простокваша «зацветает».

**5-я фаза** – фаза гнилостной флоры. Для своей жизнедеятельности грибы используют молочную кислоту, рН сдвигается в нейтральную сторону, и начинают развиваться гнилостные бактерии. Происходит окончательная порча продукта.

**Предположительный видовой состав микроорганизмов молока и молочных продуктов:** молочнокислые бактерии (МКБ), бактерии группы кишечной палочки (БГКП), мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы (МАФАМ), сальмонеллы, листерии, стафилококки, дрожжи, плесневые грибы. Могут встречаться возбудители инфекционных заболеваний (туберкулеза, дизентерии, брюшного тифа) и пищевых отравлений (золотистый стафилококк).

**Характеристика микроорганизмов, которые могут присутствовать в молоке и молочных продуктах.**

**Молочнокислые бактерии (МКБ)** расщепляют углеводы с образованием преимущественно молочной кислоты и другие метаболиты: уксусную кислоту, этанол, диоксид углерода, летучие вещества (ацетальдегид, диацетил, жирные кислоты).

**Морфология.** По форме клеток МКБ бывают шаровидной и палочковидной формы. Они являются факультативными анаэробами, грамположительны, неподвижны, не образуют спор и капсул.

**Шаровидные молочнокислые бактерии и их свойства.** Видовой состав этих микроорганизмов представлен лактококками следующих видов: *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. diacetylactis*; стрептококки подвида *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*; лейконостоки подвидов *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris* и *Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum*.

***Lactococcus lactis subsp. lactis*** (молочнокислый стрептококк – *Lac. lactis*). Клетки сферические или овальные размером 0,5–1,2×0,5–1,5 мкм, соединенные попарно (диплококки) или в виде коротких цепочек (рис. 2.1, а). Температурный оптимум роста составляет 28–32 °С. Активные штаммы этого вида свертывают молоко за 4–6 ч, образуя ровный плотный сгусток. Предельная кислотность достигает 120–125 °Т. Штаммы этого вида входят в состав заквасок для кисломолочных напитков, творога, сметаны, кисломолочного масла, сыров с низкой температурой второго нагревания.

***Lactococcus lactis subsp. cremoris*** (сливочный стрептококк – *Lac. cremoris*). Клетки шаровидные, располагаются в виде коротких и длинных цепочек (рис. 2.1, б). Оптимальная температура роста – 25–30 °С. Молоко свертывается за 6–8 ч, образуя плотный сгусток слегка вязкой или сметанообразной консистенции, что обусловлено способностью сливочного стрептококка синтезировать полисахариды. Предельная кислотность в молоке составляет не более 110–115 °Т. Сливочный стрептококк используется в заквасках для сметаны, кисло-сливочного масла и других кисломолочных продуктов.

***Lactococcus lactis subsp. diacetylactis*** (ароматобразующий стрептококк – *Lac. diacetylactis*). Клетки расположены в виде диплококков и коротких цепочек (рис. 2.1, в). Оптимальная температура роста равна 25–30 °С. Молоко свертывается за 16–18 ч, предельная кислотность не превышает 70–100 °Т. Сгусток молока плотный, часто с наличием пузырьков газа (CO<sub>2</sub>), имеет приятный специфический запах. Ароматобразующий стрептококк входит в состав заквасок для большинства ферментированных молочных продуктов.

***Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris*** (*Leuc. cremoris*). Клетки шаровидные или линзовидные размером 0,5–0,7×0,7–1,2 мкм, соединены попарно или в короткие цепочки (рис. 2.1, з). Оптимальная температура роста – 22–25 °С. Данный вид используют в многовидовых заквасках для производства сыров и кисломолочного масла в сочетании с *Lac. lactis* и *Lac. cremoris*.

***Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*** (термофильный стрептококк – *S. thermophilus*). Клетки имеют овальную или шаровидную форму диаметром 0,7–1,0 мкм, часто соединены в длинные цепочки (рис. 2.1, д). Активные штаммы свертывают молоко за 3,5–4 ч при оптимальной температуре 40–42 °С. Температурный диапазон роста – 20–50 °С. *S. thermophilus* относительно термоустойчив, он может выдерживать температуру 75 °С в течение 15 мин, поэтому входит в состав остаточной микрофлоры пастеризованного молока. Термофильный стрептококк вводят в состав заквасок для производства ряженки, варенца, йогурта, сыров с высокой температурой второго нагревания.

***Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum*** (*Leuc. dextranicum*) морфологически сходен с *Leuc. cremoris*. Свертывает молоко при оптимальной температуре 22–25 °С в течение 3–4 суток. Предельная кислотность составляет 70–80 °Т. Лейконостоки входят в состав есте-

ственной микрофлоры кефирного грибка и играют большую роль в формировании его вкуса и запаха.

**Палочковидные молочнокислые бактерии** включены в семейство Lactobacillaceae, род *Lactobacillus*, который подразделяют на три подвида: *Thermobacterium* (термобактерии), *Streptobacterium* (стрептобактерии) и *Betabacterium* (бетабактерии).

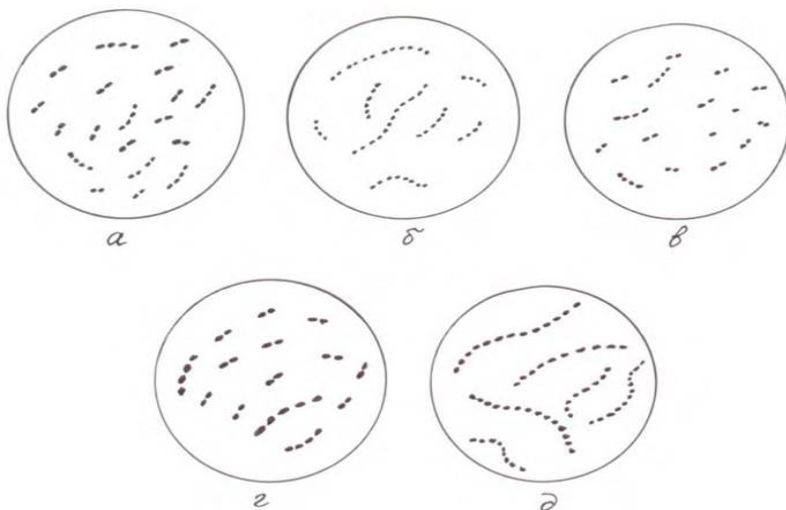


Рис. 2.1. Шаровидные молочнокислые бактерии: а – *Lac. lactis*; б – *Lac. cremoris*; в – *Lac. diacetylactis*; г – *Leuc. cremoris*; д – *S. thermophilus*

***Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*** (болгарская палочка – *L. bulgaricus*). Форма клеток в молоке – длинные и короткие палочки размером 5–20 мкм, толщиной 0,8–1,0 мкм (рис. 2.2). Оптимальная температура развития равна 40–45 °С. Молоко свертывается за 4–6 ч. Кислотность молока достигает 200–300 °Т. Сгусток молока имеет колющуюся или сильновязкую слизистую консистенцию. Штаммы болгарской палочки образуют ацетальдегид, придающий сгустку характерный фруктовый запах. Болгарская палочка чувствительна ко многим антибиотикам, присутствующим в сыром молоке, но устойчива к бактериофаговой инфекции. Штаммы болгарской палочки входят в состав заквасок для производства йогурта, простокваш.

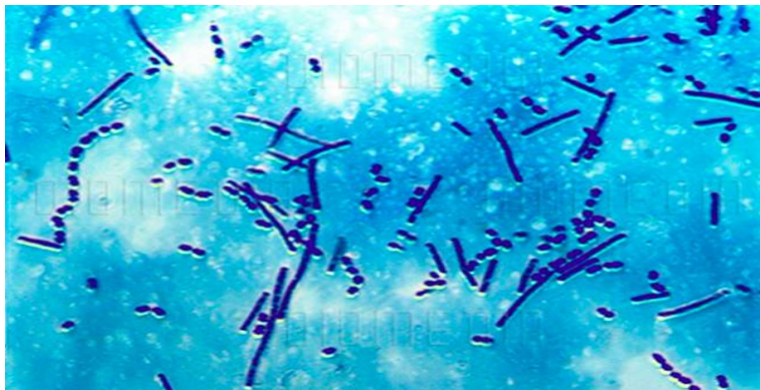


Рис. 2.2. *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*

***Lactobacillus acidophilus*** (ацидофильная палочка). Форма клеток в молоке: длинные и короткие палочки размером 3–40 мкм, толщиной 1,0–1,5 мкм. У некоторых штаммов так же, как и у болгарской палочки, в клетках наблюдается «зернистость» (рис. 2.3). Оптимальная температура развития – 37–38 °С. Молоко свертывается за 5–8 ч, предельная кислотность молока – 260–280 °Т. Некоторые штаммы образуют слизистый сгусток.

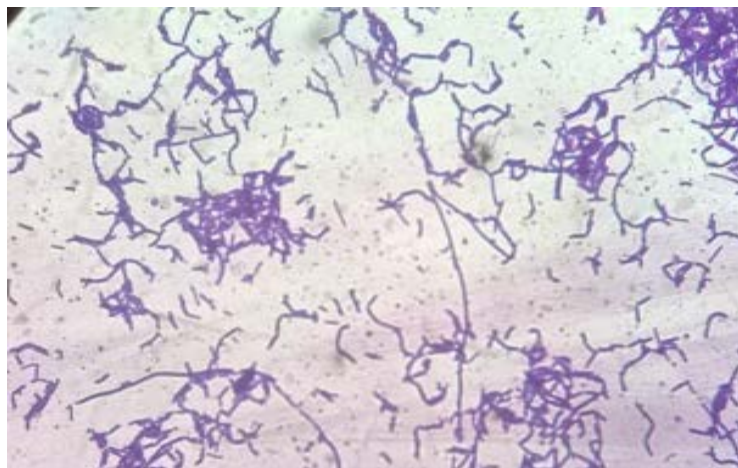


Рис. 2.3. *Lactobacillus acidophilus*



Ацидофильная палочка является нормальным представителем кишечной микрофлоры человека и теплокровных животных. Ацидофильная палочка обладает высокой антагонистической активностью по отношению к гнилостной, условно-патогенной и патогенной микрофлоре. Она подавляет рост сальмонелл, шигелл, золотистого стафилококка, эшерихий и др. Это объясняется тем, что ацидофильная палочка синтезирует несколько бактериоцинов: ацидофилин, лактоцидин, ацидоцин В, лактоцины В и F. Поэтому *L. acidophilus* относят к ценным пробиотическим культурам. Молочнокислые палочки данного вида применяют для приготовления ацидофилина, ацидофильного молока, детских кисломолочных продуктов.

***Lactobacillus helveticus*** (швейцарская палочка). Палочки длиной 2–6 мкм, толщиной 1,0–1,5 мкм, располагаются одиночно или короткими цепочками. Оптимальная температура роста равна 42–45 °С. Молоко свертывается за 5–6 ч, предельная кислотность – 300–350 °Т. Штаммы *L. helveticus* можно выделить из сычуга телят. Данный вид используется в заквасках для сыров с высокой температурой второго нагревания.

***Lactobacillus casei subsp. rhamnosus*** имеет вид коротких или длинных палочек толщиной 1,5 мкм, соединенных в цепочки. Часто обнаруживается зернистость клеток. Оптимальная температура роста – около 30 °С. Предельная кислотность в молоке – 80–180 °Т. Используется в заквасках для производства сыров: эдам, чеддер и др.

***Lactobacillus plantarum***. Палочки разной длины, соединенные в длинные и короткие цепочки. Оптимальная температура роста – около 30 °С, предельная кислотность при развитии в молоке достигает 180 °Т. В молочной промышленности этот вид играет положительную роль при созревании сыров, так как может размножаться после сбраживания лактозы заквасочной микрофлорой и при концентрации NaCl до 6 %. Кроме того, палочка образует пероксид водорода и синтезирует бактериоцин и плантарицин – вещества, подавляющие рост маслянокислых бактерий и кишечной микрофлоры, что предотвращает развитие пороков сыров – раннее и позднее вспучивание. *L. plantarum* используется также в составе заквасок для приготовления силоса.

**Бетабактерии** участвуют в созревании сыров с низкой температурой второго нагревания, способствуя формированию рисунка и запаха сыра. Они также встречаются в строме кефирного грибка.

**Бифидобактерии** включены в семейство Actinomycetaceae, род *Bifidobacterium*. Являются представителями нормальной микрофлоры

кишечника человека и животных. Обладают высокой антагонистической активностью по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам.

**Пропионовокислые бактерии** относят к семейству *Propionibacteriaceae*, роду *Propionibacterium*. Типовой вид этого рода – *Propionibacterium freudenreichii*.

*Propionibacterium freudenreichii* – мелкие, неподвижные, неспорообразующие, грамположительные полиморфные палочки размером 0,5–0,8×1–5 мкм. Клетки бывают кокковидными, удлинёнными, раздвоенными или разветвленными (встречаются булабовидные формы); располагаются одиночно, парами, в виде букв V или Y. По отношению к кислороду являются факультативными анаэробами. Максимальный рост наблюдается при оптимальной температуре 30–37 °С и значении рН около 7,0. В молоке пропионовокислые бактерии развиваются медленно и свертывают его через 5–7 дней. Предельная кислотность молока может достигать 160–170 °Т. Пропионовокислые бактерии используют в сыроделии при производстве сыров с высокой температурой второго нагревания. После окончания молочнокислого брожения в сырах начинается стадия развития пропионовокислых бактерий. В ходе пропионовокислого брожения накапливаются диоксид углерода (формирует рисунок сыра) и летучие кислоты – пропионовая и уксусная (придают сырам специфический вкус и запах).

**Уксуснокислые бактерии** (ацетобактерии) относят к роду *Acetobacter*, включающему семь видов. Типовой вид – *Acetobacter aceti* – мелкие, прямые или изогнутые палочки размером 0,6–0,8×1,0–3,0 мкм. Грамотрицательные, подвижные за счет перитрихально или латерально расположенных жгутиков, эндоспор и капсул не образуют. Колонии бактерий вырастают только на поверхности питательной среды. В молоке развиваются плохо и кислоты не образуют.

**Молочная плесень** (*Geotrichum candidum*) также относится к классу несовершенных грибов дейтеромицетов. Она часто размножается на поверхности молочных продуктов при холодильном хранении при температуре не ниже 0 °С.

**Мицелиальные грибы.** Оптимальная температура роста грибов рода *Aspergillus* находится в диапазоне 25–30 °С, для грибов рода *Penicillium* – в пределах 20 °С. При низких температурах рост мицелиальных грибов обычно подавляется, но существует достаточно большое их число, способных размножаться в условиях холодильного хранения молочных продуктов при температурах от +5 до –10 °С.

**Дрожжи** обычно составляют незначительную часть микробиоты молочных продуктов и, как правило, редко приводят к их порче. Это связано с тем, что дрожжи характеризуются низкой скоростью размножения, поэтому их жизнедеятельность быстро подавляется психротрофными бактериями. Дрожжи могут вызвать порчу лишь в том случае, если размножение бактерий будет подавлено действием следующих факторов: низкое значение pH, высокое содержание соли, присутствие химических консервантов или антибиотиков. Многие виды дрожжей более устойчивы к этим факторам, при этом среди них встречаются и виды, способные размножаться при пониженных температурах. В молочной промышленности дрожжи играют двойную роль: одни виды принимают участие в производстве ферментированных молочных продуктов в качестве биологических агентов, вызывающих спиртовое брожение, другие виды способствуют порче молочных продуктов.

Дрожжи, присутствующие в молочных продуктах, условно подразделяют на три группы:

1. Дрожжи, сбраживающие молочный сахар лактозу. К ним относятся спорогенные (спорообразующие) дрожжи видов *Saccharomyces lactis* (рис. 2.4), *Zygosaccharomyces lactis*, *Kluveromyces fragilis*, *Debaryomyces* и аспорогенные (неспорообразующие) дрожжи видов *Torulopsis kefir*, *Torulopsis sphaerica*, *Candida pseudotropicalis var. lactosa* и др.

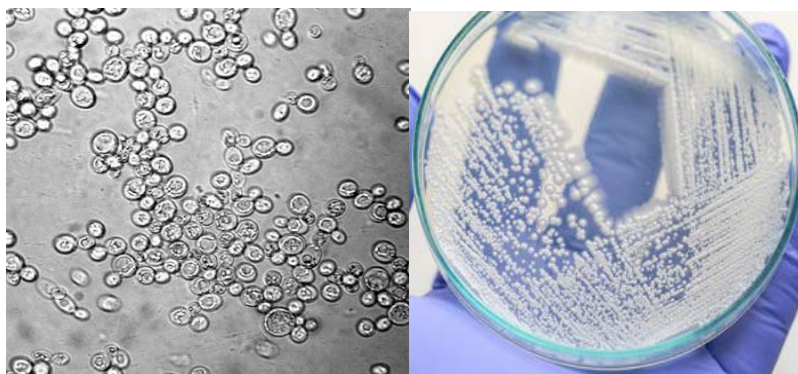


Рис. 2.4. Дрожжевые грибы рода *Saccharomyces*

2. Дрожжи, ферментирующие моносахара, могут размножаться в молоке и молочных продуктах совместно с молочнокислыми бактериями, расщепляющими лактозу на глюкозу и галактозу.

3. Дрожжи, вызывающие окисление лактозы и других сахаров. Они не образуют спор и неспособны к спиртовому брожению. К ним в первую очередь относятся дрожжи рода *Candida*.

4. Лактозосбраживающие дрожжи, которые используют в производстве продуктов смешанного брожения: кумыс, айран, мацони и др. В этих продуктах они формируют специфический вкус, синтезируют витамины, стимулируют рост молочнокислых бактерий.

Некоторые штаммы дрожжей, размножающихся в молочных продуктах, обладают антагонистической активностью по отношению к возбудителю туберкулеза, а также к некоторым условно-патогенным микроорганизмам. Отдельные виды дрожжей участвуют в созревании сыров, находясь в составе микрофлоры сырной слизи. Дрожжи, попадающие в молочные продукты из внешних источников («дикие» дрожжи), могут стать причиной следующих видов порчи.

*Пигментация* – появление цветных колоний на поверхности мяса, масла, сыра, творога. Образовывать колонии розового, желтого, черного цвета способны дрожжи рода *Rodotorula*.

*Вспучивание* творога, сметаны, йогурта, а также сыров на ранней стадии их созревания обусловлено образованием диоксида углерода при спиртовом брожении. Среди дрожжей, вызывающих порчу йогурта, выделены виды: *Torulopsis candida*, *Kluveromyces fragilis*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida crusei*, *Saccharomyces cerevisiae*.

*Бомбаж* сгущенного молока с сахаром вызывают дрожжи, сбраживающие сахарозу.

*Прогоркание*, осаливание, появление неприятного запаха в жиросодержащих продуктах при их холодильном хранении вызывают липолитические дрожжи вида *Yarrowia lipolytica*.

К этой группе относятся дрожжевые грибы родов *Mycoderma* и *Torula*, плесневые грибы рода *Mucor* и некоторые бактерии.

**Маслянокислые бактерии** относят к роду *Clostridium* – возбудители маслянокислого брожения, в результате которого образуются масляная, уксусная, молочная, пропионовая и муравьиная кислоты, этиловый, бутиловый, пропиловый спирты, а также газообразные продукты – водород и диоксид углерода.

*Clostridium butyricum* – крупные палочки с закругленными, иногда заостренными концами размером 0,3–2,0×1,5–20,0 мкм, располагаются парами или короткими цепочками (рис. 2.5). Отличительной особенностью этих бактерий является способность накапливать в клетках перед

спорообразованием крахмалоподобное вещество – гранулезу, которое окрашивается йодом в синий цвет.

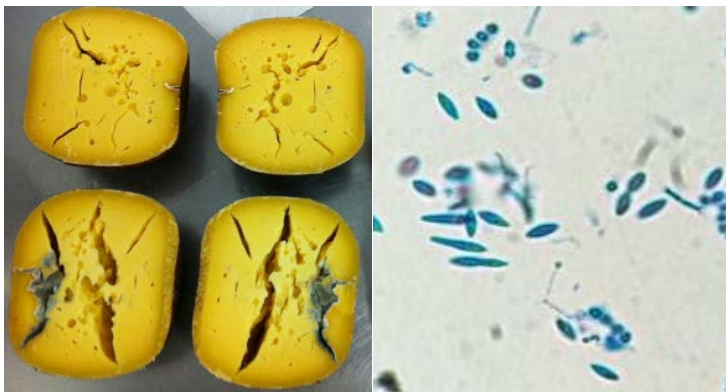


Рис. 2.5. Сыр, обсемененный клостридиями, возбудителями маслянокислого брожения

По Граму они окрашиваются положительно. Образуют овальные или сферические эндоспоры, диаметр которых обычно превышает диаметр клетки. Маслянокислые бактерии являются облигатными анаэробами. Мезофилы. Споры маслянокислых бактерий термоустойчивы и выдерживают кипячение в течение нескольких минут. Маслянокислые бактерии вызывают порчу молочных продуктов при их длительном хранении. В консервах возникает порок бомбаж.

К основным возбудителям порчи продуктов животного происхождения относят **гнилостные** (протеолитические) бактерии, которые вызывают гниение молока и молочных продуктов. Гнилостные бактерии расщепляют белки на полипептиды, пептиды, пептоны и аминокислоты. При расщеплении аминокислот образуются органические кислоты, альдегиды, кетоны, амины, аммиак, сероводород, диоксид углерода, индол, скатол, меркаптан и другие вещества. Некоторые из образующихся при гниении веществ придают продуктам неприятный вкус и запах.

Между различными видами гнилостных бактерий существуют взаимоотношения по типу метабоза (смена одних видов другими). На начальных стадиях гниения на поверхности молочных продуктов размножаются шаровидные формы бактерий. Затем их сменяют аэроб-

ные палочковидные бактерии, а в последующем – анаэробные бактерии. Гнилостные бактерии по морфологическим и биохимическим признакам делят на четыре группы: спорообразующие аэробы; спорообразующие анаэробы; неспорообразующие анаэробы; неспорообразующие аэробы.

#### ***Методы микробиологических исследований.***

**Отбор проб.** Пробы для микробиологических анализов отбирают в стерильную посуду достаточной вместимости и удобной формы (стеклянные колбы, банки, чашки Петри и т. д.) с помощью стерильных приспособлений: отборником, черпаком, ложкой, металлической трубкой, щупом, шпателем и др. Стерилизацию необходимых инструментов проводят в автоклаве, кипячением или фламбированием.

**Молоко, сливки:** объединенную пробу для каждого конкретного анализа отбирают в количестве 0,50 дм для сырого молока или 0,25 дм для сырых сливок из точечных проб, отобранных из упаковочной тары. Продукцию в потребительской упаковке (бутылках, пакетах и т. д.), попавшую в выборку, перед отбором проб перемешивают пятикратным переворачиванием. Микробиологические испытания сырого молока проводят после его органолептической оценки.

**Сметана, кисломолочные и сквашенные продукты:** от продукции, попавшей в выборку, после тщательного перемешивания стерильными мутовкой или черпаком, отбирают не менее 15–20 см продукта в стерильную посуду и закрывают стерильной пробкой.

**Творог и творожные продукты:** от продукции в потребительской упаковке, попавшей в выборку, отбирают для анализа 15–20 г (включая и поверхностный слой). Отобранную пробу помещают в стерильную посуду, которую закрывают стерильной пробкой. Пробу отбирают стерильным щупом на расстоянии 3–5 см от края, направляя щуп наклонно к противоположной стороне. Из столбика продукта на щупе отбирают стерильным шпателем 15–20 г продукта и помещают в стерильную посуду с плотно закрывающейся стерильной крышкой или стерильной пробкой.

**Масло из коровьего молока:** от продукции в потребительской упаковке, попавшей в выборку, отбирают для анализа стерильным шпателем 15–20 г продукта (включая поверхностный слой). Отобранную пробу помещают в стерильную посуду с плотно закрывающейся стерильной крышкой или стерильной пробкой.

**Сыр и сырные продукты:** от продукции в потребительской упаковке, попавшей в выборку, отбирают для анализа стерильным ланцетом 15–20 г продукта (включая поверхностный слой). Отобранную пробу помещают в стерильную посуду с плотно закрывающейся сте-

рильной крышкой или стерильной пробкой. Головку сыра или сырного продукта, попавшую в выборку, в намеченном месте отбора пробы прижигают нагретым ножом или шпателем. Стерильный шуп вводят наклонно в середину головки.

**Подготовка проб к анализу.** Отбор проб проводят в асептических условиях в стерильные посуду или пакеты.

**Кисломолочные и сквашенные продукты, сметана, закваски.** Отобранные пробы перед анализом перемешивают и нейтрализуют. Для этого в стерильную колбу вместимостью 50 мл стерильно отбирают 10 мл исследуемого продукта или закваски и добавляют 1 мл стерильного раствора двууглекислого натрия и перемешивают.

**Творог и сыр** в количестве 10 г переносят в стерильную или профламбированную ступку, прикрытую крышкой от чашки Петри, тщательно растирают.

#### **Методы микроскопических исследований.**

Микроскопические исследования молока и молочных продуктов проводят для изучения морфологических особенностей микробиоты данных продуктов. Методы основаны на визуальном наблюдении микроорганизмов с помощью микроскопа, позволяющего многократно увеличивать подготовленный исследуемый объект.

#### **Подготовка микропрепаратов к проведению анализа.**

Для приготовления препарата **жидкого молочного продукта** на чистое предметное стекло наносят петлей каплю продукта и распределяют ее на площади 1–2 см<sup>2</sup>.

Для приготовления препарата из **творога** на стекло наносят каплю воды, вводят в нее петлей исследуемый материал, тщательно перемешивают и растирают на площади 1–2 см<sup>2</sup>.

Для приготовления препарата из **твердых продуктов** (сыр) тщательно растирают со стерильной водой в стерильной ступке. Затем полученную массу петлей наносят на чистое предметное стекло и распределяют на площади 1–2 см<sup>2</sup>.

При исследовании колоний микроорганизмов, выросших на твердых питательных средах, часть колонии отбирают с помощью бактериологической петли и тщательно растирают в капле воды на предметном стекле. Приготовленные микропрепараты высушивают при комнатной температуре на воздухе.

Ориентировочный состав микрофлоры кисломолочных продуктов в микропрепаратах представлен в табл. 2.1.

Таблица 2.1. **Микроорганизмы, присутствующие в кисломолочных продуктах**

Продукты	Ориентировочный состав микробиоты	Микробиологическая характеристика микропрепарата
Творог, сметана, простокваша	Лактококки или термофильные молочнокислые стрептококки	Кокки, диплококки, короткие или длинные цепочки кокков
Ряженка, йогурт	Термофильные молочнокислые стрептококки и болгарская палочка	Кокки, диплококки, длинные цепочки кокков в виде бус, крупные одиночные палочки, в парах или цепочках
Кумыс	Болгарская и ацидофильная молочнокислые палочки, дрожжи	Крупные одиночные палочки в парах, в цепочках, единичные дрожжи
Кефир	Лактококки, молочнокислые палочки, дрожжи	Кокки, диплококки, короткие цепочки кокков, прямые палочки в парах, цепочках
Ацидофилин	Ацидофильная молочнокислая палочка, лактококки и дрожжи	Крупные прямые палочки, одиночные и в парах, короткие цепочки палочек, кокки, диплококки, короткие цепочки кокков, возможно дрожжи
Продукты, обогащенные бифидобактериями	Основная микрофлора продукта (лактококки, и (или) термофильный стрептококк, и (или) молочнокислые палочки, и (или) дрожжи и т. д.) и бифидобактерии	Кокки, диплококки, короткие цепочки кокков, и (или) длинные цепочки, и (или) прямые палочки одиночные, в парах, в цепочках. Могут встречаться палочки неправильной формы, одиночные, парные и в скоплениях

**Задание 2. Проанализировать культуральные свойства молочнокислых и других бактерий, выделенных из молока и молочных продуктов, выращенных на питательных средах.**

### **Приготовление разведений молочных продуктов для посева.**

Перед посевом готовят десятикратные разведения молочных продуктов в стерильных растворах хлористого натрия.

В соответствии со спецификой анализа исследуемого продукта готовят все необходимые стерильные материалы и пробирки с 9 мл раствора хлористого натрия. Приготовленные разведения должны быть использованы в течение не более 45 мин после их приготовления.

Из проб стерильных молочных продуктов отбирают стерильной пипеткой 1 мл и вносят в 9 мл хлористого натрия. Получают разведение 1:10. Из первого разведения 1:10 готовят ряд последующих разведений: 1:100, 1:1000 и т. д., беря 1 мл раствора предыдущего разведения.



Для приготовления каждого разведения берут новую стерильную пипетку. При посеве на чашки Петри посевной материал вносят от большего разведения к меньшему. В этом случае пользуются одной пипеткой.

**Метод определения БГКП по признакам роста на жидкой среде Кесслер.** Метод основан на способности бактерий группы кишечной палочки сбразивать в питательной среде лактозу с образованием газа и кислоты при температуре 37 °С в течение 24 ч. Признак роста БГКП на жидкой среде Кесслер – визуально наблюдаемое накопление газа в поплавке.

**Проведение анализа.** По 1 см трех последовательных разведений продукта (каждое разведение засеивается в одну емкость со средой) засеивают с 5 см жидкой среды Кесслер. Пробирки или колбы с посевами помещают в термостат при температуре 37 °С на 18–24 ч. Окончательный результат снимают через 24 ч.

При снятии результатов пробирки или колбы с посевами просматривают и визуально определяют наличие или отсутствие газа в поплавках. При наличии газообразования в каком-либо из засеиваемых объемов считается, что БГКП обнаружены в данном объеме продукта.

**Для культивирования маслянокислых бактерий применяют картофельную среду.**

В колбу помещают несколько ломтиков неочищенного картофеля, заполняют ими пробирку на 1/3 объема, добавляют 0,5–1,0 г мела и заполняют водопроводной водой до края. Колбу ставят на водяную баню при температуре 80 °С на 10–15 мин. Затем колбу со средой помещают в термостат при температуре 37 °С. Через 2–3 суток в жидкости обнаруживают бактерии маслянокислого брожения.

### **Контрольные вопросы**

1. Факторы, обуславливающие качество молочного сырья в процессе его получения и хранения.
2. Охарактеризуйте видовой состав нормальной микробиоты молока.
3. Назовите и охарактеризуйте видовой состав микробиоты, вызывающей порчу молока и молочных продуктов.
4. Как производят отбор проб молока для микробиологического исследования?
5. Назовите и охарактеризуйте методы определения микробной обсемененности молока.

### Лабораторное занятие 3. МИКРОБИОТА КОРМОВ

**Цель занятия:** изучить методики микробиологического исследования микробиоты кормов с целью определения их доброкачественности и пригодности к скармливанию сельскохозяйственным животным.

**Материалы и оборудование:** пробы сена, соломы, сенажа, силоса для микроскопических исследований; пробирки; чашки Петри с питательными средами; пипетки; бактериологические петли; предметные и покровные стекла, микроскопы; термостат; демонстрационные материалы (фото микроорганизмов, вызывающих различных видов брожения, гниения); реактивы для окрашивания мазков сложным методом по Граму, метиленовый синий, фуксин, раствор Люголя.

#### Ход занятия

**Задание 1. Изучить правила отбора проб кормов для микробиологического анализа и научиться пользоваться методиками определения качества кормов.**

Одним из самых главных показателей качества кормов является бактериальная обсемененность. Этот показатель характеризуется как количественно, так и качественно.

При проведении микробиологических исследований особенно важным является следующее:

– необходимо выделять и подсчитывать только те микроорганизмы, которые присутствуют в пробах;

– при проведении микробиологического анализа следует исключить загрязнение исследуемых образцов микроорганизмами окружающей среды.

#### ***Отбор проб для микробиологического исследования.***

Среднюю пробу сена или соломы берут специальным шупом из 15–20 различных участков скирды или отбирают 1–3 % (но не меньше 5 штук) кип от партии тюкованного сена. Отдельные выемки (массой по 200–250 г) из тюков прессованного корма берут после осторожного снятия с них шпагата или сетки, отбирая по одному пласту. Из первого тюка – крайний пласт, из второго – следующий, из третьего – средний и т. д. Отобранные пучки осторожно раскладывают и перемешивают на куске полиэтиленовой клеенки или брезента, выбирая при этом слу-

чайные примеси и крупные стебли. Из различных участков средней пробы сена (не менее чем из 10 мест по 50–70 г) отбирают две пробы по 500 г для проведения лабораторных исследований. Пробы помещают в плотный бумажный или полиэтиленовый пакет.

Для составления среднего образца пробы силоса или сенажа (1,0–1,5 кг) отбирают из емкостей для хранения пробоотборником: первую пробу – в центре одной из наклонных частей (пандусе), вторую – в центре по длине и ширине траншеи, третью – на расстоянии 0,5 м от одной из стен, в середине по длине хранилища. Глубина погружения пробоотборника должна составлять не менее 1 м. Соотношение навесок из отобранной массы должно быть равно 1,5:3,0:1,0. Пробу помещают в полиэтиленовую или стеклянную тару, уплотняют для ограничения доступа воздуха и доставляют в лабораторию. Допускается хранение отобранной пробы в холодильнике не более суток после взятия (рис. 3.1).



Рис. 3.1. Отбор пробы силоса из траншеи для микробиологического анализа

Качество готового корма определяют не ранее 1–2 месяцев (в зависимости от вида корма) после герметичного укрытия массы, заложенной в хранилище, и не позднее чем за 15 дней до начала скармливания животным.

При регламентировании показателей микробиологической безопасности кормов и кормовых добавок нормируется количество мезофиль-

ных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ, общая бактериальная обсемененность, общее микробное число), количество колониеобразующих единиц в 1 г (мл) продукта (КОЕ/г, мл), общее число грибов (плесени и дрожжи) (ОЧГ) КОЕ/г (мл).

*Не допускается* наличие патогенных микроорганизмов, в том числе бактерий рода сальмонелл, энтеропатогенных типов кишечной палочки, патогенных пастерелл, токсинообразующих клостридий (анаэробы), энтерококков, бактерий рода протей, патогенных грибов в определенной массе продукта.

#### **Видовой состав микробиоты травяных кормов.**

**Эпифитная микрофлора** – микрофлора, находящаяся на поверхности растений. Как правило, эта травяная палочка *Bact. herbicola*, занимающая около 40 % всей эпифитной микрофлоры, молочнокислые стрептококки и палочки (12 %), сенная и картофельная бациллы, флюоресцирующие бактерии (40 %), протей, сарцины, актиномицеты, плесени, дрожжи и др. (8 %). Эпифитная микрофлора представлена главным образом безвредными сапрофитами, однако при скашивании растений они могут интенсивно размножаться, вызывая гнилостные и бродильные процессы, приводящие к порче и разложению корма.

**Молочнокислые бактерии** отличаются следующими особенностями:

- 1) для обмена веществ нуждаются в углеводах (сахар) и не разлагают белок;
- 2) являются факультативными анаэробами, т. е. развиваются без кислорода и при наличии кислорода;
- 3) температурный оптимум роста составляет 25–32 °С (мезофильные молочнокислые бактерии), у некоторых форм он достигает 60 °С (термофильные молочнокислые бактерии);
- 4) выдерживают кислотность до рН 3,0;
- 5) обладают устойчивостью к некоторым химическим препаратам;
- 6) помимо молочной кислоты, которая играет решающую роль в подавлении нежелательных типов брожения, выделяют биологически активные вещества (витамины группы В и др.). Они обладают пробиотическими (или лечебными) свойствами, стимулируют рост и развитие сельскохозяйственных животных.

**Маслянокислые бактерии** (клостридии – *Clostridium*) – это спорообразующие, подвижные, палочковидные бактерии, широко распространенные в почве. Для возбудителей маслянокислого брожения характерны следующие основные физиолого-биохимические особенности:

1) являются облигатными анаэробами, начинают развиваться в условиях сильного уплотнения силосной массы;

2) разлагая сахар, приводят к образованию сильнощелочных продуктов распада белка (аммиака) и токсичных аминов;

3) для своего развития нуждаются во влажном растительном сырье, при этом имеют наибольшие шансы подавить все остальные типы брожения;

4) оптимальные температуры для роста колеблются в пределах 35–40 °С, но их споры переносят более высокие температуры;

5) чувствительны к кислотности и прекращают свою деятельность при рН ниже 4,2.

Эффективными мерами против возбудителей маслянокислого брожения являются быстрое подкисление растительной массы, подвяливание влажных растений.

**Гнилостные бактерии** (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas*, *Proteus*) – представители рода бацилл сходны по своим физиолого-биохимическим особенностям с представителями клостридий, но, в отличие от них, способны развиваться в аэробных условиях. Для этой группы микроорганизмов характерно следующее:

1) не могут существовать без кислорода, поэтому в герметичном хранилище гниение невозможно;

2) разлагают белок до аммиака и токсичных аминов, а углеводы и молочную кислоту – до газообразных продуктов;

3) размножаются при рН выше 5,5;

4) способны к спорообразованию.

Главным условием ограничения существования гнилостных бактерий является быстрое заполнение, хорошая трамбовка, надежная герметизация емкостей для хранения кормов.

**Плесневые грибы и дрожжи** относятся к нежелательным представителям аэробной микрофлоры и им присущи следующие признаки:

1) вызывают окислительный распад углеводов, белков и органических кислот (в том числе молочной);

2) плесневые грибы и дрожжи легко переносят кислую реакцию среды (рН ниже 3,0 и даже 1,2);

3) плесневые грибы выделяют опасные для здоровья животных и людей токсины.

Ограничение доступа воздуха путем быстрой закладки, трамбовки и герметизации, правильная выемка и скармливание – решающие факторы, ограничивающие развитие плесневых грибов и дрожжей.

Для предотвращения процессов, которые приводят к порче заготавливаемых кормов, растительные корма консервируют. Наиболее эффективным способом консервирования скошенной травы, зерна и других кормов является сушка.

Для заготовки сена используют посевы многолетних трав различного ботанического состава, культурные пастбища, травостой природных кормовых угодий. При увлажнении высушенного корма в нем вновь возникают микробиологические процессы, приводящие к повышению температуры, т. е. происходит термогенез (самогревание) за счет деятельности вначале мезофильной, а затем термофильной микрофлоры.

**Задание 2. Приготовить из проб травяных кормов препараты-мазки для микроскопии. Окрасить по Граму. Микроскопическую картину зарисовать в рабочей тетради.**

**Задание 3. Выполнить посев проб травяных кормов (сено, солома, сенаж, силос) на питательные среды. С помощью справочного и демонстрационного материалов произвести оценку культуральных свойств выросших колоний.**

#### ***Микробиологическое исследование травяных кормов.***

На грубых кормах, пораженных грибами, может появляться потемнение, побурение или грибной налет различных цветов. При подозрении на пораженность грубых кормов грибами проводится микроскопическое исследование: отбирают отдельные стебли, покрытые налетом, и соскабливают его скальпелем в каплю воды на предметное стекло. Каплю накрывают покровным стеклом и исследуют под малой и большой системами микроскопа. При исследовании обнаруживают бесцветные нити мицелия с поперечными перегородками. От мицелия могут отходить плодоносящие гифы-конидиеносцы с 5–7 стеригмами на конце, расположенными в виде розетки. Длина конидий составляет 8–12 мкм, ширина – 6–8 мкм. Конидиеносцы в нижней части бесцветные и гладкие, в верхней – покрыты мелкими бородавками. Верхняя часть конидиеносцев, стеригмы и конидии окрашены от светло-зеленовато-оливкового до буро-коричневого или почти черного цвета.

Недоброкачественными и непригодными к скармливанию являются сено (солома), более чем на 10 % пораженные грибами.

На зараженность спорowymi формами патогенных бактерий грубые корма исследуют следующим образом: их нарезают мелкими кусочка-

ми, выбирая узелки, помещают в стерильную колбу и заливают физиологическим раствором (рис. 3.2). Колбу в течение нескольких минут гомогенизируют, чтобы смыть имеющиеся на сене (соломе) бактерии. Жидкость сливают и пропускают через ватный или марлевый фильтр, прогревают до температуры 80 °С несколько минут. Затем жидкость центрифугируют, верхний слой сливают, а из осадка делают посе́вы на МПБ, МПА. Дифференциацию выросших колоний производят по цвету, размерам, форме, состоянию поверхности колоний, консистенции.



Рис. 3.2. Проведение анализа качества травяных кормов

**Силосование (заквашивание) кормов** – сложный микробиологический и биохимический процесс консервирования сочной растительной массы. Сущность силосования состоит в том, что в заложенной в емкости (траншеи, ямы, башни) измельченной зеленой массе интенсивно размножаются молочнокислые микробы (*Leuconostoc*, *Laktobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*), разлагающие сахара с образованием молочной кислоты, накапливающейся в количестве до 1,5–2,5 % к массе силоса. Одновременно размножаются уксуснокислые бактерии, превращающие спирт и другие углеводы в уксусную кислоту; ее накапливается 0,4–0,6 % к массе силоса. Молочная и уксусная кислоты обла-

дают антимикробными свойствами, в результате чего корм не подвергается гниению и приобретает стойкость при хранении.

Для получения силоса хорошего качества и с наименьшими потерями необходимо соблюдать определенные условия.

1. Использовать для силосования корма, содержащие достаточное количество легкосилосуемых **углеводов** (кукуруза, подсолнечник, луговые злаки).

2. Хорошо изолировать силосуемую массу от воздуха для создания **анаэробных условий**, при которых создаются неблагоприятные условия для размножения гнилостных и плесневых микроорганизмов.

3. Силосуемый корм должен иметь оптимальную **влажность** 65–75 %, при которой происходит интенсивное образование органических кислот. При пониженной влажности силосуемая масса плохо уплотняется, в ней много воздуха и создаются условия для самонагревания, развития плесени и гнилостных бактерий.

4. В силосуемой массе должна быть оптимальная **температура** для развития молочнокислых бактерий – 25–30 °С, при этой температуре идет нормальный процесс заквашивания корма с небольшими потерями питательных веществ. Готовый силос получается умеренно кислый, желто-зеленого цвета, с приятным специфическим запахом.

Для понимания сущности процессов, происходящих при силосовании, необходимо детально знать биохимию и микробиологию его. В процессе созревания зеленой массы при силосовании различают три последовательные фазы.

**Первая фаза** (развитие смешанной микрофлоры) связана с бурным размножением эпифитной микрофлоры, кишечной палочки, псевдомонасы, дрожжей, молочнокислых и гнилостных бактерий. Длительность первой фазы – 1–3 дня. В это время силос разогревается и подкисляется, создаются анаэробные условия, в результате чего большая часть смешанной микрофлоры погибает.

**Вторая фаза** характеризуется вначале бурным размножением молочнокислых стрептококков, а затем молочнокислых палочек, продуцирующих молочную кислоту, которая подавляет размножение гнилостных и маслянокислых микроорганизмов, кроме спорообразующих.

**Третья фаза** (конечная) связана с постепенным отмиранием в созревающем силосе возбудителей молочнокислого брожения (*Sir. lactis*, *Str. plantarum*, *Str. thermophilus*), концентрация молочной кислоты достигает 60 % и более, pH силосной массы снижается до 4,2–4,5.



Для развития всех молочнокислых бактерий в растительной массе должны быть легкоусвояемые углеводы. Так, при сбраживании глюкозы или фруктозы (гексоз) они образуют в качестве главного продукта молочную кислоту, которая получается в результате расщепления одной молекулы сахара на две молекулы молочной. При сбраживании пентоз (Д-ксилоза, Д-рибоза) в конечных продуктах брожения будет всегда больше уксусной кислоты, чем при сбраживании гексоз. А так как пентозаны входят в состав растительной массы, наличие в готовом силосе уксусной кислоты также является результатом жизнедеятельности молочнокислых, а не уксуснокислых бактерий. Поэтому даже в хорошем силосе всегда находится определенное количество уксусной кислоты. И если в составе органических кислот будет не менее 65–70 % молочной, а уксусной 30–35 %, то значит, брожение происходило правильно.

Силос сохраняется в хорошем состоянии до 3 лет, пока в нем содержится не менее 2 % молочной и уксусной кислот, а pH составляет 4,0–4,2. Если размножение молочнокислых и уксуснокислых бактерий ослабевает, то концентрация кислот снижается. В это время одновременно начинают размножаться дрожжи, плесени, маслянокислые и гнилостные бактерии, и силос портится.

Плесневые грибы хорошо переносят кислую среду (pH до 1,2) и активно размножаются в силосе при плохой изоляции от воздуха. Для своей жизнедеятельности они используют углеводы, а при их недостатке – молочную и уксусную кислоты. При этом значительно ухудшается качество силоса и отмечается токсическое воздействие заплесневелого корма на организм животного.

Маслянокислые и гнилостные бактерии, являющиеся строгими анаэробами, в процессе жизнедеятельности используют сахар, молочную кислоту, некоторые аминокислоты. При этом происходит гнилостный распад белка при слабом нарастании в силосе молочной кислоты, и сопровождается этот процесс накоплением масляной кислоты и других, вредных для организма животных, побочных продуктов. Концентрация масляной кислоты допускается не более 0,2 %.

Плесневые грибы и дрожжи относятся к грибам и являются весьма нежелательными представителями микрофлоры силоса, они легко переносят кислую реакцию среды (pH 3,2 и ниже). Поскольку плесневые грибы (*Aspergillus*, *Penicillium* и др.) являются облигатными аэробами, то они начинают развиваться сразу после заполнения хранилища, но с исчезновением кислорода развитие их прекращается. Если в силосе

имеются очаги плесени, значит, вытеснение воздуха было недостаточным или герметизация была неполной. Опасность плесневения особенно велика в силосе из подвяленного растительного материала, так как такой корм, особенно его верхние слои, очень трудно уплотнить. В наземных буртах надежная герметизация практически недостижима. Почти 40 % силоса заплесневает; корм имеет разложившуюся, мажущуюся структуру и становится непригодным к скармливанию животным.

Дрожжи развиваются непосредственно после заполнения хранилищ, так как они являются факультативными анаэробами и могут развиваться при незначительных количествах кислорода в силосе. Кроме того, они обладают высокой устойчивостью к температурному фактору и низкому уровню pH. Дрожжевые грибы прекращают свое развитие только при полном отсутствии кислорода в силосохранилище, но небольшие их количества обнаруживаются в поверхностных слоях силоса. В анаэробных условиях они используют простые сахара (глюкозу, фруктозу, маннозу, сахарозу, галактозу, рафинозу, мальтозу, декстрины) по гликолитическому пути и развиваются за счет окисления сахаров и органических кислот. В процессе своей жизнедеятельности дрожжи производят углекислоту, уксусную кислоту и спирт. В зависимости от их активности происходит более или менее интенсивное образование тепла. Эти процессы резко усиливаются при выемке силоса, когда имеет место доступ воздуха, и поэтому их часто называют вторичным брожением. В результате протекания названных процессов резко повышается температура и происходят большие потери питательных веществ в корме. Животные отказываются потреблять такой корм, а в случае его поедания у них возникают тимпания, нарушение пищеварения и др.

Для профилактики пороков силоса микробного происхождения используют бактериальные закваски молочнокислых бактерий (*Lactobacillus plantarum*, *Str. lactis diastaticus*), пропионовокислых и других бактерий. Кроме того, используют буферные кислотные смеси, содержащие разные минеральные кислоты, а также препараты, содержащие пиросульфит натрия, сульфаминовую, бензойную, муравьиную кислоты и другие вещества.

**Сенаж.** Силосование травяной массы возможно при наличии первоначальной влажности около 75 %. Если влажность консервируемой массы значительно ниже (50–60 %), то происходит хорошая ферментация даже при дефиците углеводов и получается корм высокого качества – сенаж. При подсушивании корма в нем приостанавливаются

гнилостные процессы, но продолжают действовать возбудители молочнокислого брожения.

Для приготовления доброкачественного сенажа необходимо выполнить два условия:

- 1) снизить **влажность** растительной массы до 45–55 %;
- 2) создать строгие **анаэробные условия**, чтобы предотвратить развитие гнилостных бактерий и плесневых грибов.

Для приготовления сенажа используют однолетние и многолетние бобовые и злаковые в чистом виде и их смеси с другими культурами. Предпочтение отдается многолетним бобовым травам – люцерне, клеверу, эспарцету, бобово-злаковым смесям.

### **Основные микробиологические методы определения качества силоса и сенажа.**

*Подготовка исследуемого материала (суспензии корма) к анализу.* Среднюю пробу (массой 0,5–1,0 кг) исследуемого материала (силоса или сенажа) тщательно перемешивают с соблюдением основных правил асептики. Затем навеску (массой 50 г) хорошо перемешанной средней пробы помещают в колбу, добавляют 450 мл стерильной воды и в течение 1 мин гомогенизируют.

*Ориентировочное определение количества и морфологического состава микрофлоры:*

1. Из жидкой фракции растертой массы готовят мазки, окрашивают сложным методом по Граму и раствором Люголя.

2. Небольшое количество пробы силоса (сенажа) берут пинцетом и плотно прижимают к предметному стеклу так, чтобы на поверхности остался отпечаток. Препарат сушат на воздухе. Фиксируют над пламенем горелки и окрашивают метиленовым синим 2–3 мин и (или) сложным методом по Граму. Смыть водой красящие растворы, микроскопируют в иммерсионной системе микроскопа.

*Микроскопическая картина:* могут обнаруживаться грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы:

✓ гомоферментативная растительная палочка *Lactobacterium plantarum* – тонкие неспоровые палочки, варьирующие в размере;

✓ круглые и палочковидные формы – *Streptococcus lactis* – короткие цепочки или пары кокков;

✓ бактерии и бациллы со спорами;

✓ клетки почкующихся дрожжей;

✓ в некачественных образцах силоса (сенажа) на препарате видны спорообразующие палочки (маслянокислые бактерии, аммонификаторы), а также плесневые грибы.

*Титр маслянокислых бактерий устанавливают на жидкой картофельной среде.* Навеску силоса (сенажа) массой 40 г помещают в колбу с 360 мл стерильной воды, в течение 10 мин взбалтывают и получают первичное разведение корма 1:10. Затем берут 5 пробирок с 9 мл стерильного физиологического раствора. В первую пробирку вносят 1 мл исходного (1:10) разведения и получают второе разведение (1:100). Содержимое пробирки тщательно перемешивают и другой стерильной пипеткой переносят в следующую, т. е. получают третье разведение (1:1000) и т. д.

Из первых четырех разведений силоса (сенажа) засевают по 1 мл на картофельную среду. Пробирки с суспензией прогревают в течение 10 мин при температуре 80 °С и помещают в термостат на 2 суток при температуре 37 °С. Учет результатов анализа ведут по выделению газа (кусочки картофеля всплывают на поверхность жидкости) и растворению мела. Из таких пробирок готовят препараты-мазки, высушивают их, фиксируют, окрашивают раствором Люголя, микроскопируют. *Микроскопическая картина:* обнаруживают палочки, имеющие форму веретина и окрашенные в синий цвет вследствие наличия гранулезы (крахмала) в клетках (рис. 3.3).

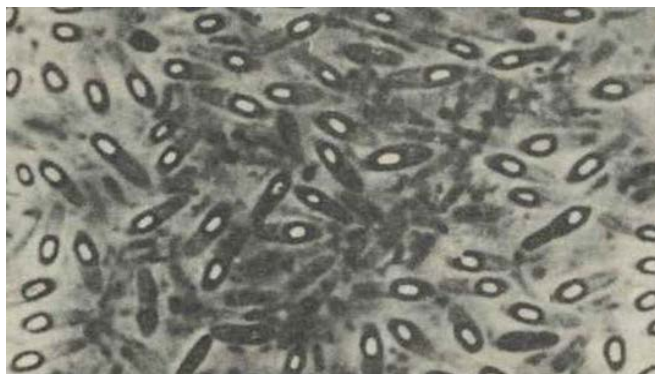


Рис. 3.3. Бактерии, вызывающие маслянокислое брожение в силосе

*Количество микроскопических грибов и дрожжей определяют на сусло-агаре со стрептомицином поверхностным посевом.* Подсчет колоний ведут на 3–4-й день (при необходимости повторно на 7–8-й день) при температуре 28 °С.

*Количество посторонней микрофлоры* (аэробных гнилостных микроорганизмов) определяют глубинным посевом на пептонном агаре. Подсчет колоний, выросших при температуре 28 °С, ведется на 5–7-й день.

Микрофлора кормов меняется во время заготовки и последующего хранения. После скашивания нарушаются защитные функции растений, микробы проникают внутрь, используют питательные вещества и разрушают ткани. Наличие плесневых грибов, дрожжей, гнилостной и маслянокислых микроорганизмов приводит к порче кормов. Такие корма часто вызывают отравления, расстройства органов пищеварения, угнетение кровеносной и иммунной систем, нарушают работу почек. В итоге ухудшается состояние здоровья и продуктивность животных и птицы, увеличиваются расходы на их содержание и лечение, снижается экономическая эффективность животноводства.

Дрожжи, встречающиеся в силосе, разделены на две группы:

1) дрожжи «низового» брожения, или осадочные, которые предпочитают сбраживать сахара;

2) дрожжи «верхового» брожения, или пленчатые, имеющие слабую способность к сбраживанию, но эффективно использующие молочную кислоту в качестве субстрата (рис. 3.4).

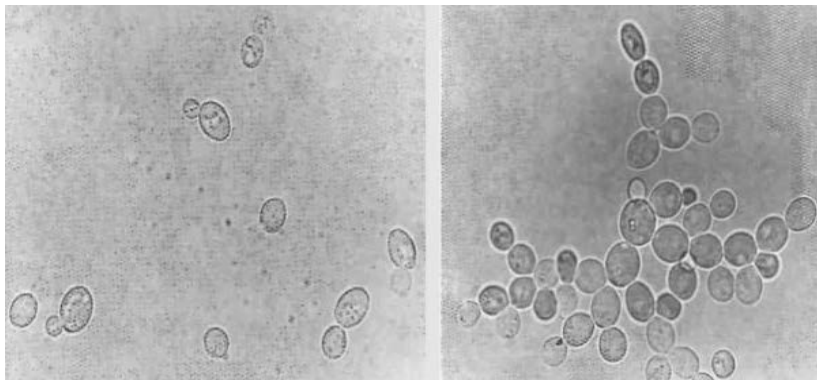


Рис. 3.4. Дрожжи низового и дрожжи верхового брожения

Ядовитые токсины, выделяемые некоторыми культурами грибов, приводят к появлению характерного отталкивающего запаха плесени и неприятного вкуса. Изменяются физические свойства кормового сырья, что проявляется в образовании плотных комков, затрудняющих

его транспортировку и приводящих к закисанию зерна в силосах; в наличии микотоксинов, приводящем к ухудшению здоровья, задержке роста животных и снижению их продуктивности.

**Микотоксикозы** – незаразные болезни, вызываемые интоксикацией микотоксинами (токсинами микромицетов), которые проникают в организм различными путями (основной путь – алиментарный, т. е. с продуктами питания).

Выделено более 300 микотоксинов, продуцируемых представителями 350 видов микроскопических грибов, однако практическое значение как загрязнители кормов имеют лишь около 20. Среди них наиболее распространены и опасны для здоровья животных и человека афлатоксины В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, М<sub>1</sub> (продуценты грибы рода *Aspergillus*) и зеараленон (*Fusarium*), охратоксины, цитринин, цитреовиридин (грибы рода *Aspergillus* и *Penicillium*), алкалоиды спорыньи, в том числе лизергиновая кислота и агроклавин (рис. 3.5).

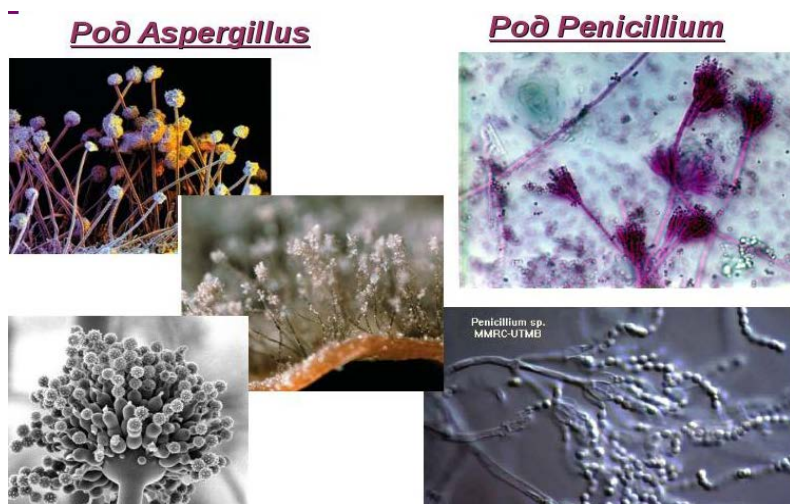


Рис. 3.5. Плесневые грибы – продуценты микотоксинов

Микотоксины не разрушаются при термической обработке кормов и, попадая с кормами в организм животных, накапливаются в мясе, яйцах, молоке. Поэтому их наличие в кормах представляет большую опасность не только для животных, но и для здоровья человека, так как некоторые из микотоксинов, в частности афлатоксины, являются

канцерогенами и их попадание в пищу должно быть абсолютно исключено.

**Задание 4. Приготовить из проб зерновых кормов препараты-мазки для микроскопии. Окрасить по Граму. Микроскопическую картину зарисовать в рабочей тетради.**

**Задание 5. Выполнить посев из проб зерновых кормов (зерно разных видов, мука, комбикорм) на питательные среды. С помощью справочного и демонстрационного материалов произвести оценку культуральных свойств выросших колоний.**

**Микробиота зерна** представлена несколькими группами:

– эпифитные – микроорганизмы, которые нормально сопутствуют жизни растений и находятся на их поверхности. Они питаются за счет органических выделений тканей растений и загрязнителей на них;

– микробы, случайно попавшие на зерно с пылью, дождем, насекомыми;

– микробы, паразитирующие на растениях и вызывающие их заболевания;

– микроорганизмы почвы, попадающие на зерно во время обмолота и уборки (рис. 3.6).

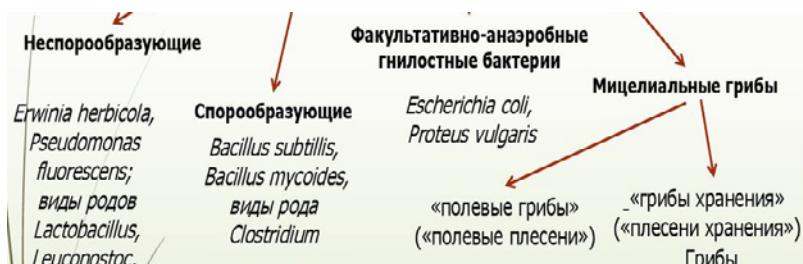


Рис. 3.6. Типичный состав микроорганизмов, обсеменяющих зерно

Микобиота зерна сходна с микобиотой грубых и сочных кормов. Для роста плесневых грибков в зерне необходим ряд условий.

**Оптимальная температура** для роста плесневых грибков находится в интервале 18–30 °С. Тем не менее некоторые их виды интенсивно растут и размножаются при температуре 4–8 °С;

**Влажность.** Для уменьшения содержания влаги в зерне производители вынуждены его досушивать до указанных значений. Это сопряжено с большими затратами энергии и трудовых ресурсов в течение крайне ограниченного промежутка времени. Однако даже при закладке на хранение зерна с нормативной влажностью такой фактор, как миграция влаги, оказывает отрицательное влияние на качество зерна при хранении. Так, при хранении зерна, имеющего начальную влажность около 13 %, происходит миграция влаги, вызванная разницей температур вверх (35 °С) и вниз (25 °С) хранилища. В процессе хранения зерна нормальной влажности на некоторых участках часто формируются оптимальные условия для быстрого роста плесени. Использование питательных веществ корма плесневыми грибами в процессе хранения приводит к выделению большого количества тепловой энергии и повышению температуры хранимого зерна. При температуре выше 20 °С начинается быстрое размножение различных насекомых и паразитов зерна, т. е. рост плесени ускоряет развитие насекомых в зерне. В то же время рост количества насекомых-вредителей приводит к быстрому увеличению влажности зерна. Увеличение числа половозрелых долгоносиков в закрытом бункере с пшеницей с 15 до 2100 особей увеличивает влажность зерна с 15 до 35 %. Вентилирование и перемещение хранящегося зерна приводит к дополнительным затратам энергии и увеличению его стоимости, в незначительной степени способствуя при этом снижению обсемененности грибками. Имеются весомые медицинские свидетельства о легочных заболеваниях животных и работников, имеющих дело с плесневелым сеном и зерном. И у людей, и у животных они вызываются вдыханием термофильных микроорганизмов. По данным Всемирной организации здравоохранения, около 25 % мировых поставок зерна заражены микотоксинами, поэтому важно бороться именно с их источником и плесенью. Имеются многие другие потенциально опасные плесени, способные вызывать целый ряд микотоксикозов, в том числе снижение плодовитости, аборт и общее ухудшение здоровья.

Основной причиной снижения качества комбикормов является поражение их плесневыми грибами и впоследствии зараженность микотоксинами. В комбикорм грибки попадают в основном с зерном и продуктами его переработки, частично он дополнительно обсеменяется в процессе изготовления, транспортировки и хранения. Являясь мертвым субстратом, весьма доступным для микроорганизмов, комбикорм скорее, чем зерно, подвергается воздействию грибов. Этому способствует его высокая гигроскопичность, а также богатый запас питатель-



ных веществ, особенно в связи с обогащением его витаминами, микроэлементами и другими добавками. Вследствие роста и размножения плесневых грибов в комбикорме происходит:

- снижение энергетической и питательной ценности его, так как для своей жизнедеятельности грибки используют питательные вещества пораженного ими корма;
- ухудшение вкусовых качеств, так как даже небольшое количество плесени в корме создает пыль, неприятный запах и вкус, что является причиной плохой поедаемости корма животными;
- изменение физических показателей комбикорма, проявляющееся в выделении грибками дополнительного количества воды и в слеживании корма в результате роста мицелия грибов.

Заражение корма микотоксинами, продуцируемыми грибами, ведет к задержке роста животных, снижению их продуктивности, конверсии корма и вызывает постоянное отравление всего поголовья скота.

Комбикорм, состоящий из дробленого зерна и отрубей, является благодатной почвой для прорастания плесени. Чем дольше срок хранения сырья, готового комбикорма, тем больше риск поражения его плесенью. При благоприятных условиях значительное размножение грибов может произойти за очень короткое время, грибницы грибов вырастают за 1 ч на 1 мм, поэтому необходимо проводить профилактическую обработку противогрибковыми препаратами, что экономически более оправдано, чем бороба с грибами и микотоксинами в уже заплесневелых кормах.

Наиболее практичным и надежным способом защиты кормов от плесени является применение препаратов на основе органических кислот и их солей. Они ингибируют рост микроорганизмов путем закисления цитоплазмы клетки, что приводит к гибели клетки.

### **Контрольные вопросы**

1. Правила отбора проб кормов для исследования.
  2. Методы оценки доброкачественности кормов.
  3. Нормальная и патогенная микробиота растительных кормов.
- Признаки недоброкачественности кормов.
4. Микроорганизмы, вызывающие отравления животных.
  5. Микробиологические исследования сена и соломы.
  6. Микробиологические исследования силоса и сенажа.
  7. Микрофлора зерна и комбикормов.
  8. Консерванты, используемые для сохранения качества кормов.

## **Лабораторное занятие 4. МИКРОБИОТА МЯСА, ЯИЦ И МЯСНЫХ ПРОДУКТОВ**

**Цель занятия:** изучить методы микробиологического исследования мяса, яиц и мясных продуктов.

**Материалы и оборудование:** пробы мяса свежего и сомнительного качества; образцы мясных продуктов; свежие и несвежие яйца; МПА; чашки Петри; градуированные пипетки; бактериологические петли; предметные стекла; ножницы прямые и изогнутые; набор реактивов для окрашивания микроорганизмов по Граму; физиологический раствор; шпатели; микроскоп; термостат; скальпели; пинцеты; индикаторная бумага для определения pH; справочный и фотоматериалы.

### **Ход занятия**

**Задание 1. Приготовить мазки-отпечатки из проб свежего и несвежего мяса и мясных продуктов. Окрасить сложным методом по Граму и микроскопировать. Микроскопическую картину зарисовать в рабочей тетради с описанием видового и морфологического состава исследуемого образца.**

#### ***Микробиота мяса и мясных продуктов.***

Мясо является полноценной питательной средой для жизнедеятельности многих микроорганизмов. Высокие значения активности воды (0,98–0,99) и pH (от 5,5 до 6,5) также благоприятны для размножения микроорганизмов в свежем мясе.

Эпидемиологическая безопасность мяса зависит от его качества, что напрямую связано с многими факторами: здоровье животного и условия его содержания, вид транспортировки животного, технологии первичной переработки, а также последующих процессов холодильной обработки и его хранения.

Микрофлора парного мяса здоровых животных представлена ограниченным количеством микроорганизмов, но достаточно разнообразна по видовому составу. Бактерии, часто встречающиеся на свежем мясе, относятся к родам *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Clostridium*, *Aeromonas*, *Psychrobacter*, *Enterobacteriaceae*, *Micrococcaceae*, *Bacillus*, *Shewanella*, *Brochotrix*, *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Leuconostoc*, *Weissella*. На 1 см<sup>2</sup> поверхности мяса может насчитываться от 10<sup>3</sup> до 10<sup>5</sup> КОЕ микроорганизмов. Доминирующими являются неспорообразующие, грамотрицательные палочки – псевдомонады, флавобактерии,

аэромонады, колиформные бактерии, палочки протей. Среди грамположительных бактерий чаще обнаруживаются молочнокислые, в значительно меньших количествах – аэробные и анаэробные спорообразующие бактерии, а также дрожжи родов *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Torulopsis*, споры плесневых грибов. Многие из названных микроорганизмов обладают активными протеазами и липазами, катализирующими гидролиз белков и липидов мяса.

Характерно, что из большого количества микроорганизмов – контаминантов свежего мяса – активно размножаются лишь некоторые виды, которые становятся доминирующими и составляют ассоциацию микроорганизмов порчи. Видовой состав ассоциации зависит от типа взаимоотношений, внутренних и внешних факторов, технологических параметров переработки мяса.

Мясо может быть контаминировано и токсикогенными микроорганизмами, например, *Clostridium perfringens*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, энтерококками. При значительном размножении этих бактерий мясо может послужить причиной пищевых отравлений.

#### **Отбор проб мяса для микробиологического исследования.**

Для определения свежести мяса от каждой туши или полутуши отбирают для исследования три образца массой не менее 200 г каждый целым куском из мышц бедра, лопатки и области 4–5-го шейных позвонков. В образцах, кроме мышечной ткани, должны быть сухожилия и жир. Из каждой пробы мяса необходимо приготовить не менее двух мазков-отпечатков. Каждый отобранный образец упаковывают в пищевую полиэтиленовую пленку. Отобранные и подготовленные образцы отправляют в лабораторию с сопроводительным документом, в котором указывают наименование продукта, место и время отбора пробы, причину направления продукта на исследование, цель исследования.

Перед взятием навески срезанные поверхности мяса и мясных продуктов прижигают накаленным на огне скальпелем. Отбирают две навески по 1–2 г из глубины и с поверхности пробы. Каждую навеску отдельно помещают в фарфоровую стерильную ступку и растирают, добавляя небольшими порциями физиологический раствор (стерильную воду), чтобы получить 10 %-ную взвесь исследуемого продукта.

Для исследования микробного загрязнения поверхности тушек, их частей, обваленного мяса, субпродуктов, полуфабрикатов пробы отбирают в виде смывов, полученных с помощью ватных тампонов, или стерильной жидкостью для смыва (пептонной водой, физиологическим раствором, водопроводной водой).

### ***Микробиологическое исследование мяса и мясных продуктов.***

Сущность метода состоит в определении количества бактерий и степени распада мышечной ткани путем микроскопирования мазков-отпечатков.

Поверхность исследуемых мышц стерилизуют раскаленным шпателем или обжигают тампоном, смоченным в спирте, вырезают стерильными ножницами (скальпелем) кусочки размером  $2,0 \times 1,5 \times 2,5$  см (рис. 4.1). Поверхностями срезов прикладывают к предметному стеклу (по три отпечатка на двух предметных стеклах). Препараты высушивают на воздухе, фиксируют, окрашивают по Граму и микроскопируют.



Рис. 4.1. Отбор проб мяса для анализа

#### ***Микроскопическая картина:***

- мясо считают свежим, если в мазках-отпечатках не обнаружена микрофлора или в поле зрения препарата видны единичные (до 10 клеток) кокки и палочковидные бактерии и нет следов распада мышечной ткани. В глубоких слоях они не обнаруживаются. Мазки-отпечатки из свежего мяса окрашиваются плохо;

- мясо считают сомнительной свежести, если в поле зрения мазка-отпечатка обнаружено не более 30 кокков или палочек, а также следы распада мышечной ткани или ядра мышечных волокон в состоянии распада, исчерченность волокон слабо различима. Мазки-препараты окрашиваются удовлетворительно;

- мясо считают несвежим, если в поле зрения мазка-отпечатка обнаружено свыше 30 кокков или палочек, наблюдается значительный распад тканей: почти полное исчезновение ядер и полное исчезновение исчерченности мышечных волокон. Мазки-препараты окрашиваются хорошо;

- мазки-отпечатки из разложившегося мяса окрашиваются очень хорошо. В мазках преобладают палочковидные формы микроорганизмов.

**Задание 2. Из образцов мяса сделать посе́вы в чашки Петри на мясопептонный агар. По истечении периода культивирования изучить культурально-морфологические свойства выросших колоний.**

***Определение количества микроорганизмов в мясе и мясных продуктах.***

Навеску мяса (мясных продуктов) массой 1 г помещают в стерильную ступку, растирают и постепенно прибавляют физиологический раствор из расчета 1:10, получают разведение 1:10. Из этого разведения получают разведения 1:100, 1:1000 и т. д.

В чашки Петри вносят по 1 мл суспензии из каждого разведения и по 10–12 мл расплавленного и охлажденного до температуры 45 °С мясопептонного агара, равномерно распределяют по всей поверхности и оставляют до полного остывания. Чашки с посевами маркируют, переворачивают вверх дном и помещают на 48 ч в термостат при температуре 37 °С. Подсчет выросших колоний проводят путем умножения количества колоний на степень разведения.

**Задание 3. Определить общую бактериальную обсемененность яиц путем посева в чашки Петри смыва с поверхности яиц. По окончании инкубации выполнить препараты для микроскопии, окрасить по Граму и микроскопировать. Полученные результаты отразить в рабочей тетради.**

***Микробиота яиц и яичных продуктов.***

Яйцо представляет собой живую зародышевую клетку, обладающую естественным иммунитетом. Защита яйца от проникновения и размножения в нем микробов обеспечивается скорлупой, подскорлупными оболочками и бактерицидными свойствами белка. На поверхно-

сти скорлупы при снесении яйца откладывается слой слизи, который, подсыхая, образует надскорлупную пленку – кутикулу. В состав кутикулы входит лизоцим, обладающий бактерицидным действием. Кутикула легко повреждается, поэтому яйца, предназначенные для хранения, не рекомендуется мыть. Бактерицидная способность белка обусловлена наличием в нем антибиотических веществ: лизоцима, авидина, овокональбумина, овомукоида, овомуцина и диоксида углерода, которые убивают или подавляют рост микроорганизмов. Кроме того, размножение микробов в белке подавляется его высоким значением рН (9,2) и устойчивостью протеинов белка к воздействию протеолитических ферментов микроорганизмов. Более сильным антимикробным действием обладает внутренний слой белка, прилегающий к желтку.

При хранении постепенно изменяются физико-химические свойства содержимого яйца (оно высыхает, повышается рН белка); ослабляется антимикробное действие белка, скорлупы и подскорлупных оболочек, так как инактивируются лизоцим и другие бактерицидные вещества; поры скорлупы становятся более проницаемыми.

Содержимое свежеснесенного яйца, полученного от здоровой птицы, имеющей нормальное физиологическое состояние, стерильно, т. е. не содержит микроорганизмов.

Заражение содержимого яйца происходит в процессе его формирования в яичнике и яйцеводе больных птиц или бактерионосителей при сальмонеллезе, туберкулезе, орнитозе, инфекционном бронхите и ряде других инфекционных болезней. Яйца, полученные от птицы, больной инфекционной болезнью, часто содержат возбудителя болезни. Возбудители многих инфекционных болезней птицы передаются трансвариальным путем, т. е. через яйцо. Экзогенному обсеменению яиц микробами способствует загрязнение скорлупы фекалиями птиц, землей, пером, подстилкой, грязной тарой, грязными руками и т. д.

Порча яиц может происходить от чисто ферментативного процесса без присутствия бактерий или от проникновения через скорлупу микроорганизмов. Скорость проникновения микроорганизмов в яйца зависит от их свежести, температуры и влажности воздуха, вида микроорганизмов. Нарушение санитарно-гигиенических условий хранения яиц приводит к тому, что микрофлора с поверхности яйца через поры проникает внутрь вначале на подскорлупные оболочки, а затем в белок и желток. Защитные факторы бактерицидности инактивируются, что приводит к порче яиц. В основе микробиологической порчи яиц и яичных продуктов лежат процессы гниения и плесневения (рис. 4.2).



Рис. 4.2. Порча яиц, вызванная бактериями

Гниение яиц чаще всего вызывают грамотрицательные неспорообразующие бактерии родов *Pseudomonas*, *Proteus*, *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Escherichia*, *Acinetobacter*, *Moraxella* и размножение флюоресцирующих псевдомонад (*Pseudomonas fluorescens*).

**Отбор проб для микробиологического анализа.**

Для определения качественных характеристик, категории, чистоты скорлупы, запаха отбирают от объединенной пробы 50 % яиц. Для определения микробиологических показателей от объединенной пробы отбирают 25 % яиц от партии, но не менее 30 штук. Яйца, предназначенные для микробиологического исследования, упаковывают в чистую тару и транспортируют, избегая вторичной контаминации.

**Методы микробиологического анализа яиц.**

Незагрязненные яйца содержат на 1 см<sup>2</sup> поверхности не более 10<sup>1</sup>–10<sup>2</sup> микроорганизмов, тогда как на загрязненных яйцах количество микроорганизмов может достигать 10<sup>5</sup>–10<sup>6</sup>. Состав поверхностной микрофлоры яиц весьма разнообразен. Чаще всего обнаруживаются бактерии группы кишечной палочки (БГКП), протеи, псевдомонады, аэробные спорообразующие палочки, микрококки, споры мицелиальных грибов. Эти микроорганизмы попадают на яйцо в основном при прохождении его через клоаку.

Яйца птицы могут быть контаминированы и патогенными микроорганизмами. Через яйца и яичные продукты передаются возбудители сальмонеллеза, птичьего туберкулеза, кокковых интоксикаций, кампилобактериоза, псевдомоноза.

**Овоскопия яиц** – просмотр яиц на свет для определения состояния воздушной камеры, ее высоты, состояния и положения желтка, целостности скорлупы. Для этой цели используют овоскопы различной маркировки. Этот прибор представляет собой ящик, в верхней части которого находятся ячейки для укладки яиц. Внутри ящика вмонтирован источник света. Исследования проводят в затемненном помещении, чтобы содержимое яиц хорошо просвечивалось.

*Результаты анализа.*

Свежие яйца имеют красноватую окраску, небольшую воздушную камеру, центральное расположение желтка.

При размножении гнилостных аэробных бактерий рода *Pseudomonas* и золотистого стафилококка белок становится серым, мутным и разжиженным, в дальнейшем белок и желток приобретают зеленоватый оттенок, переходящий в темно-зеленый цвет (*зеленая гниль*) (рис. 4.3, б).



*a*

*б*

Рис. 4.3. Пороки яиц: *a* – розовая гниль; *б* – зеленая гниль

Размножение в яйце чудесной палочки, розового микрококка, а также некоторых дрожжей и плесневых грибов, образующих красный



пигмент, вызывает окрашивание его содержимого в розовый или красный цвет. При овоскопии заметен красный оттенок в желтке и покраснение белка, который может быть разжиженным или вязким (*красная или розовая гниль*) (рис. 4.3, а).

При размножении в яйце бактерий группы кишечной палочки, палочки протей, некоторых бактерий рода псевдомонас и других гнилостных микроорганизмов, содержимое становится черным и мутным и не просвечивается при овоскопии. В результате такого вида порчи из-за образования большого количества газов возрастает давление внутри яйца, может произойти разрыв скорлупы, содержимое яйца будет издавать фекальный запах (*черная гниль*) (рис. 4.4).



Рис. 4.4. Черная гниль

Порчу яиц, вызываемую гнилостными бактериями, при которой они не просвечиваются при овоскопии, называют *«тумак бактериальный»*. Яйцо непрозрачно, кроме воздушной камеры, которая увеличена и подвижна; наружная поверхность скорлупы сероватого или мраморного цвета, часто с гнилостным запахом. *Для пищевых целей такие яйца не пригодны.*

Дефект *«кислое яйцо»* вызывается многими бактериями. При овоскопии не обнаруживается, а при вскрытии яйцо издает едкий запах.

При размножении в яйце плесневых грибов и актиномицетов, которые разрастаются на подскорлупной оболочке и наиболее быстро око-

ло воздушной камеры, разрушается подскорлупная оболочка и плесневые грибы проникают в белок. При размножении плесеней на подскорлупных оболочках, где они образуют колонии в виде окрашенных пятен, в зависимости от размеров колоний различают порок «*малое* или *большое пятно*». В случае если подскорлупные оболочки сплошь покрыты колониями плесневых грибов, белок и желток смешаны, яйцо не просвечивается при овоскопии, порок называют «*тумак плесневелый*» (рис. 4.5). Для пищевых целей такие яйца не пригодны.



Рис. 4.5. Яйцо с признаками порока «тумак»

**Общую бактериальную обсемененность** поверхности яиц определяют путем посева конкретного объема смыва или его десятикратных разведений в чашки Петри с МПА. После инкубации чашек при температуре 30 °С в течение 72 ч подсчитывают все выросшие поверхностные и глубинные колонии, определяют среднее арифметическое число колоний по двум чашкам одного разведения, умножают на величину разведения и делят на площадь поверхности яиц.

**Определение КМАФАнМ (количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов) внутреннего содержимого яйца.**

Поверхность скорлупы обмывают с помощью щеточки теплой мыльной водой, затем яйцо на 10 мин погружают в этанол и обжигают на пламени горелки. На остром конце яйца делают отверстие диамет-

ром 1 см, пробивая скорлупу профламбированным инструментом (пинцетом или скальпелем). Содержимое одного или нескольких яиц, помещают в колбу с шариками, гомогенизируют до однородной массы, которую подогревают на водяной бане при температуре 20 °С. Затем 10 см<sup>3</sup> яичной массы вносят в колбу с 90 см<sup>3</sup> стерильного физиологического раствора, получая разведение 10<sup>1</sup>, из которого готовят последующие разведения и далее проводят определение КМАФАнМ по вышеописанной методике.

***Определение БГКП (бактерии группы кишечной палочки).***

Для выявления БГКП высевают 1 см<sup>3</sup> разведения 10<sup>1</sup> исследуемой пробы в 5 см среды Кесслера, посевы помещают в термостат с температурой 37 °С на 24 ч, после чего устанавливают наличие или отсутствие признаков размножения этих бактерий.

Для определения БГКП готовят разведения в меланже до 10<sup>4</sup>, которые также засевают в пробирки со средой Кесслер.

**Задание 4. Из внутреннего содержимого яиц приготовить мазки, окрасить по Граму и произвести микроскопию. Полученные результаты законспектировать в рабочей тетради.**

***Микроскопическое исследование яиц.***

На предметном стекле делают препарат-мазок из содержимого яйца, высушивают на воздухе, фиксируют, окрашивают сложным методом по Граму и микроскопируют. По морфологическим признакам и количеству микробов судят о процессах, протекающих в яйце.

**Контрольные вопросы**

1. Правила отбора проб мяса для микробиологического исследования.
2. Нормальная микробиота мяса.
3. Методы микробиологического исследования мяса и мясных продуктов.
4. Микробиота яиц. Яйца как возможный источник опасных инфекционных болезней животных и человека.
5. Правила отбора яиц для микробиологического исследования.
6. Методы микробиологического исследования яиц.

## **Лабораторное занятие 5. МИКРОБИОТА РЫБЫ И РЫБНЫХ ПРОДУКТОВ**

**Цель занятия:** освоить микробиологические методы исследований рыбы и продуктов ее переработки.

**Материалы и оборудование:** пробы рыбы и продуктов ее переработки; рыбный фарш; консервы рыбные; скальпели; предметные стекла; наборы реактивов для окрашивания по Граму; микроскопы; горелки; чашки Петри; МПА; пробирки с 9 мл стерильной воды; бактериологические петли; пипетки на 1 мл; термостат; стерильный песок; стерильная вода; водяная баня; индикаторная бумага (обработанная 10%-ным щелочным раствором уксуснокислого свинца).

### **Ход занятия**

**Задание 1. Определить степень бактериальной обсемененности рыбы методом микроскопии мазков-отпечатков.**

Основная задача микробиологического контроля рыбы и продуктов ее переработки заключается в изучении видового состава и свойств бактерий, встречающихся на рыбе и рыбных продуктах, их влияния на технологические процессы переработки рыбы, а также в разработке эффективного санитарно-гигиенического контроля предприятий, анализе воды, оборудования, инвентаря, тары, личной гигиены сотрудников. Санитарно-микробиологический контроль рыбного производства подразделяется на основной (профилактический) и дополнительный.

*Основной микробиологический контроль* включает в себя исследование поступающего сырья, вспомогательных материалов, готовой продукции, а также санитарного состояния производства. Он проводится систематически, в сроки, определяемые нормативно-техническими документами производства и контролирующими организациями, в порядке, предусмотренном законом.

*Дополнительный микробиологический контроль* производства проводится в случае стойкой повышенной обсемененности готового продукта микроорганизмами с целью обнаружения и устранения источника контаминации, а также если предполагается наличие в продукте возбудителей пищевых токсикозов и токсикоинфекций. Микробиологический

контроль осуществляется производственной лабораторией, а при ее отсутствии – сторонними аттестованными организациями.

Мясо рыб имеет рыхлую консистенцию, поскольку в нем меньше соединительных тканей, чем в мясе теплокровных животных. Это способствует распространению микроорганизмов в теле рыбы. Количественный и видовой состав микрофлоры свежесвыловленной рыбы зависит от ее вида, характера водоема, сезона года, района и техники лова и других факторов.

Мышечный сок и мышечная ткань свежесвыловленной здоровой рыбы считаются стерильными. Значительные количества бактерий обнаруживаются в покровной слизистой оболочке, на наружных жабрах и в желудочно-кишечном тракте. Количество бактерий на этих участках может составлять от  $10^3$  до  $10^6$  на  $1 \text{ см}^2$ .

Слизь, покрывающая поверхность рыбы, не только содержит микроорганизмы, но и служит благоприятной средой для их развития.

В теплых водах на поверхности рыбы присутствуют мезофильные микробы – различные виды бацилл, коринебактерий, микрококков. В покровной слизистой оболочке могут содержаться светящиеся бактерии, например, *Photobacterium phosphoreum*.

На поверхности тела рыбы обнаруживаются спорообразующие и бесспорные палочки, микрококки, сарцины и обитающие в воде дрожжи и плесени. Преобладают психрофилы – *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Proteus vulgaris*, бактерии группы кишечной палочки и др.

В умеренных и холодных водах доминируют психрофильные и психротрофные микроорганизмы. В речной и морской водах количество психрофилов на  $1 \text{ см}^2$  кожи рыбы колеблется от  $10^2$  до  $10^4$ . Они представлены главным образом бактериями родов *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*. Встречаются также микрококки, коринебактерии, реже спорообразующие палочки рода *Bacillus*, а также дрожжи и актиномицеты. Осетровые рыбы иногда бывают загрязнены палочкой ботулизма (*C. botulinum*). В прибрежных морских водах и во внутренних водных бассейнах поверхность рыбы может быть загрязнена бактериями из семейства Enterobacteriaceae родов *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*.

В связи с ухудшением экологической обстановки в разных странах мира, сбросом бытовых и промышленных сточных вод в природные водоемы резко возросла опасность заражения рыб патогенными бактериями – шигеллами и сальмонеллами, что требует особого внимания к санитарной обработке рыбы и изменению ее микрофлоры при

хранении. Пресноводные рыбы могут длительное время сохранять сальмонеллы в своем организме. Массовая эндогенная контаминация рыб сальмонеллами видов *S. enteritidis* или *S. typhimurium* вызывает у них псевдомембранозные воспаления кишечника.

Энтеропатогенные штаммы стафилококков выделяются обычно во время переработки рыбы, так как эти микроорганизмы составляют около 40 % микрофлоры рук и носоглотки обслуживающего персонала. Чтобы предотвратить обсеменение рыбы стафилококками, температура хранения ее должна быть не выше 10 °С.

На морской рыбе иногда встречается галофильный вибрион *Vibrio parahaemolyticus* – возбудитель гастроэнтеритов и отравлений по типу токсикоинфекций.

В жабрах и кишечнике рыб всегда присутствует большое количество разнообразных микроорганизмов. В 1 г содержимого кишечника свежеснувшей рыбы насчитывается до  $10^5$ – $10^8$  клеток микроорганизмов. Это различные гнилостные бактерии, в том числе спорообразующие: *C. sporogenes*, *C. perfringens*, *C. bifermentans*.

На наружных жабрах и слизистой оболочке рта свежельвленной рыбы могут также присутствовать дрожжи, но в дальнейшем при хранении они подавляются бактериями. Выделенные дрожжи были отнесены к родам *Debaryomyces*, *Torulopsis*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Pichia*, *Cryptococcus* (рис. 5.1).



Рис. 5.1. Порча рыбы, вызванная микроорганизмами

Свежельвленная рыба быстро подвергается микробной порче, которая происходит тем быстрее, чем выше температура хранения и

чем больше на рыбе микроорганизмов. На поверхности рыбы активно размножаются гнилостные аэробные бактерии, которые поглощают кислород и в результате создают условия для развития анаэробов, при этом процесс гниения смещается внутрь. Развитие гнилостной микрофлоры приводит к сдвигу pH в щелочную сторону, что способствует размножению многих других микроорганизмов. Поэтому после вылова рыбу следует быстро охладить. При резком понижении температуры тела рыбы размножение большинства микроорганизмов приостанавливается. Так, если при температуре 18 °C количество бактерий через одни сутки возрастает до  $10^8$ – $10^9$  в 1 г рыбы, то при температуре около 0 °C рост микроорганизмов задерживается на 24–48 ч, после чего на поверхности охлажденной рыбы и на жабрах начинается размножение психрофильных микроорганизмов. Главными возбудителями порчи рыбы являются бактерии рода *Pseudomonas*. Через 10 суток доля псевдомонад возрастает до 50 % от общего количества, а через 18 суток – до 96 %. Вызывая гнилостный распад белка, псевдомонады образуют значительные количества летучих соединений, в том числе триметиламин, обладающий неприятным запахом, а также газы –  $H_2S$ ,  $NH_3$ . Псевдомонады характеризуются не только высокой скоростью роста, но и повышенной ферментативной активностью по отношению к белкам и липидам.

Для охлаждения рыбы часто используется лед в сочетании с хлоридом натрия, которые, в свою очередь, могут быть источниками обсеменения рыбы посторонними микроорганизмами.

Более длительное хранение обеспечивает замораживание рыбы. Если быстро подвергнуть замораживанию свежельовленную рыбу, то вся микробиота располагается на поверхности ее тела, тогда как в толще мышц микроорганизмов еще нет. Хранение такой замороженной рыбы при температуре не выше  $-12\dots-15$  °C позволяет длительное время сохранять ее качество (несколько месяцев) и значительно снизить количество микроорганизмов.

В процессе замораживания и длительного холодильного хранения часть микроорганизмов отмирает, но некоторые из них сохраняют свою жизнеспособность, находясь в состоянии анабиоза. При этом чем выше скорость замораживания и ниже температура хранения, тем большее количество микроорганизмов останется жизнеспособным.

На замороженной рыбе обнаруживают преимущественно различные микрококки, спорообразующие и неспорообразующие формы па-

лочковидных бактерий, споры мицелиальных грибов. Допустимое содержание сапрофитных микроорганизмов на замороженной рыбе – до  $10^5$  КОЕ/г.

Микробиологическое исследование рыбы и ракообразных проводят для определения микробной загрязненности, пригодности в пищу, свежести рыбы, больной заразными и незаразными болезнями, при массовой гибели.

Сначала проводят органолептическое исследование, затем микроскопическое и микробиологическое.

Микробиологическое исследование свежей рыбы начинают с приготовления препаратов-отпечатков (бактериоскопический метод), а затем проводят бактериологический анализ.

При органолептическом исследовании обращают внимание на состояние кожи, чешуи, слизи, жабр, глаз, брюшка, внутренних органов, консистенцию мышц, наличие опухолей, запах слизи, жабр и области анального отверстия. Также осуществляют пробу варкой.

Микроскопический метод позволяет быстро определить степень обсемененности рыбы микроорганизмами и их форму.

Микробиологический метод исследования рыбы и ракообразных путем посева на различные питательные среды позволяет определить количество микроорганизмов и их видовую принадлежность.

Серологический метод позволяет идентифицировать возбудителей газовой гангрены (*C. perfringens*) – реакция гемолиза, возбудителей ботулизма (*C. botulinum*) – люминесцентно-серологический метод.

Биологический метод (биопроба) – заражение восприимчивых лабораторных животных для выделения чистой культуры возбудителя и подтверждения предполагаемого диагноза.

**Отбор проб для микробиологического исследования.** При отборе проб необходимо соблюдать стерильность. Пробы следует отбирать в стерильные банки с крышками, в бутылки с ватными пробками или в стерильную бумагу с помощью стерильного ножа, ложки или щупа. Хранить пробы следует при пониженной температуре и исследовать не более чем через 4 ч после отбора.

Для лабораторных исследований отбирают из разных мест не менее 5 % от партии выловленной рыбы или из упаковок, ящиков, бочек несколько экземпляров, наиболее характеризующих всю партию или упаковку рыбы.

Отобранные пробы сопровождаются пояснительной запиской, в которой указывают дату и время отбора пробы, место отбора, цель отбо-



ра, предположительный диагноз или причину, название лаборатории, фамилию, должность и подпись делавшего отбор пробы.

**Микроскопическое исследование.** На предметных стеклах делают два мазка-отпечатка: один – из поверхностных слоев мышц, расположенных под кожей; другой – из мышечной ткани глубоких слоев мышц, находящихся около позвоночника.

Мазки-отпечатки фиксируют над пламенем горелки. Приготовленные препараты окрашивают по Граму. Под микроскопом подсчитывают среднее число микроорганизмов в одном поле зрения.

Рыба свежая – в мазках из поверхностных слоев мышц микробов нет или попадаются единичные кокки и палочки в нескольких полях зрения. Препарат плохо окрашен, на стекле отсутствуют остатки разложившейся ткани.

Рыба сомнительной свежести – в мазках из глубоких слоев мышц 10–20, а из поверхностных – 30–50 микробов в одном поле зрения (диплококки, диплобактерии). Препарат окрашен удовлетворительно. На стекле ясно заметны распавшиеся волокна мышечной ткани.

Рыба несвежая – в мазках из глубоких слоев мышц 30–40, а из поверхностных – 80–100 и более микроорганизмов в одном поле зрения (преобладают палочковидные). Препарат хорошо окрашен, на стекле много распавшейся мышечной ткани.

## **Задание 2. Определить количество микроорганизмов в 1 г рыбы и их видовую принадлежность.**

**Микробиологическое исследование.** Микробиологическому анализу подвергают как плотные, так и жидкие продукты. При исследовании продукта (рыба свежая, рыба мороженая, ракообразные) его поверхность прижигают раскаленным шпателем, затем стерильными ножницами вырезают кусочки из глубины исследуемого объекта и берут навески по 10–15 г. Навеску в стерильной ступке растирают со стерильным песком и небольшим количеством стерильной воды, переносят в стерильную колбу, доводя объем воды до 90–135 мл. Полученную 10%-ную взвесь взбалтывают в течение 5 мин. Для посева используют верхний слой болтушки через серию разведений. Для этого 1 мл исследуемой болтушки вносят в пробирку с 9 мл стерильной воды, получают разведение 1:10. Затем 1 мл разведения 1:10 переносят в пробирку с 9 мл стерильной воды для последующего разведения (1:100) и т. д.

Для определения микробного числа проводят посев по 1 мл в чашки Петри из разведений 1:10; 1:100; 1:1000 и т. д. в зависимости от предполагаемой обсемененности.

Чашки Петри с засеянным 1 мл болтушки заливают расплавленным и остуженным до температуры 40 °С МПА, равномерно распределяют смесь и после застывания агара инкубируют в термостате при температуре 37 °С в течение 48 ч (мезофилы).

Подсчет психрофильных бактерий осуществляется путем посевов на питательные среды и выдерживания в течение 1–2 недель при температуре 0 °С. Рекомендуется также выдержка посевов в течение 16 ч при температуре 17 °С, затем 3 суток при температуре 7 °С или 4 суток при температуре 4–6 °С.

Подсчитывают количество выросших колоний в каждой чашке Петри с учетом их степени разведения. Складывают полученные результаты и делят на число учтенных чашек. Получают среднее арифметическое число бактерий, показывающее количество микробов в 1 г (1 мл) исследуемого материала.

### **Задание 3. Определить общую бактериальную обсемененность консервированных рыбных продуктов.**

Консервированные рыбные продукты могут вызвать у человека инфекционные заболевания, пищевые токсикоинфекции и токсикозы. При сомнении в доброкачественности консервированной рыбы всех видов обработки и для уточнения органолептических показателей проводят микробиологические исследования.

Микробиологические исследования сырья и полуфабрикатов рекомендуют проводить одновременно со смывами с оборудования, инвентаря и тары, которые могут являться источниками обсеменения бактериями кишечной группы и патогенными микроорганизмами.

На поверхности рыбы обнаруживают кокки, сарцины, палочковидные бактерии, плесневые грибы и дрожжи.

**Соленая рыба (сельдь, карп, толстолобик).** Посол является наиболее распространенным способом консервирования рыбы. По чувствительности к хлориду натрия микроорганизмы условно подразделяют на три группы.

1. *Галофобные.* К этой группе относятся микроорганизмы, жизнедеятельность которых подавляется при концентрации хлорида натрия

5–6 %. Это в первую очередь большинство гнилостных бактерий, молочнокислые бактерии, кишечные палочки, некоторые патогенные бактерии родов *Salmonella*, *Vibrio*. При содержании в среде около 6 % хлорида натрия подавляется размножение бактерий родов *Pseudomonas* и *Achromobacter*, однако они сохраняют свою жизнеспособность.

2. *Галотолерантные* (факультативные галофилы). Эти микроорганизмы могут расти при концентрации соли от 6 до 15 %. Высокой устойчивостью к действию соли характеризуются стафилококки. Их размножение подавляется лишь при концентрации соли в среде 16–18 %. Значительной устойчивостью к хлориду натрия обладают плесневые грибы. В частности, рост *Aspergillus niger* подавляется при концентрации хлорида натрия 17 %, *Penicillium glaucum* – 19–20 %.

3. *Галофильные* (облигатные галофилы). Для размножения этой группы микроорганизмов оптимальная концентрация соли находится в интервале 3–6 %. Они способны расти в концентрированных солевых растворах или непосредственно в самой соли. Предполагают, что повышенное осмотическое давление или пониженная активность воды в питательной среде стимулируют рост этих микроорганизмов. К этой группе относится *Micrococcus roseus*, который придает красную окраску соленой сельди.

Консервирующее действие соли зависит:

- от ее концентрации;
- температуры среды;
- pH среды;
- присутствия в среде консервантов.

Различают следующие способы посола:

- теплый, охлажденный и холодный;
- насыщенный и ненасыщенный;
- сухой, смешанный и мокрый (тузлучный).

Основным консервирующим фактором в пресервах является поваренная соль, содержание которой допускается от 3 до 10 %. Для предохранения пресервов от порчи в них добавляют антисептик (бензойную кислоту или бензоат натрия) в концентрации 0,1 % от массы рыбы. Бензоат натрия подавляет главным образом гнилостные бактерии и в меньшей степени плесневые грибы. Молочнокислые бактерии и дрожжи малочувствительны к действию антисептика. В некоторые

пресервы вместо бензоата натрия добавляют уксусную кислоту, которая усиливает действие поваренной соли.

#### **Признаки микробной порчи пресервов.**

1. Образование слизи в рассоле. Причиной порока является полимеризация сахарозы, в результате чего образуется соединение оптически левого вращения – леван, или соединение оптически правого вращения – декстран. В рассоле слизь состоит главным образом из левана. Ответственными за образование левана являются грамотрицательные палочки, а за образование декстрана – *Leuconostocmesenteroides ssp. dextranicum*.

2. Газообразование. В пресервах мелкой упаковки наблюдается газообразование, вызываемое развитием гетероферментативных молочнокислых бактерий или лейконостоков (*Leuconostoc citrovorum*).

#### **Патогенные микробы в пресервах.**

Благодаря развитию молочнокислых бактерий продукт подкисляется, поэтому *C. botulinum* размножается очень редко. Контаминация пресервов сальмонеллами не имеет какого-либо значения, так как существующие концентрации соли (до 8 %) препятствуют размножению этих микробов. *S. aureus* обладает высокой устойчивостью к соли. Контаминация пресервов золотистым стафилококком происходит в основном от обслуживающего персонала. Размножение золотистого стафилококка и образование им энтеротоксина может происходить при концентрации соли до 10 %. Для того чтобы подавить образование токсина *S. aureus* в пресервах, их необходимо хранить при температуре ниже 10 °С.

Соленую рыбу исследуют на общую бактериальную обсемененность, наличие бактерий группы кишечной палочки. Периодически исследуют готовую продукцию на наличие коагулязоположительного стафилококка, хорошо развивающегося в среде, содержащей 4–5 % соли.

Обсемененность рыбы должна быть не выше 1000–100 000 бактериальных клеток в 1 г. Присутствие бактерий группы кишечной палочки и стафилококка недопустимо.

**Копченая рыба.** Копченой называют рыбу, обработанную солью, дымом или коптильной жидкостью.

Различают копчение нескольких видов: дымовое, при котором рыбу коптят дымом, образующимся при неполном сгорании древесины; мокрое, т. е. бездымное – с помощью коптильных препаратов; смешанное – сочетание мокрого копчения и дымового; электрокопчение –

путем создания электрического поля высокого напряжения в копильной камере, в которой частицы дыма с соответствующим зарядом оседают на поверхности рыбы, имеющей противоположный заряд.

В зависимости от температуры, при которой ведется копчение, различают рыбу холодного и горячего копчения. Холодное копчение рыбы проводят при температуре 40 °С в течение 2–5 суток, горячее – при температуре 80–140 °С в течение 1–5 ч.

В процессе копчения рыба обезвоживается, пропитывается веществами дыма, которые придают ей специфические запах и вкус, а осаждающаяся на поверхности, окрашивает ее в золотисто-коричневый цвет. Некоторые вещества дыма обладают антисептическими (бактерицидными) свойствами и создают в мясе рыбы неблагоприятные условия для развития микроорганизмов и действия ферментов.

В зависимости от вида рыбы горячего копчения в ней содержится 59,9–69,4 % воды, 21,3–26,0 % белка, 1,2–11,6 % жира. Энергетическая ценность 100 г рыбы горячего копчения составляет 115–192 ккал.

В рыбе холодного копчения содержится 50,0 % воды, 17,1–31,1 % белка, 2,8–16,0 % жира. Энергетическая ценность 100 г рыбы холодного копчения – 94–225 ккал.

*Рыба горячего копчения.* Для горячего копчения используются жирные или средней жирности лещ, сазан, сом, морской окунь, осетровые рыбы, угорь, салака, килька, треска, сельдь, скумбрия, ставрида, камбала, нототения. По видам разделки рыбу горячего копчения вырабатывают неразделанную, потрошеную с головой, потрошеную обезглавленную, обезглавленную, жаброванную, филе, пласт с костью, пласт без кости.

*Требования к качеству рыбы горячего копчения.* Рыба горячего копчения должна быть прокопчена до полной готовности; признаки сырости отсутствуют, мясо проварено, легко отделяется от позвоночника; поверхность чистая, незначительно увлажненная; разделка правильная. Допускаются белково-жировые натёки на поверхности, повреждение жаберных крышек, кожи. Цвет поверхности равномерный, золотистый с оттенком до темно-золотистого; консистенция сочная, суховатая или слегка крошащаяся. Вкус, запах приятные, свойственные рыбе горячего копчения без порочащих признаков. Массовая доля соли – от 1,5 до 2,0 %, для ставриды океанической «Ароматная» – 2,5–4,0 %, для сельдей – 2,0–6,0 %.

Осетровые рыбы горячего копчения по качеству подразделяются на 1-й и 2-й сорта. Рыба 1-го сорта должна быть упитанной, прокопчена

до полной готовности, мясо проварено, без признаков сырости, кровь полностью свернувшаяся; поверхность рыбы и брюшная полость чистые, без ожогов кожного покрова, с незначительными повреждениями поверхности и вздутостью кожи. Цвет свойственный для данного вида копченой рыбы, допускаются незначительные светлые пятна в местах обвязки, не охваченные дымом. Консистенция от сочной до плотной. Вкус, запах свойственные рыбе горячего копчения, без порочащих признаков.

В 2-м сорте допускается рыба различной упитанности, небольшие ожоги кожного покрова, консистенция мягковатая, суховатая или слоистая, привкус ила, запах окислившегося жира в поверхностном слое мяса от анального до хвостового плавника. Массовая доля соли – от 1,5 до 4,0 %.

*Рыба холодного копчения.* Для холодного копчения используются лососевые рыбы, вобла, зубатка, сельдь, морской окунь, ставрида, скумбрия, тарань, палтус, угольная рыба.

По видам разделки рыбу холодного копчения выпускают неразделанную, потрошеную с головой, обезглавленную, потрошеную обезглавленную, жаброванную, зябренную, ломтики, кусочки, спинку и др.

*Требования к качеству рыбы холодного копчения.* Рыбу холодного копчения в зависимости от качества подразделяют на 1-й и 2-й сорта. Рыба 1-го сорта различной упитанности, поверхность чистая, невлажная, разделка правильная. Допускаются частичная сбитость чешуи, незначительный налет соли на жаберных крышках. Цвет от светло- до темно-золотистого. Консистенция от сочной до плотной. Вкус и запах свойственные данному виду рыбы, с ароматом копчености, без сыро- сти и других порочащих признаков.

В 2-м сорте допускаются отклонения от правильной разделки, небольшие срывы, трещины и порезы кожи, цвет от золотистого до темно-коричневого, незначительные светлые пятна, не охваченные дымом, слегка ослабевшая консистенция, более резко выраженный запах копчености. Массовая доля соли в рыбе 1-го сорта составляет от 5 до 10 %, 2-го сорта – от 5 до 19 %. Массовая доля влаги – от 42 до 58 %.

Сельди холодного копчения 1-го сорта должны иметь поверхность чистую, с чешуей или без чешуи, незначительный белково-жировой налет, без наружных повреждений, отмякшее, но не лопнувшее брюшко, разделка правильная. Цвет кожного покрова ровный, золотистый. Консистенция нежная, сочная, допускается плотная. Вкус и запах свойственные копченой сельди без порочащих признаков. Массовая

доля соли в мясе рыбы – от 5 до 9 %, массовая доля жира – 12 %. Для рыбы 2-го сорта показатели те же, что и для 1-го сорта, но допускаются белково-жировой натек, срывы кожи, лопнувшее брюшко без выпадения внутренностей; соломенный или светло-коричневый цвет; суховатая или слегка ослабевшая консистенция, но не дряблая. Массовая доля соли в рыбе составляет от 5 до 11 %, массовая доля жира – 12 %.

*Упаковка и хранение копченой рыбы.* Копченую рыбу упаковывают в ящики дощатые, из гофрированного картона, в короба плетеные из шпона, в пачки из картона, в пленочные пакеты под вакуумом или без вакуума. Ломтики могут быть расфасованы в металлические или фигурные стеклянные банки. Пакеты, пачки, банки с продукцией упаковывают в ящики дощатые или из гофрированного картона.

На тару с замороженной рыбой наносят надпись «замороженная». Хранят рыбу горячего и холодного копчения при температуре от +2 до –2 °С не более 72 ч с момента окончания технологического процесса. Замороженную рыбу горячего копчения хранят при температуре не выше –18 °С не более 30 суток. Рыба холодного копчения хранится при температуре от 0 до –5 °С и относительной влажности воздуха 75–80 % не более 2 месяцев; фасованная в пачки из картона – не более 15 суток; кусочки, ломтики, фасованные в пленочные пакеты под вакуумом, при температуре от 0 до –4 °С – не более 20 суток (для дальневосточных лососей – 3 суток), без вакуума – не более 10 суток; при температуре от –4 до –8 °С под вакуумом – не более 35 суток (для дальневосточных лососей – 15 суток), без вакуума – не более 10 суток с даты изготовления.

Микробиота копченой рыбы в основном кокковая (80–90 %), кроме этого обнаруживаются споровые и бесспоровые палочки.

Большая влажность воздуха в помещении, где хранится копченая рыба, способствует росту плесневых грибов, что приводит к потере товарного вида и порче продукта.

Микробиологическое исследование копченой рыбы включает определение общей бактериальной обсемененности, бактерий группы кишечной палочки не реже двух раз в месяц. Изделия, упакованные в пакеты из полимерных материалов, исследуют на наличие анаэробов.

Бактериальная обсемененность копченой рыбы должна быть 100–10 000 микробных клеток в 1 г. Присутствие бактерий группы кишечной палочки недопустимо.

К дефектам копченой рыбы относятся белобочка, рапа, плесень.

**Виды порчи копченой рыбы.**

*Влажное гниение* вызывают психрофильные бактерии, которые вызывают изменения в мышечной ткани копченой рыбы: она становится влажной, липкой, издает острый гнилостный запах (рис. 5.2).



Рис. 5.2. Влажное гниение рыбы, вызванное микроорганизмами

*Сухое гниение* вызывают микрококки и аэробные спорообразующие бактерии, которые сохранили жизнеспособность во время копчения, дрожжи и сарцины. Рыба приобретает матовый оттенок, мышечная ткань становится рыхлой (рис. 5.3).



Рис. 5.3. Сухое гниение рыбы, вызванное микроорганизмами



*Плесневение* наиболее часто встречается на поверхности рыбы. Возбудителями являются плесневые грибы, которые попадают на рыбу как во время копчения, так и после него (рис. 5.4).



Рис. 5.4. Порча копченой рыбы, вызванная плесневыми грибами

Отравления копченой рыбой могут возникать из-за содержания на ней сальмонелл, чаще всего *S. typhimurium*. Отравления может вызвать также *C. botulinum* – возбудитель ботулизма. Реже бывают отравления, вызываемые *C. perfringens*, *St. aureus*. Стафилококки чаще бывают в рыбе холодного копчения.

**Рыбные консервы.** Рыбные консервы, находящиеся в металлических банках, подвергают микробиологическому исследованию при наличии фактов, вызывающих сомнения в качестве продукта.

Для проверки герметичности банку погружают на 3–5 мин в сосуд, наполненный водой, подогретой до температуры 85 °С. Температуру воды во время анализа поддерживают на одном уровне. Слой воды над банкой должен быть не менее 25–35 см. При этом воздух, находящийся в консервах, нагревается, расширяется и в случае негерметичности банки выходит в виде пузырьков воздуха. Банки с нарушенной герметичностью микробиологическому исследованию не подлежат.

Герметические банки с консервами исследуют на бомбаж, помещая их в термостат при температуре 37 °С на 5–7 суток. При наличии в

содержимом банок микробов, обладающих противолитическим действием, происходит образование газов, сопровождающееся вздутием банки (биологический бомбаж) (рис. 5.5).



Рис. 5.5. Биологический бомбаж консервов

Бактериологическое исследование предусматривает определение общей бактериальной обсемененности и наличие бактерий группы кишечной палочки.

При обнаружении в мышечной ткани сальмонелл, кишечной палочки, золотистого стафилококка, протел, клостридий перфрингенс, рожистой палочки, лептоспир и других патогенных микробов рыбу скармливают животным после термической обработки при температуре 100 °С в течение 20–30 мин. При значительном обсеменении мяса рыб и ракообразных микроорганизмами (более 100 бактерий в одном поле зрения или  $10^5$  в 1 г мяса) и при обнаружении в нем клостридий ботулизма продукт утилизируют или уничтожают.

*Отбор проб для бактериологического исследования.* Стерильным скальпелем консервированную рыбу разрезают, место среза прижигают накаленным на огне скальпелем и отбирают две навески по 1–2 г из глубины и с поверхности консервированного продукта. Каждую навеску отдельно помещают в фарфоровую стерильную ступку и растирают со стерильным песком. Добавляют небольшими порциями стерильную воду или физиологический раствор с таким расчетом, чтобы получить 10%-ную взвесь исследуемого продукта.

**Определение общей бактериальной обсемененности рыбных консервов.** В стерильную чашку Петри вносят 1 мл исходной взвеси исследуемого продукта. Заливают расплавленным и остуженным до температуры 45 °С мясопептонным агаром. Подсчет выросших коло-

ний производится по общепринятой методике через 48 ч инкубации посевов в термостате при температуре 37 °С.

#### **Задание 4. Определить наличие бактерий группы кишечной палочки в консервированных рыбных продуктах.**

*Исследование консервированных рыбных продуктов на содержание кишечной палочки.* Для определения обсемененности консервированной рыбы бактериями группы кишечной палочки 1 мл исходной взвеси засевают на поверхность среды Эндо. Нанесенный материал распределяют штапелем по всей поверхности чашки Петри и помещают в термостат при температуре 37 °С на 24 ч.

Через указанное время посеvy просматривают, обнаруживая колонии, характерные для кишечных палочек (красные колонии с металлическим блеском и без него, розовые колонии, бесцветные и бесцветные с розовым центром). Из отмеченных колоний, характерных для ГБКП, готовят мазки, окрашивают по Граму и микроскопируют.

При обнаружении грамтрицательных неспороносных палочек подсчитывают число выросших колоний и производят перерасчет на 1 г исследуемого продукта.

Из колоний, состоящих из грамтрицательных неспороносных бактерий, производят посев в пробирки со средой Гисса, содержащей глюкозу или маннит. Посевы культивируют в термостате при температуре 43 °С в течение 18–24 ч. При учете результатов отмечают штаммы кишечной палочки, сбраживающие маннит или глюкозу с образованием кислоты или газа.

При отсутствии роста колоний кишечной палочки на среде Эндо указывают, что при прямом посеве продукта ГБКП не обнаружены.

#### **Контрольные вопросы**

1. Микробиологические основы заготовки.
2. Источники бактериального загрязнения рыбы и рыбных продуктов.
3. Микробиологические методы определения качества рыбы и рыбных продуктов.
4. Методы предупреждения порчи рыбы.
5. Факторы, влияющие обсемененность рыбных консервов.
6. Профилактика болезней, токсикоинфекций и отравлений, вызванных недоброкачественными рыбными продуктами.
7. Методы микробиологического исследования качества рыбных консервов.

## Лабораторное занятие 6. МИКРОБИОТА ПЧЕЛИНОЙ СЕМЬИ И ПРОДУКТОВ ПЧЕЛОВОДСТВА

**Цель занятия:** освоить микробиологические методы исследований микрофлоры пищеварительной системы медоносных пчел и продуктов пчеловодства.

**Материалы и оборудование:** медоносные пчелы и продукты пчеловодства; скальпели; предметные стекла; наборы реактивов для окрашивания по Граму; микроскопы; горелки; чашки Петри; МПА; пробирки с 9 мл стерильной воды; бактериологические петли; пипетки на 1 мл; термостат; стерильный песок; стерильная вода; водяная баня; индикаторная бумага, фото- и видеоматериал.

### Ход занятия

**Задание 1. Научиться определять состава микрофлоры пищеварительной системы медоносных пчел.**

Кишечные сообщества млекопитающих включают сотни видов, и определить вклад одного из них практически невозможно. Кроме того, состав микробиоты зависит от внешних условий и потому неустойчив.

Совершенно иная ситуация сложилась в кишечнике медоносной пчелы (*Apis mellifera*). Его населяет всего девять доминирующих видов бактерий, относящихся к пяти группам: *Snodgrassella*, *Gilliamella*, *Bifidobacterium* и две линии *Lactobacillus*. Такая композиционная простота облегчает изучение. Все виды можно культивировать в лаборатории и заражать ими насекомых, свободных от симбионтов, т. е. проводить сравнительное исследование.

Микрофлора медоносных пчел специализирована, она встречается только в кишечнике *Apis mellifera* и в улье. Ее становление совпало с формированием пчелиной социальности, у одиночных пчел этих бактерий нет или они присутствуют в следовых количествах. Социальность обеспечивает постоянство состава микрофлоры. Пчелы живут большими группами и заглатывают бактерии, которые содержатся в экскрементах, на поверхностях внутри улья, а иногда и в пище, которую получают от других рабочих пчел (трофофлакис).

Формирование микрофлоры происходит постепенно и строго соответствует пищевым потребностям пчелы в зависимости от ее возраста

и статуса. Личинки вначале свободны от бактерий, но их кормят рабочие пчелы: сначала маточным молочком (секретом специальных желез), затем медом, нектаром и пыльцой. В результате личинки обзаводятся бактериями из улья, корма и кишечника взрослых особей, но это сообщество неустойчиво. У юной пчелы, только вышедшей из куколки, кишечник чист, и бактерии появляются в нем в первые дни жизни, до того, как пчелы покинут улей. Микрофлора поселяется главным образом в тонкой и толстой кишках, в других отделах пищеварительного тракта бактерий мало.

Поскольку диета рабочих пчел богата сахарами и другими углеводами (нектаром, медом и пыльцой), большинство видов кишечных бактерий расщепляет эти соединения. Некоторые симбионты разлагают даже редкие сахара (маннозу, арабинозу, раффинозу, галактозу и лактозу), которые для пчел являются неперевариваемыми и потенциально токсичными.

У пчелиных маток и трутней микрофлора беднее. У трутней она сходна с микробиотой рабочих пчел, в ней много лактобацилл. В кишечнике личинок и маток в изобилии встречается специфическая бактерия *Parasaccharibacter apium*. Она также присутствует в железах рабочих пчел, которые кормят молочком матку и личинок. *P. apium* хорошо приспособилась к аэробным условиям и высокому содержанию сахара, токсичным для большинства кишечных симбионтов, и прекрасно себя чувствует в маточном молочке, нектаре и меде.

Изменения в составе кишечной микробиоты ухудшают здоровье хозяина, попустительствуют патогенам и увеличивают смертность.

Впервые симбиотическая флора из медового зобика пчелы и свежего меда была обнаружена и связана со многими лечебными свойствами меда сравнительно недавно – в 2008 году в Швеции. В составе новой микробиоты определено приблизительно 40 штаммов молочнокислых бактерий из 9 видов *Lactobacillus* и 4 видов *Bifidobacterium*. Большинство этих симбионтов – вновь описанные виды. Помимо уникальной для медоносной пчелы молочнокислой флоры из меда выделены штаммы *L. acidophilus*, способствующие его антибактериальной активности. Максимальное фиксированное количество жизнеспособных молочнокислых бактерий в свежем меде составляет  $10^8$  клеток на 1 г. По мере обезвоживания продукта количество жизнеспособных микроорганизмов снижается и становится нулевым при содержании воды в меде менее 20 %.

Молочнокислые бактерии являются симбиотическими организмами, населяющими медовый зобик медоносных пчел. Численность и видовой состав молочнокислой микрофлоры медового зобика зависят

от сезона, источника и количества нектара, здоровья пчел и наличия других микроорганизмов в нектаре. Количество молочнокислых бактерий, низкое ранней весной, увеличивается с активностью пчел.

Каждый член молочнокислой микробиоты пчел ферментирует нектар, выделяет штамм-специфичный спектр метаболитов и, таким образом, участвует в процессе превращения нектара в мед. Вещества, вырабатываемые молочнокислыми бактериями, присутствуют в свежем меде и сохраняются в зрелом. Кроме того, возможно, данные микроорганизмы играют ключевую роль в производстве перги.

Среда медового зобика пчел характеризуется микроаэробным состоянием, наличием сахаров и температурой, не зависящей от температуры окружающей среды, представляя собой оптимальную нишу для молочнокислых бактерий. Пчелы и молочнокислая микрофлора развивались во взаимной зависимости друг от друга: бактерии получили нишу с доступными питательными веществами, а пчелы – защиту от вредных микроорганизмов.

Непосредственно перед бактериологическим анализом насекомых усыпляют хлороформом, обрабатывают в 70%-ном этаноле для освобождения от микроорганизмов, обитающих на внешних покровах, и промывают в стерильном физиологическом растворе. Затем отделяют брюшко, извлекают кишечник. Кишечник растирают в ступке с 2 мл стерильного физиологического раствора. Передние отделы пчел также суспендируют в 2 мл физиологического раствора.

Из исходных суспензий готовят десятикратные разведения до  $10^6$  включительно. Полученные разведения засевают на дифференциально-диагностические среды Эндо. Посевы инкубируют при температуре  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 24 ч. Идентификацию микроорганизмов проводят с использованием систем индикаторных бумажных. Видовую принадлежность устанавливают в соответствии с определителем бактерий Берджи.

## **Задание 2. Научиться определять качество натурального меда под микроскопом.**

### ***Микрофлора меда.***

Известно, что в свежем меде содержится большое количество молочнокислых бактерий, происходящих из медового зобика пчелы и обладающих широким спектром антимикробной активности против различных патогенов пчел и человека. Отдельные виды молочнокис-

лых бактерий производят органические кислоты, этанол, бензоат, ферменты, перекись водорода, антимикробные пептиды и бактериоцины.

Совокупность микроорганизмов, обитающих в меде, разделяют на микрофлору меда *первичную* – микроорганизмы, попадающие в мед из нектара и пыльцы и постоянно в нем присутствующие (осмофильные дрожжи рода *Sacharomyces*, споры низших грибов вида *Aspergillus niger*, споры бактерий *Pumilus* и *Cereus*), и *вторичную* – микроорганизмы, попадающие в мед при обработке и хранении (сотовый мед их не содержит). Микрофлора меда зависит от его ботанического происхождения, условий обработки и хранения. Обычно в 1 г меда содержится в среднем около 1000 микроорганизмов, но в отдельных случаях, например, при неправильном хранении меда, их число может значительно увеличиться, особенно дрожжей при брожении меда и плесневых грибов при повышении влажности меда.

При просмотре под малым увеличением микроскопа тонкого мазка, сделанного из натурального пчелиного меда на обезжиренном стекле, можно увидеть кристаллы глюкозы, обычно звездчатой или игольчатой формы, а в мазках из свекловичного сахара кристаллы имеют форму крупных глыбок, иногда правильной геометрической формы (рис. 6.1, 6.2). В натуральном меде есть пыльца, в искусственном ее нет, если он был приготовлен без добавления натурального меда, или ее очень мало.

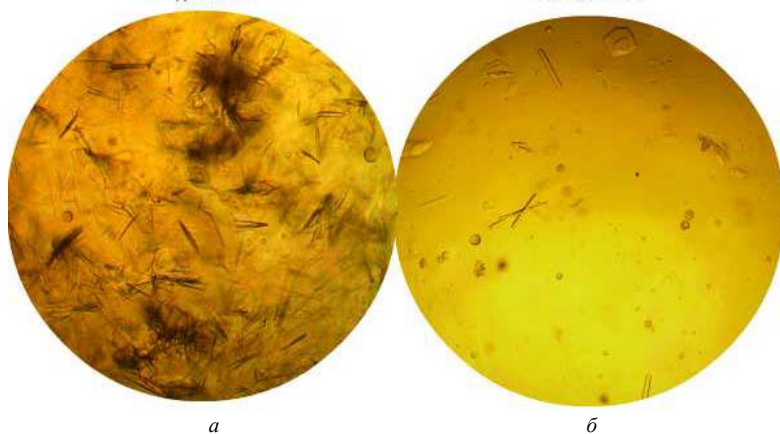


Рис. 6.1. Мед под увеличением: *a* – натуральный; *б* – разбавленный

В фальсифицированном меде могут начать развиваться гнилостные бактерии и плесневые грибы.



Рис. 6.2. Кристаллы сахара в меде

**Люминесцентный метод.** 3–5 г меда поместить на нефлуоресцирующее предметное стекло так, чтобы толщина его не превышала 2–3 мм. Приготовленный мазок в темной комнате помещают под люминесцентную установку (люминесцентный осветитель ОАД-41 и др.) под углом  $45^\circ$  на расстоянии 4–5 см. Цвет и интенсивность свечения меда во многом зависят от его ботанического состава. Натуральный пчелиный мед высокого качества светится в основном желтым цветом с зеленоватым оттенком, в то время как мед низкого качества люминесцирует травянисто- или сине-зеленым цветом. Искусственный и фальсифицированный сахаром мед светится свинцово-серым цветом. Методом люминесценции можно обнаружить фальсификацию меда водой, крахмалом, мукой.

**Определение пыльцы в меде по Маурицио и Луво.** 10 г меда растворяют в пробирке в 20 мл холодной дистиллированной воды и ставят в водяную баню (при температуре около  $45^\circ\text{C}$ ).

Раствор центрифугируют 10–15 мин при 2500–3000 об/мин. Затем жидкость сливают, а каплю осадка переносят платиновой петлей на предметное стекло. После незначительного подсыхания фиксируют мазок каплей спирта, подкрашенного основным фуксином, и просматривают под микроскопом. Пыльцевые зерна растений различают по



размеру, особенностям структуры оболочки, наличию в ней борозд, пор, их расположению (полярное, экваториальное или повсеместное), по строению цитоплазмы и цвету.

Пыльцевые зерна растений, опыляемых насекомыми (осами, мухами, пчелами, шмелями, бабочками), обычно крупные, клейкие, имеют ярко выраженную форму и большей частью бороздовые апертуры, вырабатываются они растениями сравнительно в небольшом количестве. Пыльцевые зерна ветроопыляемых растений бывают средних размеров, сухие. Они вырабатываются растениями в большом количестве.

Морфологическое описание пыльцевых зерен производится при увеличении в 1350 раз, а измерение – в 400 раз.

Установлены следующие группы размеров пыльцевых зерен в зависимости от длины большой оси: очень мелкие пыльцевые зерна – 10 мк, мелкие – 10–25, средние – 25–50, крупные – 50–100, очень крупные – 100–200, гигантские – более 200 мк.

### **Задание 3. Освоить методики определения возбудителей инфекционных заболеваний пчел.**

При реализации меда внутри страны и при вывозе его в зарубежные страны ветеринарные лаборатории обязаны исследовать мед, чтобы определить, есть ли в нем возбудители инфекционных болезней пчел и человека. Контаминирование меда микроорганизмами может происходить во время выработки его пчелами, при откачивании из сотов и в процессе реализации. В мед могут попадать сальмонеллы, энтеротоксический стафилококк, туберкулезная палочка; микробы, патогенные для пчел и их расплода; микробы и грибы, вызывающие порчу меда вследствие их ферментативной деятельности.

Пчелы в поисках корма посещают любой источник сахара, в том числе и хозяйственные отбросы вблизи ларьков (оберточная бумага мороженого, вода), столовых, ресторанов, кондитерских предприятий и пр. Мед может быть сильно контаминирован туберкулезной палочкой, если пасека расположена вблизи скотных дворов, где содержатся больные животные. Микобактерии туберкулеза сохраняют свою жизнеспособность и патогенность в меде при хранении его в комнатных условиях (20–22 °С) в течение 6–20 дней, а при температуре 4–5 °С – 43–61 день. Кишечные и дизентерийные палочки тоже могут заноситься пчелами в мед, где сохраняются до 2 суток.

**Бактериологический метод исследования.** При непосредственном высеве растворов меда на питательные среды рост микроорганизмов наблюдается не всегда из-за малой концентрации их в меде. Поэтому лучше предварительно произвести концентрацию микробов. Для этого 15–20 г меда растворяют в стерильной воде и 2 раза центрифугируют в течение 15 мин при 2000 об/мин. В результате этого происходит концентрация микробов во взятой пробе и отмывание их от сахаров меда. Полученный осадок высевают на питательные среды.

В тех случаях, когда из-за низкой плотности инфицирования меда бактериологическим методом выделить возбудителей нельзя, можно применять метод флуоресцирующих антител с использованием антиларвейной и антиальвейной сывороток. Оценивают степень свечения большинства клеток.

*Определение ядовитости меда.* Известны случаи отравления людей ядовитым или пьяным медом. Данный вид меда пчелы собирают в период цветения азалии, рододендрона, горного лавра, багульника, дурмана, белены, аконита и других ядовитых растений. Ядовитым началом считают глюкозид андромедотоксин.

В качестве метода, подтверждающего токсичность меда, следует проводить анализ пыльцы. Для этого необходимо знать морфологию пыльцевых зерен основных растений, из нектара которых получается ядовитый мед.

В *продуктах пчеловодства* хорошего качества отсутствуют следы патогенной и условно-патогенной микрофлоры. Сами продукты пчеловодства обладают антисептическим свойством.

*Прополис* же является сильнейшим природным антибиотиком. Он обладает избирательным действием только на нежелательную микрофлору и способен подавлять бактериальные, вирусные, дрожжевые и грибковые инфекции.

### Контрольные вопросы

1. Виды бактерий, населяющих кишечник медоносной пчелы.
2. Метод определения состава микрофлоры пищеварительной системы медоносных пчел.
3. Методы определения натуральности меда.
4. Какие возбудители инфекционных заболеваний могут сохранять свою жизнеспособность в свежем меде?
5. Бактериологический метод исследования возбудителей инфекционных болезней пчел.

## **Лабораторное занятие 7. МИКРОБИОТА КОЖЕВЕННО-МЕХОВОГО СЫРЬЯ**

**Цель занятия:** освоить микробиологические методы исследований кожевенно-мехового сырья.

**Материалы и оборудование:** образцы шкур животных; мех; скальпели; предметные стекла; наборы реактивов для окрашивания по Граму; микроскопы; горелки; чашки Петри; МПА; пробирки с 9 мл стерильной воды; бактериологические петли; пипетки на 1 мл; термостат; стерильный песок; стерильная вода; водяная баня; фото- и видеоматериал.

### **Ход занятия**

**Задание 1. Определить степень бактериальной обсемененности кожи методом микроскопии мазков-отпечатков.**

После убоя животного его шкура практически сразу контаминируется большим количеством микроорганизмов, относящихся к разным родам и видам, среди которых выделяют протей, кишечную палочку, стафилококки, дрожжи, гнилостные бактерии и многие другие.

Пути загрязнения шкур животных могут быть разнообразными: с поверхности при разрезе, с рук и инструментария, во время удаления лишней ткани (подкожной клетчатки), из воздуха.

Процессы разложения шкуры начинаются при температуре не ниже 10–12 °С, причем активнее прочих портятся так называемые тощие шкуры в связи с преобладающим в их составе содержанием белков, разлагающихся быстрее жиров. Кроме того, также быстро портятся густошерстные шкуры, что связано с их меньшей плотностью и толщиной и, следовательно, с более высоким уровнем кислородообеспечения, а также с наличием в шерсти большого количества микроорганизмов.

Источник микробов – навоз, почва, вода, воздух, предметы обработки. Встречаются шаровидные и палочковидные формы микробов, грибы, аэробы, анаэробы. Процесс разложения начинается в местах скопления грязи, в складках и изгибах шкуры. Если среда слабощелочная, микробы начинают бурно размножаться. Гнилостное разложение начинается как со стороны эпидермиса, так и со стороны подкожной клетчатки.

Микробы начинают развиваться при влажности шкур 35 %. Скорость развития их зависит от температуры. При температуре 12 °С ослизнение потовых желез проходит за 12 ч, при 24 °С – за 6 ч.

По мере проникновения микробов внутрь шкуры происходит ослизнение и разрушение эпидермиса, волос легко извлекается из сумок, изменяется цвет мездры, она становится зеленоватой, а затем темной. При комнатной температуре на третьи сутки процесс распространяется на рыхлую соединительную ткань и коллагеновые волокна. Шкура становится дряблой, понижается прочность. Разложившиеся ткани издают неприятный гнилостный запах. В начале процесса гниения образуются аэробные аммонификаторы: *Proteus vulgaris*, *E. coli*, *Bac. subtilis*.

Плесневение наблюдается в прохладных плохо вентилируемых помещениях. Появляются мелкие колонии плесневых грибов (рис. 7.1). Солевые пятна возникают при высокой температуре.

Во избежание порчи осуществляют консервирование кожевенного сырья: соление натрием хлоридом, мокросоленное консервирование, сухосоленное консервирование, пресносухое консервирование, замораживание.



Рис. 7.1. Шкура крупного рогатого скота, поврежденная микобиотой

На поверхности шерсти всегда имеются микробы: *Bac. mesentericus*, *Bac. cereus* и др. Аммонификаторы разлагают кератин, приводят в негодность шерстное волокно. Сырая слежавшаяся шерсть под действием термофильных микробов нагревается, иногда обугливается и даже

воспламеняется. Под действием *Pseudomonas indofera* происходит окрашивание шерсти.

Выделяют следующие виды порчи кожевенно-мехового сырья.

**Гниение.** Этот вид порчи состоит из трех последовательных этапов. На первом этапе видимых изменений кожевенно-мехового сырья не происходит. Тем не менее в подкожной клетчатке очень быстро размножаются бактерии, которые затем проникают в эпидермис и волосяные сумки. Второй этап характеризуется проникновением микроорганизмов вглубь кожи, при этом мездра темнеет, ослизняется, приобретает зеленоватый оттенок, появляется запах аммиака, волосы кожи легко выпадают из волосяных сумок. На третьем этапе загнивания происходит разложение собственно кожи (ткани дермы): она темнеет, становится дряблой и ослизлой, почти полностью выпадают волосы, ощущается явный запах аммиака и сероводорода (продуктов разложения белков), шкура легко поддается разрыву.

Гнилостный процесс начинается с развития гнилостных (аммонифицирующих) бактерий, способных выделять протеолитические ферменты и при ограниченном доступе кислорода разлагать белки. Впоследствии в процесс активно включаются аэробные бактерии. В результате совместной жизнедеятельности тех и других процесс разложения углубляется, проходя ряд последовательных реакций: белки – аминокислоты – аминосоединения –  $\text{NH}_3$ . На последнем этапе загнивания, на котором шкура портится окончательно, в процесс разрушения включаются анаэробные бактерии.

**Плесневение.** Процесс обычно начинается со стороны мездры, образующиеся пятна постепенно распространяются по поверхности всей кожи и могут заразить соседние. Возбудители данного вида порчи – плесневые грибы родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Trichoderma*. Порок кожи, вызванный распространением плесневых грибов, называется «мушинные пятна».

**Образование солевых пятен.** Этот вид порчи кожевенно-мехового сырья обычно возникает на мокросоленых шкурах. Часть исследователей считают, что они возникают в результате развития галофилов. Солевые пятна развиваются с малых величин до просыпанного зерна и со временем образуют крупные пятна желтого или оранжевого цвета, которые проникают внутрь кожи и снижают ее сортность.

Чтобы данный порок предотвратить, посол кожевенно-мехового сырья следует проводить при температуре ниже  $10\text{ }^\circ\text{C}$  и влажности не выше 80–85 %, а к общему объему используемой соли добавлять 3–5 %

кальцинированной соды. Кроме того, следует помнить, что для посола кожевенно-мехового сырья предпочтительнее использовать каменную соль в связи с ее невысокой обсемененностью микроорганизмами.

Большое народнохозяйственное значение имеет шерсть, получаемая при стрижке сельскохозяйственных животных, но и она подвержена разрушению при несоблюдении правил хранения. Волокна шерсти разрушают микроорганизмы, относящиеся к различным систематическим группам, путем аммонификации за счет выделения ими протеолитических ферментов. Активными разрушителями шерстяных волокон являются актиномицеты *Act. globisporus vulgaris*, спорообразующие бактерии рода *Bacillus* и плесневые грибы родов *Penicillium* и *Aspergillus*.

Выделяют несколько видов пороков шерстяного волокна:

- оугливание (даже воспламенение), происходящее при сильном разогреве шерстяных тюков во время хранения;
- гниение, опрелость, сопровождающиеся потерей цвета и блеска, происходят обычно при слабом нагреве шерсти и плотном сложении;
- распад – вяло текущий процесс, длящийся несколько месяцев;
- синее окрашивание, проявляющееся из-за развития пигментообразующего микроорганизма *Pseudomonas indofera*.

В целях недопущения порчи шерстяного волокна его рекомендуют хранить в тюках, а также на деревянных брусках в хорошо вентилируемых сухих помещениях при 60%-ной влажности и температуре не ниже 16 °С.

Микробиологический метод путем посева на различные питательные среды позволяет определить количество микроорганизмов и их видовую принадлежность.

**Микроскопическое исследование.** На предметных стеклах делают мазок-отпечаток из поверхностных слоев кожи. Мазки-отпечатки фиксируют над пламенем горелки. Приготовленные препараты окрашивают по Граму. Под микроскопом подсчитывают среднее число микроорганизмов в одном поле зрения.

### Контрольные вопросы

1. Источники контаминации микроорганизмами шкуры животного.
2. Виды порчи кожевенно-мехового сырья.
3. Виды пороков шерстяного волокна.
4. Метод определения бактериальной обсемененности шкуры.
5. Назовите представителей нормальной микробиоты шкур.

## **Лабораторное занятие 8. МИКРОБИОТА ТЕЛА ЖИВОТНЫХ**

**Цель занятия:** изучить состав микробиоценоза кожи и систем организма сельскохозяйственных животных.

**Материалы и оборудование:** колбы, бактериологические петли, предметные стекла, покровные стекла, реактивы для окрашивания микроорганизмов по Граму, раствор йода, этиловый спирт, термостат, микроскоп, скребок, шпатель, фото- и видеоматериал.

### **Ход занятия**

**Задание 1. Изучить микроорганизмы кожных покровов, желудочно-кишечного тракта, органов дыхания и мочеполовой системы.**

Тело животного представляет для микроорганизмов целый мир с множеством экологических ниш. В естественных условиях организм любого животного населен множеством микроорганизмов. Среди них могут быть случайные формы, но для многих видов тело животного является основным или единственным местом их обитания. Характер и механизмы взаимодействий микроорганизмов с макроорганизмом многообразны и играют решающую роль в жизни и эволюции многих видов микроорганизмов. Для животного микроорганизмы – важный экологический фактор, определяющий многие стороны его эволюционных изменений.

С современных позиций нормальную микрофлору рассматривают как совокупность микробиоценозов, занимающих многочисленные экологические ниши на коже и слизистых всех открытых внешней среде полостей организма. В значительной части микрофлора одинакова у всех животных в сравниваемых биотопах, но в составе микробиоценоза имеются индивидуальные различия. Аутомикрофлора здорового животного остается постоянной и поддерживается гомеостазом. Ткани и органы, не сообщаемые с внешней средой, стерильны. Организм и его нормальная микрофлора составляют единую экологическую систему: микрофлора служит своеобразным «экстракорпоральным органом», играющим важную роль в жизнедеятельности животного. Будучи биологическим фактором защиты, нормальная микрофлора является тем барьером, после прорыва которого индуцируется включение неспецифических механизмов защиты.

**Микрофлора кожи.** Кожный покров тела имеет свои области, свой рельеф, свою «географию». Клетки эпидермиса кожи постоянно отмирают и пластинки рогового слоя слущиваются. Поверхность кожи постоянно «удобряется» продуктами выделения сальных и потовых желез. Потовые железы обеспечивают микроорганизмы солями и органическими соединениями, в том числе азотсодержащими. Выделения сальных желез богаты жирами.

Микроорганизмы заселяют главным образом участки кожи, покрытые волосами и увлажненные потом. На участках кожи, покрытых волосами, находится около  $1,5 \cdot 10^6$  клеток/см. Некоторые виды приурочены к строго определенным участкам.

Обычно на коже преобладают грамположительные бактерии. Типичными обитателями кожи являются различные виды *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Propionibacterium*, *Corynebacterium*, *Brevibacterium*, *Acinetobacter*.

Для нормальной микрофлоры кожи характерен такой вид *Staphylococcus*, как *St. epidermidis*. Развитие на коже *St. aureus* свидетельствует о неблагоприятных изменениях микрофлоры организма. Представители рода *Corynebacterium* иногда составляют до 70 % всей кожной микрофлоры. Некоторые виды являются липофильными, т. е. образуют липазы, разрушающие выделения жировых желез.

Большинство микроорганизмов, населяющих кожу, не представляют какой-либо опасности для хозяина, но некоторые, и прежде всего *St. aureus*, являются условно-патогенными.

Нарушение нормального сообщества бактерий кожи может иметь неблагоприятные последствия для макроорганизма.

На кожных покровах микроорганизмы подвержены действию бактерицидных факторов сального секрета, повышающих кислотность (соответственно значение pH снижается). В подобных условиях живут преимущественно *Staphylococcus epidermidis*, микрококки, сарцины, аэробные и анаэробные дифтероиды. Другие виды – *Staphylococcus aureus*, гемолитические и негемолитические стрептококки – правильнее рассматривать как транзиторные. Основные зоны колонизации – эпидермис (особенно роговой слой), кожные железы (сальные и потовые) и верхние отделы волосяных фолликулов. Микрофлора волосяного покрова идентична микрофлоре кожи.

**Микрофлора желудочно-кишечного тракта.** Наиболее активно микроорганизмы заселяют желудочно-кишечный тракт ввиду обилия и разнообразия в нем питательных веществ.



Кишечный тракт животных – это обычное место обитания разнообразных микроорганизмов, преимущественно анаэробных. Характер взаимоотношений этих микроорганизмов с хозяином может быть различным и в первую очередь зависит от особенностей его рациона.

В кишечном тракте хищных или насекомоядных находится корм, по своему биохимическому составу близкий к составу их тела. Он является также прекрасным субстратом для развития микроорганизмов. Поэтому здесь складываются конкурентные взаимоотношения микроорганизмов с хозяином. Последний не может полностью исключить возможность их развития, но ограничивает его благодаря секреции кислоты и быстрому пищеварению, в результате чего почти все продукты деятельности пищеварительных ферментов потребляются животным. Более медленное прохождение корма через толстый кишечник способствует бурному развитию микроорганизмов, и в задней кишке уже содержится огромное их количество.

В кишечник травоядных попадает большое количество клетчатки. Известно, что только некоторые беспозвоночные могут переваривать клетчатку самостоятельно. В большинстве случаев переваривание целлюлозы происходит за счет разрушения ее бактериями, а животное потребляет в качестве пищи продукты ее деградации и сами клетки микроорганизмов. Таким образом, здесь наблюдается кооперация, или симбиоз. Наибольшего совершенства этот тип взаимодействий достиг у жвачных животных. В их рубце корм задерживается достаточно долго, чтобы могли быть разрушены доступные микроорганизмам компоненты растительных волокон. В этом случае, однако, бактерии используют значительную часть растительного белка, который в принципе мог бы быть разрушен и использован самим животным. Однако у многих животных взаимодействие с кишечной микрофлорой носит промежуточный характер. Например, у лошадей, кроликов, мышей в кишечнике корм в значительной степени используется до того, как начнется бурное развитие бактерий. Однако, в отличие от хищников, у таких животных корм дольше задерживается в кишечнике, что способствует его сбраживанию бактериями.

Наиболее активная жизнедеятельность микроорганизмов всегда происходит в толстой кишке. Анаэробы здесь развиваются, осуществляя процесс брожения, при котором образуются органические кислоты – преимущественно уксусная, пропионовая и масляная. При ограниченном поступлении углеводов образование этих кислот энергетиче-

чески выгоднее, чем образование этанола и молочной кислоты. Происходящее здесь же разрушение белков приводит к снижению кислотности среды. Накапливающиеся кислоты могут быть использованы животным.

Содержимое кишечника представляет собой благоприятную среду для обитания микроорганизмов. Однако здесь действует и ряд неблагоприятных факторов, способствующих адаптации и специализации кишечных микроорганизмов. Так, в толстом кишечнике накапливаются желчные кислоты до концентраций, уже угнетающих рост некоторых бактерий. Масляная и уксусная кислоты также обладают бактерицидными свойствами.

В состав кишечной микрофлоры различных животных входит ряд видов бактерий, способных разрушать целлюлозу, гемицеллюлозы, пектины. У многих млекопитающих в кишечнике обитают представители родов *Bacteroides* и *Ruminococcus*. *B. succinogenes* был обнаружен в кишечнике лошадей, коров, баранов, антилоп, крыс, обезьян. *R. albus* и *R. flavefaciens*, активно разрушающие клетчатку, обитают в кишечнике лошадей, коров, кроликов. К сбраживающим клетчатку кишечным бактериям относятся также *Butyrivibrio fibrisolvens* и *Eubacterium cellulosolvens*. Роды *Bacteroides* и *Eubacterium* представлены в кишечнике млекопитающих рядом видов, некоторые из которых разрушают также белковые субстраты.

В составе кишечной микрофлоры разных животных обнаруживаются характерные различия. Так, у собак относительно много стрептококков и клостридий.

В кишечнике, рубце жвачных животных и других органах представители нормальной микрофлоры распределены определенным образом. Часть форм приурочена к поверхности клеток, другие находятся на некотором удалении от ткани. Состав прикрепленных форм может изменяться при ослаблении или заболевании хозяина, и даже при стрессе. При нервных стрессах, например, за счет активизации протеаз происходит разрушение белка на поверхности глоточного эпителия, что позволяет прикрепляться клеткам условно-патогенной бактерии *Pseudomonas aeruginosa*, которые начинают здесь активно размножаться вместо безвредных представителей нормальной микрофлоры. Образовавшаяся популяция *Ps. aeruginosa* в дальнейшем может вызвать поражение легких.

Рубец жвачных обильно заселен большим числом видов бактерий и

простейших. Анатомическое строение и условия в рубце почти идеально отвечают требованиям для жизнедеятельности микроорганизмов. В среднем, по данным различных авторов, количество бактерий составляет  $10^9$ – $10^{10}$  клеток в 1 г рубцового содержимого.

Помимо бактерий, в рубце осуществляют расщепление кормов и синтез важных органических соединений для животного организма также различные виды дрожжей, актиномицетов и простейших. Инфузорий в 1 мл может быть несколько миллионов.

Видовой состав рубцовых микроорганизмов со временем перетерпевает изменения.

В молочный период в рубце у телят преобладают лактобациллы и определенные виды протеолитических бактерий. Полное становление рубцовой микрофлоры завершается при переходе животных на кормление грубыми кормами. У взрослых жвачных видовой состав рубцовых бактерий, по мнению некоторых авторов, постоянен, существенным образом не изменяется в зависимости от кормления, времени года и ряда других факторов. Представляют наиболее важное в функциональном отношении значение следующие виды бактерий: *Bacteroides succinogenes*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminococcus flavefaciens*, *R. aibus*, *Cillobacterium cellulosolvens*, *Clostridium cellobioparus*, *Clostridium locheadi* и др.

Основными продуктами сбраживания клетчатки и других углеводов являются масляная кислота, углекислота и водород. В превращении крахмала принимают участие многие виды рубцовых бактерий, в том числе и целлюлозолитические.

Из рубца выделены: *Bact. amylophilus*, *Bact. ruminicola* и др. В расщеплении крахмала большое участие принимают также определенные виды инфузорий. Основными продуктами брожения являются уксусная кислота, янтарная, муравьиная кислоты, углекислый газ и в некоторых случаях сероводород.

Утилизация в рубце жвачных моносахаридов (глюкоза, фруктоза, ксилоза и др.), поступающих с кормом, а главным образом образующихся при гидролизе полисахаридов, осуществляется в основном рубцовыми микроорганизмами.

Из-за наличия в рубце анаэробных условий углеводы в клетках рубцовых микроорганизмов окисляются не полностью, конечными продуктами брожения являются органические кислоты, углекислота, этанол, водород, метан. Часть продуктов гликолиза (молочная, янтарная, валериановая кислоты и некоторые другие вещества) использует-

ся самими бактериями в качестве источника энергии и для синтеза клеточных соединений. Конечные продукты углеводного обмена в рубце жвачных – летучие жирные кислоты – используются в обмене веществ животного-хозяина.

Ацетат, один из основных продуктов рубцового метаболизма, является предшественником жира молока, источником энергии для животных. Пропионат и бутират используются животными для синтеза углеводов.

В содержимом рубца широко представлены виды бактерий, утилизирующих различные моносахара. Кроме описанных выше, обладающих ферментами, разрушающими полисахариды и дисахариды, в рубце жвачных животных находится целый ряд видов бактерий, предпочтительно использующих моносахара, главным образом глюкозу. К ним относятся: *Lachnospira multiparus*, *Selenomonas ruminantium*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bidum*, *Bacteroides coagulans*, *Lactobacillus fermentum* и др.

В настоящее время известно, что белок в рубце расщепляется под действием протеолитических ферментов микроорганизмов с образованием пептидов и аминокислот, которые, в свою очередь, подвергаются воздействию дезаминаз с образованием аммиака. Дезаминирующими свойствами обладают культуры, относящиеся к следующим видам: *Selenomonas ruminantium*, *Megasphaera eisdenii*, *Bacteroides ruminicola* и др.

Большая часть потребляемого с кормом растительного белка превращается в рубце в белок микробиальный. Как правило, процессы расщепления и синтеза белка идут одновременно. Значительная часть рубцовых бактерий, являясь гетеротрофами, для синтеза белка использует неорганические соединения азота. Наиболее важные в функциональном отношении рубцовые микроорганизмы (*Bacteroides ruminicola*, *Bacteroides succinogenes*, *Bacteroides amylophilus* и др.) для синтеза азотистых веществ своих клеток используют аммиак.

Ряд видов рубцовых микроорганизмов (*Streptococcus bovis*, *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens* и др.) для построения серосодержащих аминокислот используют сульфиды при наличии в среде цистина, метионина или гомоцистеина.

Тонкий отдел кишечника содержит сравнительно небольшое количество микроорганизмов. В этом отделе кишечника чаще всего находятся устойчивые к действию желчи энтерококки, кишечная палочка, ацидофильные и споровые бактерии, актиномицеты, дрожжи и др.

Толстый отдел кишечника наиболее богат микроорганизмами. Основные обитатели его – энтеробактерии, энтерококки, термофилы, ацидофилы, споровые бактерии, актиномицеты, дрожжи, плесени, большое количество гнилостных и некоторых патогенных анаэробов (*Cl. sporogenes*, *Cl. putrificus*, *Cl. perfringens*, *Cl. tetani*, *F. Necrophorum*). В 1 г экскрементов травоядных может содержаться до 3,5 млрд. различных микроорганизмов. Микробная масса составляет около 40 % сухого вещества испражнений.

В толстом отделе кишечника протекают сложные микробиологические процессы, связанные с расщеплением клетчатки, пектиновых веществ, крахмала. Микрофлору желудочно-кишечного тракта принято делить на облигатную (молочнокислые бактерии, *E. coli*, энтерококки, *Cl. perfringens*, *Cl. sporogenes* и др.), которая адаптировалась к условиям этой среды и стала постоянным ее обитателем, и факультативную, изменяющуюся в зависимости от вида корма и воды.

**Микрофлора органов дыхания.** Верхние отделы дыхательных путей несут высокую микробную нагрузку – они анатомически приспособлены для осаждения бактерий из выдыхаемого воздуха. Помимо обычных негемолитических и зеленающих стрептококков, непатогенных нейссерий, стафилококков и энтеробактерий, в носоглотке можно обнаружить менингококки, пиогенные стрептококки и пневмококки. Верхние отделы дыхательных путей у новорожденных обычно стерильны и колонизируются в течение 2–3 суток.

Исследования последних лет показали, что наиболее часто из дыхательных путей клинически здоровых животных выделяется сапрофитная микрофлора: *S. saprofiticus*, бактерии родов *Micrococcus*, *Bacillus*, коринеформные бактерии, негемолитические стрептококки, грамотрицательные кокки.

Кроме того, выделены патогенные и условно-патогенные микроорганизмы: альфа- и бета-гемолитические стрептококки, стафилококки (*S. aureus*, *S. hucus*), энтеробактерии (эшерихии, сальмонеллы, протей и др.), пастереллы, *Ps. aeruginosa*, и в единичных случаях грибы рода *Candida*.

Сапрофитные микроорганизмы чаще выделялись из дыхательных путей нормально развитых животных, чем слабо развитых.

В носовой полости обнаруживается наибольшее число сапрофитов и условно-патогенных микроорганизмов. Они представлены стрептококками, стафилококками, сарцинами, пастереллами, энтеробактериями, коринеформными бактериями, грибами рода *Candida*, *Ps. aeruginosa* и

бациллами. Трахея и бронхи заселены аналогичными группами микроорганизмов. В легких обнаружены отдельные группы кокков (бета-гемолитическими, *S. aureus*), микрококки, пастереллы, *E. coli*.

При снижении иммунитета у животных (особенно молодняка) микрофлора органов дыхания проявляет бактерицидные свойства.

**Мочеполовая система.** Микробный биоценоз органов мочеполовой системы более скудный. Верхние отделы мочевыводящих путей обычно стерильны; в нижних отделах доминируют *Staphylococcus epidermidis*, негемолитические стрептококки, дифтероиды; часто выделяют грибы родов *Candida*, *Toluropsis* и *Geotrichum*. В наружных отделах доминирует *Mycobacterium smegmatis*.

Основной обитатель влагалища – *B. vaginale vulgare*, обладающая выраженным антогонизмом к другим микробам. При физиологическом состоянии мочеполовых путей микрофлора обнаруживается только в их наружных отделах (стрептококки, молочнокислые бактерии).

Матка, яичники, семенники, мочевого пузыря в норме стерильны. У здоровой самки плод в матке стерильно до момента начавшихся родов. При гинекологических заболеваниях нормальная микрофлора изменяется.

**Роль нормальной микрофлоры.** Нормальная микрофлора играет важную роль в защите организма от патогенных микробов, например, стимулируя иммунную систему, принимая участие в реакциях метаболизма. В то же время эта флора способна привести к развитию инфекционных заболеваний.

Нормальная микрофлора составляет конкуренцию для патогенной; механизмы подавления роста последней достаточно разнообразны. Основным механизмом – избирательное связывание нормальной микрофлорой поверхностных рецепторов клеток, особенно эпителиальных. Большинство представителей резидентной микрофлоры проявляет выраженный антагонизм в отношении патогенных видов. Эти свойства особенно ярко выражены у бифидобактерий и лактобацилл; антибактериальный потенциал формируется секрецией кислот, спиртов, лизоцима, бактериоцинов и других веществ. Кроме того, высокая концентрация указанных продуктов ингибирует метаболизм и выделение токсинов патогенными видами (например, термолабильного токсина энтеропатогенными эшерихиями).

Нормальная микрофлора – неспецифический стимулятор («раздражитель») иммунной системы; отсутствие нормального микробного биоценоза вызывает многочисленные нарушения в иммунной системе.

Другая роль микрофлоры была установлена после того, как были получены безмикробные животные. Антиген представителей нормальной микрофлоры вызывают образование антител в низких титрах. Они преимущественно представлены IgA, выделяющимися на поверхность слизистых оболочек. Иммуноглобулины IgA составляют основу местной невосприимчивости к проникающим возбудителям и не дают возможности комменсалам проникать в глубокие ткани.

Нормальная кишечная микрофлора играет огромную роль в метаболических процессах организма и поддержании их баланса.

*Обеспечение всасывания.* Метаболизм некоторых веществ включает печеночную экскрецию (в составе желчи) в просвет кишечника с последующим возвратом в печень; подобный кишечно-печеночный круговорот характерен для некоторых половых гормонов и солей желчных кислот. Эти продукты экскретируются, как правило, в форме глюкоронидов и сульфатов, неспособных в этом виде к обратному всасыванию. Всасывание обеспечивают кишечные бактерии, вырабатывающие глюкуранидазы и сульфатазы.

*Обмен витаминами и минеральными веществами.* Общепринятый факт – ведущая роль нормальной микрофлоры в обеспечении организма ионами  $Fe^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ , витаминами К, D, группы В (особенно В<sub>1</sub>, рибофлавин), никотиновой, фолиевой и пантотеновой кислотами. Кишечные бактерии принимают участие в инактивации токсичных продуктов эндо- и экзогенного происхождения. Кислоты и газы, выделяющиеся в ходе жизнедеятельности кишечных микробов, оказывают благоприятное действие на перистальтику кишечника и своевременное его опорожнение.

Таким образом, действие микрофлоры тела на организм складывается из следующих факторов.

Во-первых, нормальной микрофлоре принадлежит важнейшая роль в формировании иммунологической реактивности организма.

Во-вторых, представители нормальной микрофлоры благодаря продуцированию разнообразных антибиотических соединений и выраженной антагонистической активности предохраняют органы, сообщаемые с внешней средой, от внедрения и безграничного размножения в них патогенных микроорганизмов.

В-третьих, флора обладает выраженным морфокинетическим действием, особенно по отношению к слизистой оболочке тонкой кишки, что существенно отражается на физиологических функциях пищеварительного канала.

В-четвертых, микробные ассоциации являются существенным звеном в печеночно-кишечной циркуляции таких важнейших компонентов желчи, как соли желчных кислот, холестерин и желчные пигменты.

В-пятых, микрофлора в процессе жизнедеятельности синтезирует витамин К и ряд витаминов группы В, некоторые ферменты и, возможно, другие, пока неизвестные, биологически активные соединения.

В-шестых, микрофлора исполняет роль дополнительного ферментного аппарата, расщепляя клетчатку и другие трудно перевариваемые составные части корма.

Нарушение видового состава нормальной микрофлоры под влиянием инфекционных и соматических заболеваний, а также в результате длительного и нерационального использования антибиотиков приводит к состоянию дисбактериоза, которое характеризуется изменением соотношения различных видов бактерий, нарушением усвояемости продуктов пищеварения, изменением ферментативных процессов, расщеплением физиологических секретов. Для коррекции дисбактериоза следует устранить факторы, вызвавшие этот процесс.

## **Задание 2. Изучить методику отбора и исследования микрофлоры тела животных.**

В зависимости от вида инфекции у клинически больных животных берут соответствующий, специфический для данной болезни материал, соблюдая меры личной безопасности.

**Секрет молочных желез** служит объектом исследования при таких заболеваниях, как туберкулез, бруцеллез, сальмонеллез, мастит. Перед отбором молока вымя обмывают теплой водой с мылом, а соски обрабатывают 70%-ным спиртом. Первые струйки молока удаляют, а последующие набирают в стерильные сосуды объемом 15–20 мл. У овец и коз пробы молока получают путем пункции цистерны вымени. Поле операции готовят у основания соска, далее стерильной иглой, соединенной со шприцом делают пункцию и набирают в шприц секрет и переносят его в стерильные пробирки с резиновыми пробками.

**Моча** чаще всего служит объектом исследования на лептоспироз. У коров и свиноматок мочу можно брать с помощью катетера непосредственно из мочевого пузыря либо при естественном мочеиспускании в чистые пробирки или банки. Легче всего мочу собирать после



утреннего подъема животных, а у свиней – в любое время дня после 1–2-часового лежания.

**Кал** берут из прямой кишки в стерильную посуду, которую закрывают плотной крышкой.

**Выделения из верхних дыхательных путей, ротовой полости и половых органов** собирают в посуду при естественном истечении или после предварительного обмывания водой крыльев носа и передней части носовых ходов. Выделения собирают стерильными тампонами из глубоких частей носа. Тампоны помещают в стерильные пробирки, содержащие по 0,5 мл стерильного физиологического раствора.

**Содержимое синовиальных бурс и абсцессов** берут с помощью стерильного шприца с иглой большого диаметра после предварительного выстрига шерсти и обработки кожи 70%-ным спиртом или 5–10%-ной настойкой йода. Полученный пунктат переносят в стерильную пробирку с резиновой пробкой.

**Материал из язв и ран** получают методом соскоба на границе пораженной и здоровой ткани.

**Волосы, участки кожи** исследуют при кожных заболеваниях. При этом волосы выщипывают, а соскобы с кожи делают скальпелем на границе пораженных и здоровых тканей.

При подозрении на инфекционную болезнь основная задача ветеринарного врача – своевременно установить диагноз, используя комплексный метод диагностики.

Комплексный метод диагностики инфекционных болезней включает в себя следующие методы:

- эпизоотологический;
- клинический;
- патоморфологический;
- бактериологический;
- вирусологический;
- гематологический;
- иммунологический.

**Эпизоотологический метод** представляет собой систему изучения проявлений эпизоотического процесса.

**Клинический метод** исследования животных подразделяется на общий и специальный (осмотр, наблюдение, пальпацию, перкуссию, аускультацию и термометрию).

**Патоморфологический метод** включает в себя патологоанатомический и гистологический методы.

**Бактериологический метод** применяется для выявления возбудителей бактериальных болезней в материале, отобранном от больных животных или трупов, а также для обнаружения патогенных бактерий в объектах внешней среды, кормах, мясе, молоке, яйцах и т. д. Бактериологический метод включает в себя: микроскопию, выделение чистой культуры возбудителя и биопробу. Бактериологическое исследование начинают с микроскопии, что позволяет обнаружить в материале микроорганизмы и изучить их морфологию. При микроскопии готовят мазки-отпечатки из органов, тканей или тонкие мазки из другого исследуемого материала. Выделение культуры проводят методом посева материала на питательные среды. Наиболее длительный и сложный этап бактериологического метода – это родовая и видовая идентификация выделенных культур. Изучают только чистые культуры.

**Вирусологический метод** – это комплекс исследований, позволяющих распознать этиологию вирусного заболевания и изучить свойства его возбудителя. Основными этапами вирусологического метода являются:

- выделение возбудителя от больных и павших животных;
- титрование возбудителя для определения количества в исследуемом материале;
- культивирование возбудителя на восприимчивых домашних и лабораторных животных или куриных эмбрионах и культурах тканей.

**Гематологический метод** – этот метод исследования используют как вспомогательный, а при некоторых инфекционных болезнях, таких как лейкоз, инфекционная анемия лошадей, он выступает в качестве основного метода диагностики.

**Иммунологический метод** включает в себя серологическую диагностику и аллергическую пробу.

### **Задание 3. Изучить основы ветеринарно-санитарных мероприятий по ликвидации и предупреждению возникновения инфекционных заболеваний.**

Среди ветеринарно-санитарных мероприятий, направленных на предупреждение или ликвидацию инфекционных болезней животных, важное место занимают мероприятия, связанные с блокированием второго звена эпизоотологической цепи – факторов и механизма передачи

возбудителей инфекции. Эту задачу, прежде всего, призвана выполнять **дезинфекция** – обеззараживание объектов внешней среды, направленное на уничтожение в них патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Объектами дезинфекции являются животноводческие помещения и территория вокруг ферм, предприятия по переработке и хранению сырья животного происхождения и складские помещения, санитарные бойни, оборудование и предметы ухода за животными, средства транспорта, места временного содержания животных, навоз и отходы животного происхождения, спецодежда, медицинское оборудование и инструментарий, корма и т. д.

По устойчивости к химическим дезинфицирующим средствам возбудителей основных инфекционных болезней животных, включая птиц, делят на четыре группы: малоустойчивые, устойчивые, высокоустойчивые, особо устойчивые.

К группе **малоустойчивых** (первая группа) относят возбудителей лейкоза, бруцеллеза, колибактериоза, лептоспироза, листериоза, болезни Ауески, пастереллеза, сальмонеллеза, трихомоноза, кампилобактериоза, трипанозомоза, токсоплазмоза, инфекционного ринотрахеита, парагриппа и вирусной диареи крупного рогатого скота, контагиозной эктимы, инфекционной агалактии и контагиозной плевропневмонии овец и коз, отечной болезни, инфекционного атрофического ринита, дизентерии, трансмиссивного гастроэнтерита, балантидиоза, гемофильной плевропневмонии и рожи свиней, ринопневмонии лошадей, пуллороза-тифа и микоплазмоза птицы, миксоматоза кроликов, диарейных заболеваний молодняка, вызываемых условно-патогенной микрофлорой (протей, клебсиеллы, морганеллы и т. п.).

К **устойчивым** (вторая группа) относят возбудителей аденовирусных инфекций, ящура, оспы, туляремии, орнитоза (пситтакоза), диплококкоза, стафилококкоза, стрептококкоза, бешенства, чумы всех видов животных, некробактериоза, аспергиллеза, кандидомикоза, трихофитии, микроспории, других микозов животных и птицы, злокачественной катаральной горячки, перипневмонии, актиномикоза крупного рогатого скота, инфекционной катаральной лихорадки, копытной гнили и инфекционного мастита овец, везикулярной болезни свиней, инфекционной анемии, инфекционного энцефаломиелиита, эпизоотического лимфангоита, сапа и мыта лошадей, гепатита утят, вирусного энтерита гусят, инфекционного бронхита, ларинготрахеита, болезни Марека, болезни Гамборо, инфекционного энцефаломиелиита и ньюкаслской болезни птиц,

вирусного энтерита, алеутской болезни, псевдомоноза и инфекционного гепатита плотоядных, вирусной геморрагической болезни кроликов. По режимам второй группы возбудителей дезинфекцию проводят также при болезнях, вызываемых неклассифицированными вирусами.

К **высокоустойчивым** (третья группа) к действию химических дезинфицирующих средств относят возбудителей туберкулеза животных и птицы и паратуберкулезного энтерита крупного рогатого скота.

К **особо устойчивым** (четвертая группа) относят возбудителей сибирской язвы, анаэробной дизентерии ягнят, анаэробной энтеротоксемии поросят, бродзота, злокачественного отека, инфекционной энтеротоксемии овец, эмкара, других споровых инфекций, кокцидиоза. По режимам четвертой группы возбудителей дезинфекцию осуществляют при остро протекающих инфекционных болезнях животных невыясненной этиологии.

Обязательным условием при проведении заключительной дезинфекции является оценка ее качества. Для оценки качества дезинфекции используются: бактериологический метод и метод индикаторных трубок.

### **Контрольные вопросы**

1. Какие участки кожи наиболее заселены микроорганизмами?
2. Какие виды микроорганизмов характерны для нормальной микрофлоры кожного покрова животных?
3. В какой части желудочно-кишечного тракта происходит наиболее активная жизнедеятельность микроорганизмов?
4. Назовите представителей кишечной микрофлоры различных видов животных.
5. На какие группы подразделяют возбудителей инфекционных заболеваний в зависимости от устойчивости к дезинфекции?
6. Как можно проверить качество проведенной дезинфекции?
7. Роль нормальной микрофлоры в защите организма от патогенных микробов.

## **Лабораторное занятие 9. ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ РАСПРОСТРАНЕННЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ**

**Цель занятия:** изучить характеристики возбудителей наиболее встречаемых инфекционных заболеваний сельскохозяйственных животных.

**Материалы и оборудование:** колбы, бактериологические петли, предметные стекла, покровные стекла, реактивы для окрашивания микроорганизмов по Граму, раствор йода, этиловый спирт, термостат, микроскоп, зерно, силос, сенаж, фото- и видеоматериал.

### **Ход занятия**

#### **Задание 1. Изучить характеристики возбудителей инфекционных заболеваний животных.**

Инфекционные болезни у животных являются результатом внедрения в их организм болезнетворного (патогенного) микроба и его последующего размножения и распространения в организме.

Они характеризуется способностью передаваться другим животным, стадийностью развития, специфической реакцией организма (образования антител) и обычно выработкой иммунитета после перенесения.

Инфекционные болезни животных вызываются бактериями, кокками, микроскопическими грибами, вирусами, микоплазмами, попадающими в организм мелкого рогатого скота различными путями: через поврежденные наружные покровы (кожу и слизистые), через пищеварительный тракт или алиментарным путем (с кормом, питьем), через дыхательные пути или аэрогенным путем и т. п.

Заразные заболевания животных могут быть опасны и для человека. Поэтому необходимо проводить профилактические мероприятия, например карантинировать новых ввозимых животных, контролировать качество кормов и воды, изолировать больных особей, проводить дезинфекцию (обеззараживание), дератизацию (борьба с грызунами) и дезинсекцию (борьба с насекомыми) помещений, а также обязательно вакцинировать здоровых особей.

**Сибирская язва** – особо опасная инфекционная болезнь животных и человека. Болезнь у животных протекает сверхостро, остро и подостро, а у свиней бессимптомно, в основном в локальной ангинозной

форме. Болезнь у человека чаще всего проявляется как инфекция наружных покровов и лишь изредка осложняется сибиреязвенным сепсисом: вместе с тем может развиваться и первичная генерализованная инфекция, проявляющаяся в легочной или кишечной форме.

Возбудитель болезни – *Bac. anthracis*, аэроб, существует в двух основных формах – бациллярной и споровой (рис. 9.1).

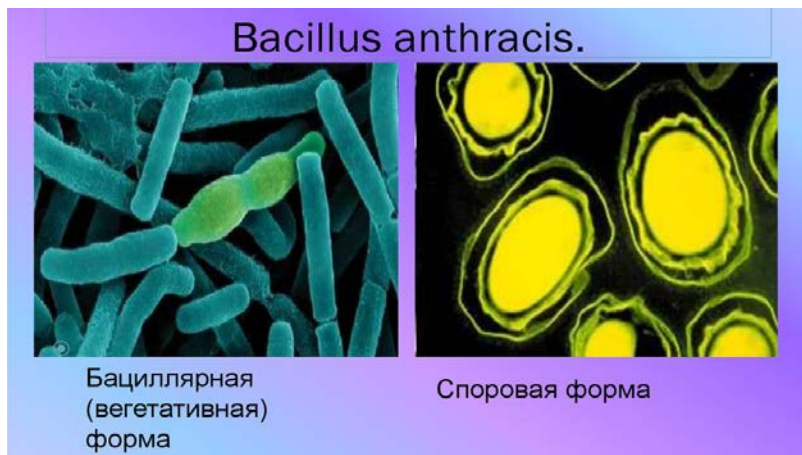


Рис. 9.1. Возбудитель сибирской язвы

Источник возбудителя инфекции – больное животное. Экскреты заболевших животных (кал, моча, кровавистые истечения из естественных отверстий) содержат бациллы, которые на воздухе превращаются в споры. Контаминированные сибиреязвенными спорами участки почвы и другие объекты внешней среды длительное время являются резервуарами и факторами передачи возбудителя инфекции. Основной путь заражения животных – алиментарный, через корм и воду. Возможны также трансмиссивный и аспирационный пути заражения. Заражение человека происходит при уходе за больными животными, в процессе их убоя, снятия шкур, разделки туш, кулинарной обработки мяса, уборки и уничтожения трупов, при хранении, транспортировке, первичной переработке и реализации контаминированного животного сырья. Возможно заражение человека при контакте с контаминированной почвой, а также аспирационным и трансмиссивным путями. При организации противосибиреязвенных мероприятий следует различать эпизоотический очаг, стационарно неблагополуч-

ный пункт, почвенный очаг и угрожаемую по этой болезни территорию.

Эпизоотический очаг сибирской язвы – место нахождения источника или факторов передачи возбудителя инфекции в тех пределах, в которых возможна передача возбудителя восприимчивым животным или людям (участок пастбища, водопой, животноводческое помещение, предприятие по переработке продукции животноводства и т. д.).

Стационарно неблагополучный пункт – населенный пункт, животноводческая ферма, пастбище, урочище, на территории которых обнаружен эпизоотический очаг независимо от срока давности его возникновения. Почвенными очагами считаются скотомогильники, биотермические ямы и другие места захоронения трупов животных, павших от сибирской язвы. Эпидемическим очагом сибирской язвы является эпизоотический очаг, в котором возникло заболевание людей этой инфекцией. Угрожаемой территорией считаются хозяйства, населенные пункты, административные районы, где имеется угроза возникновения случаев заболевания животных или людей. Границы угрожаемой территории определяют ветеринарные органы, учитывая эпизоотическую ситуацию, почвенно-географические, природно-климатические условия и хозяйственно-экономические связи хозяйств, населенных пунктов, заготовительных и перерабатывающих организаций и предприятий (перегоны животных на сезонные пастбища, наличие рынков, кожевенно-сырьевых предприятий, заготовительных баз и др.).

**Бешенство** – острая вирусная болезнь животных и человека, характеризующаяся признаками полиоэнцефаломиелита и абсолютной летальностью. Возбудитель болезни относится к семейству рабдовирусов (рис. 9.2).

Резервуаром и главными источниками возбудителя бешенства являются дикие хищники, собаки и кошки. С учетом характера резервуара возбудителя различают эпизоотии городского и природного типов. При эпизоотиях городского типа основными распространителями болезни являются бродячие и безнадзорные собаки, а при эпизоотиях природного типа – дикие хищники (лисица, енотовидная собака, песец, волк, корсак, шакал). На территориях с повышенной плотностью их популяций формируются стойкие природные очаги болезни.

Заражение человека и животных происходит при непосредственном контакте с источниками возбудителя бешенства в результате укуса или ослонения поврежденных кожных покровов или наружных слизистых оболочек.

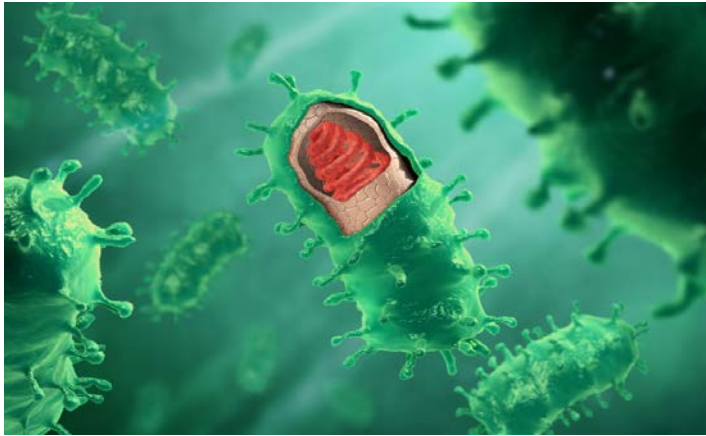


Рис. 9.2. Возбудитель бешенства

При организации мероприятий по профилактике и борьбе с бешенством следует различать эпизоотический очаг, неблагополучный пункт и угрожаемую зону. Эпизоотические очаги бешенства – квартиры, жилые дома, личные подворья граждан, животноводческие помещения, скотобазы, летние лагеря, участки пастбищ, лесных массивов и другие объекты, где обнаружены больные бешенством животные. Неблагополучный пункт – населенный пункт или часть крупного населенного пункта, отдельная животноводческая ферма, фермерское хозяйство, пастбище, лесной массив, на территории которых выявлен эпизоотический очаг бешенства. В угрожаемую зону входят населенные пункты, животноводческие хозяйства, пастбища, охотничьи угодья и другие территории, где существует угроза заноса бешенства или активизации природных очагов болезни. Эпидемическим очагом называют эпизоотический очаг, в котором возникли заболевания людей.

**Бруцеллез** – хронически протекающая болезнь животных и человека, вызываемая бактериями, объединенными под общим названием *Brucella*. По современной классификации Объединенного Комитета экспертов ФАО/ВОЗ по бруцеллезу род *Brucella* состоит из шести видов, которые подразделяются на ряд биоваров. Так, *B. melitensis* состоит из 3 биоваров, носителями которых являются козы и овцы. *B. abortus* представлен 7 биоварами, основной хранитель возбудителя – крупный рогатый скот. *B. suis* состоит из 5 биоваров, основной хозяин возбудителя – свиньи, однако носителем 2-го биовара являются



также зайцы, 4-го биовара – олени, а 5-го – мышевидные грызуны. *B. neotomae* была обнаружена у пустынной кустарниковой крысы. *B. ovis* выделяется от овец, а *B. canis* – от некоторых видов собак. На территории России циркулируют *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* и *B. ovis*. Определение видов и биоваров бруцелл на конкретных территориях и в очагах инфекции имеет важное эпидемиологическое и эпизоотологическое значение с точки зрения классификации очагов, оценки степени напряженности эпидемиологического и эпизоотического процессов, установления фактов миграции бруцелл с одного вида животных на другой (особенно опасна миграция *B. melitensis* на крупный рогатый скот), выявления путей распространения возбудителя, выбора тактики лечения и др. (рис. 9.3).



Рис. 9.3. Колонии бруцелл на кровяном агаре

Бруцеллы относятся к патогенным микроорганизмам. Разные виды обладают различной вирулентностью. Наиболее вирулентны для человека *B. melitensis*, которые нередко вызывают эпидемические вспышки заболеваний, протекающих в тяжелой форме. *B. abortus* и *B. suis* вызывают, как правило, спорадические случаи клинически выраженных заболеваний. Что касается *B. ovis*, *B. neotomae* и *B. canis*, то известны лишь единичные случаи заболевания людей, вызванные *B. canis*. Бруцеллы обладают высокой инвазивностью, могут проникать через неповрежденные слизистые покровы, относятся к внутриклеточным паразитам, но могут также находиться вне клетки. Бруцеллы малоустойчивы к высокой температуре. В жидкой среде при температуре 60 °С они погибают через 30 мин, при 80–85 °С – через 5 мин, при кипячении – моментально. Под действием прямых солнечных лучей бруцеллы гибнут через 4–5 ч, в почве сохраняют жизнеспособность до 100 дней, в

воде – до 114 дней. Длительно сохраняются в пищевых продуктах. Обладают большой устойчивостью к воздействиям низких температур. Возбудитель бруцеллеза весьма чувствителен к различным дезинфицирующим веществам: 2%-ный раствор карболовой кислоты, 3%-ный раствор креолина и лизола, 0,2–1,0%-ный раствор хлорной извести и хлорамина убивают их в течение нескольких минут.

Основными источниками инфекции для людей при бруцеллезе являются овцы, козы, крупный рогатый скот и свиньи. Отмечаются случаи заражения людей бруцеллезом от северных оленей. В редких случаях источником заражения могут быть лошади, верблюды, яки и некоторые другие животные. Роль человека в передаче бруцеллезной инфекции эпидемиологического значения не имеет. Пути заражения человека бруцеллезом разнообразны. Заражение происходит преимущественно контактным (с больными животными или сырьем и продуктами животного происхождения) или алиментарным путем. Эпидемическое значение пищевых продуктов и сырья животного происхождения определяется массивностью обсеменения, видом бруцелл, их вирулентностью, длительностью их сохранения. Так, в молоке бруцеллы сохраняются до 10 и более дней, в брынзе – до 45 дней, во внутренних органах, костях, мышцах и лимфатических узлах инфицированных туш – более одного месяца, в шерсти – до 3 месяцев. Возможны случаи заражения людей контактным и аэрогенным путем при работе с вирулентными культурами бруцелл. Здесь имеют место как контактный, так и аэрогенный путь заражения. Для заболевания людей бруцеллезом, вызванным козье-овечьим видом, характерна весенне-летняя сезонность. При заражении бруцеллезом от крупного рогатого скота сезонность выражена слабее, что объясняется длительным периодом лактации и заражением в основном через молоко и молочные продукты.

**Туберкулез** животных. Возбудитель *Mycobacterium tuberculosis* был открыт Робертом Кохом в 1882 году. Возбудитель туберкулеза человека – *M. tuberculosis*; крупного рогатого скота – *M. bovis*; птиц – *M. avium*, это тонкие, прямые, чаще слегка изогнутые палочки, располагающиеся одиночно или группами, аэроб, неподвижен, спор и капсул не образует. Для выращивания возбудителя туберкулеза применяют глицериновые МПА и МПБ, картофель, яичные и синтетические среды. Микобактерии сохраняют жизнеспособность в навозе 7 месяцев. Источник возбудителя: больные животные и вирусоносители. Пути передачи: аэрогенный; через поврежденную слизистую ротовой

полости, реже через соски вымени и влагалище, факторы передачи – корма, навоз, вода, подстилка, предметы ухода. Инкубационный период: от 2–6 недель до появления аллергических реакций. Туберкулез протекает в основном хронически и бессимптомно (рис. 9.4).

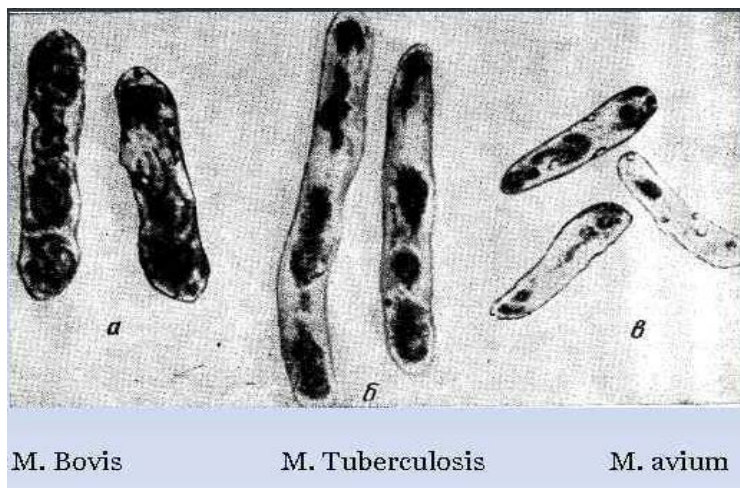


Рис. 9.4. Возбудители туберкулеза

У крупного рогатого скота чаще поражаются легкие или кишечник. Туберкулез легких сопровождается кашлем и другими признаками поражения легких и плевры. При туберкулезе кишечника наблюдаются диарея, сменяющаяся запорами, выделение с фекалиями слизи с примесью крови. При поражении вымени у крупного рогатого скота увеличены лимфоузлы, вымя становится бугристым. Туберкулез половых органов у коров проявляется усилением охоты, у быков – орхитами. При генерализованном туберкулезе наблюдается увеличение поверхностных лимфоузлов, животные сильно худеют, быстро утомляются. У них пропадает аппетит, слизистые оболочки анемичны. У овец и коз туберкулез протекает, как и у крупного рогатого скота. У свиней отмечается увеличение подчелюстных, заглочных и шейных лимфоузлов. У лошадей туберкулез встречается редко и в основном протекает латентно. Туберкулез птиц протекает с неясными клиническими признаками. Наблюдаются исхудание, малоподвижность, побледнение и сморщенность гребня, атрофия грудных мышц. Генерализация процес-

са сопровождается поражением кишечника. Характерным для туберкулеза является наличие в разных органах и тканях животного специфических узелков (туберкул) величиной от просяного зерна до куриного яйца и более. Туберкулезные очаги окружены соединительнотканной капсулой, содержащее их напоминает сухую, крошковатую массу (казеозный некроз). При длительном переболевании туберкулезные узелки могут обызвестляться.

Патологический материал направляют на исследование как при жизни животного (истечения из носа, бронхиальную слизь, молоко, особенно при увеличении надвыменных лимфоузлов, фекалии, мочу), так и посмертно (пораженные части органов и лимфоузлы бронхиальные, заглоточные, средостенные, предлопаточные, надвыменные. Труп птицы (или тушку) направляют целиком – исследуют пораженные печень, селезенку, легкие, яичники. Проводят туберкулинизацию, гистологические, бактериологические исследования, биопробу, серологические исследования (РСК).

**Листериоз** – инфекционная болезнь человека и животных. Возбудитель листериоза *Listeria monocytogenes* – подвижная, полиморфная, грамположительная мелкая палочка с закругленными концами. Листерии обладают сравнительно высокой устойчивостью, широко распространены во внешней среде, при низких температурах длительное время (до нескольких лет) сохраняются в почве, воде, соломе, зерне. Размножаются в почве, воде, молоке, мясе, силосе, а также в органах трупов. Основным резервуаром возбудителя в природе являются многие виды диких и синантропных грызунов. Листерии обнаружены у лисиц, норок, енотов, песцов, диких копытных, птиц. Листериоз поражает домашних и сельскохозяйственных животных (свиней, мелкий и крупный рогатый скот, лошадей, кроликов, реже кошек и собак), а также домашнюю и декоративную птицу (гусей, кур, уток, индюшек, голубей, попугаев и канареек). Листерии обнаружены также в рыбе и продуктах моря (креветки). При листериозе имеет место многообразие механизмов передачи возбудителя инфекции (фекально-оральный, контактный, аспирационный, трансплацентарный), основным из которых является фекально-оральный.

**Лептоспироз** – зоонозная природно-очаговая инфекционная болезнь диких, домашних животных и человека, широко распространенная в различных ландшафтно-географических зонах мира. Источники возбудителей лептоспирозной инфекции подразделяются на две груп-

пы. К первой относятся грызуны и насекомоядные, являющиеся основными хозяевами (резервуаром) возбудителей в природе; ко второй – домашние животные (свиньи, крупный рогатый скот, овцы, козы, лошади, собаки), а также пушные звери клеточного содержания (лисицы, песцы, нутрии), формирующие антропоургические (сельскохозяйственные) очаги. Возбудители лептоспироза – микроорганизмы рода *Leptospira*. Патогенные лептоспиры представлены 202 сероварами, которые по степени антигенного родства объединены в 23 серологические группы. На территории Российской Федерации возбудителями лептоспироза сельскохозяйственных животных и собак являются лептоспиры серогрупп *Pomona*, *Tarassovi*, *Grippotyphosa*, *Sejroe*, *Hebdomadis*, *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola*; в природных очагах установлена циркуляция лептоспир серогрупп *Grippotyphosa*, *Pomona*, *Sejroe*, *Javanica*, *Icterohaemorrhagiae*, *Bataviae*, *Australis*, *Autumnalis*. В этиологической структуре лептоспирозных заболеваний человека преобладают лептоспиры серогрупп *Grippotyphosa*, *Pomona*, *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola*, *Sejroe*. Основной путь передачи инфекции – водный, меньшее значение имеют контактный и пищевой (кормовой). В организм человека и животных лептоспиры проникают через незначительные повреждения кожи и неповрежденные слизистые оболочки полости рта, носа, глаз, желудочно-кишечного и мочеполового трактов.

**Сальмонеллез** – инфекционная болезнь животных и человека. Среди сельскохозяйственных животных сальмонеллезом болеет преимущественно молодняк (телята, поросята, ягнята, жеребята, щенки пушных зверей, цыплята, утята, гусята, индюшата и т. д.).

Болезнь проявляется поражением желудочно-кишечного тракта и септициемией, а при подостром и хроническом течении – пневмонией и артритам. У овец, кобыл, реже коров, сальмонеллез вызывает аборт.

Люди заражаются сальмонеллезом при употреблении продуктов питания, обсемененных сальмонеллами в процессе их получения, переработки, транспортировки и реализации, прошедших недостаточную кулинарную обработку или хранившихся с нарушением установленных режимов. Возможно заражение через предметы бытовой и производственной обстановки, а также через воду.

Сальмонеллы, кроме того, вызывают у человека брюшной тиф (*Salmonella typhi*) и паратиф (*Salmonella paratyphi A, B, C*), к которым животные не восприимчивы. Сальмонеллы относятся к семейству энтеробактерий (Enterobacteriaceae), роду сальмонелл (*Salmonella*), под-

разделяющемуся на два вида: энтерика (*enterica*) и бонгори (*bongori*), и объединяют 2324 серовара, разделенных по набору соматических ("O") антигенов на 46 серогрупп. Основные возбудители сальмонеллеза животных относятся к серогруппам В, С и D (рис. 9.5).

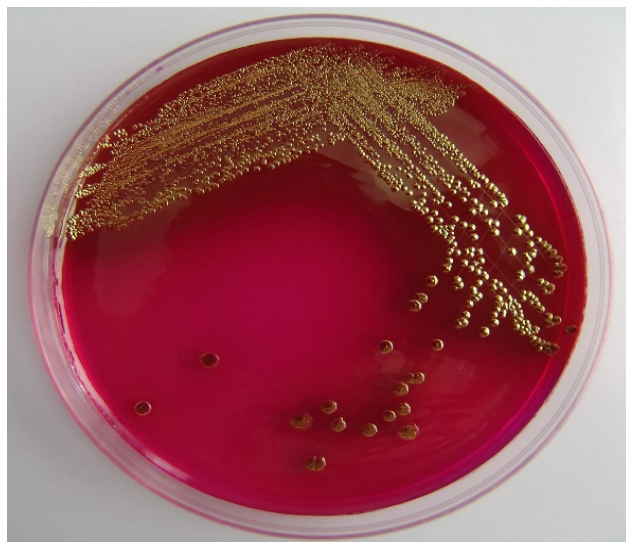


Рис. 9.5. Возбудитель сальмонеллеза на кровяном агаре

Источником возбудителя инфекции являются больные и переболевшие животные – сальмонеллоносители, включая грызунов и диких птиц. Факторами передачи возбудителя инфекции являются инфицированные корма, вода, подстилка, предметы ухода за животными, оборудование, одежда и обувь. У птиц возможна трансвариальная передача сальмонелл. Диагноз на сальмонеллез устанавливают на основании комплекса клинических, патологоанатомических, эпизоотологических данных и результатов бактериологических исследований, проводимых в соответствии с действующими методическими указаниями «Лабораторная диагностика сальмонеллез человека и животных, обнаружение сальмонелл в кормах, продуктах питания и объектах внешней среды».

**Энзоотический лейкоз крупного рогатого скота** – хроническая инфекционная болезнь опухолевой природы, основной причиной ко-

торой является злокачественное разрастание клеток кроветворных органов с нарушением их созревания, в результате чего происходит диффузная инфильтрация органов этими клетками или появляются опухоли.

Возбудителем инфекции является вирус лейкоза крупного рогатого скота (ВЛ КРС) – *Bovine leukemia virus*, относящийся к семейству Retroviridae, подсемейству Oncoviridae типа С.

Источником инфекции являются больные лейкозом животные. В естественных условиях вирус лейкоза крупного рогатого скота может передаваться пренатально и постнатально. Постнатальная передача включает передачу вируса через молоко или при контакте. Контактная передача может быть результатом прямого воздействия контаминированных вирусом секретов или экскретов или переноса вируса насекомыми или контаминированными объектами. Так как частицы ВЛ КРС не продуцируются *in vitro*, то в большинстве случаев вирус передается с инфицированными лимфоцитами. Для заражения коровы достаточно ввести внутривожно 2500 лимфоцитов крови.

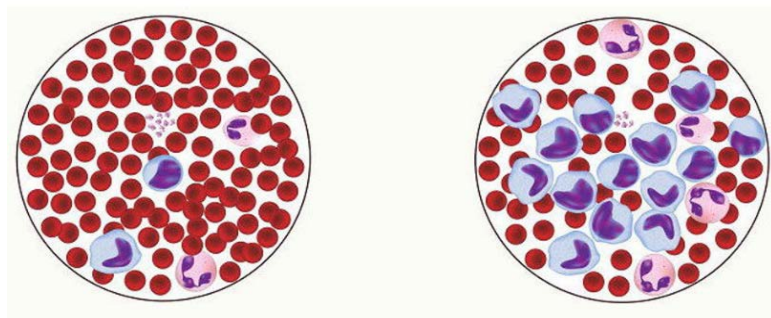
Встречается две формы лейкоза – энзоотическая и спорадическая. Спорадическая форма лейкоза встречается редко и поражает животных до 3-летнего возраста.

Энзоотический лейкоз – контагиозная болезнь с длительным латентным периодом, во время которого в крови выявляется вирус лейкоза (ВЛ КРС) и антител к нему. В основном встречается у крупных животных в возрасте 5–8 лет.

Болезнь характеризуется пролиферацией неопластических элементов, в результате чего образуются отдельные опухолевые массы или диффузная инфильтрация различных тканей и органов. В опухолевый процесс вовлекаются лимфоузлы, часто поражаются селезенка, сычуг, сердце, почки и другие органы.

Диагноз на лейкоз ставят на основании эпизоотологических данных, клинических признаков, патологоанатомических изменений и результатов лабораторных исследований, которые включают серологические, гематологические, гистологические и вирусологические исследования.

Гематологическими исследованиями выявляют повышенное содержание лейкоцитов, в основном лимфоидного ряда, слабодифференцированных лимфоидных клеток (рис. 9.6).



**Норма**

**Лейкемия**

Рис. 9.6. Гематологический анализ на наличие белых клеток, пораженных вирусом *Bovine leukemia*

Основной метод профилактики и борьбы с лейкозом в различных странах мира – своевременно проведенная диагностика и удаление из стада инфицированных животных. При инфицированности стад вирусом лейкоза свыше 20 % инфицированных животных изолируют в отдельное стадо и эксплуатируют с предосторожностью.

**Мастит бактериальной этиологии.**

**Мастит** – одно из наиболее распространенных заболеваний молочного скота в мире, несмотря на широкое внедрение технологий профилактики мастита.

Возбудителем заболевания могут быть различные микроорганизмы: бактерии, микоплазмы, дрожжи. Выделяют более 137 видов микроорганизмов, которые могут послужить причиной его возникновения, но только 20 из них хорошо изучены. Маститы могут быть классифицированы по двум типам: инфекционного патогенеза и патогенеза, связанного с окружающей средой.

Возбудители инфекционного патогенеза существуют внутри зараженных долей вымени. Они приводят к возникновению субклинического мастита, который, как правило, проявляется в виде увеличения числа соматических клеток (лейкоцитов и эпителиальных клеток) в молоке из пораженной четверти. Возбудители передаются от коровы к корове или от одной доли вымени к другой, а также во время доения через ветошь для вытирания рук доярок и доильных аппаратов.



Наиболее распространенными патогенными организмами этого типа являются *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Corynebacterium bovis* (рис. 9.7).



Рис. 9.7. Рост на среде Кесслер бактерий группы кишечной палочки

Возбудители из окружающей среды – бактерии. Наиболее распространенные микроорганизмы, связанные с окружающей средой, – это *Escherichia coli* и *Streptococcus uberis*.

Подавляющее большинство маститов, имеющих бактериальное происхождение, в 80 % случаев вызываются пятью видами бактерий (*Escherichia coli*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* и *Streptococcus agalactiae*).

***Streptococcus agalactiae*** (*Strep. agalactiae*) – грамположительные бактерии, населяющие емкостную систему вымени (мелкие, средние, крупные каналы и цистерну молочной железы). Они вызывают воспаление, которое блокирует каналы и ведет к снижению производства молока, увеличению количества соматических клеток, в конечном счете к инволюции альвеолярного аппарата. Кроме того, в емкостной системе вымени имеется несколько ферментов, токсинов, очень чувствительных к антибиотикам.

*Staphylococcus aureus* (*Staph. aureus*) являются основной причиной возникновения маститов. Они вызывают острый, хронический и субклинический маститы. Эти бактерии производят много ферментов (токсинов) (каталазу, коагулазу), они высоко агрессивны (производят гиалуронидазу, которая позволяет им вторгаться в ткани), обладают способностью сопротивляться фагоцитозу (производят тиахуоновую кислоту). *Staph. aureus* – факультативные внутриклеточные паразиты (могут жить внутри фагоцитов), среднеустойчивы в окружающей среде. Их часто изолируют из молочных желез первотелок. Они являются главной причиной мастита у телок.

Некоторые штаммы *Staph. aureus* устойчивы к антибиотикам вследствие генетических мутаций.

Экономические последствия мастита крупного рогатого скота явились причиной разработки различных терапевтических стратегий для борьбы с инфекцией молочной железы. Для этого применяются препараты, относящиеся к различным терапевтическим классам: противомикробные, противовоспалительные, витамины, вакцины, цитокины и даже гомеопатия.

Разработаны различные пути введения лекарственных средств: системный, внутрицистернальный и местный (нанесение на сосок или кожу вымени).

Однако, несмотря на значительный прогресс в терапии маститов, часть животных продолжает страдать от этого заболевания.

**Микотоксикозы** (*Mycotoxicoses*) – болезни животных, возникающие в результате поедания кормов, содержащих токсические метаболиты, выделяемые грибами.

Микотоксикозы характеризуются внезапностью появления, массовым отравлением, коротким инкубационным периодом, затиханием и полным прекращением заболевания при смене кормов.

Известно 250 микромицетов, продуцирующих более 100 токсичных метаболитов. Наряду с высокой токсичностью отдельные микотоксины обладают мутагенными, карциногенными и тератогенными свойствами.

Микотоксикозы вызываются плесневыми грибами родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Stachybotrys*, *Dendrodochium*. Наименование микотоксикоза происходит от названия токсина или гриба-продуцента (табл. 9.1).

Таблица 9.1. Классификация микозов

Наименование микозов	Возбудитель	Заболевание
Поверхностные микозы кожи и ее производных (волосы, ногти)	<i>Trichophyton</i> <i>Microsporum</i> <i>Achorion</i>	Трихофития Микроспория Парша
Глубокие микозы	<i>Cryptococcus farciminosus</i> <i>Sporotrichum</i> <i>Blastomyces dermatidis</i>	Эпизоотический лимфангит Споротрихоз Североамериканский бластомикоз
Висцеральные микозы с локализацией процессов в органах дыхания или других органах	<i>Histoplasma</i> <i>Cryptococcus</i> <i>Coccidioides</i> <i>Rhinosporidium</i> <i>Candida</i> <i>Aspergillus</i> <i>Mucor</i> <i>Penicillium</i> <i>Dermatophylus</i>	Гистоплазмоз Криптококкоз Кокцидиоидомикоз Риноспоридиоз Кандидамикоз Аспергиллез Мукоромикоз Пенициллез Дерматомикоз

При диагностике микотоксикоза внимание уделяют обнаружению токсина, поскольку гриб-продуцент в ряде случаев к моменту исследования погибает, кроме того, один и тот же микотоксин может синтезировать различные виды грибов.

## **Задание 2. Провести анализ кормов на наличие плесневых грибов, способных вызывать микотоксикозы.**

Лабораторная диагностика микотоксикозов основана на результатах токсикобиологических, органолептических, микологических и физико-химических исследований.

Для исследования в лабораторию направляют пробы кормов, содержащее желудочно-кишечного тракта павших животных.

Отобранную среднюю пробу делят на две части (одну часть отбирают, другую часть хранят в хозяйстве в течение месяца, в условиях предотвращающих порчу или вторичное загрязнение).

*Микологический анализ* включает выделение из корма и идентификацию грибов-продуцентов микотоксинов. Делают посевы в чашки Петри с агаром Чапека, сусло-агаром или в жидкую среду Билай. Грубые корма высевают во влажные камеры со средой Ван-Итерсона. Для приготовления влажной камеры со средой Ван-Итерсона на дно

чашки Петри кладут слой ваты с кружком фильтровальной бумаги по диаметру чашки и стерилизуют в сушильном шкафу. Перед посевом на фильтровальную бумагу наливают среду Ван-Итерсона до увлажнения бумаги, не создавая избытка влаги.

Для выделения грибов из кормового зерна раскладывают зерно на поверхности фильтровальной бумаги по 10 штук по отдельности. Посевы инкубируют при температуре 20–25 °С в течение 3–10 дней до образования характерного спороношения, после чего проводят макро- и микроскопическое исследование культур грибов с целью идентификации.

Для микроскопирования готовят препарат «раздавленная капля».

При микроскопии учитывают цвет, форму колоний, консистенцию, характер роста, выделение пигментов, степень развития воздушного мицелия.

### **Контрольные вопросы**

1. Назовите основные инфекционные заболевания сельскохозяйственных животных.
2. Назовите пути заражения животных инфекционными заболеваниями.
3. Профилактика инфекционных болезней.

## СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ

**Автоклав** – аппарат для проведения различных процессов при нагревании и под давлением выше атмосферного. В микробиологической практике применяют автоклавы различной конструкции для стерилизации объектов высокотемпературным насыщенным водяным паром.

**Автолиз** – разрушение или саморастворение клеток за счет собственных (эндогенных) ферментов.

**Автолизат** – продукт, получаемый в результате **автолиза** клеток.

**Автолизат дрожжевой** – продукт, получаемый в результате **автолиза** прессованных пекарских **дрожжей** (при температуре 60 °С в течение 2 суток). Имеет сметанообразную консистенцию и коричневатый цвет. Входит в состав многих **питательных сред** для выращивания микроорганизмов как источник азотистых веществ и **витаминов** группы В.

**Автотрофы** – организмы, способные использовать диоксид углерода в качестве единственного или главного источника углерода и обладающие системой ферментов для его ассимиляции, а также способные синтезировать все компоненты клетки. Некоторые автотрофы могут нуждаться в экзогенных (поступающих извне) витаминах и факторах роста (ауксотрофы). В зависимости от источника энергии, используемого для восстановления CO<sub>2</sub>, различают фотоавтотрофы (наземные зеленые растения; водоросли; цианобактерии, способные к оксигенному фотосинтезу; фототрофные бактерии, осуществляющие anoxygenный фотосинтез) и хемоавтотрофы, получающие энергию за счет окисления неорганических соединений и осуществляющие хемосинтез. Большинство автотрофов ассимилируют диоксид углерода через восстановительный пентозофосфатный путь (цикл Кальвина). Автотрофы – продуценты органического вещества в биосфере, образующие первый трофический уровень в сообществах.

**Автохтоны** – растительные или животные организмы, образовавшиеся в процессе эволюции в данной местности или исстари в ней обитавшие и живущие в настоящее время (иначе аборигены).

**Агар** (агар-агар) – полисахаридный продукт из морских водорослей, используемый для приготовления плотных питательных сред.

**Агробактерии** (*Agrobacterium*) – род аэробных, обычно почвенных, **бактерий**, обитающих в **ризосфере**. Способны вызывать образование корончатых **галлов** у двудольных растений. **Патогенность** агробактерий обусловлена наличием у них **Ti-плазмиды**, индуцирующей опухо-

ли растений и синтез клетками опухоли необычных аминокислот – опинов, которые агробактерии используют в качестве источников азота. Особенностью Ti-плазмиды является то, что ее ДНК (Т-ДНК) встраивается в хромосомы клетки хозяина. На этом основании в **генетической инженерии** Т-плазмиду *Agrobacterium tumefaciens* используют в качестве **вектора** для введения чужеродных генов в клетки растений.

**Адаптация** – приспособительная реакция к изменениям в среде обитания, проявляющаяся изменением признаков или свойств микроорганизмов.

**Азолла** (*Azolla*) – водный папоротник тропических и субтропических областей. Образует симбиоз с азотфиксирующей **цианобактерией** *Anabaena azollae*. Биомасса азоллы используется в качестве зеленого удобрения на рисовых полях.

**Азотобактер** (*Azotobacter*) – род аэробных свободноживущих азотфиксирующих бактерий. Форма клеток овальная или кокковидная, подвижные и неподвижные, граммотрицательные, спор не образуют. Обитают на хороших почвах, продуценты ряда витаминов, ауксинов, антибиотиков, что объясняет их положительное влияние на рост растений. В активном состоянии связывают до 20 мг азота на 1 г использованного углевода. Некоторые виды применяются в производстве бактериального удобрения.

**Азотобактерин** – препарат органического удобрения, представляющий собой живую культуру свободноживущих азотфиксирующих **бактерий** *Azotobacter chroococcum*, смешанную со стерильным носителем (песком, торфом и др.). Вносится в почву вместе с семенами. Рассматривается как аналог азотных удобрений.

**Азотфиксация, дiazотрофия** – усвоение молекулярного азота воздуха азотфиксирующими прокариотными организмами с образованием соединений азота, доступных для использования другими организмами. Осуществляется как свободноживущими азотфиксирующими бактериями (клубеньковые бактерии, азоспириллы и др.), так и симбиотическими, например клубеньковыми бактериями. Азотфиксация происходит с участием полиферментной системы нитрогеназы, которая катализирует восстановление молекулярного азота до аммиака в присутствии АТФ и восстановителя. Симбиотические азотфиксирующие организмы могут связывать в год до 200 кг азота на 1 га, свободноживущие – 15–30 кг.

**Актиномицеты** – крупная группа грамположительных бактерий, объединяемых в актиномицетную линию, или актинобактерии. К актиномицетам относят ноккардии, актиномицеты с многоклеточными

спорангиями (роды *Geoder matophilus*, *Dermatophilus*, *Frankia*), актинопланы, стрептомицеты, мадурамицеты, термоактиномицеты, способные к умеренной термофилии, и др. Филогенетически к актиномицетам близки коринеформные бактерии и микобактерии. Тривиальное название актиномицетов укоренилось за бактериями, образующими подобие мицелия, наиболее известными из которых являются нокардии и стрептомицеты. Устаревшее название актиномицетов – «лучистые грибки». В большинстве своем актиномицеты – обитатели почвы, почти все – аэробы, органотрофы, могут разлагать самые различные природные полимеры, в частности хитин, многие способны к активному антагонизму за счет синтеза антибиотиков. Последнее в значительной степени стимулировало изучение этой группы микроорганизмов в интересах биотехнологии.

**Акцептор водорода** – соединение, принимающее электроны (водород) в процессе окислительно-восстановительных реакций. В качестве конечного (терминального) акцептора электронов микроорганизмы способны использовать кислород (аэробы), а также органические соединения, углекислоту, сульфат- и нитрат-ионы и др. (анаэробы).

**Алкалофилы** – микроорганизмы, развивающиеся в щелочных средах (рН 9,0–11,0). Облигатные алкалофилы растут в пределах рН 8,5–11,0; факультативные – 5,0–11,0. К алкалофилам относятся, например, **аммонифицирующие бактерии**. В основном почвенные и водные организмы. То же, что и **базофилы, базофильные организмы**.

**Аллергены** – вещества антигенной природы (полноценные антигены или гаптены), вызывающие реакции гиперчувствительности (аллергию).

**Аллергия** – форма иммунного ответа при повторном контакте с аллергенами, обусловленная накоплением иммуноглобулинов или Т-лимфоцитов.

**Альгофаги** – вирусы, поражающие водоросли.

**Амебонд** – вегетативное тело некоторых водорослей и миксомицетов, не имеющих оболочки и постоянной формы; передвигаются с помощью перетекания протоплазмы, образования псевдоподий (например, миксоамебы у миксомицетов).

**Аммонификация** – один из этапов круговорота азота в природе, на котором происходит разложение азотсодержащих органических веществ (белков) с выделением аммиака и его солей под действием ферментов микроорганизмов.

**Амфитрихи** – бактерии с двумя полярно расположенными **жгутиками** или имеющие по пучку жгутиков на обоих концах клетки.

**Анаэробы** (от греч. *an* – отрицание, *aer* – воздух и жизнь) – микроорганизмы, которые могут осуществлять обмен веществ и размножаться в условиях отсутствия кислорода в среде обитания. Их подразделяют на облигатных и факультативных. Первых культивируют в атмосфере, полностью лишенной кислорода, который для них токсичен. Возможно, это связано с отсутствием у анаэробов фермента каталазы, разрушающей высокотоксичную для бактерий перекись водорода, которая может образоваться в аэробных условиях. Факультативные анаэробы растут как в кислородных, так и в бескислородных условиях. В первом случае они используют при биологическом окислении в качестве конечного акцептора водорода атмосферный кислород, во втором – различные вещества: нитраты, тетрагидрат натрия, сульфаты и др. Термин введен Пастером в 1861 году.

**Анатооксины** (токсоиды) – обезвреженные формалином (при температуре 37–40 °С в течение 3–4 недель) токсины микроорганизмов, потерявшие токсические свойства, но сохранившие антигенность и иммуногенность. Применяются для активной иммунопрофилактики.

**Анаэроостат** – прибор для культивирования анаэробных микроорганизмов. Представляет собой герметично закрывающийся сосуд, в котором бескислородные условия создаются откачкой воздуха (до 3–10 мм рт. ст.), замещением его газами (например, азотом) или химическим связыванием кислорода. Конструкцией анаэроостата обычно предусматривается контроль анаэробных условий внутри прибора.

**Антагонизм микробный** – угнетение роста одного микроба другим. Является одной из форм взаимоотношений между микроорганизмами в ассоциациях. Антагонистические свойства присущи многим почвенным спорным и гнилостным бактериям, актиномицетам, грибам (базидиальным, сумчатым и др.). Механизм антагонистического действия микробов может быть связан с различными причинами: образованием токсичных продуктов метаболизма, антибиотиков.

**Антибиотики** – специфические химические вещества, образуемые микроорганизмами, способные в малых количествах оказывать избирательное токсическое действие на другие микроорганизмы и на клетки злокачественных опухолей. К антибиотикам в широком смысле относят также антимикробные вещества тканей высших растений (фитонциды) и животных. Синтез антибиотиков является выражением активного антагонизма микробов-антагонистов. Первый антибиотик (пенициллин) был открыт А. Флемингом в 1929 году, термин предложил в 1942 году З. Ваксман. В настоящее время описано более 4 тыс. антибиотиков, но в качестве лекарственных средств применяется не более 100.



**Антиоксиданты** (антиокислители) – вещества, задерживающие окисление органических веществ; широко используются в микробиологической промышленности, в исследовательской работе для предотвращения окисления чувствительных к кислороду соединений в процессе их выделения, очистки и хранения. Пример антиоксиданта – меркаптоэтанол.

**Антигены** – генетически чужеродные вещества, которые при попадании в макроорганизм вызывают развитие иммунного ответа в виде выработки антител или образования специфических иммунокомпетентных клеток, вступая с ними в специфическую реакцию.

**Антисептика** – борьба с проникшей в организм инфекцией различными методами.

**Антитела (иммуноглобулины)** – глобулиновые белки сыворотки крови, которые продуцируются клетками иммунной системы организма в ответ на воздействие антигена и вступают с антигеном в специфическую реакцию.

**Антитоксины** – антитела против токсинов микроорганизмов.

**Археи** – группа микроорганизмов с прокариотным типом строения клетки, отличающихся от **бактерий** (зубактерий) многими свойствами. Отличия касаются строения мембран, клеточной стенки, наличия в **геноме интронов**, последовательности нуклеотидов в 16S рРНК и др. Физиологически и экологически разнообразная группа. Многие способны жить в экстремальных условиях при строгом **анаэробнозе**, в горячих и сильно засоленных водных источниках. Некоторые археи обладают особым типом **фотосинтеза** на основе **бактериородопсина**; ассимиляцию углерода автотрофные археи осуществляют через ацетил-КоА-путь или через восстановительный цикл трикарбоновых кислот. Некоторые археи способны фиксировать  $N_2$ . Археи подразделяют на следующие основные группы: а) **метаногены**; б) сульфатредукторы; в) экстремально галофильные; г) лишённые клеточных стенок; д) экстремально термофильные, метаболизирующие  $SO$ . В настоящее время археи считают самостоятельным **царством** (доменом) живых организмов, представляющих особую эволюционную ветвь. Ранее археи называли **археобактериями**.

**Асептика** – система профилактических мероприятий, направленных на предупреждение попадания микробов в органы и ткани больного при медицинских манипуляциях.

**Аскомицеты** (сумчатые грибы) – большая и разнообразная группа, составляющая отдел *Ascomycota* в царстве *Fungi*. Основным признаком аскомицетов – образование в результате кариогамии (слияния ядер) и

последующего мейоза половых спор (аскоспор) в особых структурах – сумках, или асках. Вегетативная стадия представлена хорошо развитым септированным (разделенным на перегородки) мицелием. Бесполое размножение осуществляется разнообразными по форме бесполоыми спорами – конидиями, вегетативное размножение – фрагментами мицелия. По форме и характеру развития плодовых тел, в которых развиваются сумки, отдел разделяют на несколько классов. В классе Архиаскомицеты (*Archiascomycetes*) сумки развиваются сразу после слияния половых клеток, плодовых тел не образуется. К порядку Сахаромицеты (*Saccharomycetales*) этого класса относятся дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, различные физиологические расы которых имеют чрезвычайно важное практическое значение (пекарские, пивные дрожжи). У группы (или класса, по разным представлениям) плектомицетов (*Plectomycetes*) плодовые тела, в которых развиваются сумки, образуются на поверхности мицелия. К этой группе относятся широко распространенные возбудители мучнистой росы растений (порядок *Erysiphales*) и половые стадии анаморфных грибов из родов пеницилл – *Penicillium* и аспергилл – *Aspergillus* (порядок *Eurotiales*), виды которых широко используются в биотехнологии как продуценты ферментов, антибиотиков и др. У группы пиреномицетов (*Pyrenomycetes*) плодовые тела в виде бутылковидных структур с отверстием на вершине – перитеции – образуются на поверхности мицелия. Сюда относят многие виды сапротрофов, обитающих на почве и субстратах органического происхождения, а также большую группу грибов – возбудителей болезней растений. У группы локуломицетов (*Loculomycetes*) сумки формируются в особых полостях – локулах, располагающихся на стромах, состоящих из плотно переплетенного мицелия. В группе дискомицетов (*Discomycetes*) плодовые тела – апотеции – в виде широко раскрытых чаш или дисков, внутренняя поверхность которых покрыта слоем сумок (гимением). Апотеции часто ярко окрашены и хорошо заметны на почве или опаде листьев в лесу (род *Peziza*). К этой группе относят сапротрофы на лесной подстилке – широко известные сморчки, строчки и трюфели. Виды аскомицетов часто развиваются только в бесполой, конидиальной стадии. У некоторых из них половое спороношение не установлено или потеряно. Виды аскомицетов с неизвестной половой стадией относят к группе анаморфных (несовершенных) грибов. Многие аскомицеты входят как микобионтный компонент в состав лишайников. Современная система лишайников построена на основе систематики аскомицетов.

**Аспергиллы** (*Aspergillus*) – род анаморфных грибов порядка *Eurotiales* класса Плекткомицеты (*Plectomycetes*). Сапротрофы, реже паразиты. Широко распространены в почве, где активно разрушают органические остатки. Многие из них образуют плесени на пищевых продуктах, вызывают разрушение промышленных изделий (ткани, кожи, пластмассы). *A. fumigatus* – возбудитель болезней человека и животных (аспергиллёзы). *A. flavus* развивается на плодах арахиса и различных кормах, образует афлатоксин. Аспергиллы используют в микробиологической промышленности в качестве продуцентов антибиотиков, ферментов, органических кислот.

**Аспергиллёз** – инфекционное заболевание (**микоз**) человека, птиц, вызываемое микроскопическими грибами рода *Aspergillus* (*A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*). Протекает с поражением главным образом легких, может принимать также форму тяжелого сепсиса с выходом возбудителя в кровь и лимфу.

**Аттенуация** – снижение вирулентности штаммов патогенных микроорганизмов различными способами, используется при изготовлении вакцин.

**Ауксотроф** – бактерия, которая утратила способность синтезировать какой-либо фермент и требует внесения в питательную среду определенных веществ, которые не способна синтезировать сама.

**Аутовакцина** – антигенный препарат для лечения, приготовленный из штаммов микроорганизмов, выделенных из организма данного больного.

**Аутоинфекция** – инфекция, вызванная микроорганизмами собственной микрофлоры пациента.

**Аутоτροφ** – бактерия, которая в качестве источника углерода и азота использует природные неорганические вещества (углекислый газ атмосферы, молекулярный азот, аммонийные соли, нитраты, нитриты и др.) для построения органических соединений собственной клетки.

**Аффинность** – прочность связи между антигеном и антителом.

**Ацидофилин** – кисломолочный продукт, получаемый заквашиванием пастеризованного молока **чистой культурой молочнокислых бактерий** *Lactobacillus acidophilus*. Обладает лечебными свойствами.

**Ацидофилы** – микроорганизмы, нормально развивающиеся на кислых средах (рН 2–4). **Облигатные** ацидофилы могут расти при значениях рН среды 1,0–5,0; **факультативные** – 1,0–9,0. К ацидофилам относятся **дрожжи, молочнокислые бактерии, тионовые бактерии** и некоторые другие.

**Аэрация** – подача воздуха при проведении аэробного выращивания микроорганизмов. Может осуществляться путем выращивания микро-

организмов на поверхности твердых, уплотненных, полужидких сред, в тонком слое жидких питательных сред, в жидких средах с активным перешиванием их на качалках или путем продувания воздуха через питательные среды.

**Аэробы** (от греч. *aer* – воздух и *bios* – жизнь) – микроорганизмы, использующие атмосферный кислород в качестве конечного акцептора электронов (водорода) при биологическом окислении. У аэробов пировиноградная кислота, образовавшаяся в результате гликолиза, окисляется в цикле трикарбоновых кислот (ЦТК), который вместе с тем обеспечивает снабжение микроорганизмов предшественниками для реакций биосинтеза. В ЦТК атомы водорода отщепляются от субстрата ферментами дегидрогеназами. В результате водородные атомы связываются с кислородом с образованием воды, но они не переносятся непосредственно на кислород, а передаются вдоль цепи молекул-переносчиков, которые образуют цепь переноса электронов, или дыхательную цепь. На последней ступени этой реакции, катализируемой цитохромоксидазой, ионы водорода связываются с молекулярным кислородом – конечным акцептором электронов. Образующаяся при этом токсичная для микробов перекись водорода расщепляется каталазой или пероксидазой. Перенос электронов вдоль дыхательной цепи сопряжен с образованием богатых энергией фосфатных связей в молекулах АТФ в результате окислительного фосфорилирования, которое у бактерий осуществляется в структурах, эквивалентных митохондриям, – мезосомах. Термин введен Пастером в 1861 году.

**Аэротаксис** – передвижение микроорганизмов к источнику кислорода (положительный аэротаксис) или от него (отрицательный аэротаксис). Положительный аэротаксис свойствен аэробам, отрицательный – анаэробам.

**Базидиомицеты** – широко распространенная и разнообразная по строению группа грибов, составляющая отдел Базидиомикота (*Basidiomycota*) в царстве *Fungi*. При половом процессе на мицелии базидиомицетов образуются специальные выросты – пряжки, в которых обособляются два гаплоидных ядра с разным половым знаком. После слияния ядер – кариогамии – диплоидное ядро в клетке, отделенной от мицелия, делится редуционно; в результате формируются четыре гаплоидных ядра, которые располагаются в разросшейся клетке – базидии. На последней появляются четыре выроста – стеригмы, куда переходят гаплоидные ядра, по одному в каждую. В результате на каждой стеригме образуется гаплоидная базидиоспора. На соответствующем субстрате две базидиоспоры сливаются, образуя дикарио-

тичный (двухъячеиный) мицелий. Органы размножения базидиомицетов – базидиоспоры с базидиями – погружены в плодовые тела, образованные мицелием гриба. Слой базидий, часто разделенный специальными стерильными клетками, называют гимением. Характерной особенностью мицелия базидиомицетов является наличие пряжек и так называемой долипоровой септы – перегородки между клетками, утолщающейся по направлению к поре, разделяющей отдельные клетки мицелия. Отдел Базидиомицота делят на три класса. Класс Урединиомицеты (*Urediniomycetes*) – ржавчинные грибы – отличается отсутствием плодовых тел, разделенной на четыре части базидией – фрагмобазидией. Сюда относятся облигатные паразиты растений – возбудители ржавчины многих культурных и диких видов. Класс Устилягиномицеты (*Ustilaginomycetes*) – головневые грибы. Виды головневых не образуют плодовых тел. Размножаются темноокрашенными, толстостенными телиоспорами. Гаплоидные базидиоспоры, формирующиеся на базидии, могут давать дрожжеподобный рост на поверхности растений и на некоторых искусственных средах. К головневым относятся возбудители головни многих растений. Наиболее широко известная группа базидиомицетов входит в класс Базидиомицеты (*Basidiomycetes*), который состоит из нескольких порядков. К настоящим базидиомицетам, отличающимся крупными, хорошо заметными плодовыми телами, относятся хорошо известные ядовитые и съедобные виды грибов, в том числе культивируемые искусственно (шампиньон, вешенка, шиитаке). Плодовые тела этих базидиомицетов разнообразной формы, консистенции, окраски и размеров (от нескольких миллиметров до 1,5 м). Многие из них – микоризообразователи, а также сапротрофы – разрушители древесины и растительного опада.

**Бактерии** (от греч. *bacteria* – палочка) – одноклеточные организмы, характеризующиеся разнообразной формой и довольно сложной структурой, отвечающей многообразию их функциональной деятельности. Термин «бактерия» употребляется для обозначения всех одноклеточных микроорганизмов, относящихся к шизомицетам, и в более узком смысле – для наименования беспоровых палочковидных форм. Бактерии бывают различной формы: шаровидные – кокки, палочковидные – собственно бактерии или бациллы, извитые – вибрионы и спираиллы. Размножаются простым поперечным делением. Бактерии являются гаплоидными клетками. В состав бактериальной клетки входит капсула, клеточная стенка, цитоплазматическая мембрана, цитоплазма, где располагаются мезосомы, рибосомы, нуклеоид, и включе-

ния. Некоторые бактериальные клетки имеют жгутики и образуют споры. В отличие от животных клеток такие внутренние структуры бактериальной клетки, как мезосомы, рибосомы, нуклеоид, не имеют мембран, отграничивающих их от цитоплазмы. По способу питания бактерии делят на автотрофов и гетеротрофов, по способу дыхания – на аэробов и анаэробов.

**Бактерии группы кишечной палочки (БГКП)** – бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, включающего ряд родов (*Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Shigella* и др.) – типичных обитателей кишечника животных и человека. При значительном разнообразии они обладают некоторыми общими свойствами – грамотрицательные палочки, активно подвижные, спор не образуют. Факультативные анаэробы, способны получать энергию как в процессе дыхания, так и в результате смешанного (муравьинокислого) брожения. В отношении питания нетребовательны – растут на простых синтетических средах, содержащих глюкозу, аммоний и минеральные соли. Имеют большое значение для эпидемиологии как возбудители ряда болезней (дизентерия, холера, чума и др.), а также для разного рода экспериментальных исследований. Типичным и наиболее хорошо изученным представителем бактерий кишечной группы является кишечная палочка (*Escherichia coli*), поэтому в санитарной микробиологии всю группу называют бактериями группы кишечной палочки.

**Бактерии клубеньковые** – бактерии родов *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Sinorhizobium*, азотфиксирующие симбиотические бактерии, образующие клубеньки на корнях бобовых растений – симбионтов. Внутри клубеньков бактерии клубеньковые фиксируют азот, переводя его в соединения, усваиваемые растениями, которые, в свою очередь, обеспечивают бактерии питательными веществами. В чистой культуре бактерии клубеньковые палочковидной формы, подвижны, аэробы и факультативные анаэробы. В клубеньках меняют свою форму, образуя бактериоиды, интенсивно связывающие клубеньки с активными бактериями. Клубеньки содержат леггемоглобин, обеспечивающий анаэробные условия процесса азотфиксации и окрашивающий их в розовый цвет. Вне бобовых растений бактерии клубеньковые могут жить как сапротрофы. В настоящее время все представители рода *Rhizobium* отнесены к двум видам – *Rh. Meliloti* и *Rh. leguminosarum*. Чистые культуры бактерий клубеньковых используют для производства бактериальных удобрений (например, нитрагина).

**Бактерии молочнокислые** – бактерии родов *Lactobacillus*, *Streptococcus* и др., при сбраживании углеводов образуют молочную кислоту. Факультативные анаэробы, грамположительные палочки и кокки, спор не образуют. Растут только на сложных питательных средах. Ауксотрофы по большинству аминокислот и витаминов. Ацидофилы. Встречаются в молоке и молочных продуктах, на растениях и разлагающихся растительных остатках, в кишечнике человека и животных. Могут осуществлять гомоферментативное и гетероферментативное молочнокислое брожение. Участвуют в процессах силосования кормов, квашения капусты, используются в производстве кисломолочных продуктов, молочной кислоты, декстранов.

**Бактерии пропионовокислые** – бактерии рода *Propionibacterium* и др., сбраживающие углеводы с образованием пропионовой, уксусной кислот. Обитатели рубца и кишечника жвачных. Используются в производстве некоторых сортов сыра, а также как продуценты витамина B<sub>6</sub>.

**Бактерии пурпурные** – группа фототрофных бактерий. По морфологии кокки, палочки и извитые формы, неподвижные и подвижные за счет жгутиков, грамотрицательные. Размножаются делением и почкованием. Содержат бактериохлорофилл *a*, реже – бактериохлорофилл *b*, каротиноиды (ликопин, спириллоксантин и др.). Культуры бактерий пурпурных имеют обычно розовую, кроваво-красную окраску, за счет чего получили свое название. Осуществляют аноксигенный фотосинтез, в качестве донора электронов используют преимущественно органические соединения (пурпурные несерные бактерии) или сероводород, тиосульфат, сульфит, серу, водород (пурпурные серные бактерии). Ассимилируют на свету углекислоту через цикл Кальвина, а также ацетат, пируват и другие органические соединения. Пурпурные серные бактерии (семейства *Chromatiaceae* и *Ectothiorhodaceae*) хорошо растут в фотоавтотрофных условиях, пурпурные несерные (семейство *Rhodospirillaceae*) предпочитают фотогетеротрофные условия. Анаэробы и факультативные анаэробы. Многие виды фиксируют молекулярный азот и выделяют водород. Некоторые растут в темноте. Известно более пяти видов бактерий пурпурных. Распространены в пресных и соленых водоемах, некоторые виды – экстремальные галофилы. Роль в природе – создание органического вещества, участие в биогеохимических циклах серы, азота, углерода. Широко используются для изучения механизмов фотосинтеза.

**Бактерии сапротрофные** (устаревшее название – сапрофитные) – бактерии, превращающие органические вещества отмерших организмов в неорганические, обеспечивая круговорот веществ в природе. Термин используется для противопоставления понятию «паразитиче-

ское существование бактерий». Для обозначения типа питания бактерий чаще используют термин «гетеротрофные бактерии».

**Бактерии светящиеся** – хемоорганотрофные бактерии, способные к биолюминесценции (роды *Photobacterium*, *Benickea*) в присутствии кислорода. Обычно морские формы.

**Бактерии спорообразующие** – бактерии, обладающие способностью образовывать термоустойчивые споры при наступлении неблагоприятных для роста условий. Аэробные и факультативно аэробные. Бактерии спорообразующие относят к родам *Bacillus*, *Sporosarcina*, *Sporolactobacillus*; анаэробные – к родам *Clostridium*, *Desulfotomaculum*.

**Бактерии стебельковые** – бактерии, образующие выросты (стебельки), за счет которых они прикрепляются к субстрату. Водные формы. Примером служат представители рода *Caulobacter*.

**Бактерии сульфатредуцирующие, бактерии сульфатовосстанавливающие, сульфатредукторы** – физиологическая группа бактерий, восстанавливающих сульфат до сероводорода в анаэробных условиях. Сульфат используется ими как акцептор водорода, донором электронов служат органические соединения – лактат, ацетат, пропионат, бутират, формиат, этанол, высшие жирные кислоты, а также молекулярный водород. По степени усвоения органики различают две группы бактерий сульфатредуцирующих. Первые используют органические кислоты с выделением в среду ацетата (спорообразующие виды рода *Desulfotomaculum* и неспорообразующие рода *Desulfovibrio*). Вторые способны полностью окислять органические соединения; некоторые даже способны к хемоавтотрофному существованию (*Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfosarcina*, *Desulfonema*). В природе бактерии сульфатредуцирующие обитают в сероводородном иле, где проходит анаэробный распад органики. Участвуют в формировании месторождений серы. Вызывая анаэробную коррозию железа, наносят существенный вред трубопроводному транспорту.

**Бактерии уксуснокислые** – группа бактерий, способных образовывать органические кислоты путем неполного окисления сахаров или спиртов. В качестве конечного продукта образуют уксусную, гликолевую, глюконовую и другие кислоты. Подразделяются на две группы – *peroxydans* – накапливающие уксусную кислоту в качестве промежуточного продукта, но по мере исчерпания исходного субстрата окисляющие ее далее до углекислоты и воды (*Gluconobacter oxydans*), и *suboxydans*, у которых далее уксусная кислота не окисляется (*Acetobacter aceti*, *A. pasteurianum*). Бактерии уксуснокислые – грамотрицательные палочки, подвижны, живут обычно на растениях. Ацидофилы. Используются для получения пищевого уксуса на основе спир-



тосодержащих жидкостей, а также в процессе полусинтетического производства аскорбиновой кислоты из глюкозы.

**Бактерии целлюлозоразрушающие** – физиологическая группа бактерий, включающая представителей разных таксонов: клостридии, ряд актиномицетов, миксобактерии, некоторые псевдомонады, представители коринеформных бактерий, постоянные обитатели желудка жвачных, относящиеся к родам *Ruminococcus*, *Bacteroides*, *Butyrivibrio* и др. Единственное общее свойство этих организмов – способность к ферментативному расщеплению целлюлозы. Ее разложение осуществляется комплексом ферментов бактерий целлюлозоразрушающих, которые могут выделяться в окружающую среду или оставаться связанными с клеточной поверхностью. Конечный продукт расщепления целлюлозы – глюкоза – утилизируется аэробными организмами по пути гликолиз – ЦТК, с дальнейшей утилизацией восстановителей в дыхательной цепи с кислородом в качестве терминального акцептора водорода. Анаэробное превращение глюкозы осуществляется броуидильщиками с образованием большого числа органических соединений. Участвуя в деградации самого масштабного природного соединения – целлюлозы, бактерии целлюлозоразрушающие играют важнейшую роль в круговороте веществ в биосфере. Бактериозы – обобщенное название болезней растений, вызываемых бактериями. К фитопатогенным бактериям относятся некоторые псевдомонады, бациллы, микобактерии и др.

**Бактериemia** – присутствие микроорганизмов в крови.

**Бактерионоситель** – макроорганизм, в котором находят патогенные микробы на фоне отсутствия клинических проявлений инфекции и патологических изменений в органах и тканях.

**Бактериофаг** – вирус бактерий.

**Бактериоскопия** – исследование бактерий с помощью микроскопа.

**Бактерицидность** – способность физических (температура, ионизирующее излучение), химических (спирты, фенол, соединения ртути и др.), биологических (например, лизоцим) факторов вызывать гибель бактерий.

**Бациллы** (лат. *Bacillus*) – обширный (около 217 видов) род грамположительных палочковидных бактерий, образующих внутриклеточные споры. Большинство бацилл – почвенные редуценты. Некоторые бациллы вызывают болезни животных и человека, например сибирскую язву, токсикоинфекции (*Bacillus cereus*). Типовой вид – сенная палочка (*Bacillus subtilis*).

**Биосреда** – среда, создаваемая или видоизменяемая сообществом организмов. Как правило, определяется небольшим числом видов-детерминантов.

**Биологический метод** (борьбы с вредителями, сорными растениями и болезнями) – использование «врагов наших врагов», т. е. организмов, которые могут подавлять сорняки, насекомых, клещей и т. д. При биометодом используют насекомых, патогенные грибы, микроорганизмы, а также птиц (в первую очередь для защиты садов). Применяют также различные отвары из растений, отпугивающих насекомых (из ботвы помидоров, чеснока, полыни горькой), или высевают совместно с защищаемыми растениями дополнительную культуру, выделения которой неблагоприятно действуют на вредителей (например, посадки чеснока в междурядьях земляники снижают ее заражаемость серой гнилью).

**Биолюминесценция** – видимое свечение живых организмов (бактерий, грибов, беспозвоночных и др.). В основе биолюминесценции лежит ферментативное окисление особых веществ – люциферинов. Для осуществления биолюминесценции (например, у светляков) помимо люциферина и фермента люциферазы необходимы также кислород, АТФ и ионы магния. За счет АТФ образуется люциферинаденилат, который затем связывается люциферазой. При окислении кислородом происходит распад комплекса и продукт этой реакции – аденилат – испускает свет. Люциферины и люциферазы у различных биологических видов неидентичны. В некоторых случаях биолюминесценция не связана с люциферин-люциферазной реакцией.

**Биофильтр** – сооружение для биологической очистки сточных вод, обычно с активной аэрацией. Представляет собой резервуар, наполненный крупнозернистым фильтрующим материалом (шлак, гравий, керамзит) или имеющий специальное подвижное устройство с множеством пластин, дисков и т. п. Сточная вода, проходя через фильтрующий материал, образует на его поверхности биопленку из скоплений микроорганизмов, минерализующих органические вещества сточных вод. Биофильтр используется также для очистки газовых выбросов в промышленности. В этом случае развитие микроорганизмов происходит на увлажненных камышовых или соломенных матах, уложенных в короба, через которые продуваются отработанные газы перед выпуском их в атмосферу.

**Биоценоз** – совокупность животных, растений и микроорганизмов, населяющих участок среды обитания с более или менее однородными условиями жизни, например, животные, растения и микроорганизмы того или иного озера, луга, береговой полосы.

**Брожение** – процесс диссимиляции микроорганизмами органических веществ, как правило, углеводов; протекает с освобождением энергии как в аэробных, так и в анаэробных условиях. В процессе брожения образуются такие органические кислоты, как молочная, муравьиная, уксусная и др., а также этиловый, пропиловый спирты, глицерин и другие вещества. Типы брожения обычно именуется по продуктам, которые образуются: молочнокислое, уксуснокислое, спиртовое и т. п. Образующиеся в процессе брожения продукты и энергия расходуются микробами для различных биосинтетических целей. Одним из видов брожения является гликолиз. Многие виды брожения используются в пищевой и микробиологической промышленности для получения спиртов, органических кислот и других веществ. Микробная природа брожения была открыта Пастером в 1857 году.

**Бокс** – камера для работы в стерильных или каких-либо специальных условиях.

**Вид** – таксономическая категория в систематике микроорганизмов.

**Вирионы** – инфекционные агенты, не имеющие белковой оболочки и состоящие из молекулы РНК.

**Вирулентность** – степень, мера патогенности бактерий. Количественным выражением вирулентности являются: ДЛМ – минимальная смертельная (летальная) доза, ЛД<sub>50</sub> – летальная доза, вызывающая гибель 50 % подопытных животных

**Витамины** – низкомолекулярные органические соединения различной химической природы, необходимые в небольших количествах для нормального обмена веществ и жизнедеятельности живых организмов. Многие витамины – предшественники коферментов, в составе которых участвуют в различных ферментативных реакциях. Животные и человек получают витамины в готовом виде обычно из растительной пищи или за счет микрофлоры кишечника. Витамины, используемые как лекарственные препараты (витамины группы В, бета-каротин и др.), получают как химическим, так и микробиологическим путем.

**Включения клеточные** – непостоянные осмотически нейтральные (водонерастворимые) образования (гранулы, капли) в цитоплазме клетки. Являются продуктами обмена или запасными конструктивными и энергетическими веществами (крахмал, гликоген, жир, сера, волютин, соединения железа, пигменты и др.).

**Воды сточные** – воды, бывшие в производственном, бытовом или сельскохозяйственном употреблении, а также прошедшие через какую-либо загрязненную территорию, в том числе населенного пункта (промышленные, сельскохозяйственные, коммунально-бытовые, лив-

невые и тому подобные стоки); воды, отводимые после использования в бытовой и производственной деятельности человека. Каждый кубометр сточных вод загрязняет 60 м<sup>3</sup> чистой воды.

**Галофильные микроорганизмы** (галофилы или галобактерии) – обобщенное название группы организмов, обитающих в средах с высокими концентрациями солей. Большинство микробов обитает в средах с 0,5–3%-ной концентрацией солей. При концентрации солей ниже 0,5 % у них наступает плазмолиз, выше 3 % – плазмолиз. У пресноводных микробов нижняя граница роста может опускаться до 0,05 %. Другие микробы могут размножаться в зоне концентрации солей от 0,5 до 7–15 % (например, вибрионы, стафилококки). Их называют галотолерантными. Галофильные микроорганизмы растут при концентрациях солей в 20–30 %. Для них характерны иная структура клеточной стенки (отсутствие пептидогликана и др.), медленные темпы размножения, малая плотность популяции, медленно протекающие процессы биосинтеза и биodeградации. Обитают в засоленных почвах, соленых озерах, морях, соленой рыбе.

**Ген** – наименьший участок ДНК, обеспечивающий передачу признаков потомству (единица наследственности).

**Геном** – совокупность всех генов клетки.

**Генетическая рекомбинация** (трансформация, трансдукция, конъюгация) – образование нового генома из генетического материала двух особей с появлением особи, имеющей признаки обоих родителей.

**Генотип** (от греч. *genos* – рождение и *typos* – отпечаток, образ) – совокупность генов, определяющих наследственную основу всех организмов, в том числе и микробов. Генотип проявляется в фенотипе в виде определенных признаков, у микроорганизмов – в способности к образованию жгутиков, капсулы, ферментации углеводов, образованию токсинов и т. д. При этом микробная клетка и вирус наследуют не признак как таковой, а потенциальную способность к проявлению этого признака, которая зависит от конкретных условий внешней среды. Термин предложен Иогансеном в 1909 году.

**Гетеротрофы** (от греч. *heteros* – другой, *trophe* – питание; буквальный перевод – питаемый другими) – микроорганизмы, усваивающие углерод из органических соединений. Такими соединениями могут быть углеводы, белки, жиры, а также метан, углеводороды нефти и др. К гетеротрофам относятся гнилостные бактерии, грибы, дрожжи и другие сапрофиты, широко распространенные в почве. Они играют ведущую роль при разложении органических останков. К этой же группе относятся и паразиты, которые усваивают углерод не только из

мертвых органических останков или продуктов обмена, но и из тканей живых растений и животных. К последним относятся патогенные микроорганизмы. Подавляющее большинство гетеротрофов получают энергию за счет окислительных процессов.

**Гиперчувствительность** – повышенная чувствительность к антигенам (аллергенам). Выделяют гиперчувствительность замедленного (обеспечивается клетками иммунной системы) и немедленного (обеспечивается антителами) типов.

**Гифы** – микроскопические ветвящиеся нити, образующие вегетативное тело гриба – таллом. Вся совокупность гиф грибного таллома называется мицелием. Толщина гиф составляет от 0 до 30 мкм. Обладают верхушечным (апикальным) ростом. У низших грибов гифы не имеют поперечных перегородок и мицелий представляет собой одну крупную клетку. Химический состав оболочек гиф различен в разных систематических группах – хитин, целлюлоза, глюкан. Среди прокариотных организмов гифы образуют гифомикробы и актиномицеты, у последних формируется субстратный или воздушный мицелий, подобный грибному.

**Гнотобиоты** – животные, свободные от микроорганизмов, получаемые и выращиваемые в стерильных условиях для экспериментальной работы. Гнотобиотами называют также стерильных животных, специально зараженных определенными видами микроорганизмов. Первые работы по получению гнотобиотов проводились еще Л. Пастером в 1885 году, но масштабные исследования начались только в 40–60-х годах XX века. Трудности в получении гнотобиотов заключаются в сложности создания искусственных условий стерильного содержания животных (стерильные полноценные диеты, стерильный воздух и т. д.). Гнотобиотов первого поколения получают путем стерильного извлечения плода из матки или путем инкубации обеззараженных яиц насекомых, птиц и др. с последующим выращиванием в специальных изоляторах. Они отличаются от обычных животных (с нормальной микрофлорой) характерными особенностями строения и функциональной активности некоторых органов и тканей, прежде всего тех, которые в естественных условиях находятся в прямом контакте с микроорганизмами. Знание особенностей гнотобиотов важно для изучения формирования иммунитета, механизмов взаимодействия микро- и макроорганизмов, физиологии пищеварения, инфекционной патологии и др. в строго контролируемых условиях. Использование гнотобиотов (морских свинок, мышей, кроликов, поросят, телят, овец и других животных) в различных областях экспериментальной биологии и медицины

привело к формированию самостоятельного направления – гнотобиологии. Гнотобиологические методы используют в клинической медицине, микробиологии, вирусологии, иммунологии, а также в производстве высокоспецифичных диагностических сывороток.

**Дезинфекция** – комплекс мер по уничтожению возбудителей инфекционных заболеваний человека и животных с применением антимикробных средств. Термин употребляется главным образом в гигиене, санитарии.

**Денитрификация** – микробиологический процесс восстановления окисленных соединений азота (нитратов, нитритов) до газообразных продуктов (обычно до  $N_2$ , иногда до  $N_2O$ , редко до  $NO$ ). Происходит в результате жизнедеятельности бактерий родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Paracoccus* и др. – факультативных анаэробов, использующих в отсутствие кислорода нитраты и нитриты в качестве конечных акцепторов электронов (анаэробное дыхание, нитратное дыхание). При этом бактерии окисляют органические и неорганические вещества. В ходе денитрификации связанный азот удаляется из почвы и воды с освобождением  $N_2$  в атмосферу. Процесс активно протекает в затопляемых почвах и может служить причиной потерь азота в земледелии. Денитрификация замыкает цикл азота в биосфере и препятствует накоплению оксидов азота, которые в высоких концентрациях токсичны. Важный процесс в очистке сточных вод от нитратов, обеспечивает также постоянное содержание  $NO$  в атмосфере Земли.

**Диауксия** – явление двуциклического роста микробной популяции на несменяемой среде, содержащей смесь питательных веществ. Вследствие поочередного использования субстратов кривая роста при этом имеет две и более начальные фазы (лаг-фазы), что отражает индукционный характер синтеза ферментов микроорганизмами.

**Дисбактериоз** (дисбиоз) – состояние, при котором происходят изменения в качественном и количественном составе нормальной микрофлоры определенного биотопа макроорганизма.

**Дрожжи** – сборная группа микроскопических грибов (размеры от 1,5–2,0 до 10–12 мкм), не имеющих типичного мицелия. Размножаются делением или почкованием. Известно около 500 видов. Дрожжи – гетеротрофы с окислительным или броидильным типом метаболизма. Обитают на плодах, ягодах растений, в почве. Широко используются в научных исследованиях как модели эукариотических клеток, а также в пищевой (пивоварение, хлебопечение, виноделие и др.) и микробиологической промышленности (производство БВК, этанола, глицерина и др.).

**Дрожжи верховые** – специальные штаммы дрожжей, преимущественно рода *Saccharomyces*, отличающиеся активным брожением с обильным образованием диоксида углерода и этанола. При этом на поверхности бродящей жидкости образуется пена, содержащая большое количество клеток дрожжей (отсюда название). Используются дрожжи верховые в хлебопечении, спиртовом производстве, в приготовлении светлых сортов пива.

**Дрожжи низовые** – специальные штаммы и расы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, отличающиеся медленными процессами дыхания и брожения, в результате чего их клетки оседают на дно бродильных чанов. Применяются для производства ряда сортов пива.

**Дрожжи пекарские, дрожжи пекарные** – специальные расы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, используемые в хлебопечении. Отличаются энергичным брожением. В результате обильное образование  $\text{CO}_2$  приводит к поднятию теста. Кроме того, дрожжи пекарские должны обладать приятным вкусом и запахом.

**Желатин** – продукт денатурации белка коллагена. Получают желатин вывариванием костей, хрящей, копыт животных. В микробиологической практике применяют для приготовления твердых сред, добавляя к ним в количестве 10–15 %. Такие среды плавятся при температуре 25–30 °С, застывают при температуре 23 °С. Среды с желатином применяют для определения протеолитической активности микроорганизмов, что в медицинской микробиологии используется при идентификации ряда бактерий – рост бактерий, обладающих протеолитической активностью, сопровождается разжижением среды.

**Железобактерии** – сборная группа прокариотных микроорганизмов, способных отлагать (обычно в слизистой капсуле) оксид железа (III). Истинные железобактерии – обитатели кислых вод, типичные литотрофы (*Thiobacillus ferrooxidans*, *Leptospira ferrooxidans*) – получают энергию для автотрофной ассимиляции  $\text{CO}_2$  за счет окисления двухвалентного железа до трехвалентного. Другие железобактерии – органотрофные организмы с различным таксономическим положением. Процесс отложения ими оксидов железа связан с разрушением органического вещества среды обитания. Нитчатые железобактерии (*Leptothrix*, *Sphaerotilus*, *Gallionella*) участвуют в образовании болотных железных руд; некоторые приносят вред, засоряя водопроводные трубы. Благодаря способности разлагать сульфиды металлов железобактерии используются при выщелачивании руд. Некоторые железобактерии (*Metallogenium*) способны отлагать в капсуле также оксиды марганца.

**Закваски** – чистые и смешанные культуры молочнокислых бактерий (нередко вместе с дрожжами), используемые в качестве стартовых культур при приготовлении кисломолочных продуктов (например, ацидофилина, кефира) из пастеризованного молока. Сохраняют закваски в виде растущих, лиофилизированных или замороженных культур. В промышленности термин используется как синоним инокулята.

**Запасные вещества** – осмотически инертные включения клеток микроорганизмов (полисахариды, жиры, полифосфаты и др.), образующиеся при ограничении роста клеток из-за недостатка отдельных компонентов питания или наличия ингибиторов. Полисахариды, жиры могут продлевать жизнь клетки в отсутствие внешних источников энергии (эндогенный метаболизм). За счет запасных веществ может происходить образование спор у спорообразующих бактерий.

**Идентификация** – определение таксономического положения организма (микроорганизма) на основании его морфологических, культуральных, биохимических и других свойств.

**Изменчивость популяционная** – изменчивость, которая возникает как следствие конкурентных отношений, складывающихся в популяции бактерий между особями с различными генотипами. При этом происходит селективный отбор мутантных особей, потомство которых будет составлять все увеличивающуюся часть популяции, в результате чего изменяется генотипический состав и фенотипические свойства популяции в целом.

**Ил активный** – масса, образующаяся в аэрируемых сточных водах. Представляет собой суспензию твердых веществ с огромным количеством аэробных микроорганизмов, способных энергично окислять растворенные органические вещества. Микробное население ила активного – естественно формирующиеся ассоциации микроорганизмов разных видов, заключенные в общую слизистую полисахаридную массу, образуемую бактериями *Zoogloea ramigera*. Помимо образующих слизь бактерий, в иле активном обычно присутствуют представители родов *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Alcaligenes*, а также различные простейшие. Слизистое вещество ила активного обеспечивает его высокую адсорбирующую способность, в результате чего из проходящих через ил активный сточных вод быстро удаляются коллоидные вещества, бактерии (в том числе болезнетворные), красящие вещества, летучие ароматические соединения, соли тяжелых металлов и происходит осветление жидкости. Масса ила активного в процессе очистки стоков постоянно нарастает, поэтому проводится его удаление из аэра-



торов. Часть ила активного оставляют в качестве «закваски» для поддержания непрерывности процесса очистки.

**Иммерсионное масло** – кедровое масло с показателем преломления, близким к таковому стекла ( $n = 1,5$ ). Используется в микроскопии с целью увеличения числовой апертуры объектива за счет уменьшения потерь света при преломлении и отражении.

**Инвазивность** – фактор патогенности, обеспечивающий проникновение и распространение патогенных микроорганизмов в макроорганизме.

**Ингибирование** (от лат. *inhibitio* – удерживание, останавливание) – торможение (полное или частичное) какого-либо процесса с помощью различных ингибиторов.

**Ингибиторы** (от лат. *inhibitio* – удерживание, останавливание) – вещества, подавляющие какое-либо звено в метаболизме микробов, животных или растительных клеток. Применяются для ингибиторного анализа при изучении обмена веществ разных микроорганизмов и биосинтеза вирусов. К ингибиторам относятся антибиотики, сульфаниламиды и другие антиметаболиты, цианиды и другие соединения.

**Инкубация** – выдерживание микробной системы при определенной температуре и других условиях в течение определенного времени.

**Инокулят, посевной материал** – суспензия живых клеток, вводимая в питательную среду с целью получить новую культуру микроорганизма. Для получения жидких культур объем инокулята составляет обычно 4–10 % объема питательной среды.

**Источник инфекции** – источник возбудителей заболевания (инфицированный человек, животное или растение), от которого патогенные микроорганизмы передаются восприимчивому организму.

**Катастрофа экологическая** – природная аномалия (длительная засуха, массовый мор скота и т. п.), нередко возникающая в результате прямого или косвенного воздействия хозяйственной деятельности человека на природные процессы, приводящая к неблагоприятным экологическим последствиям или даже гибели населения определенного региона; авария технического устройства (атомной электростанции, танкера и т. п.), приведшая к остронеприятным изменениям в природной среде и, как правило, к массовой гибели живых организмов.

**Кислотоустойчивость** – способность бактерий удерживать красители после обработки фиксированных окрашенных препаратов соляной или серной кислотой. Обусловлена высоким содержанием восков у этих организмов. Свойство кислотоустойчивости используется для диагностики патогенных микобактерий.

**Кишечная палочка** (*Escherichia coli*) – колибактерия, граммотрицательная бактерия семейства *Enterobacteriaceae*. Палочка со слегка закругленными концами (0,4–0,8×1–3 мкм), спор не образует, подвижна, факультативный анаэроб. Сбраживает глюкозу, лактозу и другие углеводы. Кишечная палочка – один из наиболее обычных представителей нормальной кишечной микрофлоры млекопитающих. Выделяется с фекалиями в окружающую среду. Присутствие кишечной палочки в исследуемых пробах почвы, воды свидетельствует об их фекальном загрязнении. Классический объект микробиологических и молекулярно-генетических исследований. Используется в биотехнологии для получения интерферона, инсулина и как продуцент некоторых ферментов.

**Клон** – потомство одной клетки.

**Комменсализм** – форма сосуществования микроорганизмов, при которой один из видов извлекает пользу для себя, не причиняя вреда другим членам сообщества.

**Коли-индекс** – число клеток *Escherichia coli* в литре воды или килограмме твердого субстрата (например, почвы), показатель загрязнения водоемов, почв хозяйственно-бытовыми сточными водами. Обратная величина коли-индекса – коли-титр. По действующему стандарту на питьевую воду ее коли-индекс должен составлять не более 3, а коли-титр – соответственно не менее 300.

**Колония** – микробные клетки одного вида, выросшие в большинстве случаев из одной клетки в виде изолированного скопления на плотной питательной среде.

**Колонии** – видимые невооруженным глазом скопления клеток или мицелия, образуемые в процессе роста и размножения микроорганизмов на (или в) плотном питательном субстрате. Различаются у разных организмов по размеру, характеру поверхности, консистенции, окраске, что, в свою очередь, зависит от размеров клеток, наличия жгутиков, спор, капсулы. В естественных условиях колонии возникают на поверхности пищевых продуктов, на почве, гниющих остатках растений и т. п. В лабораторных условиях колонии получают при посеве микроорганизмов на агаризованные и другие твердые питательные среды. Характеристику колоний учитывают при определении вида микроорганизма.

**Колориметр** – прибор для определения концентрации веществ в растворах. Позволяет устанавливать оптическую плотность окрашенных растворов, которая зависит от концентрации в них вещества.

С известными ограничениями колориметр используют в микробиологической практике для определения числа клеток в микробных культурах. Колориметры, имеющие устройство для плавного изменения длины волны, при которой измеряется оптическая плотность раствора, носят название «спектрофотометры». Спектрофотометры позволяют замерять оптическую плотность растворов в широком диапазоне длин волн (от 100 до 1200 нм).

**Красители** – химические вещества, окрашивающие различные структурные компоненты клеток. Используются для микроскопического изучения морфологии и цитологии микроорганизмов. Обычно красители представляют собой соли двух типов: 1) кислые красители (например, эозин), у которых ион, придающий окраску, является анионом и взаимодействует с основными (цитоплазматическими) структурами клетки; 2) основные красители, взаимодействующие с кислыми (преимущественно ядерными) структурами клетки. Перед окрашиванием клетки обычно убивают (фиксируют). В микробиологической практике чаще всего применяют основные анилиновые красители – метиленовый синий, кристаллический фиолетовый, основной фуксин и др.

**Культивирование микроорганизмов** – создание искусственных условий для поддержания процессов жизнедеятельности и размножения микробов *in vitro*. С этой целью используют питательные (культуральные) среды. Для получения микроорганизмов или продуктов их жизнедеятельности в промышленных масштабах используют методы глубинного и непрерывного культивирования.

**Культивирование микроорганизмов глубинное** – выращивание микроорганизмов в условиях постоянной аэрации жидкой питательной среды. Это достигается с помощью специальных устройств (барботеров), через которые пропускают стерильный воздух. Для повышения эффективности аэрации среда одновременно перемешивается мешалкой. Для глубинного культивирования микробов используются ферментеры разного объема. При непрерывной аэрации и перемешивании среды каждая клетка микробной культуры находится практически в одинаковых условиях. Это намного повышает накопление продуктов микробного метаболизма (антибиотиков), токсинов и др. и микробной массы, а также значительно сокращает время культивирования.

**Культивирование микроорганизмов непрерывное** – выращивание микробов в условиях постоянного обновления питательной среды в специальных аппаратах – хемостатах, которые снабжены устройствами для автоматической подачи свежей питательной среды и уда-

ления культуральной жидкости с продуктами метаболизма, а также для поддержания температуры и рН на постоянном уровне. Микробная популяция тем самым поддерживается необходимое время в логарифмической фазе роста, что значительно повышает выход микробной массы и продуктов метаболизма.

**Культура бактерий чистая** – скопление микробных клеток одного вида, выращенных на плотной или жидкой питательных средах. Чистые культуры получают из изолированных колоний путем их пересева в отдельные пробирки с питательной средой или из одной исходной микробной клетки, изолированной с помощью микроманипулятора. Выделение чистых культур бактерий необходимо для их идентификации, приготовления вакцин и других целей.

**Лизоцим** – фермент, вызывающий лизис бактерий путем разрушения пептидогликана клеточной стенки.

**Лишайники** – организмы, представляющие собой симбиоз гриба (микобионт) и водоросли (фикобионт). В лишайниках, по-видимому, не существует строгой избирательности между партнерами – гриб может существовать с разными видами водорослей, а водоросли – с разными грибами. Взаимоотношения гриба и водоросли в лишайнике рассматривали как пример мутуализма. В действительности они в значительной мере характеризуются паразитизмом со стороны гриба, который получает от водоросли не только продукты ее обмена, но и использует ее отмершие клетки.

**Макрофаги** – клетки системы мононуклеарных фагоцитов, обеспечивающие реакции фагоцитоза и презентации антигена Т-клеткам.

**Мезосомы** – структуры прокариот, образованные инвагинацией цитоплазматической мембраны в цитоплазму. Участвуют в процессах метаболизма в клетках.

**Мезофильные микроорганизмы** (мезофилы) – бактерии, оптимальная температура роста которых составляет 35–37 °С.

**Метабиоз** – тип взаимоотношений между микроорганизмами, при котором один вид создает благоприятные условия для жизни другого вида (аэробы – анаэробы).

**Метаболизм** (от греч. *metabole* – перемена, превращение) (**обмен веществ**) – в узком смысле слова промежуточный обмен, охватывающий всю совокупность реакций, главным образом ферментативных, протекающих в клетках и обеспечивающих как расщепление сложных соединений, так и их синтез и взаимопревращение. Определенная последовательность ферментативных превращений какого-либо вещества

в клетке называется метаболическим путем, а образующиеся промежуточные продукты – метаболитами.

**Метаболизм у микроорганизмов** – промежуточные превращения веществ в микробных клетках. Наиболее выражены в логарифмической фазе роста микробной культуры.

**Метаболиты** – соединения, участвующие в метаболических процессах.

**Механизм передачи инфекции** – способ передачи патогенного микроба от источника инфекции здоровому восприимчивому организму.

**Микозы** – заболевания, вызываемые патогенными грибами.

**Микоплазмы** – грамотрицательные микроорганизмы, которые не имеют ригидной клеточной стенки.

**Микроаэрофилы** – микроорганизмы, нуждающиеся в незначительном количестве молекулярного кислорода.

**Микробиота** (микрофлора) – совокупность различных видов микроорганизмов, населяющих определенную среду обитания (например, микрофлора почвы, воды, воздуха, горных пород и др.). По происхождению различают автохтонную микробиоту и аллохтонную микробиоту, по типу питания – эвтрофную, представляющую собой комплекс микроорганизмов, разлагающих органические вещества; олиготрофную микробиоту, или микробиоту рассеяния, завершающую минерализацию органического вещества; литотрофную микробиоту, трансформирующую минеральные соединения горных пород, газы. Микроорганизмы, развивающиеся на поверхности растений (эпифитная микрофлора), метаболизируют выделения из тканей. Кожа, слизистые оболочки, кишечник и другие органы человека и животных имеют постоянную, так называемую нормальную микрофлору. В значении микробиота использовался и используется термин «микрофлора», что не совсем корректно, поскольку бактерии, микроскопические грибы не относят в настоящее время к царству растений.

**Микрофлора нормальная** (нормофлора) – микробные ассоциации, обитающие в органах и тканях макроорганизма (биотопах). Различают нормофлору резидентную (аутохтонную) – постоянную для данного биотопа и транзиторную (аллохтонную) – непостоянную, занесенную из другого биотопа или внешней среды.

**Мицелий** – тело гриба, образованное скоплением гифов грибов.

**Мутуализм** (от лат. *mutuus* – взаимный, обоюдный) – форма симбиоза, при которой оба партнера получают пользу, причем относи-

тельно равную; форма совместного сосуществования организмов, когда оба партнера или один из них не могут жить без другого (например, термиты и живущие у них в кишечнике микроорганизмы).

**Мутагенные агенты** – факторы физической, химической или биологической природы, вызывающие мутации у микроорганизмов.

**Мутант** – микроорганизм, свойства которого в результате мутаций отличаются от родительских.

**Нитрификация** – процесс биологического окисления аммиака, образующегося при деградации органических веществ до нитрата. Происходит в аэробных условиях в воде и почве. Автотрофная нитрификация осуществляется последовательно двумя группами нитрифицирующих бактерий – нитрификаторы 1-й фазы (роды *Nitrosomonas*, *Nitrospira*, *Nitrosococcus*, *Nitrosolobus*) окисляют аммиак до нитрита:  $\text{NH}_4 + 2\text{O}_2 = \text{NO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$ ; затем нитрификаторы 2-й фазы (роды *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrococcus*) нитрит-ион окисляют в нитрат-ион:  $2\text{NO}_2 + \text{O}_2 = 2\text{NO}_3$ . Нитрифицирующие бактерии (выделены и описаны в 1890 году С. Н. Виноградским) – облигатные автотрофы, органические вещества не поддерживают их рост. Гетеротрофная нитрификация осуществляется различными организмами, включая грибы, связана с окислением не только аммиака, но и органических соединений азота. Нитрификация – основной путь образования нитрата в природе, играет важную роль в круговороте азота в биосфере.

**Ниша экологическая** – место вида в природе, включающее не только положение вида в пространстве, но и функциональную роль его в сообществе и положение его относительно абиотических условий существования (температуры, влажности и т. п.). Если место обитания – это как бы «адрес» организма, то ниша экологическая – его «профессия».

**Окраска бактерий по Граму** – метод дифференциальной окраски клеток прокариот, разработанный датским микробиологом Х. Грамом в 1884 году. Заключается в последовательной обработке мазка клеток основными красителями (например, кристаллическим фиолетовым) и иодом и последующем отмывании его в этаноле или ацетоне. В зависимости от свойств клеточной стенки бактерий красители могут удерживаться ими в разной степени. Бактерии, сохраняющие окраску после обработки растворителями, получили название грамположительных ( $\text{Gr}^+$ ), а обесцвечивающиеся – грамотрицательных ( $\text{Gr}^-$ ). Окраска бактерий по Граму – систематический признак. Разделение бактерий по этому признаку, как стало известно позднее, указывает на филогенети-

ческие взаимоотношения между разными группами прокариот, поскольку отражает различия не только в строении клеточной стенки бактерий, но и в структуре мембранного аппарата, составе рибосомальных белков, чувствительности к антибиотикам, а также частично согласуется с дифференцировкой по функциям (фототрофия, хемоавтотрофия и др.). Встречаются организмы с вариабельной реакцией на окраску бактерий по Граму.

**Оомицеты** – группа видов отдела Оомикота (*Oomycota*) в царстве Хромиста (*Chromista*). По современным представлениям в это царство включены организмы, имеющие своеобразную структуру митохондрий, перистые жгутики с трехчленными жгутиковыми волосками, или мастигонемами, и отличающиеся от грибов по структуре ДНК. Их клеточная стенка чаще содержит целлюлозу и  $\beta$ -глюкан, в ней отсутствует хитин. Виды отдела Оомикота, в настоящее время трактуемые как грибоподобные организмы, или псевдогрибы, помещены в царство *Chromista* наряду с бурыми, золотистыми и желто-зелеными водорослями, а также некоторыми протистами. Грибы, входящие в эти отделы, интерпретируются как вторично бесцветные, потерявшие хлорофилл организмы. Большинство представителей отдела Оомикота адаптированы к существованию в водной среде. Они характеризуются наличием спор полового размножения, называемых ооспорами, и подвижных спор бесполого размножения – зооспор – с одним или двумя жгутиками. Хотя многие оомицеты относятся к агрессивным патогенам высших растений (возбудитель фитофтороза картофеля и томатов *Phytophthora infestans*), по происхождению и особенностям развития они более близки к водорослям, чем к грибам.

**Опportunистические микробы** – условно-патогенные (потенциально-патогенные) микроорганизмы, которые вступают с организмом человека в одних случаях в отношения симбиоза, комменсализма и (или) нейтрализма, в других – в конкурентные отношения, нередко приводящие к развитию заболевания. Условно-патогенные микроорганизмы встречаются среди бактерий, грибов, простейших и, вероятно, вирусов.

**Орнитозы** – инфекционные заболевания птиц, животных, человека, вызываемые хламидиями *Ch. psittaci* (порядок *Chlamydiales*). Заболевание человека протекает по типу пневмонии, гриппа, брюшного тифа. Заражение происходит от птиц при вдыхании высохшего помета, пуха, при разделке тушек.

**Очистка сточных вод** – одно из важнейших мероприятий охраны природы и окружающей среды от загрязнения. Очистка сточных вод производится разными способами: механическими (отстаивание, фильтрация, флотация), физико-химическими (коагуляция, нейтрализация, обработка хлором и т. д.) и биологическими (на полях орошения, в биологических бассейнах, биофильтрах).

**Паразиты** (от греч. *para* – при, *sitos* – пища) – гетеротрофные микроорганизмы, которые в процессе эволюции приобрели способность жить за счет живых тканей растений или животных, используя их аминокислоты, углеводы, витамины и другие соединения как источники питания или энергии. Паразиты могут быть облигатными, факультативными, внеклеточными и внутриклеточными.

**Паразиты облигатные** – микроорганизмы, полностью утратившие способность к сапрофитическому образу жизни и живущие за счет живых клеток. Высшей ступенью облигатного паразитизма является внутриклеточный паразитизм, свойственный некоторым патогенным простейшим, риккетсиям, микоплазмам, хламидозам и вирусам. Эти микроорганизмы характеризуются обеднением ферментных систем вплоть до полной их утраты вирусами.

**Паразиты факультативные** – микроорганизмы, которые в зависимости от условий окружающей среды ведут себя как сапрофиты или как паразиты. К ним относятся возбудители ботулизма, столбняка, газовой гангрены, кишечная палочка и др.

**Патогенность** (от греч. *pathos* – страдание, *genos* – происхождение) – потенциальная способность микробов вызывать инфекционный процесс у макроорганизмов определенного вида. Патогенность характеризует микробный вид, является качественной категорией и определяется его генотипом. Каждому патогенному виду микробов присущ свойственный только ему набор конкретных материальных субстратов – факторов патогенности, обеспечивающих выживаемость возбудителя в макроорганизме, его размножение и распространение в тканях и способность к активному биологическому воздействию на функции макроорганизма. К ним относятся структурные элементы микробной клетки, ферментные системы, бактериальные эндотоксины, а также метаболиты, выделяемые в среду, и экзотоксины бактерий. Таким образом, патогенность контролируется большей частью бактериального генома. Степень выраженности факторов патогенности у конкретных штаммов обуславливает их вирулентность, а у бактерий, продуцирующих экзотоксин, – токсигенность. Реализация микробом пато-



генности зависит как от восприимчивости (чувствительности) макроорганизма, так и от влияния факторов внешней среды. Патогенность характеризуется выраженной специфичностью, свойственной большинству возбудителей инфекционных болезней. Это определяется их биологическими особенностями, локализацией в организме, избирательным поражением тканей и органов.

**Пептон** – продукт неполного гидролиза белков, состоящий из аминокислот, дипептидов, трипептидов, а также водорастворимых полипептидов. В микробиологической практике применяется для приготовления некоторых питательных сред.

**Продукты метаболизма микроорганизмов** – включают микробные ферменты, продукты разложения субстратов окружающей среды, микробные токсины, антибиотические вещества, пигменты, бактерии и др. Многие продукты метаболизма микроорганизмов (продукты брожения, антибиотики и др.) нашли широкое практическое применение. Обнаружение таких продуктов метаболизма, как ферментов, индола, аммиака, сероводорода и др., используется для идентификации микроорганизмов.

**Протопласты** – микроорганизмы, полностью лишённые клеточной стенки в результате разрушения пептидогликана под действием лизоцима, антибиотиков и других факторов.

**Прототрофы** – микроорганизмы, способные самостоятельно синтезировать все необходимые им органические соединения.

**Простейшие** – одноклеточные животные организмы, имеющие дифференцированное ядро, вакуоли (пищеварительные, сократительные) и различные включения. Патогенные простейшие относятся к четырем классам: жгутиковые, саркодовые, споровики, ресничатые. Простейшие обитают в самых различных средах: пресных и солёных водах, почве, в теле других организмов. Обязательное условие жизни простейших – наличие жидкой среды (вода, влага почвы, кровь, тканевая жидкость).

**Протеазы (протеолитические ферменты)** – большая группа ферментов, избирательно или неспецифически катализирующих гидролитическое расщепление пептидных связей в белках и пептидах.

**Психрофильные микроорганизмы (холодолюбивые)** – микроорганизмы, имеющие оптимальную температуру роста 10–15 °С.

**Размножение микроорганизмов** – бинарное деление одноклеточных микроорганизмов (бактерий, риккетсий, простейших, дрожжей), в

результате которого образуются две новые дочерние полноценные особи, наделенные генетической информацией материнской клетки. Дрожжеподобные грибы могут размножаться почкованием, спорами; плесневые грибы и актиномицеты размножаются обычно спорами.

**Редуценты (деструкторы)** (от лат. *reducers* – упрощение строения) – гетеротрофные организмы, превращающие в ходе жизнедеятельности органические остатки в неорганические вещества. Типичными редуцентами являются бактерии и грибы. Редуценты – заключительное звено в пищевой цепи в экологической пирамиде. Если снижается активность их работы (при использовании сильнодействующих пестицидов), то ухудшаются условия для продукционного процесса растений и консументов.

**Самоочищение** – естественное разрушение загрязнителя в среде (почве, воде и др.) в результате природных, физических, химических и биологических процессов. Длительность самоочищения резко меняется в зависимости от географического места – в маргинальных зонах и на севере оно идет медленно. Для многих стойких загрязняющих веществ самоочистительная способность природы равна нулю.

**Самоочищение водных объектов** – уменьшение количества загрязняющих водные объекты веществ в результате биохимических процессов и их адсорбции на аллювиальных отложениях и транспортируемых насосах. Агентами самоочищения являются бактерии, грибы, водоросли.

**Сапробность** – характеристика водного источника, отражающая количество органического вещества в воде. Понятие «сапробность» сформулировано и разработано для внутренних водоемов. По степени загрязненности вод органическими веществами их делят на олигосапробные (с малым содержанием органики), мезо- и полисапробные, а организмы, в них обитающие (сапробионты), соответственно называют олигосапробами, мезосапробами и полисапробами. Несмотря на то что сапробионтами выступают преимущественно микроорганизмы, в микробиологии принят термин, характеризующий только олигосапробов, – олиготрофы.

**Сапропель** – иловые отложения озер и лагун, состоящие в основном из органических веществ – остатков водных организмов, смешанных с минеральными осадками. Как и детрит, используется в качестве удобрения.

**Сапрофиты** – микроорганизмы, питающиеся мертвыми органическими веществами.

**Саттелитизм** – тип взаимоотношений между микроорганизмами, при котором разные виды живут вместе, не причиняя вреда друг другу. При этом микробы-саттелиты улучшают свой рост, находясь рядом с хозяином.

**Сепсис** – инфекция, вызванная гноеродными микроорганизмами, при которой возбудитель из очага инфекции распространяется в макроорганизме, размножаясь в кровеносной и лимфатической системах.

**Симбиоз** – межвидовые отношения, при которых члены сообщества получают взаимную пользу.

**Синергизм** – усиление физиологических функций существующих совместно различных видов микроорганизмов в микробной ассоциации.

**Серобактерии** – обобщенное название бактерий, окисляющих сероводород, другие восстановленные соединения серы, а также молекулярную серу. К серобактериям относятся многие фототрофные пурпурные и зеленые бактерии, для которых неорганические соединения серы являются донорами электронов при фотосинтезе. Есть также бесцветные хемотрофные бактерии, использующие соединения серы как источники энергии и доноры электронов для ассимиляции  $\text{CO}_2$  и роста в автотрофных условиях (хемосинтез). К их числу относится большинство видов родов *Thiobacillus*, *Thiomicrospira* и др. Они окисляют сероводород и другие соединения серы в аэробных условиях до  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (тионовые бактерии). К серобактериям относятся также нитчатые скользкие бактерии родов *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Thioploca*, ряд одноклеточных форм. Как правило, при окислении сероводорода они накапливают в клетках элементарную серу и нуждаются для роста в некотором количестве готовых органических веществ (собственно серные бактерии). К серобактериям могут быть отнесены и некоторые цианобактерии, также способные окислять восстановленные соединения серы. К окислению серы в экстремально термофильных условиях (оптимум 80–105 °C) способны археи родов *Sulfolobus*, *Acidianus*. В целом серобактерии широко распространены в воде внутренних водоемов и Мирового океана, встречаются в почве, илах, месторождениях серы и сульфидных руд. Активно участвуют в круговороте серы в природе. Некоторые серобактерии используются для выщелачивания металлов из руд. В результате образования серной кислоты могут быть причиной разрушения металлических, бетонных, каменных конструкций шахт, гидротехнических сооружений.

**Споры у бактерий** – круглые или овальные образования, формирующиеся внутри бактериальной клетки обычно при неблагоприятных условиях внешней среды. Аэробные или анаэробные бактерии, образующие споры, называют бациллами. Спора окружена двух- или трехслойной оболочкой, которая формируется за счет цитоплазмы вегетативной клетки. Внутренняя часть двухслойной оболочки образована самой плазмой споры, в которой содержится нуклеоид. Спора содержит значительно меньше воды, чем вегетативная клетка. Вследствие толщины оболочки и плотности содержимого споры очень устойчивы к нагреванию, высушиванию, дезинфицирующим средствам и другим агентам. Они непроницаемы для большинства красителей. Окрашивают споры по способу Ожешко или Циля – Нильсена.

**Среда питательная** – среда, используемая в микробиологической практике для выращивания различных микроорганизмов. Питательные среды готовят из естественных продуктов животного и растительного происхождения (мяса, молока, яиц, отрубей, картофеля, моркови), а также из искусственно полученных из этих продуктов веществ (пептона, аминокептида и др.). По целевому назначению питательные среды можно разделить на основные (мясопептонный агар, мясопептонный бульон), дифференциально-диагностические (среды Гисса, Эндо и др.) и элективные (среда Леффлера и др.). Большое практическое значение приобрели синтетические питательные среды. Они состоят из растворов химически чистых неорганических и органических соединений в концентрациях, точно установленных на основании изучения потребностей микроорганизмов в питательных веществах. Эти среды находят специальное применение в исследовательской работе и микробиологической промышленности. В генетических исследованиях используют среды минимальные и селективные.

**Среда полная** – питательная среда, содержащая все необходимые ингредиенты для роста ауксотрофных бактерий.

**Стерилизация** – процесс полного уничтожения вегетативных и споровых форм микроорганизмов.

**Суперинфекция** – повторное заражение больного тем же видом возбудителя на фоне незакончившейся инфекции.

**Сыворотки иммунные** – препараты из сыворотки крови, полученные путем гипериммунизации животных различными антигенами.

**Термостат** – аппарат для культивирования микроорганизмов, поддерживающий определенную постоянную температуру.

**Термофильные микроорганизмы** (теплолюбивые) – бактерии, оптимальная температура роста которых составляет 45 °С и выше.

**Тиндализация** – способ щадящей стерилизации сред, в состав которых входят белки.

**Токсемия, токсинемия** – наличие микробных токсинов в крови.

**Токсигенность** – способность бактерий продуцировать экзотоксины или образовывать эндотоксины. Токсигенность детерминруется определенными генами.

**Токсины бактерий** – биологически активные вещества, которые могут вызывать разнообразные патологические изменения в структуре и функциях клеток, тканей, органов и целого макроорганизма чувствительного животного или человека. Сведения о механизмах действия бактериальных токсинов ограничены: известно, что у части токсинов активность обусловлена их ферментативными свойствами. Грамположительные бактерии обычно активно секретируют в токсины во время роста, что приводит к их накоплению в среде обитания. Токсины грамотрицательных бактерий (например, кишечного семейства) связаны с липополисахаридным компонентом клеточной стенки.

**Тропизм** (от греч. *tropos* – поворот, направление) – избирательное свойство патогенных микроорганизмов заселять и поражать определенные организмы, органы или ткани.

**Углеводороды** – природные или синтетические органические вещества, состоящие в основном из углерода и водорода, например, сырая нефть, различные виды получаемого из нее топлива, уголь, животные жиры и растительные масла. Разнообразные относительно небольшие углеводородные молекулы, образующиеся при неполном сгорании топлива, особенно в двигателях внутреннего сгорания, выделяются в атмосферу в составе отработавших газов. Главный фактор образования фотохимического смога.

**Ферменты (энзимы) микроорганизмов** – биологические катализаторы, участвующие во всех метаболических процессах, протекающих в микробных клетках. Имеют белковую природу. По современной классификации ферменты делят на шесть классов. Каждый класс подразделяется на подклассы и подподклассы в зависимости от природы индивидуальных превращений. У микробов встречаются ферменты всех шести классов: оксидоредуктазы, трансферазы, гидролазы, лиазы, изомеразы и лигазы. Микробные ферменты подразделяются на конститутивные и индуцируемые. Синтез последних регулируется механизмом репрессии – дерепрессии. Разные виды микроорганизмов от-

личаются друг от друга по набору ферментов, которые они способны синтезировать. Это имеет дифференциально-диагностическое значение при их идентификации. Некоторые патогенные бактерии продуцируют особые ферменты – гиалуронидазу, лецитиназу, плазмокоагулазу, фибринолизин, ДНК-азу, РНК-азу и др., которые способствуют проявлению их патогенных свойств и рассматриваются как факторы патогенности.

**Фитонциды** – антимикробные вещества растительного происхождения.

**Фитопатогенные микробы** – виды микроорганизмов, вызывающие инфекционные заболевания растений.

**Фунгициды** – химические или биологические агенты для борьбы с патогенными грибами – возбудителями болезней сельскохозяйственных растений.

**Штаммы** (от нем. *stammen* – происходить) – культуры бактерий одного вида, выделенные из различных источников или из одного источника в разное время. Разные штаммы одного и того же вида бактерий могут отличаться друг от друга по целому ряду свойств, например по чувствительности к антибиотикам, способности к образованию токсинов, ферментов и пр.

**Экзотоксины** – яды, продуцируемые некоторыми бактериями в окружающую среду в процесс жизнедеятельности. Обладают чрезвычайно высокой ядовитостью и антигенностью. Имеют белковую природу, термолабильны и обезвреживаются формалином, сохраняя при этом свои антигенные свойства. Механизм ядовитого действия экзотоксинов часто связан с угнетением определенных ферментных систем животных клеток. Экзотоксины наиболее постоянно продуцируются возбудителями столбняка, газовой гангрены, ботулизма, дифтерии и другими представителями грамположительной флоры. Активность экзотоксинов измеряют в DLM или LD50 в опытах на белых мышах или других лабораторных животных.

**Эндотоксины** – это яды, прочно связанные с микробными клетками, которые освобождаются лишь при разрушении микробов.

**Эпифиты** (эпифитная микрофлора) – микроорганизмы, постоянно обитающие на надземной части растения.

**Эубиоз** – совокупность микроорганизмов (микробиоценозов), населяющих биотопы тела здорового человека.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Асонов, Н. Р. Микробиология : учебник / Н. Р. Асонов. – 4-е изд., перераб. и доп. – Москва : Колос, 2001. – 351 с.
2. Гусев, М. В. Микробиология : учебник для студ. биол. спец. вузов / М. В. Гусев, Л. А. Минеева. – 4-е изд. – Москва : Издат. центр «Академия», 2003. – 463 с.
3. Дуктов, А. П. Микробиология. Курс лекций : учеб.-метод. пособие / А. П. Дуктов, Г. В. Воронцов. – Горки : БГСХА, 2017. – 136 с.
4. Жарикова, Г. Г. Основы микробиологии : практикум / Г. Г. Жарикова. – Москва : Издат. центр «Академия», 2008. – 128 с.
5. Калганова, Т. Н. Практикум по микробиологии и биотехнологии : лаб. работы / Т. Н. Калганова. – Южно-Сахалинск : СахГУ, 2011. – 56 с.
6. Колычев, Н. М. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник / Н. М. Колычев, Р. Г. Госманов. – Санкт-Петербург : Лань, 2014. – 624 с.
7. Лабораторный практикум по микробиологии : пособие / Е. Р. Грицкевич [и др.]. – Минск : ИВЦ Минфина, 2017. – 113 с.
8. Лысак, В. В. Микробиология : учеб. пособие/ В. В. Лысак. – Минск : БГУ, 2007. – 426 с.
9. Лысак, В. В. Физиология микроорганизмов : учеб.-метод. пособие / В. В. Лысак, Е. И. Игнатенко. – Минск : БГУ, 2016. – 80 с.
10. Максимович, В. В. Эпизоотология с микробиологией : учеб. пособие / В. В. Максимович. – Минск : ИВЦ Минфина, 2012. – 496 с.
11. Микробиология : учеб.-метод. пособие : в 2 ч. / Т. В. Соляник [и др.] ; под ред. М. А. Гласкович. – Горки : БГСХА, 2017. – Ч. 1. – 200 с.
12. Микробиология : учеб.-метод. пособие / С. В. Прудникова, Е. Н. Афанасова, Н. И. Сарматова. – Красноярск : СФУ, 2017 – 113 с.
13. Экология микроорганизмов : учебник / А. И. Нетрусов [и др.]. – Москва : Издат. центр «Академия», 2004. – 272 с.
14. Красникова, Л. В., Общая и пищевая микробиология : учеб. пособие / Л. В. Красникова, П. И. Гунькова, О. А. Савкина. – Санкт-Петербург : Университет ИТМО, 2016. – Ч. II. – 127 с.

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
Лабораторное занятие 1. Микробиота навоза и сточных вод животноводческих объектов.....	4
Лабораторное занятие 2. Микробиота молока и молочных продуктов.....	11
Лабораторное занятие 3. Микробиота кормов.....	26
Лабораторное занятие 4. Микробиота мяса, яиц и мясных продуктов.....	42
Лабораторное занятие 5. Микробиота рыбы и рыбных продуктов.....	52
Лабораторное занятие 6. Микробиота пчелиной семьи и продуктов пчеловодства.....	68
Лабораторное занятие 7. Микробиота кожевенно-мехового сырья.....	75
Лабораторное занятие 8. Микробиота тела животных.....	79
Лабораторное занятие 9. Характеристика возбудителей распространенных инфекционных болезней.....	93
СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ.....	109
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК.....	143