

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»

Учреждение образования
«ВИТЕБСКАЯ ОРДЕНА «ЗНАК ПОЧЕТА»
ГОСУДАРСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ»

А. П. Дуктов, Р. Б. Корочкин

МИКРОБИОЛОГИЯ

*Рекомендовано учебно-методическим объединением
в сфере высшего образования Республики Беларусь
по образованию в области сельского хозяйства
в качестве учебно-методического пособия для студентов
учреждений образования, обеспечивающих получение
общего высшего образования по специальности
6-05-0811-02 Производство продукции животного происхождения*

Горки
Белорусская государственная
сельскохозяйственная академия
2025

УДК 579(075.8)
ББК 28.4я73
Д79

*Одобрено методической комиссией факультета биотехнологии
и аквакультуры 25.02.2025 (протокол № 6)
и Научно-методическим советом
Белорусской государственной сельскохозяйственной академии
26.02.2025 (протокол № 7)*

Авторы:

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *А. П. Дуктов*;
кандидат ветеринарных наук, доцент *Р. Б. Корочкин*

Рецензенты:

кандидат ветеринарных наук, доцент *Л. С. Козел*;
кандидат ветеринарных наук *И. В. Зубовская*

Дуктов, А. П.

Д79

Микробиология : учебно-методическое пособие / А. П. Дуктов, Р. Б. Корочкин. – Горки : Белорус. гос. с.-х. акад., 2025. – 238 с.

ISBN 978-985-882-647-5.

Пособие подготовлено в соответствии с образовательным стандартом высшего образования специальности «Производство продукции животного происхождения». Включает два раздела – «Общая микробиология» и «Санитарная и частная микробиология». В разделе «Общая микробиология» рассматриваются общие вопросы, характеризующие микробиологию как науку с ее основными понятиями, принципами и закономерностями. В разделе «Санитарная и частная микробиология» дается представление о микробиоте почвы, навоза, кормов, молока, мяса и о микробиологических процессах, проходящих при консервации кормов, а также процессах, вызываемых нежелательной микробиотой, – гниении, плесневении и порче кормов, продуктов животноводства, вызывающих отравления и заболевания животных.

Для студентов учреждений образования, обеспечивающих получение общего высшего образования по специальности 6-05-0811-02 Производство продукции животного происхождения.

**УДК 579(075.8)
ББК 28.4я73**

ISBN 978-985-882-647-5

© Белорусская государственная
сельскохозяйственная академия, 2025

ВВЕДЕНИЕ

Микробиология как наука – одна из самых молодых наук, но возраст не уменьшает ее важности. Назвать хотя бы одну сферу человеческой деятельности, которая не требовала бы минимальных знаний микробиологии, – невозможно.

Микроорганизмы играют наиважнейшую роль в природе и в жизнедеятельности человека.

Многие фундаментальные свойства бактерий являются следствием их небольшого размера. Микроорганизмы могут эффективно использовать очень малые количества органических веществ в низких концентрациях, и их потенциальные темпы роста очень высоки. У бактерий нет цитоскелета, но они покрыты жесткой клеточной стенкой, поэтому могут поглощать только растворенные низкомолекулярные соединения из окружающей среды; когда же бактерии используют полимерные соединения, они должны сначала подвергаться внеклеточному гидролизу. Бактерии характеризуются огромным разнообразием в отношении путей осуществления метаболизма, которые намного превышают метаболический репертуар эукариотических организмов. Они играют фундаментальную роль в биосфере, а отдельные ключевые химические процессы, такие как производство и окисление метана, восстановление нитратов и фиксация атмосферного азота, осуществляются исключительно бактериями. Некоторые виды бактерий (галофилы, радиофилы и др.) процветают в экстремальных условиях, в которых никакие эукариотические организмы не могут выживать.

Настоящее учебно-методическое пособие состоит из двух разделов: «Общая микробиология» и «Санитарная и частная микробиология».

Необходимость создания такого пособия диктуется появлением новых данных о строении бактериальной клетки, о биологических свойствах различных групп микроорганизмов; появлением современной систематики, предусматривающей новую таксономию и номенклатуру видов бактерий; расширением научных представлений и знаний относительно экологических характеристик микроорганизмов.

В разделе «Общая микробиология» освещены вопросы систематики, классификации и номенклатуры микроорганизмов, приведены морфологические и тинкториальные свойства микроорганизмов, сведения о физиологии и генетике микроорганизмов, о влиянии факто-

ров внешней среды на бактерии, представлены основы учения об инфекции.

Раздел «Санитарная и частная микробиология» предусматривает изучение микробиоты различных объектов внешней среды, в основном ассоциированных с сельским хозяйством. В нем представлены возбудители основных инфекционных болезней, их патогенные свойства и характеристика вызываемых ими болезней.

Данное учебно-методическое пособие подготовлено для студентов учреждений образования, обеспечивающих получение общего высшего образования по специальности 6-05-0811-02 Производство продукции животного происхождения. Оно позволит более подробно изучить роль микроорганизмов в природе, их свойства, особенности и полезное использование.

Важность роли микробиологии определяется значением микроорганизмов в природных биохимических процессах и в человеческой деятельности. Именно они обеспечивают протекание глобального круговорота элементов на нашей планете. На деятельности микроорганизмов основан целый ряд необходимых человеку производств продуктов питания, кормов и кормовых средств для сельскохозяйственных животных. Микроорганизмы используются для очистки окружающей среды от различных природных и антропогенных загрязнений. В то же время многие микроорганизмы являются возбудителями заболеваний человека, животных, растений и могут вызывать порчу продуктов питания и кормов.

Цель изучения курса микробиологии – понять закономерности развития микробиоты в различных естественных питательных средах и научиться управлять процессами развития микробиоты для получения высокопитательных кормов при их заготовке и хранении, при производстве высококачественных продуктов животного происхождения, утилизации и обеззараживании навоза и сточных вод, а также других процессах в животноводческой отрасли.

Раздел 1. ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

1.1. Микробиология как наука. Систематика, классификация и номенклатура микроорганизмов

Микробиология – наука о живых организмах, невидимых невооруженным глазом (размеры которых не превышают 0,1 мм). Их называют микроорганизмами, или микробами. Это собирательное название объединяет мельчайшие, преимущественно одноклеточные, прокариотические и эукариотические организмы. К ним относят: бактерии, археобактерии, микроскопические грибы и водоросли; часто этот список продолжают простейшими и вирусами, хотя последние не являются организмами в полном смысле этого слова. В область изучения микробиологии входят систематика, морфология, физиология, биохимия микроорганизмов, их эволюция, роль в экосистемах, а также возможности практического их использования.

По специфике изучаемых объектов выделяют несколько разделов микробиологии: бактериология, микология, вирусология и т. д. В зависимости от экологических особенностей микроорганизмов, условий их обитания, сложившихся отношений с окружающей средой и практических потребностей человека наука о микробах в своем развитии дифференцировалась на специальные дисциплины, в зависимости от специфики изучения объектов.

Термин «бактерии» ввел в употребление Х. Эрэнберг в 1828 г. Изучение строения бактериальной клетки началось с изобретением электронного микроскопа в 1930 г. В 1937 г. Э. Чаттон предложил делить все организмы по типу клеточного строения на прокариоты и эукариоты, и в 1961 г. Стейниер и Ван Ниль окончательно оформили это разделение. Развитие молекулярной биологии привело к открытию в 1977 г. К. Вёзе коренных различий и среди самих прокариот: между бактериями и археями.

Экологическая роль микроорганизмов определяется исключительным многообразием их форм и самих микробиологических процессов, что изначально показали голландский микробиолог, ботаник Мартин Бейеринк (1851–1931) и русский микробиолог, основатель экологии микроорганизмов и почвенной микробиологии, С. Н. Виноградский (1856–1953).

Размеры микробов ничтожны и измеряются в микрометрах (мкм); 1 мкм = 0,001 мм, что соответствует 10^{-6} м. Однако, несмотря на свои малые размеры, они составляют одну треть всей биосферы, имеют

большой удельный вес в живой природе. Их масса во много раз превосходит массу мира животных. Они выделяют до 95 % углекислоты, которая образуется в природе всеми живыми существами.

Микробам присущи следующие свойства: они имеют малые размеры, относительно просто устроены, обладают высоким темпом размножения, массовостью популяции, высоким уровнем метаболизма, способностью к трансформации различных веществ, высокой приспособляемостью и устойчивостью ко многим внешним факторам, обитают в различных объектах внешней среды, в животном и растительном мире.

Классификация микробиологических наук.

Целью микробиологии как науки является глубокое изучение структуры и важнейших биологических свойств микробов, взаимоотношений их с организмом человека и животных в определенных условиях природной и социальной среды, изыскание способов использования микробиологических процессов в получении полезных продуктов, совершенствование методов микробиологической диагностики, разработка эффективных лечебных и профилактических препаратов, решение такой важной проблемы, как ликвидация и предупреждение инфекционных болезней, и многое другое.

Микробиология представляет собой целый комплекс биологических наук, которые можно классифицировать или по объекту изучения, или по прикладным целям.

В зависимости от объекта изучения различают, прежде всего, общую микробиологию и так называемые частные микробиологические науки (бактериология, микология, протозоология и вирусология).

Общая микробиология изучает общие закономерности структуры и функционирования микробной клетки.

Бактериология изучает прокариотические микробы – бактерии.

Микология изучает микроскопические грибы (эукариоты).

Протозоология изучает простейшие (клетки которых, как и у грибов, имеют эукариотический тип строения).

Вирусология изучает биологические микробъекты, иногда называемые ультрамикрорганизмами, представляющие собой неклеточную форму жизни – вирусы.

По прикладным целям изучения различают медицинскую, санитарную, ветеринарную, промышленную, почвенную, морскую и космическую микробиологию.

Методы микробиологических исследований.

К методам исследования любых микроорганизмов относятся:

- микроскопия: световая, фазово-контрастная, темнопольная, флуоресцентная, электронная;

- культуральный метод (бактериологический, вирусологический);
- биологический метод (заражение лабораторных животных с воспроизведением инфекционного процесса на чувствительных моделях);
- молекулярно-генетический метод (ПЦР, ДНК- и РНК-зонды и др.);
- серологический метод – выявление антигенов микроорганизмов или антител к ним (ИФА).

Сущность *микроскопического метода* исследования заключается в изучении морфологических и тинкториальных свойств микробов, их строения с помощью световой, люминесцентной, фазово-контрастной, аноптральной и других видов микроскопии. С помощью этого метода можно определить форму, размеры, взаиморасположение микробов, их подвижность, наличие спор, капсул, жгутиков, грампринадлежность, отношение к окраске специальными методами, учесть результаты реакции микроагглютинации и реакции агглютинации.

Сущность *культурального метода* заключается в изучении физиологических свойств микробов (питание, дыхание, рост, размножение и др.), характера роста на питательных средах, выделении чистых культур, определении их свойств с целью идентификации.

С помощью бактериологического метода можно выделить чистую культуру из исследуемого материала (патматериала, воды, почвы и др.), изучить характер роста микробов на питательных средах (жидких, полужидких, плотных), определить подвижность бактерий, изучить биохимические свойства (гликолитические, протеолитические, редуцирующие, гемолитические).

Биологический метод (биопроба) сводится к заражению лабораторных животных (мышей, морских свинок, голубей, кроликов и др.) или естественно восприимчивых животных с целью изучения, в первую очередь, патогенных, вирулентных и токсических свойств микробов, вызвавших болезнь. Этот метод позволяет выделить чистую культуру, определить ее патогенность и вирулентность, испытать биопрепараты на безвредность, токсичность, пирогенность, активность.

Молекулярно-генетический метод исследования основан на идентификации микроорганизмов по их генетическому коду. С этой целью используют метод ДНК-зондов и полимеразную цепную реакцию (ПЦР).

Серологический метод исследования заключается в изучении антигенных свойств культуры микробов с целью определения вида микроорганизмов, для обнаружения антител в сыворотках крови животных путем постановки серологических реакций.

Прокариоты и эукариоты.

В биосфере элементарной единицей жизни является клетка. Она может существовать в природе как одноклеточный микроорганизм либо образовывать многоклеточные макроорганизмы, в которых клетки могут отличаться по степени дифференциации с формированием различных тканей. Микробиология в основном имеет дело с одноклеточными микроорганизмами, и лишь некоторые микроскопические плесневые грибы могут рассматриваться в качестве многоклеточных организмов. По своему химическому составу все живые существа очень сходны, и основными компонентами любой клетки являются нуклеиновые кислоты двух типов (ДНК и РНК), белки, углеводы, липиды и фосфолипиды. Основанием разделения организмов является форма организация ядра или его аналога, в результате чего все живые существа разделяют на две группы: прокариоты и эукариоты. Первые из них обычно не имеют оформленного ядра, их нуклеиновая кислота в виде кольцевой ДНК ничем не отделена от цитоплазмы. К прокариотическим организмам относят бактерии, изучение которых составляет сущность микробиологии. Эукариотические организмы представлены одноклеточными и многоклеточными организмами, у которых в клетках имеется оформленное ядро, имеющее ядерную мембрану. Считается, что они появились на Земле значительно позднее прокариот, причем наука предлагает несколько гипотез их происхождения. К эукариотическим организмам относят *грибы, простейшие, растения, животных и водоросли*. Грибы являются предметом изучения микробиологии.

В прокариотической клетке могут также содержаться небольшие кольцевые молекулы ДНК – плазмиды, которые, не являясь обязательным компонентом, очень подвижны, так как бактерия может относительно легко их терять или, наоборот, приобретать. Например, у возбудителя сибирской язвы патогенность определяется наличием двух плазмид вирулентности, одна из которых кодирует синтез капсулы, а другая – токсина. При длительном нахождении в окружающей среде в состоянии эндоспоры эта бактерия может терять одну или обе плазмиды, в результате чего она теряет свою патогенность. Прокариоты не имеют дифференцированного аппарата митоза, у них нет ядрышка. Рибосома прокариот обычно меньшего размера (15–20 нм по сравнению с 25–30 нм у эукариот), и ее массу в биологии принято выражать константой седиментации (обозначается буквой S). Соответственно, у прокариот константа седиментации рибосом составляет 70S, что меньше, чем у эукариот. Также большинство прокариот имеет клеточную стенку, содержащую пептидогликан, который отсутствует у эука-

риот. Размеры прокариот варьируются в пределах 1–20 мкм. У прокариот нет митохондрий и хлоропластов, которые сами по себе имеют прокариотическое происхождение, так как появились у эукариотических клеток в результате интернализации древних аэробных и фотосинтезирующих микроорганизмов.

Среди прокариот есть аэробные и анаэробные организмы, т. е. они могут осуществлять свой метаболизм как при использовании кислорода, так и без его участия. Кроме того, прокариоты отличаются отсутствием внутриплазматического ретикулума (кроме участвующего в фотосинтезе аппарата цианобактерий), накоплением запасного вещества поли-бета-оксипутирата и другими уникальными признаками. Основные характеристики прокариотических и эукариотических организмов представлены в таблице.

Отличительные свойства клеток прокариот и эукариот

Признак	Прокариотная клетка	Эукариотная клетка
Средний размер	1–10 мкм	10–100 мкм
Ядерная мембрана	Отсутствует	Имеется
Хромосома	Одна	Несколько
Гистоны	Отсутствуют	Имеются
Тип деления	Бинарный	Митотический
Специализированные мембранные структуры	Отсутствуют	Имеются
Клеточная стенка	Образована пептидогликанами	Содержит хитин или целлюлозу
Стероиды клеточной стенки	Отсутствуют	Имеются
Рибосомы	70S	80S
Анаэробное дыхание	Возможно	Обычно отсутствует
Тканевая дифференцировка	Отсутствует	Обычно имеется
Фиксация азота	Возможна	Невозможна

Эукариоты имеют более сложное строение, и, за очень редкими исключениями, все они имеют дифференцированное ядро, ограниченное от цитоплазмы ядерной мембраной, аппарат митоза и ядрышко. Ядерная ДНК эукариот находится в комплексе с гистонами в равном соотношении; хромосомы эукариот построены в виде регулярных компактных структурных единиц – нуклеосом, которые состоят из белковой глобулы и обвивающего ее фрагмента ДНК размером в 200 пар нуклеотидов. Эукариоты имеют рибосомы 80S, их клетки содержат митохондрии или хлоропласты, не имеют пептидогликана и в большинстве случаев являются аэробами.

Подвижность прокариот и эукариот обеспечивается жгутиками, которые различаются по химической структуре. Жгутики у прокариот построены из белка флагеллина и не содержат систем микротрубочек. Жгутики у простейших эукариот состоят из белка тубулина и представляют собой систему микротрубочек, связанных с базальным телом.

Систематика объектов биосферы. Классификация бактерий.

Все обитающие на нашей планете существа имеют общее филогенетическое родство, которое особенно очевидно при анализе структуры рибосомальной РНК. В биологии при более тесной родственной связи обычно проявляется большее число общих генотипических и фенотипических признаков. Распределением живых организмов по группам занимается специальная отрасль биологической науки, называемая систематика (от греч. *systematikus* – упорядоченный, относящийся к системе), или таксономия (от греч. *taxis* – расположение по порядку, закон). Термины «систематика» и «таксономия» в литературе часто употребляются как синонимы, однако систематика является более широким понятием, чем таксономия.

Систематика (таксономия) в микробиологии – наука, занимающаяся вопросами классификации, номенклатуры и идентификации микроорганизмов. Задачей классификации является объединение микроорганизмов с общими свойствами в определенные группы (таксоны).

Номенклатура – это свод правил присвоения названий таксонам (группам) и список этих названий.

Идентификация – отнесение микроорганизмов к определенному таксону (виду) на основании конкретных признаков, свойств.

Живые клеточные организмы на основе филогенетических и эволюционных отношений были сгруппированы первоначально в пять царств, в которых бактерии принадлежали к прокариотам, а эукариотические плесени и дрожжи были сгруппированы в царство грибов.

В 1970-х гг. была разработана современная трехдоменная систематика всех живущих на Земле биологических объектов. Ее разработчиком стал американский микробиолог Карл Вёзе (рис. 1.1), который в качестве высшей таксономической категории обозначил домен. Разделение организмов

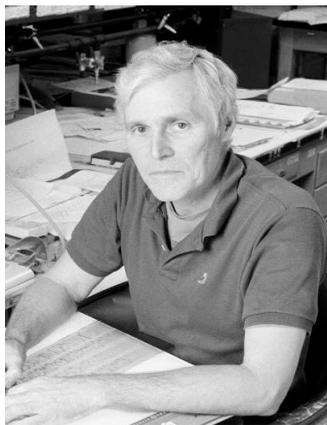


Рис. 1.1. Карл Вёзе

на три существующих домена основано на сравнении последовательности нуклеотидов рибосомальной РНК (так называемой 16S рРНК).

На рис. 1.2 изображено филогенетическое дерево всех биологических объектов биосферы Земли, объединяющее три основных домена: *Bacteria*, *Archaea* и *Eukarya*.

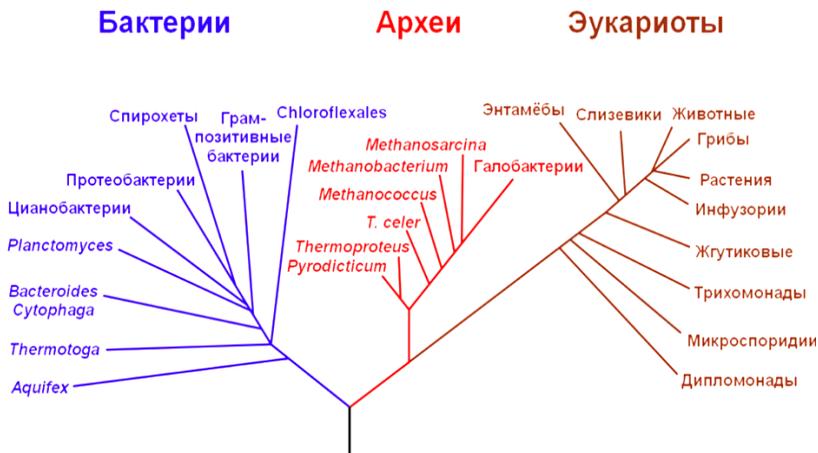


Рис. 1.2. Филогенетическое дерево всех существующих в биосфере организмов

Домен *Archaea* включает большинство экстратермофилов, и его представители не представляют интереса для нашего курса микробиологии. Грибы включены в состав домена *Eukarya*, среди которых также имеются представители, имеющие большое ветеринарное, санитарное и сельскохозяйственное значение. Современная классификация биологических видов основывается на так называемой кладистике (от др.-греч. κλάδος – «ветвь») – классификационном подходе, при котором организмы подразделяются на иерархические группы («клады») на основе их общего происхождения. Идеальным является полное совпадение кладограммы и таксономического дерева, поскольку таксономия фактически отражает ветви эволюции биологических видов.

В микробиологии в целом принят аналогичный подход. В ранней классификации бактерий принимали в расчет только фенотипические характеристики. На современном этапе классификация микроорганизмов, как и их идентификация, все больше основывается на генотипических признаках, в результате чего она фактически становится геносистематикой. Наиболее важными признаками, которые также помогают идентифицировать бактерии в ходе их изоляции, являются следующие:

1. Морфологические – форма, величина, особенности взаиморасположения, структура.

2. Тинкториальные – отношение к различным красителям (характер окрашивания), прежде всего к окраске по Граму. По этому признаку все микроорганизмы делят на грамположительные и грамотрицательные. Морфологические свойства и отношение к окраске по Граму позволяют, как правило, отнести изучаемый микроорганизм к крупным таксонам – семейству, роду.

3. Культуральные – характер роста микроорганизма на питательных средах.

4. Биохимические – способность ферментировать различные субстраты (углеводы, белки, аминокислоты и др.), образовывать в процессе жизнедеятельности различные биохимические продукты за счет активности различных ферментов и особенностей обмена веществ.

5. Антигенные – зависят преимущественно от химического состава и строения клеточной стенки, наличия жгутиков, капсулы, распознаются по способности макроорганизма (хозяина) вырабатывать антитела и другие формы иммунного ответа, выявляются в иммунологических реакциях.

6. Физиологические – способы углеводного (аутотрофы, гетеротрофы), азотного (аминоавтотрофы, аминокетотрофы) и других видов питания, тип дыхания (аэробы, микроаэрофилы, факультативные анаэробы, строгие анаэробы).

7. Подвижность и типы движения.

8. Способность к спорообразованию, характер спор.

9. Чувствительность к бактериофагам, фаготипирование.

10. Химический состав клеточных стенок – основные сахара и аминокислоты, липидный и жирнокислотный состав.

11. Белковый спектр (полипептидный профиль).

12. Чувствительность к антибиотикам и другим лекарственным препаратам.

В современных классификациях используют любой признак, лишь бы он выделялся и давал возможность распознать изучаемый микроорганизм. В отношении дрожжей и плесеней наряду с другими критериями используются морфология, способ размножения, биохимическая природа макромолекул и метаболические особенности. Для бактерий важны тинкториальные свойства (окраска сложными методами, особенно по Граму), отношение к атмосферному кислороду, аминокислотные последовательности некоторых специфических белков, композиция азотистых оснований в структуре ДНК (моль-процентное содержание пары гуанин – цитозин), последовательность нуклеотидных

оснований и компьютерная цифровая таксономия. При анализе процентного содержания гуанин-цитозиновых оснований в молекуле ДНК исходят из суждения о том, что в микробном мире увеличение их количества в структуре нуклеиновой кислоты происходило на более поздних этапах эволюции жизни. По этой причине разница в процентном содержании пары гуанин – цитозин в нуклеиновой кислоте двух штаммов микроорганизмов более чем на 10 % указывает на отсутствие связи между ними. При анализе нуклеотидных оснований различных штаммов сравнивают последовательности в структуре 16S рРНК – одной из трех типов рибосомальной РНК, образующей основу рибосом прокариот. Считается, что протяженность приблизительно в 1500 нуклеотидных оснований на определенном участке 16S рРНК у родственных штаммов должна иметь высокую гомологию. В числовой таксономии сравниваются многие характеристики, такие как морфология, физиология и биохимия микроорганизмов, причем каждой характеристике дают определенное цифровое выражение. Два штамма у одного и того же вида должны иметь гомологичность в 90 % и более.

Основные таксономические категории в микробиологии.

Современная классификация микроорганизмов построена по такому же иерархическому принципу, как и в остальных биологических науках. Различные уровни иерархии (таксономические категории, ряды, ранги) имеют собственные названия (от высших к низшим): царство, отдел, класс, порядок, семейство, род, вид. Принято, что любой конкретный микроорганизм должен последовательно принадлежать ко всем семи категориям, однако в практической микробиологии чаще ограничиваются лишь представлением вида, рода и семейства, к которым относится тот или иной микроорганизм.

Царство (лат. *regnum*) – это иерархическая ступень самого высокого уровня среди основных, не считая домена. Исторически выделяют пять царств живых организмов: животные, растения, грибы, бактерии, вирусы. С 1977 г. к ним присоединены еще два царства – протисты, археи. С 1998 г. выделяют еще одно царство – хромисты.

Отдел (лат. *divisio*) – один из высших рангов таксономической иерархии в микробиологии. Он соответствует рангу «*tribus*» в зоологии. Бактериальные отделы составляют основные линии домена бактерий. Хотя точное определение термина «бактериальный отдел» до сих пор упорно обсуждается среди микробиологов, популярное определение состоит в том, что эта таксономическая категория представляет собой монофилетическую линию бактерий, гены 16S рибосомальной РНК которых имеют попарную идентичность ниже 75 % с аналогичными генами других бактериальных отделов.

Класс (лат. *classis*) – один из основных рангов иерархической классификации в биологической систематике. Этот ранг был впервые введен французским ботаником Жозефом Питтоном де Турнефором в его классификации растений, опубликованной в «Элементах ботаники» в 1694 г. Исторически «класс» задумывался как ранг, охватывающий таксоны с определенным уровнем организации, т. е. «уровнем сложности», измеряемым с точки зрения того, насколько дифференцированы их системы органов на отдельные области или суборганы – с особым типом конструкции, т. е. с особым расположением систем органов. Иначе говоря, состав каждого класса в конечном итоге определялся чисто субъективным суждением таксономиста.

Порядок (лат. *ordo*) – один из основных рангов иерархической классификации. В иерархии систематических категорий стоит ниже класса и выше семейства. В бактериологии для названия порядков используется стандартизированное окончание *-ales*. Карл Линней высказал мнение о том, что «порядок есть подразделение классов, вводимое для того, чтобы не разграничивать роды в числе большем, чем их легко может воспринять разум».

Семейство (лат. *familia*) – один из основных рангов иерархической классификации в биологической систематике. В иерархии систематических категорий семейство стоит ниже порядка и выше рода. Названия семейств образуются по правилам, регулируемым Международным кодексом номенклатуры бактерий. Название семейства образуется от названия типового рода, к основе которого добавляется стандартное окончание *-aceae*.

Род (лат. *genus*) – один из основных рангов иерархической классификации в биологической систематике. В иерархии систематических категорий род стоит ниже семейства и выше вида. Научное название рода униномиально, т. е. состоит из одного слова. Кодексы биологической номенклатуры требуют, чтобы это слово было по форме латинским, т. е. было написано буквами латинского алфавита и подчинялось правилам латинской грамматики.

Вид (лат. *species*) – это таксономическая, систематическая единица, группа особей с общими морфофизиологическими, биохимическими и поведенческими признаками, способная к взаимному скрещиванию, дающему в ряду поколений плодовитое потомство, закономерно распространенная в пределах определенного ареала и сходно изменяющаяся под влиянием факторов внешней среды. Вид – реально существующая единица живого мира, основная структурная единица в системе организмов.

Помимо базового ранга «вид бактерий» в микробиологии также су-

существуют различные субвидовые категории. Среди них «штамм» и «серотип», или «серовар», используются наиболее часто.

Серотип (серовар) – группа микроорганизмов одного вида, объединяемых общей антигенной структурой, определяемой серологическими методами диагностики.

Чистая культура – это совокупность однородных микроорганизмов, выделенных на питательной среде, для которых характерно сходство биологических свойств.

Штамм – чистая культура микроорганизма, выделенная из определенного источника и отличающаяся от других представителей вида по каким-то четко установленным (часто паспортизированным) биологическим характеристикам.

Клон – совокупность потомков, выращенных из единственной микробной клетки.

Из всех перечисленных выше таксономических рангов домен является наивысшим и имеющим четкое научно обоснованное определение. Нижеследующий за ним ранг «царство», наоборот, наиболее не определен в современной биологии. В настоящее время нет единого мнения относительно количества царств в биосфере. В американской литературе используется система из шести царств (*Animalia*, *Plantae*, *Fungi*, *Protista*, *Archaea/Archaeobacteria* и *Bacteria/Eubacteria*) (рис. 1.3), в то время как в европейской учебной литературе признается наличие пяти царств (*Animalia*, *Plantae*, *Fungi*, *Protista* и *Monera*).

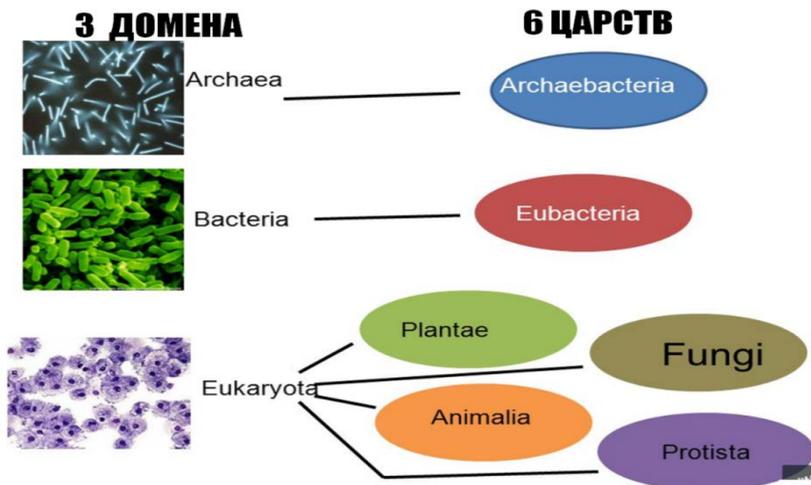


Рис. 1.3. Соотношение таксономических рангов: доменов и царств

Такие различия обусловлены неоднозначностью самого таксономического ранга «царство». В частности, современная кладистика, основанная на геномном анализе, вообще не признает термин «царство», отмечая, что он не является монофилетическим.

Базовой таксономической единицей является вид. Среди эукариот представители одного вида и в некоторых случаях одного и того же рода могут скрещиваться между собой. Для прокариот такая особенность не свойственна, хотя передача генетического материала существует среди многих бактерий. У бактерий вид рассматривается как совокупность штаммов, имеющих много общих черт. Штамм является потомком одной колонии или одиночной клетки. Обычно среди множества штаммов определенного вида один выбирается в качестве типового и используется как эталон при сравнении характеристик неизвестного изолята. Предполагается, что в будущем фенотипическая идентификация уступит место идентификации на основе анализа полной последовательности генома.

Номенклатура бактериальных таксонов.

Названия всех таксонов в микробиологии, ранг которых выше рода, являются униномиальными, т. е. состоят из одного слова – существительного или прилагательного, используемого как существительное, во множественном числе, написанного с заглавной буквы.

Биологический вид, как базовая таксономическая категория, имеет отдельное строго определенное название. Оно включает две части, т. е. представлено в бинарной системе: первая часть – это родовое имя, а вторая часть – видовой эпитет, который чаще является прилагательным. Обе части имеют латинскую запись и при написании выделяются курсивом с первой буквы в названии рода, написанной заглавной буквой (например, *Penicillium roquefortii* или *Lactobacillus acidophilus*). Вид бактерий можно разделить на несколько подвидов (subsp. или ssp.), если члены вида показывают незначительные, но последовательные различия в характеристиках. В таких условиях используется триноминальный эпитет (подвидовой эпитет) (например, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* или *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*). В некоторых случаях подвидовые ранги используются для дифференциации штаммов, распознаваемых по определенным специфическим признакам (например, *серовары* на основании антигенных отличий, *биовары* на основании определенного фенотипического признака или продуцируемого специфического метаболита, *фаговары* на основании чувствительности к конкретным типам фагов, *патовары* на основании различий в патогенных свойствах). Такие ранги не имеют таксономического значения, но мо-

гут быть полезными в практике (например, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetylactis* является штаммом *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, который продуцирует диацетил, важный ароматизатор в некоторых ферментированных молочных продуктах). Каждый штамм вида должен быть идентифицирован определенным номером, который может быть буквенным и числовым (например, *Pediococcus acidilactici* LB923, *Listeria monocytogenes* ATCC 19116).

Совокупность видов из одного рода нередко в литературе обозначается термином «spp.» после написания рода: например, запись «*Lactobacillus* spp.» обозначает совокупность всех представителей рода *Lactobacillus*. Либо для этой цели используется русифицированное название рода во множественном числе (например, лактобациллы для обозначения представителей рода *Lactobacillus*, лактококки для обозначения представителей рода *Lactococcus*, лейконостоки для обозначения представителей рода *Leuconostoc* и т. д.).

При написании названия одного и того же вида более одного раза в статье или разделе учебного издания обычно оно приводится полностью лишь при первом упоминании, а в последующем используется только видовой эпитет с сокращенным названием рода (например, *Listeria monocytogenes* может упоминаться в сокращенном виде как *L. monocytogenes*). Иногда это может создавать путаницу, когда одна статья или глава издания имеет отношение к нескольким видам разных родов, которые начинаются с одной и той же первой буквы. Например, *Lactobacillus lactis*, *Leuconostoc lactis* и *Lactococcus lactis* могут быть сокращены до единого обозначения «*L. lactis*», поэтому таких ситуаций стараются избегать. Часто во избежание этого может использоваться в сокращении родового названия более одной буквы, однако следует отметить, что в таких случаях нет определенной системы (например, *Lact. lactis*, *Lc. lactis*, *Leu. lactis*, *Lb. lactis*, *List. monocytogenes* и т. п.).

Название рода рассматривается как имя существительное в единственном числе и пишется с заглавной буквы. Других ограничений нет, поэтому названием рода может быть как слово, заимствованное из классической латыни, так и латинизированное слово из любого языка (часто из древнегреческого). Нередко название рода является словом, образованным от фамилии или имени (например, *Escherichia* – от имени ученого Эшериха). Принципы образования и применения родовых названий устанавливаются правилами, зафиксированными в Международном кодексе номенклатуры бактерий.

На уровне семейств таксономические названия используются в виде прилагательных в женском роде во множественном числе, что со-

гласуется с суффиксом *-aceae* в латинском языке (например, *Enterobacteriaceae*). В микробиологии ранее не существовало фиксированных правил номенклатуры бактериальных отделов: первоначально рекомендовалось использовать суффикс *-bacteria*, что не всегда соблюдалось, но ситуация изменилась в 2021 г., когда окончание *-ota* стало официальным (например, *Campylobacterota*).

Современная классификация бактерий по Бёрджи.

Основным источником по систематике бактерий во всем мире признан «Справочник Бёрджи по систематической бактериологии», который включает в себя все имеющиеся классификационные признаки бактерий. Он является логическим продолжением издаваемого ранее «Справочника Бёрджи по определительной бактериологии», хотя последний также имеет хождение в кругах микробиологов.



Рис. 1.4. Дэвид Бёрджи

Разработка первого издания справочника была инициирована Обществом американских бактериологов по предложению редакционной коллегии, возглавляемой Дэвидом Бёрджи (1860–1937) (рис. 1.4). Результатом работы редколлегии стала публикация первого издания справочника в 1923 г. В дальнейшем справочник переиздавался в 1925 г. (второе издание) и 1930 г. (третье издание). В 1934 г. при подготовке к изданию четвертого издания справочника Дэвид Бёрджи выдвинул предложение о получении финансовой независимости редакционной коллегии по публикации справочника от Общества американских бактериологов, в результате чего он стал самостоя-

тельным обладателем всех прав на данную работу, которая начала именоваться «Справочник Бёрджи». Уже под эгидой независимой редколлегии справочник Бёрджи претерпел несколько переизданий, обозначаемых соответственно с четвертого по девятое издание (публиковались соответственно в 1934, 1939, 1948, 1957, 1974 и 1994 гг.).

С 2001 г. руководство по систематике бактерий издается под названием «Справочник Бёрджи по систематической бактериологии». Его современный вариант очень сильно отличается по содержанию томов от первоначального издания, так как в нем таксоны стали не только классифицировать по внешним фенотипическим признакам, но и принимать в расчет геномные характеристики, считающиеся наиболее объективными.

Современный «Справочник Бёрджи по систематической бактериологии», в свою очередь, также успел претерпеть две редакции, называемые первым и вторым изданием. В настоящий момент действующим вариантом справочника является второе издание, которое включает в себя следующие тома:

– Том I (2001): «Археобактерии, ветвящиеся и фототрофные бактерии»;

– Том II (2005): «Протеобактерии», который включает в себя три книги («Общее представление», «Гамма-протеобактерии», «Другие классы протеобактерий»);

– Том III (2009): «Отдел *Firmicutes*»;

– Том IV (2010): «Отделы *Bacteroidetes*, *Spirochaetes*, *Tenericutes* (*Mollicutes*), *Acidobacteria*, *Fibrobacteres*, *Fusobacteria*, *Dictyoglomi*, *Gemmatimonadetes*, *Lentisphaerae*, *Verrucomicrobia*, *Chlamydiae* и *Planctomycetes*»;

– Том 5 (части 1–2) (2012): «*The Actinobacteria*».

За годы своей работы редакционная коллегия по изданию справочника Бёрджи стала поистине интернациональной с многочисленными отделениями и филиалами. Основным ее предназначением является содействие исследованиям в области систематики бактерий.

Согласно второму изданию (2001) справочника Бёрджи по систематической бактериологии, бактерии относят к надцарству *Prokaryaota*, разделенному на два домена: *Bacteria* (эубактерии) и *Archaea* (археобактерии). В домене *Bacteria* в настоящее время признается 41 отдел, хотя истинное число, вероятно, во много раз больше.

Большинство грамотицательных бактерий имеют тесное эволюционное родство и поэтому входят в единый отдел *Proteobacteria*. После 2021 г. он был переименован в *Pseudomonadota*, но до сих пор популярностью пользуется именно термин «протеобактерии». Протеобактерии появились от общего фотосинтезирующего предка и представляют собой наиболее многочисленную группу бактерий – примерно треть от всех известных видов. Эта группа была названа в честь древнегреческого бога Протея, умевшего менять форму по собственному желанию.

Протеобактерии делятся на пять классов, обозначенных буквами греческого алфавита: α -, β -, γ -, δ - и ϵ -протеобактерии (в литературе чаще пишутся полностью: альфа-протеобактерии, бета-протеобактерии и т. д.).

Систематика грибов.

Предметом изучения микробиологии также являются грибы, а точнее их микроскопические или малоразмерные представители (в основном это большинство их видов, за исключением шляпочных грибов).

Все биологические виды, относимые к царству грибов (лат. *Fungus*), имеют явные отличительные характеристики. Главная из них – это наличие хитина в их клеточных стенках.

Грибы, как и животные, являются гетеротрофами: они добывают пищу, поглощая растворенные молекулы, обычно выделяя пищеварительные ферменты в окружающую среду (абсорбтивный тип питания). Грибы не содержат хлорофилла и не фотосинтезируют. Рост их тела является главным способом их перемещения в пространстве, за исключением их спор, которые могут перемещаться по воздуху или воде (некоторые виды грибных спор имеют жгутики). Ввиду этих и других различий грибы включают в единую группу родственных организмов, названную *Eumycota* (настоящие грибы), которые имеют общего предка, т. е. они образуют монофилетическую группу. Ранее относимые к царству грибов, в основном по морфологическим свойствам, оомицеты в настоящее время переведены в царство протистов, но до сих пор сохраняют в названии присущий грибам составной корень – *mycota*. Неслучайно, у представителей отдела *Oomycota*, как и у растений, в стенках клеток содержится целлюлоза, а не хитин. У оомицетов подвижные стадии имеют один или два жгутика.

Современное царство грибов включает в себя огромное разнообразие таксонов с различной экологией, стратегиями жизненного цикла и морфологией: от одноклеточных водных хитридов до крупных шляпочных грибов. Однако мало что известно об истинном биоразнообразии царства грибов, которое оценивается в 2,2–3,8 млн. видов. Из них описано только около 148 тыс., при этом более 8 тыс. видов признаны вредными для растений, и по меньшей мере 300 видов могут быть патогенными для человека. Со времен новаторских таксономических работ Карла Линнея грибы классифицировались по их морфологии или физиологии. Однако достижения в области молекулярной генетики открыли путь для включения геномного анализа в таксономию грибов. Филогенетические исследования помогли изменить классификацию царства грибов и сделать ее более монофилетичной.

Хотя грибы обычно включаются в учебные программы и учебники по ботанике, филогенетически они более тесно связаны с животными, нежели с растениями. Группа настоящих грибов (*Eumycota*) разделена на одно подцарство, семь отделов (иногда называемых типами) и десять подтипов. Все они были классифицированы главным образом на основе характеристик их половых репродуктивных структур. Из числа признанных отделов два (*Ascomycota* и *Basidiomycota*) тесно связаны между собой в единое подцарство *Dikarya*. Эти два отдела представле-

ны самым большим числом описанных видов, включая шляпочные грибы, плесени, большинство грибных патогенов растений, а также пивные, винные и хлебные дрожжи.

Из числа наиболее важных для изучения можно перечислить следующие отделы царства грибов:



Рис. 1.5. Хитридомицет *Obelidium micronatum* в процессе дифференцировки в спорангий, из которого высвободятся зооспоры

1) *хитридомицеты* (отдел *Chytridiomycota*). Они также широко известны как хитриды. Эти грибы распространены по всей биосфере. Это единственные грибы с активной подвижностью, производят зооспоры (рис. 1.5). Последние способны активно перемещаться через водные среды за счет одного жгутика, что побудило первых систематиков классифицировать их как простейшие. Мицелий у них слабо развитый, одноклеточный;

2) *зигомицеты* (*Zygomycota*). В своей среде обитания зигомицеты в основном ведут наземный образ

жизни, живя в почве или на разлагающемся растительном или животном материале. Некоторые из них являются паразитами растений, насекомых и мелких животных, а другие образуют симбиотические отношения с растениями. Отдел *Zygomycota* в настоящее время больше не признается, поскольку не считается действительно монофилетическим. В связи с этим он был разбит на два отдела, один из которых, *Mucoromycota*, включает разнообразную группу различных плесневых грибов, в частности хлебные плесени *Mucor* и *Rhizopus*. Все зигомицеты (или мукоромицеты) содержат несептированный, хорошо развитый мицелий; свое размножение они осуществляют чаще спорангиоспорами (эндоспорами) (рис. 1.6). Гифы зигомицетов иногда могут быть многоклеточными, образуя перегородки только там, где образуются гаметы, или чтобы отгораживать мертвые гифы;

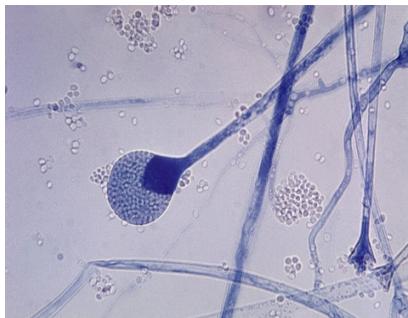


Рис. 1.6. Спорангий со спорангиоспорами мукомицета рода *Absidia*

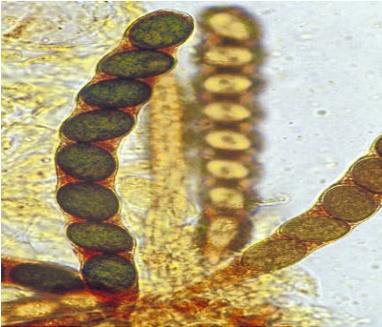


Рис. 1.7. Аски с аскоспорами у аскомицетов

3) *аскомицеты*, или *сумчатые грибы* (*Ascomycota*). Это широко известная группа представляет собой крупнейшую таксономическую группу среди истинных грибов. Аскомицеты образуют мейотические споры, называемые аскоспорами, которые заключены в специальную мешкообразную структуру (рис. 1.7), называемую сумкой (аском). Митоспоры (споры бесполого размножения) представлены конидиями. К отделу аскомицетов относятся некоторые шляпочные

грибы, например сморчки и трюфели, а также одноклеточные дрожжи (например, из рода *Candida*) и многие нитчатые грибы, живущие как сапротрофы, паразиты и мутуалистические симбионты (например, лишайники);

4) *базидиомицеты* (*Basidiomycota*) – это грибы с хорошо развитым многоклеточным мицелием. Они размножаются половым путем, образуя специализированные булавовидные концевые клетки, называемые базидиями, которые обычно несут внешние мейоспоры (обычно четыре) – так называемые базидиоспоры (рис. 1.8). Слияние ядер и мейоз происходят внутри базидий, и образующаяся тетрада гаплоидных ядер передается в почки, которые дифференцируются затем в базидиоспоры. Существует множество вариаций этого типичного жизненного цикла, включая образование базидиоспор на поверхности отдельных гаплоидных дрожжевых клеток после митотического деления ядра. Второй общей особенностью группы является долиповорная перегородка, которая разделяет последовательные отсеки по длине гиф базидиомицетов. Эта перегородка перфорирована центральным каналом, который определяется бочкообразным вздутием клеточной стенки пере-

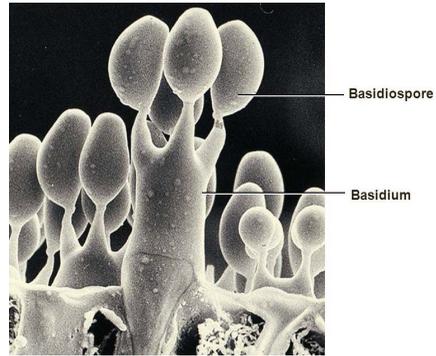


Рис. 1.8. Базидиомицет со спорами

гидов. Эта перегородка перфорирована центральным каналом, который определяется бочкообразным вздутием клеточной стенки пере-

городки. Митоспоры базидиомицетов представлены конидиями. К этому отделу относится большинство съедобных шляпочных грибов – макромицетов;

5) *дейтеромицеты* (не имеют истинного таксономического ранга отдела). Это особая группа грибов, часто приравниваемая к статусу отдела. К ним относятся грибы, которые не вписываются в общепринятую таксономическую классификацию грибов, основанную на морфологических особенностях половых структур, поскольку у дейтеромицетов никогда не наблюдалась половая форма размножения. Они известны как несовершенные грибы, поскольку известны только их бесполовая и вегетативная фазы, в которой они производят споры. К этой группе отнесено около 25 тыс. видов, многие из которых являются анаморфами отделов *Basidiomycota* или *Ascomycota*. Грибы, продуцирующие антибиотик пенициллин (рис. 1.9), а также грибы, вызывающие микоз стопы и некоторые дрожжевые инфекции, относятся к дейтеромицетам.

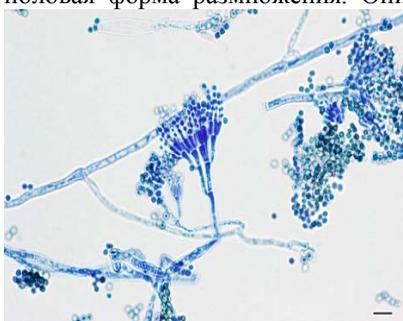


Рис. 1.9. Гриб рода *Penicillium*

Кроме того, существует ряд съедобных несовершенных грибов, в том числе и тех, которые обеспечивают отличительные характеристики сыра «Рокфор» и «Камамбер». Другими примерами являются плесневые грибы *Alternaria*, *Trichoderma* и др. В целом все дейтеромицеты размножаются только бесполым путем с помощью спор конидий. Они представляют собой бывшие аскомицеты и базидиомицеты, которые в процессе эволюции утратили половое спороношение. У них септированный мицелий, а многие из них – паразиты животных, растений и человека.

1.2. Морфология и химический состав микроорганизмов и вирусов

Формы и размеры бактерий.

Каждая бактериальная клетка имеет определенную форму и размер. Большинство бактерий имеет размер от 1 до 20 мкм. Тем не менее микробиологии известны и поистине гигантские микроорганизмы: на современном этапе самыми большими бактериями признаны представители рода *Thiomargarita*: *T. namibiensis* (др.-греч. *theion* – сера и лат.

margarita – жемчужина) (рис. 1.10), *T. nelsonii* и *T. magnifica* – виды морских граммотрицательных кокковидных бактерий из класса гамма-протеобактерий, обнаруженных в придонных осадках тропических регионов земного шара. Их размер может достигать 0,1–0,3 мм в диаметре (до 0,75 мм), поэтому тиомаргариты видны невооруженным глазом.

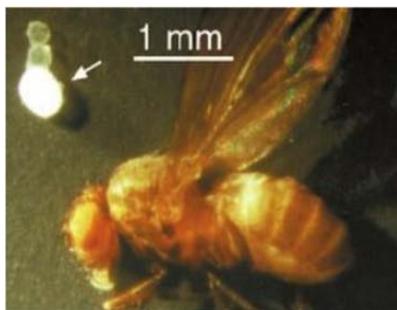


Рис. 1.10. *Thiomargarita namibiensis* в сравнении с пчелой (блестящая клетка – живая, две другие – мертвые)

На рис. 1.11. представлены немасштабированные по отношению друг к другу микрофотографии кишечной палочки и *T. namibiensis*. Однако если сравнить их истинный размер и соотнести кишечную палочку с намибийской

серной жемчужиной, то представьте себе БелАЗ в карьере.

Малый размер большинства бактерий обеспечивает им многие конкурентные преимущества по сравнению с более крупными живыми объектами. Например, он определяет короткое время генерации (воспроизведения путем удвоения), в результате чего микробная популяция быстрее растет. Кроме того, такие маленькие размеры обеспечивают большую площадь соприкосновения с питательным субстратом и быстрое поступление питательных веществ.

В микробиологии считается, что бактерии, принадлежащие одному роду, демонстрируют сходную морфологию. Характерная морфология бактериального вида сохраняется на протяжении бесчисленных поколений, но периодически изменяется в небольших пределах во время деления бактерий и разных жизненных циклов. Морфология бактерий в конечном итоге определяется сетчатым пептидогликановым мешком, полимерной макромолекулярной структурой, которая окружает цитоплазматическую мембрану и является единственным «твердым» эле-

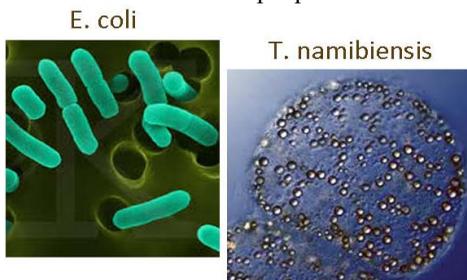


Рис. 1.11. Морфология кишечной палочки и намибийской серной жемчужины

ментом в бактериальной оболочке. В зависимости от содержания этого вещества и структуры клеточной стенки все бактерии делят на две большие группы: грамположительные и грамотрицательные. Это вещество присутствует практически во всех бактериях. Пептидогликан представляет собой полимер, структура мономерной субъединицы которого удивительно консервативна на всем протяжении филогенетического дерева бактерий.

Воздействие определенных внешних факторов может изменять форму микроорганизмов, однако в этом случае также имеются определенные закономерности инволюции (т. е. изменения морфологии) бактерий. Несмотря на то, что форма бактерий фактически детерминирована генетически, отдельные физико-химические воздействия все чаще признаются активными игроками в морфогенезе бактерий. Это воздействие может изменять форму микроорганизмов – в таких случаях говорят об aberrантных формах бактерий. Одной из наиболее частых

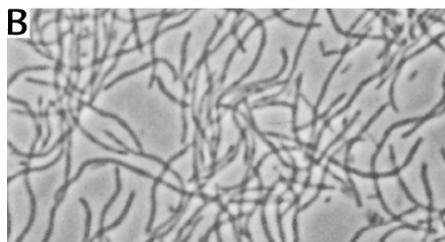
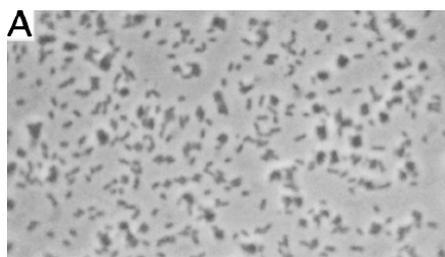


Рис. 1.12. Фенотип *E. coli* (А – каноническая морфология, В – филаментация)

морфологических aberrаций бактерий является филаментация (приобретение нитевидной формы), которая достигается за счет ингибирования деления клеток при сохранении их роста. В целом морфологическая пластичность присуща не всем бактериям, но для некоторых из них она играет важную роль в патогенезе: например, уропатогенная кишечная палочка часто приобретает нитевидную форму (рис. 1.12).

Считается, что стандартной морфологией бактерий является палочковидная форма, так как древнейшие бактерии имели именно эту форму. Не-

случайно, наиболее близкую к корню панбактериального эволюционного дерева ветвь составляют *кlostридии* – микроорганизмы, которые имеют палочковидную форму. Еще в конце 1990-х гг. с использованием революционного на тот момента метода геномного анализа рибосо-

мальной РНК было показано, что около 200 видов бактерий, формирующих наиболее древнюю филогенетическую ветвь, имеют или палочковидную, или нитевидную морфологию. Шаровидная форма возникла в микробном мире на самом позднем этапе эволюционных линий как результат более тесного существования палочковидных бактерий, а появление извитых форм стало следствием приспособления бактерий к движению в вязкой среде.

Шаровидные микроорганизмы, или кокки.

Кокки (от греч. *kokkos* – зерно, от лат. *coccus* – ягода) имеют сферическую форму в виде шара, эллипса, боба, ланцета, зерна, ягоды. Они могут быть размером 0,5–1,5 мкм. В эволюционном плане шаровидные бактерии считаются тупиковой ветвью в эволюции бактерий.

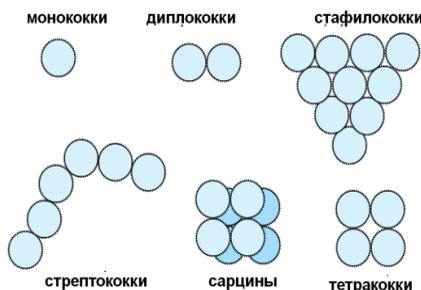


Рис. 1.13. Морфология круглых форм микроорганизмов

В зависимости от взаимного расположения клеток различают их несколько групп: микрококки (монококки), диплококки, стрептококки, стафилококки, тетракокки и сарцины (рис. 1.13). Характер взаимного расположения кокковых бактерий определяется в основном особенностями деления (рис. 1.14).

Микрококки (от лат. *micrococcus* – маленький), или монококки делятся в различных плоскостях,

и после деления они располагаются одиночно, парами или беспорядочно неопределенными скоплениями. Микрококки обитают в воде, почве, воздухе. Являются сапротрофами. Аэробность – характерная черта микрококков. Они разрушают различные органические вещества и выполняют в природе в основном роль «мусорщиков». Микрококки могут загрязнять лабораторные культуры, попадая в них из воздуха, участвуют в детоксикации или биодegradации многих загрязнителей окружающей среды.

Другие бактерии рода *Micrococcus* производят различные полезные продукты, такие как алифатические углеводороды для смазочных масел. Микрококки часто выделяют с поверхности кожи человека, животных, из молочных продуктов и пива. Прототипным видом считается вид *Micrococcus luteus*, который был первым описанным микрококком, и морфологическое понятие «микрококкок» практически полностью

синонимично микробам, принадлежащим роду *Micrococcus*. Этот микрорококк, находясь на коже, превращает компоненты пота в химические соединения с неприятным запахом. В последнее время отдельные микроорганизмы, традиционно относимые к другим морфологическим группам, были идентифицированы как члены этого рода на основе геномных анализов.

Микрококки могут хорошо расти в среде с небольшим количеством воды или высокой концентрацией соли, включая спортивную одежду, изготовленную из синтетических тканей.

Диплококки (от греч. *diploos* – двойной) делятся в одной плоскости, образуя попарно соединенные кокки, так как после деления сохраняется связь между дочерними клетками. Клетки могут иметь слегка вытянутую форму или вид кофейных зерен. Среди диплококков имеются патогенные: пневмококк – возбудитель пневмонии; менингококк – возбудитель эпидемического менингита; гонококк – возбудитель гонореи. В настоящее время термин «диплококк» считается внетаксономическим, так как ранее учрежденный род *Diplococcus* не выдержал проверку временем и распался на несколько самостоятельных родов. Прототипным видом диплококка считается вид *Streptococcus pneumoniae*.

Стрептококки (от греч. *streptos* – цепочка) – кокки, располагающиеся в виде цепочки в результате деления бактерий в одной плоскости и сохранения связи между дочерними клетками. В поле зрения микроскопа они могут располагаться не только цепочками, но и оди-

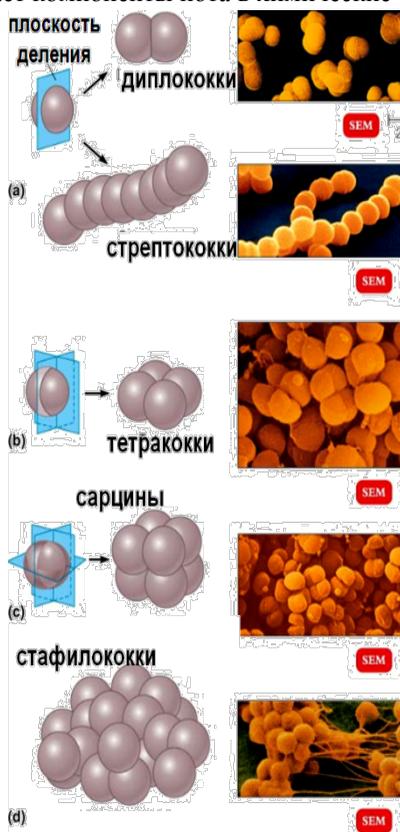


Рис. 1.14. Взаимное пространственное расположение кокков и характер деления

ночно, попарно, тетрадами либо скоплениями неопределенной формы. Большинство стрептококков являются сапротрофами, но встречаются и патогенные виды. У человека стрептококки вызывают ангину, гнойные воспаления. У животных стрептококки вызывают мастит, мыт у лошадей.

Прототипным видом стрептококков является вид *Streptococcus pyogenes* (рис. 1.15), являющийся колонизатором верхних дыхательных путей человека. Данный вид стрептококка вызывает патологию у человека аллергической природы – ревматизм. Аналогом этой болезни можно считать мыт у лошадей.

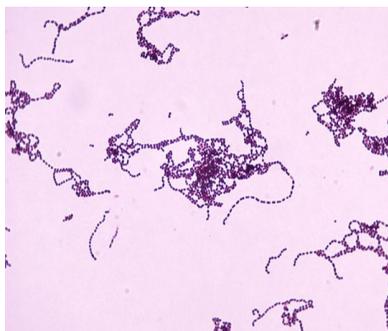


Рис. 1.15. *Streptococcus pyogenes*

Стафилококки (от греч. *staphyle* – виноградная гроздь) – кокки, делящиеся в различных плоскостях и располагающиеся в виде гроздьев винограда, одиночно, парами, тетрадами, кучками. Стафилококки представлены как сапротрофами, так и патогенными видами. Патогенные бактерии могут вызывать фурункулы, абсцессы, флегмоны, маститы, бронхиты, пневмонии, энтероколиты, стафилококкоз птиц. Прототипным видом является вид золотистый стафилококк *Staphylococcus aureus* (рис. 1.16).

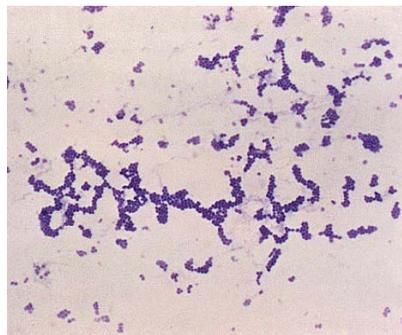


Рис. 1.16. *Staphylococcus aureus*

Природным хозяином этого микроорганизма является человек. Приблизительно 50 % населения являются носителями *Staphylococcus aureus* – преимущественно в ростральной области носовых ходов, а также в промежности, причем 20 % являются постоянными носителями и 30 % – периодическими. Санитарная роль золотистого стафилококка определяется способностью его продуцировать в пищевом продукте активный токсин, вызывающий пищевой токсикоз у людей.

Тетракокки (от греч. *tetra* – четыре) – кокки, делящиеся в двух взаимно перпендикулярных плоскостях, и поэтому располагаются по четыре. Патогенные для человека и животных виды встречаются очень редко. С точки зрения видового представительства тетракокки представляют самую разнородную морфологическую группу. Например, упомянутый выше вид *Micrococcus luteus* часто принимает вид тетракокка (рис. 1.17). В связи с этим тетракокки не имеют таксономического статуса. Тем не менее наибольшее число бактерий с пакетной тетраидной морфологией присутствуют в семействе *Rhodobacteraceae* – они в основном являются микроорганизмами-хемоорганотрофами (окисляют метан, фиксируют азот и др.) и не представлены патогенными видами.

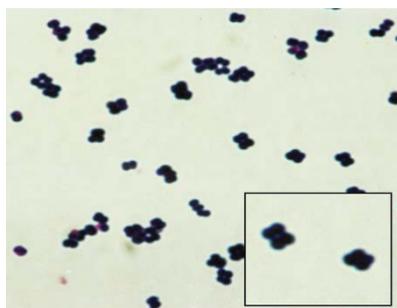


Рис. 1.17. *Micrococcus luteus* в форме диплококков и тетракокков

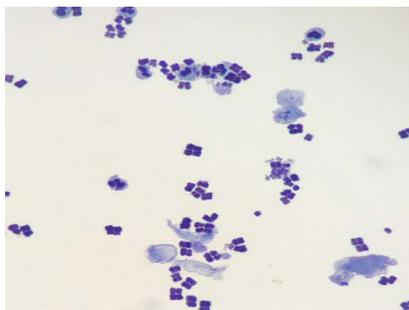


Рис. 1.18. Сарцины, обнаруживаемые в моче человека

Сарцины являются представителями рода *Sarcina* в семействе *Clostridiaceae*. Они активно синтезируют микробную целлюлозу, различные члены рода являются компонентами микробиоты человека и животных. Прототипным представителем этого рода является вид *Sarcina ventriculi* – бактерия, встречающаяся на поверхности семян злаков, в почве, грязи и в желудке людей. Хотя сарцины похожи на микрококки, некоторые морфологические характеристики помогают их отличить, например больший размер и образование спор.

Сарцины (от лат. *sarcio* – связываю) – кокки, делящиеся в трех взаимно перпендикулярных плоскостях и образующие пакеты по 3–16 клеток и более (рис. 1.18). Среди них имеются условно-патогенные представители, хотя в основном сарцины являются сапротрофами. Особенно часто они встречаются в воздухе, но также обитают в почве, кишечнике животных и человека. Таксономически наиболее типичные

В целом шаровидные формы бактерий имеют следующие характеристики: диаметр кокков не превышает 1–2 мкм, они хорошо окрашиваются основными анилиновыми красителями, большинство шаровидных форм грамположительны, спорообразование у них отсутствует, за исключением немногих видов, неподвижны, некоторые образуют капсулу. В каждой морфологической группе кокков содержатся разные виды, отличающиеся друг от друга биологическими свойствами.

Палочковидные бактерии.

Бактерии с палочковидной морфологией представляет собой самую многочисленную группу прокариот. Считается, что палочковидная форма является типичной для микробного мира, так как была присуща всем древнейшим бактериям. Вытянутая палочковидная форма лучше всего соответствует движению в жидкой среде, и неслучайно большинство подвижных бактерий принадлежат к этой группе.

Микроорганизмы палочковидной формы имеют осевую симметрию и цилиндрическую форму тела с резко обрубленными (сибирезвенная бацилла), округлыми (кишечная палочка), булавовидными (коринебактерии) или заостренными (фузобактерии) концами. Палочковидные формы бактерий делят на две группы: собственно бактерии (типичные представители – члены семейства *Enterobacteriaceae*) и спорообразующие бактерии (бациллы – представители рода *Bacillus* и клостридии – представители рода *Clostridium*).

Прототипным видом палочковидных бактерий считается кишечная палочка *Escherichia coli*.

Большинство палочек располагается беспорядочно, поодиночке. Кроме того, различают упорядоченные морфологические разновидности: диплобактерии и диплобациллы – палочки, расположенные по две; стрептобактерии и стрептобациллы – палочки, образующие цепочки из нескольких клеток; коккобактерии – короткие овоидные палочки (рис. 1.19). Отдельно выделяют палочки, расположенные под углом друг к другу в виде букв V или X (возбудители листериоза, дифтерии) или своеобразных скоплений в

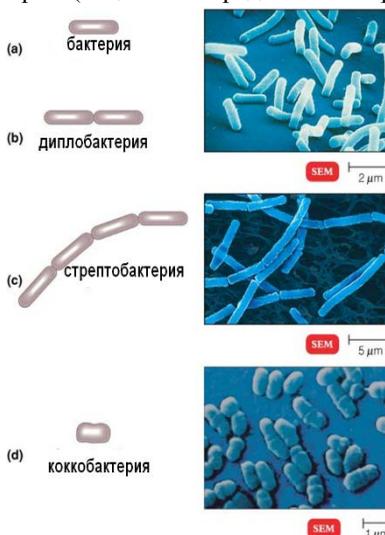


Рис. 1.19. Морфологические разновидности палочковидных бактерий

виде полисадов по пять и более клеток (листерии), в виде глыбок или кучек (микобактерии – возбудители туберкулеза и паратуберкулеза).

В отношении спорообразующих бактерий употребляют термины «бацилла» и «кlostридия», хотя в иностранной литературе первый термин не обязательно должен подразумевать спорообразование. Палочки, у которых диаметр споры не превышает ширину вегетативной клетки, называют бациллами (от лат. *bacillus* – палочка), а у которых превышают ширину клетки – кlostридиями (от лат. *clostridium* – веретенообразный) (рис. 1.20, 1.21).

Однако у некоторых бацилл диаметр споры может также превышать ширину вегетативной клетки (рис. 1.22): *Paenibacillus polymyxa*, *Paenibacillus macerans*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus circulans*, *Bacillus alkalisediminis* и др.

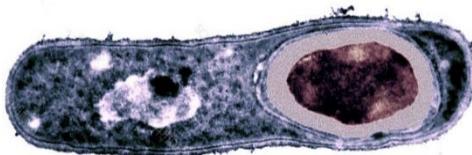


Рис. 1.20. *Bacillus subtilis* с эндоспорой

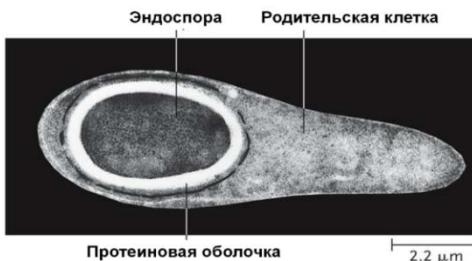


Рис. 1.21. *Clostridium tetani* с эндоспорой

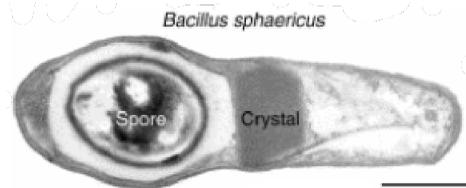


Рис. 1.22. Бацилла с эндоспорой, диаметр которой превышает ширину клетки:
Bacillus sphaericus

К палочковидным микробам также относят бактерии с некоторыми особенностями формы клетки. *Коринебактерии* (от греч. *korine* – булава) – прямые или изогнутые палочки с булавовидными утолщениями на концах (род *Corynebacterium*) (рис. 1.23). Среди них имеются сапротрофы, а также патогены животных и человека.

Фузобактерии представляют собой длинные, толстые с заостренными концами палочки (род *Fusobacterium*) (рис. 1.24). Имеются патогенные виды, например возбудитель некробактериоза – *Fusobacterium necrophorum* (у сельскохозяйственных животных), *Fusobacterium nucleatum* (у человека).

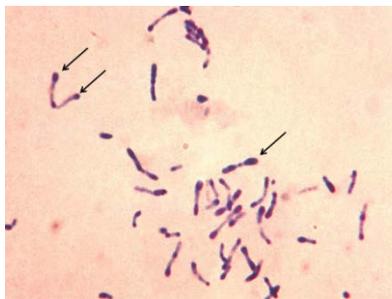


Рис. 1.23. Морфология *Corynebacterium diphtheriae*



Рис. 1.24. Морфология *Fusobacterium nucleatum*

Палочковидные формы бактерий обладают плеоморфизмом (изменение формы, связанное с развитием бактерий). Например, в молодой культуре *Proteus vulgaris* можно обнаружить клетки не только палочковидной, но и овальной, кокковой и нитевидной формы. Среди палочковидных микроорганизмов некоторые виды бактерий в старых культурах приобретают разветвленную форму (например, возбудители туберкулеза и паратуберкулеза).

Палочковидные бактерии характеризуются следующими общими признаками. Собственно бактерии достигают в длину 1–4 мкм, ширину – 0,2–0,6 мкм, бациллы и кластридии – соответственно 4–10 и 0,6–2,0 мкм. Они хорошо окрашиваются анилиновыми красителями и по Граму, могут быть грамположительны и грамотрицательны. Некоторые виды бактерий имеют зернистое или же биполярное окрашивание. Среди палочковидных бактерий известны подвижные и неподвижные виды, образующие споры и капсулы. Из всех форм микробов палочковидные бактерии являются наиболее частыми возбудителями различных патологических процессов у животных и человека.

Извитые формы бактерий.

Бактерии с извитой морфологией обладают спиральной симметрией. Происхождение бактерий этой морфологической группы долгое время интриговало микробиологов, так как сама по себе извитая форма предполагает отсутствие какого-либо внутреннего жесткого механического носителя формы клетки, которым у бактерий служит пептидогликановый мешок. Известно, что все эукариотические клетки, от дрожжей до растений и животных, имеют внутреннюю ригидную структуру, называемую цитоскелетом. Долгое время считалось, что у бактерий отсутствуют компоненты цитоскелета. Впоследствии было установле-

но, что особый бактериальный белок все же образует актиноподобный цитоскелет у бактерий. Извитые бактерии развились из палочковидных на каком-то этапе эволюции в результате усложнения бактериального протоцитоскелета и частичной потери пептидогликанового остова. Возможно, именно извитые бактерии стали связующим эволюционным звеном между прокариотами и эукариотами, в то время как кокки фактически представляют собой тупиковую ветвь эволюции в усложнении строения клетки. По внешнему виду среди извитых микроорганизмов различают вибрионы, спириллы, спирохеты (рис. 1.25).

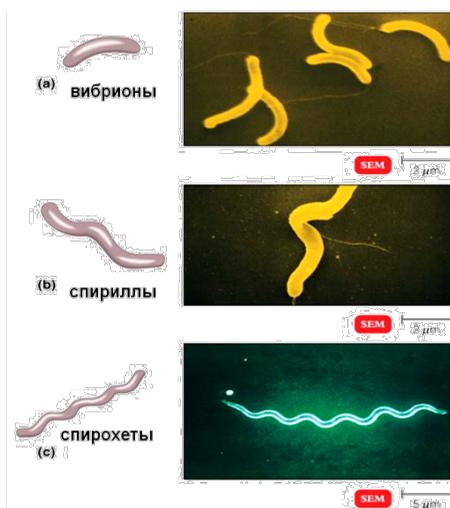


Рис. 1.25. Морфологические разновидности извитых форм бактерий

Вибрионы (от греч. *vibrio* – извиваюсь) – бактерии, имеющие цилиндрическую форму, образующие четверть или половину завитка спирали, напоминающие запятую (роды *Vibrio* и *Campylobacter*). Их длина составляет 5–7 мкм, ширина – 0,3–0,4 мкм. Вибрионы спор и капсул не образуют, подвижны, хорошо окрашиваются анилиновыми красителями. Патогенные виды вызывают у человека холеру, отиты, менингит и др., у животных – кампилобактериоз. В санитарной микробиологии интерес представляют кампилобактеры и аркобактеры, яв-

ляющиеся этиологическими агентами пищевых инфекций.

Спириллы (от лат. *spira* – изгиб) представляют собой бактерии, имеющие вид штопорообразных клеток с 4–6 витками (род *Spirillum*). Величина их составляет 10–15 мкм. Спириллы анилиновыми красителями окрашиваются удовлетворительно. Спор и капсул не образуют, преимущественно являются сапротрофами, некоторые спириллы могут быть патогенными.

Спирохеты (от греч. *speira* – изгиб, *chaite* – длинные волосы) – прокариоты спирально извитой формы (представители типа *Spirochaetes*). У спирохет выявляются два типа витков: первичные – образованные

изгибами протоплазматического цилиндра, и вторичные – представляющие собой изгибы всего тела. Спирохеты – эластичные, спиралевидные, длинные клетки, состоящие из осевой нити (аксостилия), цитоплазмы с рибосомами и включениями, нуклеоида, мезосом, цитоплазматической мембраны и клеточной стенки. Тонкая эластичная клеточная стенка состоит из наружной липопротеидной мембраны и несплошного слоя пептидогликана. Основная нить растянута на всю длину клетки, выполняет опорную и локомоторную функции (рис. 1.26). Фибриллы прикреплены к дисковидным образованиям – базальным тельцам (блефоропластам).

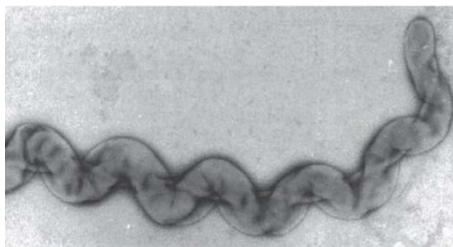


Рис. 1.26. Клетка спирохеты (виден эндоплазматический жгутик)

Движение спирохет осуществляется за счет активного сокращения осевой нити и протоплазматического цилиндра. Формы движения могут быть разнообразны: вращательное, поступательное, сгибательное. В сравнении с длиной (5–500 мкм) толщина спирохет незначительна (0,1–0,6 мкм). Спирохеты в неблагоприятных условиях могут образовывать цисту – укороченную и свернутую в спираль, окруженную прочной оболочкой клетки. Спирохеты плохо воспринимают красители. Ввиду этого, а также по причине незначительного размера их морфологию изучают в неокрашенном виде, применяя фазово-контрастную и темнопольную микроскопию.

По морфологии, количеству осевых фибрилл, характеру движения, типу биологического окисления и патогенности спирохеты дифференцируют: на собственно спирохеты, кристоспиры, трепонемы, боррелии и лептоспиры.

Спирохеты и *кристоспиры* обитают в открытых водоемах, сточных водах, иле. Кристоспиры – это гигантские прокариоты (размером 28–150 мкм) спирально изогнутой формы с плоской килевидной мембраной.

Трепонемы представляют собой спиралевидно извитые эластичные бактерии, имеющие 8–12 равномерных мелких завитков. Патогенными представителями являются *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* – возбудитель сифилиса – и некоторые другие. Имеются и сапротрофы – обитатели полости рта у человека и ила водоемов.

Боррелии – это извитые нитевидные бактерии шириной 0,2–0,5 мкм и длиной от 5 до 30 мкм. Осевая нить состоит из 15–20 параллельных фибрилл, они имеют от 3 до 8 крупных завитков. Патогенным является возбудитель возвратного тифа (*Borrelia recurrentis*).

Лептоспиры – спиралевидные бактерии, имеющие размеры 0,1–0,25×6–30 мкм, формирующие около 20 мелких тесно расположенных первичных завитков и 1–2 вторичных, придающих клетке форму букв Г, С, S. Концы этих спирохет утолщены и изогнуты напоdobие крючков. Осевая нить состоит из двух фибрилл. Тип движения лептоспир – вращательно-поступательное. Сапротрофные лептоспиры обитают в воде. Патогенные лептоспиры могут вызывать лептоспироз у животных и человека.

Другие формы микроорганизмов.

Кроме классических и переходных форм в микробиологии известны некоторые формы бактерий, не относящиеся к классическим – ветвящиеся, треугольные, звездообразные и др.

Прокариоты с треугольной и квадратной формой обычно упоминаются вместе, так как в своем большинстве они являются галофилами (*halo* – соль, *philic* – любящие), или галотолерантными микроорганизмами. Примером бактерии с треугольной формой является *Haloarcula japonica*, обнаруженная в японском солевом поле испарения. Другой представитель того же рода, *H. quadratum*, имеет, как не трудно догадаться, квадратную форму. Микроорганизм архей *Haloquadratum walsbyi* также имеет аналогичную форму (рис. 1.27). Эти бактерии не имеют истинной кубической формы, так как они очень плоские: например, клетки *H. walsbyi* имеют размер от 2 до 5 мкм и толщину 0,1 мкм. То же самое можно сказать и о бактерии *H. japonica*. Такая форма облегчает их присутствие в водной среде. Их плоские формы сохраняют плавучесть и перемещение параллельно поверхности воды.

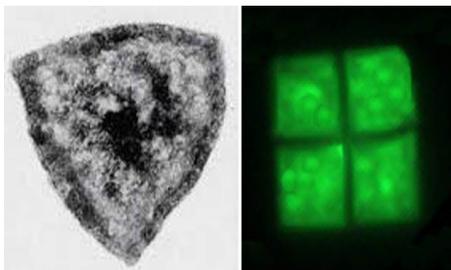


Рис. 1.27. Морфология бактерий *Haloarcula japonica* и *Haloquadratum walsbyi*

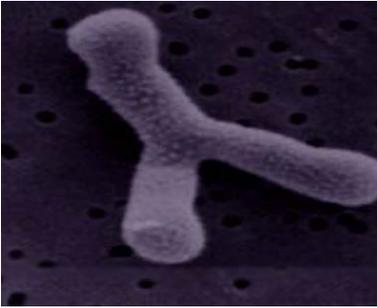


Рис. 1.28. Бифидобактерия

(рис. 1.29). Их тело состоит из тонких (0,2–2 мкм) длинных нитей (гифов), которые могут быть прямыми или спиралевидными, имеют единую оболочку и протопласт. Гифы располагаются радиально. Актиномицеты бывают подвижные и неподвижные.

Капсул и спор актиномицеты не образуют, они грамположительны. Размножаются с помощью спор, которые образуются в результате фрагментации, но могут размножаться почкованием.

Строение актиномицетов аналогично строению грамположительных бактерий, т. е. их клеточная стенка содержит пептидогликан, а не хитин и целлюлозу, как у грибов. Главной характеристикой, относящей актиномицетов к бактериям, является отсутствие у них оформленного ядра.

Актиномицеты обитают преимущественно в почве, обнаруживают их в воде, на растениях, коже и слизистых оболочках животных. Они разлагают органические субстраты, в том числе недоступные для других микроорганизмов. Эти бактерии участвуют в круговороте веществ и энергии, образовании почвы и ее плодородия. Отдельные представители этой морфологической группы (например, стрептомицеты) вырабатывают особый «землистый» запах, который возникает в результате продукции летучего метаболита геосмина. Многие актиномицеты являются продуцентами антибиотиков, витаминов, аминокислот, фер-

В природе существуют и другие разновидности морфологических форм бактерий, например, важные в санитарном отношении бифидобактерии имеют форму буквы Y (бифидные бактерии) (рис. 1.28); некоторые бактерии похожи на сцепленные леденцы на палочке, а некоторые – на сегментированных червей.

Актиномицеты (от греч. *actis* – луч, *mykes* – гриб) бактерии лучистой формы, напоминающей грибницу



Рис. 1.29. Характерная для актиномицетов морфология

ментов. Патогенные актиномицеты вызывают у животных и человека болезни под названием актиномикозы.

Самые распространенные в природе формы бактерий показаны на рис. 1.30.

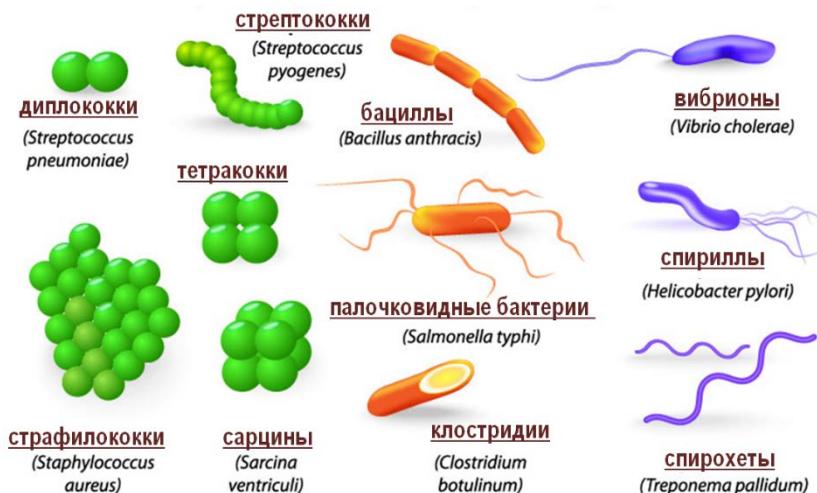


Рис. 1.30. Основные морфологические группы бактерий

Строение бактериальной клетки.

Большинство бактерий представляют собой одноклеточные микроорганизмы. Часто бактериальные клетки после деления не расходятся и сохраняют определенное взаимное расположение, однако каждая клетка такого бактериального скопления представляет собой самостоятельный микроорганизм, поскольку каждая из них автономна и может существовать самостоятельно.

Бактерии, за исключением микоплазм, имеют определенную форму клетки, которая поддерживается благодаря твердой (ригидной) клеточной стенке. Клеточная стенка спирохет эластична, и их извитая форма поддерживается с помощью аксиальных фибрилл. Форма клетки многих бактерий отличается постоянством и сохраняется в течение всей жизни. Но есть бактерии, у которых наблюдается более или менее выраженный плеоморфизм. Нередко он отражает различные стадии развития микроорганизмов: в этом случае обнаруживается упорядо-

ченное, регулярное чередование определенных форм. Полиморфность (разнообразие форм) микоплазм связана с отсутствием у них клеточной стенки. Из всех бактерий наибольшей стабильностью формы характеризуются кокки, наибольшей вариабельностью – палочковидные клетки.

Бактерии невидимы невооруженным глазом и относительно просто устроены. Клетки бактерий измеряют в микрометрах ($1 \text{ мкм} = 10^{-3} \text{ мм}$), а структурные компоненты – в нанометрах ($1 \text{ нм} = 10^{-3} \text{ мкм}$).

Бактериальная клетка имеет сложное строго структурированное строение. Процессы ассимиляции (анаболизм) и диссимиляции (катаболизм) упорядочены во времени и пространстве благодаря структурированности объема клетки.

С морфологической точки зрения бактерия дифференцирована определенным образом (рис. 1.31), и в ней различают определенные структуры. В их числе выделяют основные (обязательные) и временные (необязательные) структуры. К основным структурам (компонентам) клетки относят: клеточную стенку (кроме микоплазм), цитоплазматическую мембрану с ее производными, цитоплазму с рибосомами и различными включениями, нуклеоид. Необязательными и временными структурами бактерий являются: слизистый слой или чехол, капсула, жгутики, фимбрии (ворсинки, пили).

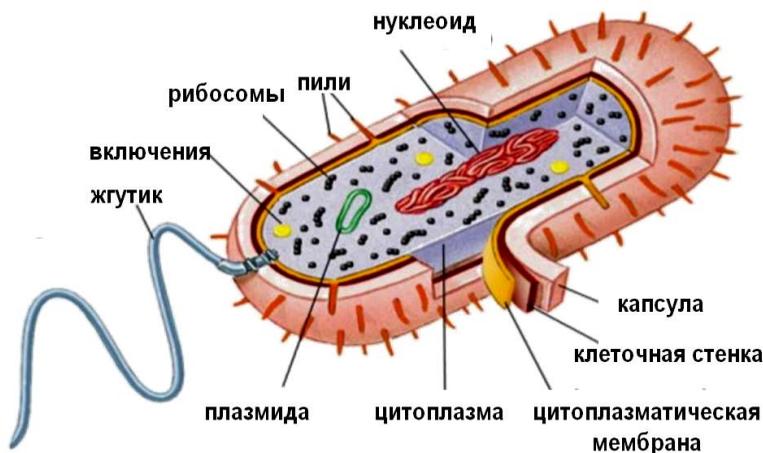


Рис. 1.31. Строение бактериальной клетки

Обязательные структурные компоненты бактериальной клетки.

Цитоплазма представляет собой сложную коллоидную полужидкую систему, состоящую до 90 % из воды. Гомогенная фракция цитоплазмы называется цитозолем. Химический состав бактериальной цитоплазмы очень сложный. Она содержит белки, полисахариды, липиды, минеральные вещества, микроэлементы. В ней находятся рибосомы и различные включения, которые могут быть жидкими, твердыми, газообразными. Цитоплазма образует внутреннюю среду клетки, она объединяет клеточные структуры и обеспечивает их взаимодействие. В цитоплазме также находится нуклеоид.

В цитоплазме протекает обмен веществ клетки (метаболизм), т. е. происходят ферментативные процессы, обеспечивающие ее питание, дыхание, биосинтез белков, углеводов, липидов, кислот, а также токсинов и ферментов, обуславливающих патогенность болезнетворных бактерий.

Цитоплазматическая мембрана (ЦПМ, плазмолемма) – полупроницаемая липопротеидная структура, отделяющая цитоплазму от стенки. На долю ЦПМ приходится около 10 % сухой массы бактерий, 25–40 % фосфолипидов, 20–75 % белков, 6 % углеводов.

Цитоплазматическая мембрана образует инвагинаты (впячивания), т. е. цитоплазматические структуры, получившие название *мезосом*. Мезосомы – это мембранные системы, состоящие из трубочек, пузырьков и пластинок. Мезосомы, связанные с нуклеоидом бактерии, называются нуклеодосомами. Считается, что эти образования участвуют в энергетическом обмене, дыхании клеток, делении бактерий и процессе спорообразования. Мезосомы хорошо выражены у грамположительных бактерий, хуже – у грамотрицательных и совсем плохо – у риккетсий и микоплазм.

Рибосомы – это структуры, в которых идет биосинтез белка, т. е. они представляют собой своеобразные «фабрики» синтеза протеинов. Сами по себе они состоят из белка и РНК. Рибосомы бактерий, архей и эукариот подобны, что указывает на общность происхождения всех известных типов клеток биосферы. Основные различия между ними заключаются в размерах, структуре и соотношении рибосомальных белков и РНК. Кроме того, у бактерий и архей в процессе трансляции белка более чем одна рибосома может двигаться вдоль цепи и-РНК. Различия в структуре бактериальной рибосомы и рибосом эукариотических клеток дают возможность разработки антибиотиков, обладающих избирательным ингибирующим действием.

Диаметр рибосом составляет 15–20 нм. В клетке их может насчитываться от 5 до 10 тыс. Перед синтезом белка они объединяются в одну рибосому с константой седиментации 70S (константы седиментации характеризуют скорость, с которой эти частицы осаждаются в центрифуге при определенных стандартных условиях).

В клетках цианобактерий присутствуют *тилакоиды* – фотосинтезирующие структуры, содержащие хлорофилл и каротиноиды, а светособирающие пигменты – фикобилины – находятся в специальных структурах, которые называются *фикобилисомами*. У зеленых бактерий светособирающие пигменты, участвующие в фотосинтезе, содержатся в особых структурах, называемых *хлоросомами*.

Разнообразные *включения* не являются структурами, абсолютно необходимыми для жизнедеятельности бактерий, поэтому их присутствие не является строго обязательным. Некоторые из включений окружены белковой мембраной. Например, газовые вакуоли – аэросомы, заполненные скоплением газовых пузырьков, встречаются в основном у водных видов бактерий и обеспечивают их плавучесть и глубину погружения в водной среде. Значительная часть включений представляет собой скопления питательных веществ и продуктов клеточного метаболизма. К ним относят полисахариды (гликоген, гранулеза), полифосфаты (гранулы волютина), отложения серы и др.

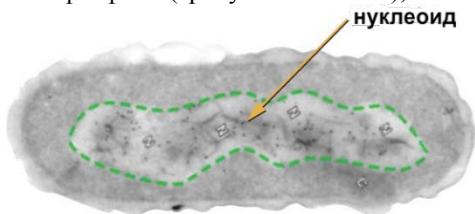


Рис. 1.32. Нуклеоид бактериальной клетки

Нуклеоид является аналогом ядра эукариот. Он располагается в центре клетки, представляет собой двойную нить ДНК, плотно уложенную наподобие клубка и замкнутую в кольцо (рис. 1.32). Длина бактериальной нуклеоида составляет 1,1–1,6 нм.

Он не имеет ядерной оболочки, ядрышек, белков гистонов, и его называют бактериальной хромосомой. В зависимости от стадии развития клетки нуклеоид может быть дискретным и состоять из отдельных фрагментов. Это связано с тем, что деление бактериальной клетки происходит после завершения цикла репликации молекулы ДНК и формирования дочерних клеток.

Кроме нуклеоида в клетках многих видов прокариот обнаружены *плазмиды*. Они представляют собой небольшие кольцевые молекулы ДНК, способные к автономной репликации. Их присутствие детерминирует отдельные свойства микробов, связанные с размножением,

устойчивостью к лекарственным веществам, патогенностью бактерий и др. Нуклеоид у бактерий отвечает за наследственность и изменчивость.

Одной из структур, значительно отличающих бактериальную клетку от эукариотических, является *клеточная стенка*. Она расположена сверху цитоплазматической мембраны, образуя вместе с ней структуру, иногда называемую в русскоязычной терминологии термином «клеточная оболочка». Главным предназначением клеточной стенки является защита содержимого бактериальной клетки от разницы осмотического и онкотического давлений, обусловленной гораздо более высокими концентрациями солей и белков внутри клетки по сравнению с внешней средой. Клеточная стенка не является полностью непроницаемой структурой, так как в ней находятся поры, формируемые белком порином. Она имеется у всех прокариот, за исключением микоплазм, протопластов, L-форм бактерий.

Клеточная стенка бактериальной клетки представляет собой прочную, упругую структуру, у грамположительных бескапсульных бактерий она является самой внешней структурой бактериальной клетки. У грамотрицательных бактерий сверху клеточной стенки располагается так называемая наружная мембрана, а у капсулообразующих бактерий продуцируемая ими капсула находится на поверхности клеточной стенки.

Основным компонентом клеточной стенки бактерий является *пептидогликан*, или муреин (от лат. *murus* – стенка), – опорный полимер, имеющий сетчатую структуру и образующий наружный каркас бактериальной клетки.

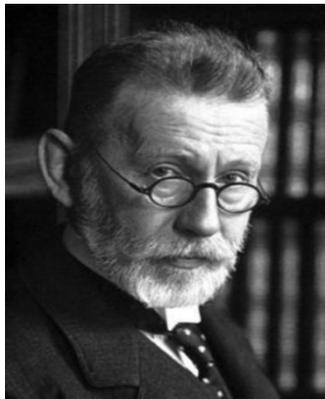


Рис. 1.33. Г. К. Грам

В микробном мире в зависимости от строения клеточной стенки все бактерии делятся на две группы: грамположительные (грам⁺) и грамотрицательные (грам⁻). Такое название происходит от фамилии датского бактериолога Ганса Кристиана Грама (1853–1938) (рис. 1.33), предложившего простой метод дифференциации бактерий, основанный на методике сложного окрашивания (окраска по Граму). Этот метод, разработанный в 1884 г., используется по настоящее время для дифференциации бактерий.

В основе окраски по Граму лежит прочное прикрепление основного компонента окраски, красителя генцианового фиолетового, к клеточной стенке бактерии, поэтому у грамположительных микроорганизмов он не вымывается кратковременным воздействием спирта.

Клеточная стенка *грамположительных бактерий* (рис. 1.34) прилегает к цитоплазматической мембране, она массивная, ее толщина составляет от 20 до 100 нм. На долю пептидогликана приходится 30–70 % сухой массы клеточной стенки. В составе клеточной стенки обнаруживаются полисахариды, белки и липиды. Важной особенностью грамположительных бактерий является наличие тейхоевых и липотейхоевых кислот, связанных с пептидогликаном и участвующих в транспорте ионов магния в клетку.

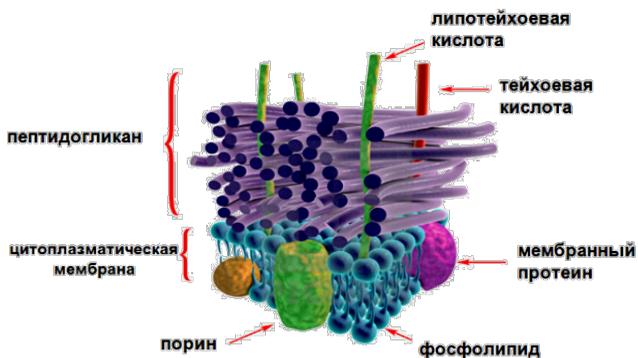


Рис. 1.34. Строение клеточной стенки грам⁺ бактерий

Тейхоевые кислоты – линейные углеводные фосфатсодержащие гетерополимеры, состоящие из повторяющихся остатков полиолов либо гликозилполиолов, связанных фосфодиэфирными связями.

Грамотрицательные бактерии имеют сравнительно тонкую клеточную стенку (14–17 нм) (рис. 1.35). Ригидный слой клеточной стенки образован одним, реже несколькими слоями пептидогликана, содержание которого составляет до 20 % сухой массы клеточной стенки. Структурные микрофибриллы у грамотрицательных бактерий сшиты менее компактно, поры в их пептидогликановом слое значительно шире, чем в молекулярном каркасе грамположительных бактерий, что способствует быстрейшему вымыванию фиолетового генцианвиолета.

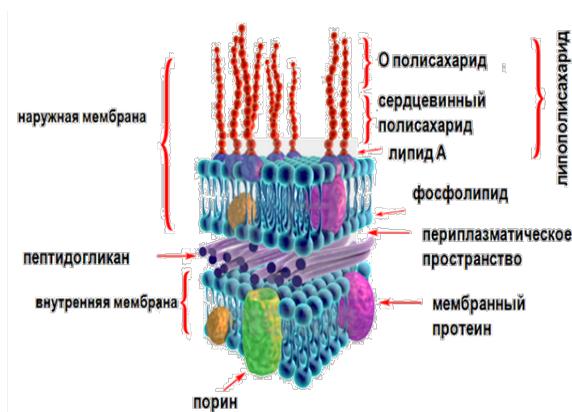


Рис. 1.35. Строение клеточной стенки грам⁻ бактерий

Тейхоевые кислоты у грамотрицательных бактерий не обнаружены.

Липополисахариды (ЛПС) состоят из липидной части, базисной части молекулы полисахарида (сердцевина) и боковых полисахаридных цепей. Иммуногенные свойства проявляют боковые полисахаридные цепи и сердцевина. Боковые полисахаридные цепи отвечают за антигенную специфичность молекулы ЛПС, поэтому называются О-антигеном. Липидная часть термоустойчива и отвечает за биологические эффекты ЛПС. У патогенных грамотрицательных бактерий липополисахарид выполняет функцию *эндотоксина*, так как он связывается с рецепторами во многих типах клеток, но особенно в иммунных клетках, что способствует секреции провоспалительных биологически активных веществ.

Различия в строении клеточной оболочки грамположительных и грамотрицательных бактерий показаны на рис. 1.36.

В целом клеточная стенка выполняет множество функций: определяет и сохраняет постоянную форму клетки, защищает ее от осмотического шока и повреждающих факторов внешней среды, обеспечивает связь с внешней средой через каналы и поры, участвует в метаболизме клетки и регуляции ее роста и размножения. Она имеет на своей поверхности специфические рецепторы для взаимодействия с фагами и антителами, а также гидролитические ферменты, обеспечивающие рост клеточной стенки либо аутолиз при ее гибели. Клеточная стенка является носителем патогенных, антигенных, токсигенных, иммуногенных свойств бактерий.

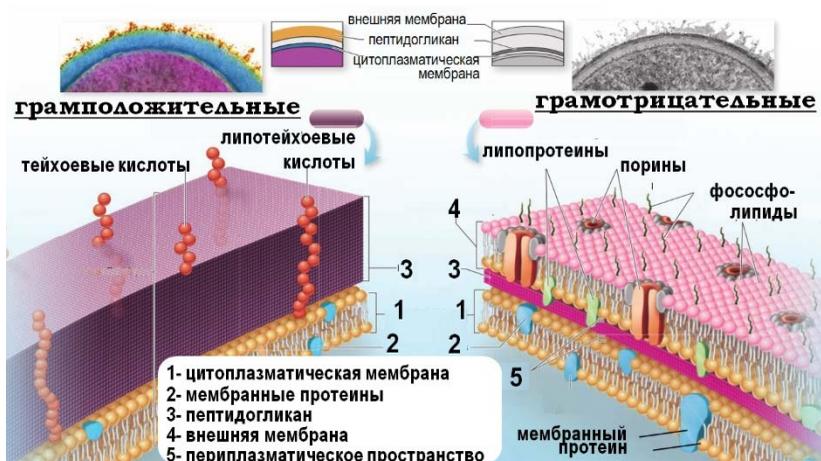


Рис. 1.36. Различия в строении клеточной стенки бактерий

Необязательные и временные структурные компоненты бактериальной клетки.

Все необязательные и временные структуры находятся на поверхности бактериальной клетки и придают микроорганизму какое-то определенное качество: подвижность, устойчивость к фагоцитозу, способность к прикреплению. Некоторые из них формируются только в определенных условиях (например, в инфицированном организме, но не во внешней среде), отдельные свойства присутствуют на всем протяжении жизненного цикла бактериальной клетки, но часто эта характеристика является не видовым, а штаммовым признаком, т. е. обнаруживается только у определенных штаммов данного вида. К таким структурным компонентам относят: слизистый чехол, капсулу, жгутики и пили.

Некоторые виды бактерий выделяют в большом количестве слизистые экзополимеры, которые образуют рыхлый *слизистый чехол*. Слизистый чехол предохраняет бактерию от высыхания, так как вещество чехла является гидрофильным, хорошо связывая воду. Иногда слизистые образования служат источником запасных питательных веществ. С помощью слизистых выделений осуществляется связь между соседними клетками, а также прикрепление клеток к различным поверхностям.

Капсула – слизистая структура, располагающаяся на поверхности клеточной стенки и тесно связанная с ней. В отличие от слизистого слоя, бактериальная капсула представляет собой организованную структуру, которая не удаляется аналогичными способами так же легко, как и слой слизи. Толщина капсулы составляет более 0,2 мкм. Капсула отграничена от внешней среды (рис. 1.37).

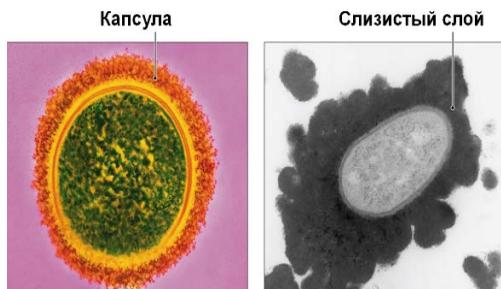


Рис. 1.37. Отличия бактериальной капсулы и слизистого слоя

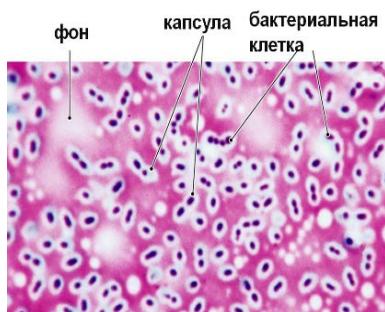


Рис. 1.38. Характер окраски бактериальной капсулы простым методом

Ее можно выявить при световой микроскопии при окраске специальными методами, но она также хорошо заметна и при простых методах окраски, так как обычно плохо прокрашивается красителями (рис. 1.38).

Многие бактерии образуют микрокапсулу. Капсула состоит из гетерополисахаридов (у бактерий группы кишечной палочки), белков (у стрептококков), полипептидов (у возбудителя сибирской язвы).

Скопления бактерий, заключенных в одну капсулу, называются зооглеями. У некоторых бактерий капсула постоянно имеется у всех особей и во всех средах. У других бактерий (пневмококков, энтерококков) капсульное вещество образуется только в организме хозяина, а на питательных средах его синтез прекращается.

Капсула и слизистый слой иногда объединяют под термином «гликокаликс», учитывая преимущественно их углеводную природу. Гликокаликс, являясь наружной оболочкой, защищает бактерию от внешних воздействий и помогает ей прилипнуть к субстрату. Гликокаликсный слой различается среди бактерий по толщине, организации и химическому составу. Некоторые бактерии покрыты рыхлым слоем, который защищает их от потери воды и питательных веществ; капсула же более плотно связана с клеткой, она плотнее и толще.

Жгутики являются органоидами движения, представляют собой тонкие полые нити, берущие начало от цитоплазматической мембраны, диаметром 12–30 нм, длиной от 6–9 до 80 мкм и более. Жгутики состоят из белка флагеллина (от лат. *flagellum* – жгутик), который обладает сократительной способностью. Жгутик состоит из трех частей: спиральной нити, крюка и базального тельца.

По характеру расположения жгутиков и их количеству бактерии подразделяют (рис. 1.39): на *монотрихи* – бактерии с одним полярно расположенным жгутиком; *амфитрихи* – бактерии с двумя полярно расположенными жгутиками или имеющие по пучку жгутиков на обоих концах; *лофотрихи* – бактерии, имеющие пучок жгутиков на одном конце клетки; *перитрихи* – бактерии, имеющие множество жгутиков по бокам клетки или же по всему периметру ее. Бактерии, не имеющие жгутиков, называют *атрихиями*.

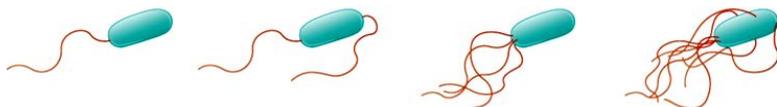


Рис. 1.39. Типы жгутиков у бактерий
(слева направо: монотрихи, амфитрихи, лофотрихи, перитрихи)

Пили (*ворсинки*, *фимбрии*) – это нитевидные образования толщиной 3–10 нм, длиной 0,3–10 мкм. Они отходят от поверхности клетки и состоят из белка пилина. У бактерий их может быть от 1–2 до нескольких десятков, сотен и даже тысяч. Пили были обнаружены у подвижных и неподвижных бактерий (рис. 1.40).

Известно несколько типов фимбрий, которые различаются функциями. Наиболее изучены фимбриии первого типа – фимбриии общего типа, они ответственны за питание, водно-солевой обмен и адгезию. Пили первого типа помогают бактериям прикрепляться к клеткам живых организмов. Пили второго типа, называемые половыми фимбриями или F-пилями, имеют внутри канал, через который генетический материал передается от клетки донора к реципиенту при конъюга-

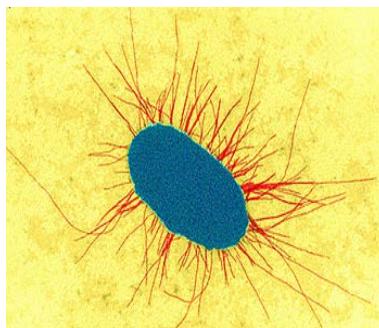


Рис. 1.40. Пили по всей поверхности клетки *Escherichia coli*

ции бактерий. Через пили в бактериальную клетку могут проникать вирусы (фаги).

На поверхности клеток некоторых видов бактерий обнаружены структуры под названием *шипы*. Это полые цилиндры длиной 1–3 мкм и шириной до 65 нм. Шипы состоят из белка спинина. Бактерии с шипами обычно неподвижны. Считают, что образование шипов способствует лучшему выживанию бактерий в естественной среде обитания. У ряда метиловых бактерий выявлены трубчатые выросты. Точное значение трубчатых выростов для бактерий остается невыясненным.

Бактериальные эндоспоры способны образовывать некоторые бактерии. Бактериальная спора является структурой с особым строением, представляет собой покоящуюся форму микроорганизма, которая формируется с целью переживания неблагоприятных условий. Следует отметить, что в русскоязычной терминологии термин «спора» имеет отношение к самым различным структурам среди представителей как микробного мира (бактерии и грибы), так и растительного мира (мхи и папоротники). Споры этих представителей биосферы в значительной степени различаются по строению и организации, однако в большинстве случаев они служат для размножения. В бактериальном мире споры не выполняют такой функции, так как бактерии размножаются путем бинарного деления.

Спорообразование присуще только микроорганизмам отдельных родов, в основном из числа грамположительных палочек. У этих микроорганизмов споры образуются внутри бактериальной клетки, поэтому их также принято называть *эндоспорами*. Тем не менее споры актиномицетов, которыми они размножаются, формируются снаружи клетки путем почкования, они имеют более простое строение, поэтому их называют *экзоспорами*.

Предполагается, что эндоспорообразование представляет собой один из древних механизмов выживания бактерий, до сих пор сохранившийся у отдельных представителей грамположительных палочек. Сохранность эндоспор часто впечатляет: в отдельных исследованиях удалось выделить жизнеспособные споры из кишечного канала древних вымерших пчел, живших 25–40 млн. лет назад и найденных запечатанными в янтаре.

Спорообразование в основном характерно для грамположительных бактерий – представителей родов *Bacillus* и *Clostridium* – и некоторых других близкородственных родов. Продуцируемые ими споры представляют собой практическую проблему санитарной микробиологии.

Массовая споруляция обычно происходит только тогда, когда клетки входят в стационарную фазу, хотя это не всегда является обязательным условием. Споруляция может завершиться всего за 8 часов и делится на несколько этапов.

Споры находятся в состоянии анабиоза. В патматериале споры могут быть как внутри бактериальной клетки, так и вне ее. Внутри клетки они могут располагаться центрально (рис. 1.41), субтерминально – ближе к концу, терминально – на конце палочек.

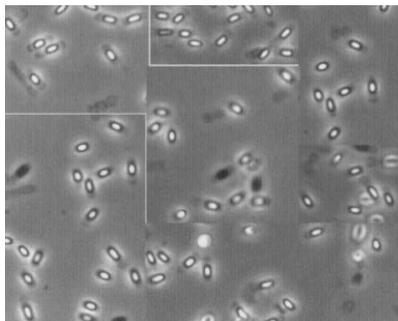


Рис. 1.41. Споры *Bacillus anthracis*

Морфология вирусов.

Вирусы составляют царство *Vira*.

Основными отличительными признаками вирусов являются следующие:

- 1) содержат лишь один тип нуклеиновой кислоты (РНК или ДНК);
- 2) не имеют собственных белоксинтезирующих и энергетических систем;
- 3) не имеют клеточной организации;
- 4) обладают дизъюнктивным (разобщенным) способом репродукции (синтез белков и нуклеиновых кислот происходит в разных местах и в разное время);
- 5) облигатный паразитизм вирусов происходит на генетическом уровне;
- 6) вирусы проходят через бактериальные фильтры.

Вирусы могут существовать в двух формах: *внеклеточной* (вириона) и *внутриклеточной* (вируса).

По форме вирионы могут быть (рис. 1.42):

- 1) округлыми;
- 2) палочковидными;
- 3) в виде правильных многоугольников;
- 4) нитевидными и др.

Размеры вирионов колеблются от 15–18 до 300–400 нм.

В центре вириона – вирусная нуклеиновая кислота, покрытая белковой оболочкой – капсидом, который имеет строго упорядоченную структуру. Капсидная оболочка построена из капсомеров. Нуклеиновая кислота и капсидная оболочка составляют нуклеокапсид.

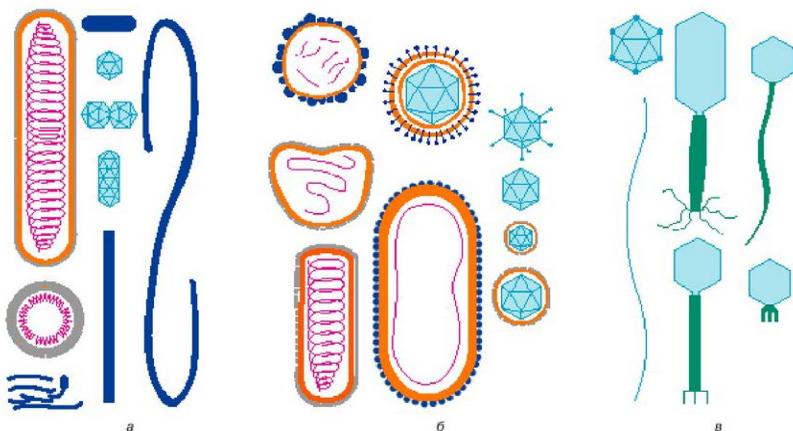


Рис. 1.42. Формы вирионов:
а – вирусы растений; *б* – вирусы животных; *в* – бактериофаги

Нуклеокапсид сложноорганизованных вирионов покрыт внешней оболочкой – суперкапсидом, которая может включать в себя множество функционально различных липидных, белковых, углеводных структур.

Строение ДНК и РНК вирусов принципиально не отличается от нуклеиновых кислот других микроорганизмов. У некоторых вирусов в ДНК встречается урацил.

ДНК может быть:

- 1) двухцепочечной;
- 2) одноцепочечной;
- 3) кольцевой;
- 4) двухцепочечной, но с одной более короткой цепью;
- 5) двухцепочечной, но с одной непрерывной, а с другой фрагментированной цепями.

РНК может быть:

- 1) одонитевой;
- 2) линейной двухнитевой;
- 3) линейной фрагментированной;
- 4) кольцевой;
- 5) содержащей две одинаковые одонитевые РНК.

Вирусные белки подразделяют:

1) на геномные – нуклеопротеиды. Обеспечивают репликацию вирусных нуклеиновых кислот и процессы репродукции вируса. Это ферменты, за счет которых происходит увеличение количества копий материнской молекулы, или белки, с помощью которых на матрице нуклеиновой кислоты синтезируются молекулы, обеспечивающие реализацию генетической информации;

2) белки капсидной оболочки – простые белки, обладающие способностью к самосборке. Они складываются в геометрически правильные структуры, в которых различают несколько типов симметрии: спиральный, кубический (образуют правильные многоугольники, число граней строго постоянно) или смешанный;

3) белки суперкапсидной оболочки – это сложные белки, разнообразные по функциям. За счет них происходит взаимодействие вирусов с чувствительной клеткой. Выполняют защитную и рецепторную функции.

Химический состав микроорганизмов.

Химический состав микроорганизмов сходен с химическим составом тела животных и растений.

Важнейшими химическими элементами, преобладающими в составе клеток микроорганизмов, являются углерод, кислород, водород, азот, сера, фосфор, калий, марганец, кальций и железо.

Первые четыре элемента составляют основу органических веществ – их называют органогенными элементами. Их соединения составляют 90–97 % сухого вещества. Другие элементы называются зольными, или минеральными, на их долю приходится 3–10 %. Больше всего содержится фосфора, который входит в состав многих веществ цитоплазмы. В крайне малых количествах в состав клеток микроорганизмов входят микроэлементы, но при этом они выполняют важную роль в процессах жизнедеятельности (медь, марганец, цинк, молибден). Соотношение элементов будет зависеть от вида и роста организмов.

Вода (H_2O) в составе микроорганизмов занимает 75–90 % массы. В клетке протекает множество различных химических процессов. Одни сложные вещества разлагаются, другие образуются из более простых соединений; вода же является той необходимой средой, в которой только и могут осуществляться все эти химические реакции, с водой же удаляются из клетки продукты обмена.

Все вещества поступают в клетку только с водой и с ней же удаляются. Часто вода в клетке находится в связанном (с белками, углеводами) состоянии и входит в состав клеточной структуры.

Вода в свободном состоянии служит дисперсной средой для коллоидов и растворителем органических и минеральных соединений, которые образуются в клетке в результате обмена веществ, участвует во многих химических реакциях, протекающих в клетке. Содержание свободной воды в клетках может изменяться в зависимости от условий внешней среды, физиологического состояния клетки, ее возраста. Потеря свободной воды влечет за собой высыхание клетки, т. е. ее гибель.

Сухое вещество тела микроорганизмов не превышает 15–25 % и состоит преимущественно (до 95 %) из органических соединений – белков, углеводов, жиров, липидов и др. Минеральные соединения составляют не более 5–15 % сухого вещества. Большая часть зольных элементов в клетке химически связана с органическими веществами и входит в их состав.

Содержание *белковых веществ* у бактерий достигает 40–80 % сухого вещества, у дрожжей – 60 %, у грибов – 15–40 %. В состав клеток микроорганизмов входят белки простые (протеины) и сложные (протеиды). Белки выполняют две основные функции: во-первых, входят в состав всех мембран клетки; во-вторых, играют роль ферментов – биохимических катализаторов. Среди белков есть и такие, которые убивают жизнь, – токсины. Бактериальные токсины наиболее ядовитые. Благодаря тому, что микроорганизмы богаты белками, возможно их пищевое и кормовое использование. Продуцентами могут быть дрожжи, бактерии и водоросли, особенно цианобактерии.

Также в состав клеток микроорганизмов входят небелковые азотистые вещества – аминокислоты, пурины и др.

Углеводы в клетках микроорганизмов используются для синтеза белков и жиров, построения клеточных оболочек и капсул, а также в качестве энергетического материала в дыхательных процессах. Углеводы, как и белки, могут откладываться в клетках в виде запасных питательных веществ. Содержание углеводов у бактерий достигает 10–30 % их сухой массы; у грибов – свыше 40–60 %.

У микроорганизмов углеводы встречаются в виде пентоз, гексоз, полисахаридов. Полисахариды находятся в связанном состоянии с белками и минералами.

Липиды (жиры, жироподобные вещества, липоиды). Обычное их содержание у микроорганизмов не превышает 3–10 % сухой массы, в редких случаях у дрожжей и грибов может достигать до 40 %. В клетках микроорганизмов жировые вещества находятся в свободном (запасные вещества) и в связанном состоянии в комплексе с белками и углеводами. Больше всего липидов сосредоточено в цитоплазматической мембране клеток.

Основная масса липидов в бактериальной клетке связана с другими компонентами (белками, полисахаридами). Они выполняют разнообразные функции: являются аккумуляторами энергии у некоторых бактерий, служат структурными компонентами клетки, участвуют в энергетическом обмене. С медицинской точки зрения важность липидов в бактериальных клетках обусловлена тем, что липиды в химическом соединении с углеводами формируют *липополисахариды* (ЛПС) (рис. 1.43) бактерий, которые обильно обнаруживаются у грамотрицательных бактерий.

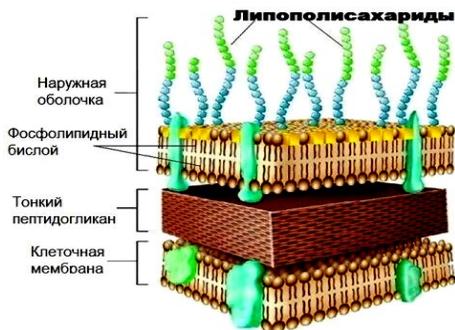


Рис. 1.43. Липополисахариды грамотрицательных бактерий

В настоящее время часто используется как синоним липополисахарида термин «*эндотоксин*». Эти вещества могут оказывать существенное влияние на здоровье организма млекопитающих, прежде всего за счет взаимодействия с иммунной системой. Так, ЛПС является мощным активатором иммунной системы и одновременно пирогеном (т. е. агентом, вызывающим лихорадку). В тяжелых случаях ЛПС может являться причиной возникновения септического шока. Есть данные, что в низких количествах в течение более длительного периода времени ЛПС может участвовать в развитии аутоиммунитета, ожирении, депрессии и клеточном старении.

Пигменты (красящие вещества) часто обнаруживаются в составе бактерий, дрожжей, грибов. Они содержатся главным образом в клеточном содержимом, но могут выделяться из клеток в среду. Наиболее известным пигментом является хлорофилл, но этим веществом бактериальные пигменты не ограничиваются. Бактерии продуцируют другие различные пигменты (рис. 1.44),



Рис. 1.44. Примеры бактериальных пигментов

включая меланин, пиоцианин, бактериохлорофилл, виолацеин, продигозин и каротиноиды, которые проявляют различную биологическую активность в качестве антиоксидантов и демонстрируют другие биологические свойства.

Бактерии производят пигменты для облегчения выживания в суровых условиях внешней среды. Независимо от фотосинтеза, функциональные цели микробных пигментов заключаются в защите бактерий от ультрафиолетового излучения, окислителей, экстремальных изменений температуры и высыхания, в качестве антимикробных веществ, для нарушения фагоцитоза, они участвуют в транспортировке железа, а также способствует бактериальной патогенности и вирулентности.

Из всех бактериальных пигментов *каротиноиды* особенно хорошо изучены в микробиологии. Эти вещества представляют собой жирорастворимые желто-оранжевые или розовые пигменты, часто обнаруживаемые у разных бактерий, но также они содержатся в растениях, водорослях и грибах. Бактериальные каротиноиды защищают микроорганизмы от ультрафиолетового излучения и окислительного повреждения, облегчают текучесть мембраны, что способствует жизнеспособности при низких температурах и облегчает транспорт питательных веществ.



Рис. 1.45. Колонии *Staphylococcus aureus*

Каротиноиды чрезвычайно гидрофобны и одновременно описываются как антиоксидантные агенты. Каротиноиды *Staphylococcus aureus* придают этой бактерии характерный цвет (отсюда название – золотистый стафилококк) (рис. 1.45), но также необходимы для обеспечения ее патогенности. В частности, потеря стафилоксанатина значительно снижает вирулентность *S. aureus* для формирования абсцессов кожи.

1.3. Физиология микроорганизмов

Физиология микроорганизмов – раздел микробиологии, изучающий жизнедеятельность микробов, процессы их питания, дыхания, роста и размножения, закономерности взаимодействия с окружающей средой и т. д. Знание физиологических процессов – научная основа для решения таких проблем, как культивирование, особенно промышленное,

получение иммуностимулирующих препаратов, аминокислот, ферментов, антибиотиков, вакцин, гипериммунных сывороток и т. д.

Поступление питательных веществ в клетку. Метаболизм.

Поступление веществ в клетку и выделение продуктов обмена в окружающую среду происходит у микроорганизмов через всю поверхность тела путем осмоса или адсорбции. На интенсивность этих процессов оказывают влияние различные факторы: разность концентрации питательных веществ в клетке и за ее пределами, а также проницаемость для них оболочки.

Осмоз представляет собой диффузию веществ в растворах через полупроницаемую мембрану. Возникает осмос под действием разности осмотических давлений в растворах по обе стороны мембраны. Величина осмотического давления раствора зависит от молярной концентрации растворенных в нем веществ.

Оболочка клетки проницаема и задерживает лишь макромолекулы. Цитоплазматическая мембрана клетки обладает полупроницаемостью: она является осмотическим барьером, регулируя поступление в клетку и выход из нее растворенных веществ. Вещества, нерастворимые в воде, не могут быть использованы клеткой. Они могут проникнуть в нее лишь после расщепления на более простые, что происходит с помощью экзоферментов микробов.

Таким образом, при осмотическом проникновении питательных веществ в клетку движущей силой служит разность осмотических давлений между средой и клеткой. Пассивный перенос веществ не требует затрат энергии и протекает до выравнивания концентрации с наружным раствором. Такой способ поступления питательных веществ в бактериальную клетку называется *простая*, а также *облегченная* (в случае частичного задействования молекул-переносчиков) *диффузия*.

Если микроорганизм попадает в субстрат, осмотическое давление которого выше, чем в клетке, то цитоплазма отдает воду во внешнюю среду. Питательные вещества в клетку не поступают, содержимое клетки уменьшается в объеме, и протопласт отстает от клеточной оболочки. Это явление называется *плазмолизом* клетки (рис. 1.46).

При чрезмерно низком осмотическом давлении внешней среды может наступить *плазмолизис* клетки – явление обратное плазмолизу, в результате чего из-за высокой разности осмотических давлений цитоплазма переполняется водой, что приводит к разрыву клеточной оболочки.

Второй путь поступления веществ в клетку – *активный транспорт*, посредством переноса их особыми, локализованными в цитоплазматической мембране веществами ферментной природы. Эти переносчики, называемые *пермеазами*, обладают субстратной специфичностью. Каждый

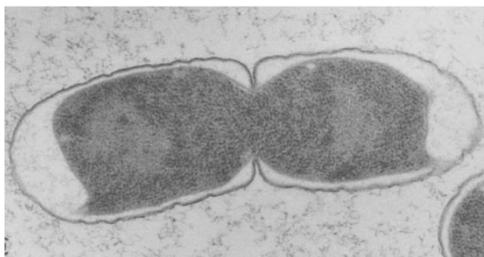


Рис. 1.46. Частичный плазмолиз кишечной палочки (полярные и ламинарные плазмолизисные пространства в клетке)

транспортирует только определенное вещество. На внешней стороне цитоплазматической мембраны переносчик адсорбирует вещество, вступает с ним во временную связь и отдает на внутренней стороне ее транспортируемое вещество в цитоплазму.

Дополнительно различают *транслокацию питательных веществ* через клеточную мембрану. Этот путь сходен с активным транспортом, отличаясь тем, что переносимая молекула видоизменяется в процессе переноса, например фосфорилируется.

Поступившие в клетку вещества включаются в реакцию конструктивного и энергетического обмена. Их концентрация в клетке чаще всего ниже, чем в окружающей среде, поэтому поступление данных веществ возможно до полного исчерпания их из субстрата.

Одним из отличительных свойств живого является обмен веществ (*метаболизм*). В ходе метаболизма происходит поступление из окружающей среды питательных веществ, необходимых для синтеза составных частей клетки, и выделение в окружающую среду продуктов жизнедеятельности клетки. Обмен веществ всех организмов состоит из двух взаимосвязанных процессов: ассимиляции (*анаболизм*) и диссимиляции (*катаболизм*). *Анаболизм* – это преимущественно конструктивный обмен веществ, *катаболизм* – это энергетический обмен. Первый из них тесно связан с таким свойством, как питание, а второй – с дыханием. Широкому распространению бактерий способствует значительное разнообразие типов питания и дыхания.

Углеродное питание у микроорганизмов.

Микроорганизмы характеризуются разнообразием типов питания.

Углеродное питание. Основным элементом биосферы является углерод. Большая часть биодоступного углерода Земли (около 65,5 тыс.

млрд. тонн) хранится в отложениях и породах. Остальное его количество приходится на океан, атмосферу, растения, почву и ископаемое топливо (рис. 1.47). Круговорот углерода в микробном мире оценивается в пределах 60 млрд. тонн.



Рис. 1.47. Оценочное содержание биодоступного углерода на Земле (в млрд. тонн)

В бактериальной клетке углерод составляет 50 % сухой массы клетки. Принято различать несколько типов питания, в зависимости от источников этого жизненно важного компонента. Микроорганизмы могут получать углерод из неорганических и органических углеродосодержащих соединений. По источнику углеродного питания микроорганизмы разделяются на две группы: автотрофные и гетеротрофные.

Автотрофные микроорганизмы способны в качестве единственного источника углерода для синтеза органических веществ тела использовать углекислоту и ее соли. Одни виды автотрофных микроорганизмов ассимилируют углекислый газ (CO_2), используя солнечную энергию. К числу таких микроорганизмов относят фотосинтезирующие микроорганизмы. Другие микроорганизмы используют энергию химических реакций окисления минеральных веществ – это так называемые хемосинтезирующие бактерии.

Фотосинтез представляет собой сложный биохимический процесс, конечная цель которого заключается в конвертации энергии фотонов света в ковалентные связи органических соединений. На первых его этапах происходит отщепление протона водорода от какого-то химического вещества-донора. Это необходимо, чтобы создавать так назы-

ваемый протонный градиент, который, подобно заряженной мембране, будет обеспечивать движение электронов и способствовать работе ферментов биосинтеза. В качестве донора протона водорода наиболее часто используется вода, в результате чего высвобождается молекулярный кислород. Однако этот процесс в биосфере первоначально был чрезвычайно токсичным в силу того, что организмы не имели механизмы инактивации кислорода, а только потом «научились» использовать его высокий окислительный потенциал в процессе собственного биосинтеза. По этой причине на ранних этапах эволюции жизни на земле микроорганизмы использовали другой донор водорода – сероводород, химическая формула которого подобна воде (H_2S и H_2O). В ходе такого бескислородного (по-научному, аноксигенного) фотосинтеза образовывалась твердая сера, что было не совсем удобно с практической точки зрения из-за отложения серы внутри клетки. Хотя этот путь фотосинтеза не такой энергетически выгодный (оторвать водород из молекулы воды гораздо тяжелее), на ранних этапах жизни аноксигенный фотосинтез был чрезвычайно популярен.

Появление оксигенного фотосинтеза в биосфере стало возможным благодаря появлению цианобактерий. Именно эти микроорганизмы усовершенствовали механизм фотосинтеза, в результате чего в атмосфере стал накапливаться кислород. По большому счету, эти бактерии до сих пор сохраняют «эксклюзивные права» на такой энергетически насыщенный способ фотосинтеза (растения здесь не принимаются во внимание, поскольку их пластиды фактически являются потомками цианобактерий).

Цианобактерии представляют собой отдел крупных граммотрицательных бактерий. Они имеют более сложное дифференцированное строение, содержат внутренние мембраны, отделяющие специализированные мешки (тилакоиды), где осуществляется фотосинтез (рис. 1.48).

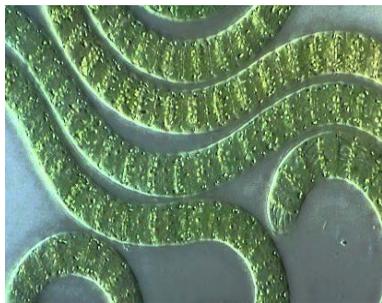


Рис. 1.48. Морфология колонии цианобактерий

Цианобактерии, ранее называемые синезелеными водорослями, в естественных условиях встречаются в озерах, реках, прудах и других поверхностных водах. При благоприятных условиях, например в теплой воде, с большим количеством питательных веществ, они могут быстро образовывать вредное цветение водорослей (рис. 1.49).

Некоторые цианобактериальные колонии способны вырабатывать токсины, называемые цианотоксинами, которые могут представлять опасность для здоровья людей и животных при употреблении или купании в воде. Кроме того, цианобактерии могут создавать проблемы со вкусом и запахом питьевой воды, которые хоть и не оказывают вредного воздействия на здоровье человека, но могут придавать землистый и затхлый вкус и запах.



Рис. 1.49. Цветение воды – процесс развития фитопланктона из цианобактерий

Хемосинтез, в отличие от фотосинтеза, представляет собой комплекс биохимических реакций биосинтеза сложных органических соединений, в которых основным источником энергии является не фотон света, а энергия ковалентных связей других химических веществ. К хемосинтезирующим микроорганизмам относятся бактерии, окисляющие водород с образованием воды (водородные бактерии), аммиак в азотную кислоту (нитрифицирующие бактерии), сероводород до серной кислоты (серобактерии). Процесс хемосинтеза был открыт С. Н. Виноградским.

Гетеротрофные микроорганизмы в качестве источника углерода используют органические соединения. К ним относятся бактерии, грибы, дрожжи. Большинство гетеротрофных микроорганизмов живет за счет использования органических веществ различных субстратов животного и растительного происхождения.

В свою очередь, гетеротрофы подразделяют на сапротрофы (иначе метатрофы) и паратрофы.

Сапротрофы (от греч. *sapros* – гнилой) представляют собой гнилостные микробы: они обитают в основном в различных неживых объектах внешней среды, богатых органическими компонентами. Источником углерода для них является неживой органический материал.

Паратрофы (греч. *parasitos* – нахлебник) – это паразиты, питающиеся за счет организма, в котором они живут. В качестве источника углерода гетеротрофы чаще всего используют углеводы, спирты, различные органические кислоты живых организмов. Они способны развиваться в этих веществах, питаясь их органическими соединениями и причиняя им вред.

Азотное и зольное питание микроорганизмов.

Азотное питание. Азот, подобно углероду, представляет собой один из основных биогенных элементов, так как он необходим для синтеза белков и нуклеиновых кислот.

Одни микроорганизмы способны утилизировать непосредственно атмосферный азот, однако это требует большой энергии, поскольку атомы азота в газообразном молекулярном азоте соединены тройной ковалентной связью. Такие микроорганизмы называются *азотфиксирующими*. Известны две группы азотфиксирующих бактерий. Первая из них представлена свободноживущими несимбиотическими бактериями, которые включают цианобактерии родов *Anabaena* и *Nostoc*, и некоторыми другими бактериальными родами, такими как *Azotobacter*, *Beijerinckia* и *Clostridium*.

Вторая группа состоит из симбиотических бактерий родов *Rhizobium* (ассоциированы с бобовыми растениями), *Frankia* (ассоциированы с некоторыми двудольными растениями) и *Azospirillum* (ассоциированы с зерновыми травами).

Симбиотические азотфиксирующие бактерии вторгаются в корневую систему растений-хозяев, где они стимулируют образование корневых узелков (рис. 1.50). Внутри



Рис. 1.50. Бактерии *Rhizobium* на азотфиксирующих клубеньках на корнях сои

этих узелков бактерии превращают свободный азот в аммиак, который использует растение.

Все перечисленные выше азотфиксирующие микроорганизмы считаются *аминоавтотрофными*, поскольку они синтезируют аминокислоты и белки за счет минеральных источников азота или других форм неорганического азота типа мочевины. Все аминоавтотрофные микроорганизмы

при использовании азота из ряда минеральных источников предварительно переводят его в форму аммиака, а затем используют для синтеза аминокислот.

Помимо азотфиксирующих бактерий к этой категории также относят нитритно-нитратные микроорганизмы, которые усваивают окисленные неорганические формы азота (соли азотной и азотистой кислот).

Аминогетеротрофные микроорганизмы не способны синтезировать хотя бы одну аминокислоту из минеральных источников азота, поэтому полагаются на органический субстрат. Такие микроорганизмы

делятся на две категории: протеолитические (способны расщеплять нативные белки, пептиды и аминокислоты) и дезаминирующие (способны разлагать отдельные аминокислоты, но не белковые вещества).

Усвоение микроорганизмами *зольных элементов* также считается разновидностью питания. Потребность микроорганизмов в зольных элементах невелика, но без них рост микроорганизмов невозможен.

Фосфор входит в состав органических соединений протоплазмы. В отличие от серы, фосфор встречается в составе органических веществ живой клетки только в окисленном состоянии (чаще в виде солей ортофосфорной кислоты). Соединения фосфора используются в живых клетках в качестве аккумуляторов энергии (АТФ и аналогов).

Магний входит в состав хлорофилла у зеленых и пурпурных серобактерий, является активатором ряда ферментов, образуя с ферментными белками комплексные соединения. Наибольшие соединения магния наблюдаются в пленках грибов, выросших на нейтральных средах. Источниками магния являются серноокислые и другие соли магния.

Кальций способствует более продуктивному течению процессов синтеза. Источником кальция служат водорастворимые соли кальция.

Серное питание микроорганизмов.

Сера также является важным биоэлементом, так как входит в состав белковых веществ, в которых она встречается только в восстановленном состоянии в виде групп $-SH$ - и $-S-S-$. Универсальным источником серы для большинства микроорганизмов служат серноокислые соли, которые используются при синтезе аминокислот.

Сера играет важную биологическую роль в жизни такой группы микроорганизмов, как *сульфатредуцирующие бактерии* (СРБ) – разнородная группа прокариот, представителей которой отличает способность получать энергию за счет окисления в анаэробных условиях водорода, используя в качестве конечного акцептора электронов сульфат (SO_4^{2-}). В результате сера восстанавливается до сероводорода (H_2S).

Многие микроорганизмы восстанавливают небольшие количества сульфатов с целью синтеза серосодержащих компонентов клетки, в частности аминокислот и белков. Этот процесс известен как ассимиляционная сульфатредукция. Напротив, рассматриваемые здесь сульфатредуцирующие микроорганизмы восстанавливают сульфат в больших количествах для получения энергии и выводят образовавшийся сероводород (часто в форме солей сульфидов) в виде отходов – этот процесс известен как диссимиляционная сульфатредукция.

Микроорганизмы, восстанавливающие сульфаты, появились 3,5 млрд. лет назад и считаются одними из старейших форм микробов,

внесших свой вклад в круговорот серы вскоре после появления жизни на Земле. Во время пермско-триасового вымирания (250 млн. лет назад) произошло серьезное снижение содержания кислорода в атмосфере, в результате чего СРБ стали доминирующей силой в океанических экосистемах, производя обильное количество сероводорода.

Большинство из СРБ представляют собой анаэробы, однако есть примеры сульфатредуцирующих микроорганизмов, толерантных к кислороду, а некоторые из них могут даже осуществлять аэробное дыхание. Обычно их роста не наблюдается, когда в качестве акцептора электронов используется кислород.

Так как сульфат широко встречается в морской воде, отложениях и воде, богатой разлагающимся органическим материалом, СРБ активно размножаются в этих средах. Ядовитый сероводород – продукт жизнедеятельности сульфатредуцирующих микроорганизмов, поэтому запах тухлых яиц часто является маркером присутствия сульфатредуцирующих микроорганизмов. Эти микроорганизмы также ответственны за сернистый запах солончаков и илистых отмелей. Большая часть сероводорода будет реагировать с ионами металлов в воде с образованием сульфидов металлов. Эти сульфиды металлов, такие как сульфид железа (FeS), нерастворимы и часто имеют черный или коричневый цвет,



Рис. 1.51. Черный цвет ила обусловлен сульфидами металлов, образованными СРБ

что приводит к темному цвету осадка (рис. 1.51).

Сульфатовосстанавливающие бактерии также производят нейротоксичную метилртуть в качестве побочного продукта своего метаболизма путем метилирования неорганической ртути.

Дыхание бактерий.

Процессы биосинтеза веществ микробной клетки протекают с затратой энергии. По этой причине большинство микробов использует энергию окислительно-восстановительных химических реакций для обеспечения себя энергией, а точнее ее эквивалентном в виде высокоэнергетических химических соединений (чаще АТФ). Этот процесс окисления питательных веществ с выделением энергии называется *дыханием*.

Дыхание иначе называется биологическим окислением, так как оно основано на окислительно-восстановительных реакциях, идущих с образованием АТФ – универсального аккумулятора химической энергии в биосфере. При дыхании происходят одновременно процессы окисления и восстановления: окисление представляет собой отдачу донорами (молекулами или атомами) водорода или электронов, а восстановлением является присоединение водорода или электронов к акцептору. В клетке движение электрона может быть направлено по системе трансмембранных белков, составляющих так называемую дыхательную цепь переноса электронов, или иначе электрон-транспортную цепь. Движение электрона по цепи приводит к выделению энергии, которая конвертируется в накапливающуюся разность электростатических потенциалов в межмембранном пространстве за счет аккумуляции протонов (H^+). Протонный градиент преобразуется АТФ-синтазой в энергию химических связей внутри молекулы АТФ. Сопряженная работа электрон-транспортной цепи и АТФ-синтазы носит название *окислительного фосфорилирования*.

Универсальным акцептором водорода или электронов в биосфере может быть молекулярный кислород – такое дыхание называется *аэробным* в силу того, что этот элемент сам по себе обладает высокой способностью притягивать электроны. В том случае, если акцептором служат нитрат, сульфат, фумарат, то дыхание называется *анаэробным* (нитратным, сульфатным, фумаратным).

По отношению к молекулярному кислороду бактерии можно разделить на следующие группы:

- облигатные, т. е. обязательные аэробы;
- облигатные анаэробы;
- микроаэрофилы;
- факультативные анаэробы.

Облигатные *аэробы* могут расти только при наличии кислорода. Аэробные микроорганизмы (аэробы) используют энергию, выделяемую при окислении органических веществ кислородом воздуха с образованием неорганических веществ, углекислого газа и воды. К аэробам относятся многие бактерии (например, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis*), грибы и некоторые дрожжи. В качестве источника энергии они чаще всего используют углеводы.

Облигатные *анаэробы* растут в среде без кислорода, который для них токсичен. Анаэробные микроорганизмы (анаэробы) не используют для дыхания кислород, они живут и размножаются при отсутствии кислорода, получая энергию в результате процессов брожения или

бескислородного окисления. Для выращивания анаэробов используют анаэроостаты – специальные емкости, в которых воздух заменяется газовыми смесями, не содержащими кислород. Анаэробами являются бактерии из рода клостридий (ботулиновая палочка *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens* и др.), маслянокислые бактерии, актиномицеты и др. Облигатный анаэробизм считается древнейшим способом дыхания у бактерий, поскольку на ранних этапах эволюции кислород отсутствовал в атмосфере и считался скорее токсичным веществом в силу несовершенства на тот момент механизмов инактивации его активных форм.

В анаэробных условиях нередко микроорганизмы используют другой механизм биосинтеза АТФ – брожение, о котором подробнее пойдет речь чуть ниже. Этот процесс превращения глюкозы в спирт, молочную или масляную кислоту происходит с выделением энергии. Около половины выделенной энергии рассеивается в виде тепла, а остальная часть аккумулируется в АТФ.

Факультативные анаэробы могут расти как при наличии кислорода, так и без кислорода, поскольку они способны переключаться с дыхания в присутствии молекулярного кислорода на брожение, если кислород отсутствует. В зависимости от условий среды они могут переходить с анаэробных процессов получения энергии на аэробные и наоборот.

Микроаэрофилы нуждаются в значительно меньшем количестве кислорода; высокая концентрация кислорода не убивает бактерии, но задерживает их рост. Некоторые микроорганизмы лучше растут при повышенном содержании углекислого газа; иначе их обозначают термином «капнофильные микроорганизмы» (актиномицеты, лептоспиры).

Брожение.

Иногда процесс переноса электрона в клетке происходит, минуя электрон-транспортную цепь, поэтому здесь одновременно донорами и акцепторами водорода являются определенные органические соединения. Такой процесс называется *брожением*, а образование АТФ на этот раз происходит за счет *субстратного*, а не окислительного *фосфорилирования*.

При брожении происходит ферментативное расщепление органических соединений (преимущественно углеводов) в анаэробных условиях. В этом процессе восстановленная форма никотинамидадениндинуклеотида (НАДН) реагирует с эндогенным органическим акцептором электронов, отдавая ему протон-электронную пару. Обычно этим веществом является пируват, образующийся из углевода в результате

гликолиза. Данный процесс энергетически мало выгоден, поэтому брожение осуществляется чаще в условиях отсутствия кислорода.

Брожение – это единственный, общий для всех бактерий и эукариот биохимический процесс, поэтому он считается древнейшим метаболическим путем, подходящим для первобытной среды обитания – до появления цианобактерий и растительной жизни на Земле, т. е. до появления кислорода в атмосфере. Так, дрожжи преобразуют молекулы углеводов с образованием этанола и углекислого газа. В мышцах млекопитающих происходит брожение в периоды интенсивных физических упражнений, когда поступление кислорода становится ограниченным, что приводит к образованию молочной кислоты. Ферментативные (бродильные) бактерии играют важную роль в производстве метана в различных средах обитания, начиная от рубцов крупного рогатого скота и заканчивая пресноводными отложениями. В результате брожения производится водород, углекислый газ и карбоновые кислоты.

По конечному продукту расщепления углеводов различают следующие виды брожения: спиртовое, молочнокислое, уксуснокислое и некоторые другие. При спиртовом брожении одна молекула глюкозы превращается в две молекулы этанола и углекислого газа. Этот процесс также используют для поднятия хлебного теста, так как углекислый газ образует пузырьки. У некоторых видов рыб, включая золотую рыбку и карпа, спиртовое брожение обеспечивает энергию при нехватке кислорода (наряду с молочнокислым брожением).

Рост и размножение микроорганизмов.

Ключевыми понятиями физиологии микроорганизмом являются процессы роста и размножения. Под *ростом* понимают увеличение размеров отдельной бактериальной особи, упорядоченное воспроизведение всех химических компонентов и структур, увеличение цитоплазматической массы в результате синтеза клеточного материала. Конечная цель развития микроорганизма – размножение. Под *ростом* иногда подразумевается не только рост отдельной клетки, но и большее увеличение числа клеток в результате размножения, т. е. фактически это рост культуры, или популяции, микроорганизмов.

Размножение представляет собой процесс воспроизведения себе подобных особей, обеспечивающий продолжение существования вида, увеличение числа бактерий в микробной популяции. Бактерии размножаются в основном путем бинарного деления пополам, реже путем почкования, фрагментации нитевидных клеток или спорами.

Шаровидные формы микробов делятся в разных плоскостях, в результате чего образуются одиночные, парные клетки или расположен-

ные в виде цепочек, гроздьев и т. п. Микроскопические грибы чаще всего размножаются спорами, половым путем, почкованием.

Рост популяции бактерий, дрожжей и плесени характеризуется кривой роста, имеющей четыре фазы: лаг-фаза, фаза логарифмического роста, фаза стационарного роста и фаза гибели бактерий.

Рост микроорганизмов зависит в первую очередь от наличия воды: грибы способны расти на субстрате, содержащем 12 % воды, бактериям требуется для роста более 20 % воды. По потребности в воде для роста микроорганизмы подразделяются на три группы: гидрофиты – влаголюбивые, мезофиты – средневлаголюбивые и ксерофиты – минимально потребляющие воду. Большинство бактерий является гидрофитами.

В питательной среде должны присутствовать все элементы, из которых строится клетка, и в такой форме, которую микроорганизм способен усваивать. В больших количествах необходимы макроэлементы: сера, фосфор, кислород и микроэлементы: цинк, никель, молибден и др.

Для роста микроорганизмов требуется и ряд дополнительных условий. Так, микроорганизмы нуждаются в определенных концентрациях некоторых химических веществ, особенно водородных ионов, совершенно определенном соотношении разных ионов, поддержании определенного окислительно-восстановительного потенциала среды. Некоторые требовательные микроорганизмы и мутанты нуждаются, кроме того, в отдельных соединениях, которые сами синтезировать не могут. Такие необходимые дополнительные вещества называют факторами роста, их роль могут играть аминокислоты, витамины, пурины.

Строение и физиология грибов.

Грибы – это гетеротрофные нефотосинтезирующие (бесхлорофилльные) эукариотические микроорганизмы. Среди них встречаются сапротрофы, паразиты и факультативные паразиты растений, животных и человека.

Строение тела гриба. Vegetативное тело большинства грибов представляет собой *грибницу*, или *мицелий* (рис. 1.52), из ветвящихся нитей-гифов, толщина которых колеблется от 2 до 3 мкм. Такие грибы называют мицелиальными (при наличии развитого воздушного мицелия их называют плесеньями).



Рис. 1.52. Мицелий гриба

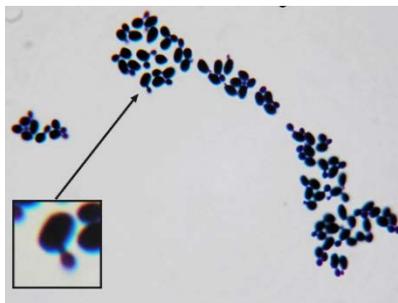


Рис. 1.53. Псевдомицелий дрожжевого гриба *Candida albicans*



Рис. 1.54. Септированный мицелий

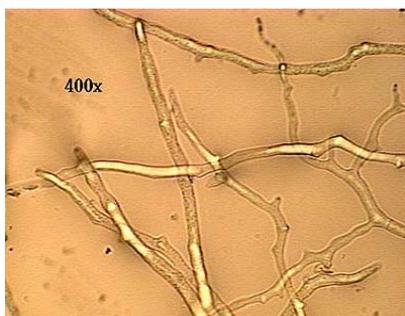


Рис. 1.55. Несептированный мицелий

Отдельные виды микроскопических грибов не имеют мицелия: к ним относятся некоторые представители низших грибов, а также дрожжи, представляющие собой одиночные округлые или удлинённые клетки (эти грибы после почкования сохраняют связь с родительской клеткой, формируя таким образом псевдомицелий) (рис. 1.53).

Мицелий одних грибов клеточный: у них гифы разделены перегородками (септами), а клетки часто многоядерные, поэтому такой мицелий называют септированный (рис. 1.54). Мицелий у других грибов неклеточный – их гифы не имеют перегородок, и весь мицелий представляет собой как бы одну гигантскую клетку с большим числом ядер (такой мицелий называется несептированным) (рис. 1.55).

Из плотного сплетения гифов состоят так называемые *плодовые тела* грибов, в которых находятся органы размножения. Мицелий начинает свое развитие из спор, прорастающих при определенной температуре и влажности. В зависимости от характера роста различают субстратный и воздушный мицелий. Мицелий может развиваться частично в субстрате (субстратный мицелий), пронизывая его и всасывая из него воду и питательные вещества, а частично – на поверхности субстрата (воздушный мицелий) в виде пушистых, паутинообразных или тонких налетов, пленок.

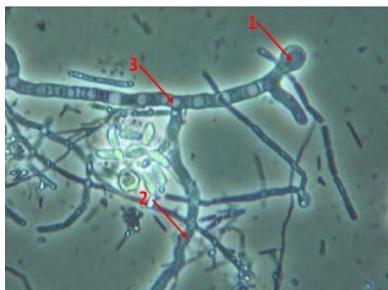


Рис. 1.56. Мицелий гриба (апикальный, бифуркационный, ветвящийся рост)

Рост мицелия гриба происходит за счет удлинения его апикальной части, бифуркации и ветвления (рис. 1.56).

Грибные клетки построены по эукариотическому типу, т. е. содержат ядро (часто множество), что принципиально отличает их от бактерий. Клетки большинства грибов покрыты жесткой оболочкой, состоящей из клеточной стенки и различных внеклеточных выделений.

Клеточная стенка – основной структурный компонент оболочки клетки гриба. Она придает клетке устойчивую и характерную для нее форму, механически защищает от осмотического давления. Клеточная стенка состоит на 80–90 % из полисахаридов; в небольшом количестве в ней имеются белки, липиды, полифосфаты. Основным полисахаридом клеточной стенки большинства грибов является хитин. Обычно клеточная стенка имеет толщину около 0,2 мкм. Она составляет от 10 до 50 % сухой массы грибной клетки.

Под клеточной стенкой расположена трехслойная *цитоплазматическая мембрана* толщиной около 8 нм. Она служит осмотическим барьером организма, контролирует избирательное поступление веществ в клетку.

Внутреннее содержание клетки гриба можно разделить на мембранные структуры и цитоплазму. *Цитоплазма* представляет собой коллоидный раствор. В его состав входят ферменты, белки, аминокислоты, углеводы, нуклеиновые кислоты, гранулы запасных веществ. В цитоплазме грибов содержится сильно развитая система внутренних мембран.

К мембранным структурам клетки гриба относятся: эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи, митохондрии. *Эндоплазматический ретикулум* (эндоплазматическая сеть) – мембранная система из взаимосвязанных канальцев (местами суживающихся или расширяющихся), которая пронизывает цитоплазму и связана с цитоплазматической мембраной и мембраной ядра. В этом органоеде происходит синтез многих веществ (липидов, углеводов и др.). *Аппарат Гольджи* – это мембранная система, связанная с ядерной мембраной и с эндоплазматической сетью. К его многообразным функциям относится

транспорт веществ, синтезируемых в эндоплазматической сети, а также удаление из клетки продуктов обмена. *Митохондрии* представляют собой образования из липопротеиновых мембран, в которых осуществляются энергетические процессы и синтезируется АТФ – вещество, богатое энергией.

Важной мембранной структурой грибной клетки является *ядро* (или несколько ядер). Оно окружено двойной мембраной. В нем находятся ядрышко и хромосомы, содержащие ДНК. В ядерной оболочке расположены поры, обеспечивающие транспорт веществ от ядра к цитоплазме.

Дополнительными клеточными структурами грибной клетки являются рибосомы, лизосомы и вакуоли. *Рибосомы* – очень мелкие, округлые, многочисленные образования. Часть их находится в свободном состоянии, часть прикреплена к мембранам. В рибосомах происходит синтез белка. *Лизосомы* представляют собой мелкие округлые тельца, покрытые мембраной. В них содержатся ферменты, переваривающие (расщепляющие) поступающие извне белки, углеводы, липиды. *Вакуоли* – это полости, окруженные мембраной и заполненные клеточным соком, а также включениями запасных питательных веществ.

Способы размножения грибов. Особенностью грибов является большое разнообразие способов и органов размножения. Один и тот же гриб часто имеет несколько форм размножения. Грибы размножаются вегетативным, бесполом и половым путем.

Вегетативное размножение происходит без образования специализированных органов – любая часть мицелия дает начало новому организму. Вегетативное размножение происходит обычно при поддержании культуры гриба на искусственных питательных средах. Различают две разновидности спор вегетативного размножения грибов:

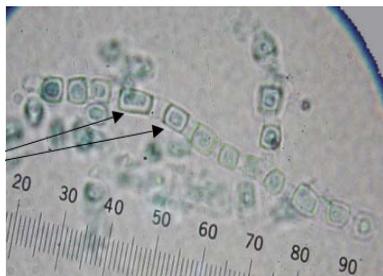


Рис. 1.57. Артроспоры *Geotrichum* spp.

артроспоры и *хламидоспоры*. Первые из них представляют собой очень примитивный тип грибных спор вегетативного размножения, образующийся в результате распада или расчленения грибного мицелия (рис. 1.57). Они образуются, когда септированные гифы распадаются на отдельные клетки. Артроспоры обычно образуются дерматофитами.

Хламидоспоры отличаются размерами, нередко превышающими ширину мицелия, а также наличием плотной, часто темной внешней оболочки (рис. 1.58). Они образуются путем сегментации мицелия, после чего представляют собой покоящиеся споры, содержащие запасной питательный материал, и могут оставаться жизнеспособными после гибели остальной части мицелия.



Рис. 1.58. Хламидоспоры

При бесполом и половом размножении образуются специализированные клетки (споры), с помощью которых и осуществляется размножение.

Бесполой способ размножения осуществляется путем образования спор бесполого размножения на особых гифах воздушного мицелия, внешне отличающихся от других гифов.

У одних грибов споры образуются экзогенно (открыто) на вершине гифов снаружи их. Такие споры называются конидиями, а гифы, несущие их, – конидиеносцами. Конидии образуются непосредственно на конидиеносце или на специальных клетках, расположенных на его вершине. Эти клетки обычно имеют форму бутылочек и называются стеригмами. Конидии располагаются на конидиеносцах (или на стеригмах) поодиночке, группами, цепочками и т. д. (рис. 1.59).



Рис. 1.59. Конидии гриба *Cladosporium*

У других грибов споры образуются эндогенно – внутри особых клеток, развивающихся на концах гифов. Эти клетки – вместилища спор – называются спорангиями, находящиеся в них споры – спорангиоспорами, а гифы, несущие спорангии со спорами, – спорангиеносцами (рис. 1.60).

Распространение спор грибов обычно происходит с помощью ветра, дождя, насекомых, животных и человека. Споры бесполого размножения служат для быстрой колонизации субстрата.

При *половом размножении* грибов спорообразованию предшествует половой процесс – слияние половых клеток с последующим объединением их ядер. При этом образуются специализированные органы размножения. Развитие этих органов и формы полового процесса у грибов многообразны. Особенности способов размножения и строения органов размножения используют при распознавании грибов. Эти особенности лежат в основе их классификации, рассмотренной выше (см. подраздел 1.1).



Рис. 1.60. Спорангиоспоры в спорангиях гриба рода *Rhizopus*

Большинство грибов может размножаться бесполом и половым путем, такие грибы называют совершенными. Некоторые грибы не способны к половому размножению, их называют несовершенными.

1.4. Генетика микроорганизмов

Строение и функции генетического аппарата бактерий.

Генетика микроорганизмов – это наука о наследственности микроорганизмов, их наследуемой и ненаследуемой изменчивости. Она изучает организацию различных структур микробной клетки и их функционирование, цитологические и биохимические основы наследственности, мутагены различной природы, фенотипическую и генотипическую изменчивость, внехромосомные генетические детерминанты (плазмиды), законы наследования и т. д.

Датой рождения генетики микроорганизмов считают 1943 г., когда появились работы С. Луриа и М. Дельбрюка, которые показали, как следует проводить опыты с микробами, вести учет их признаков, проводить количественный анализ результатов. Микробы оказались удобной моделью для проведения генетических исследований. Они были использованы как наиболее подходящий объект для изучения природы генетического материала, его организации и функционирования.

Наследственную функцию у бактерий, как и у других форм жизни, выполняет ДНК, молекула которой состоит из двух полинуклеотидных цепочек (нитей). Фридрих Мишер, швейцарский врач, еще в конце

1868 г. выделил из содержащихся в гное лейкоцитов ранее неизвестное вещество, которое назвал нуклеином. В 1889 г. немецкий химик Рихард Альтман назвал его нуклеиновой кислотой. Лишь в 1953 г. была построена модель ДНК.

Каждый нуклеотид состоит из азотистого основания, углевода (дезоксирибозы) и фосфатной группы. Азотистые основания представлены пуринами (аденин – А, гуанин – Г) и пиримидинами (тимин – Т, цитозин – Ц). Каждый нуклеотид обладает полярностью: у него имеются дезоксирибозный 3'-конец и фосфатный 5'-конец. Нуклеотиды образуют полинуклеотидную цепочку. Соединение между двумя цепочками обеспечивается водородными связями азотистых оснований: аденина с тимином, гуанина с цитозином. Структура ДНК немного отличается от таковой РНК (рис. 1.61).

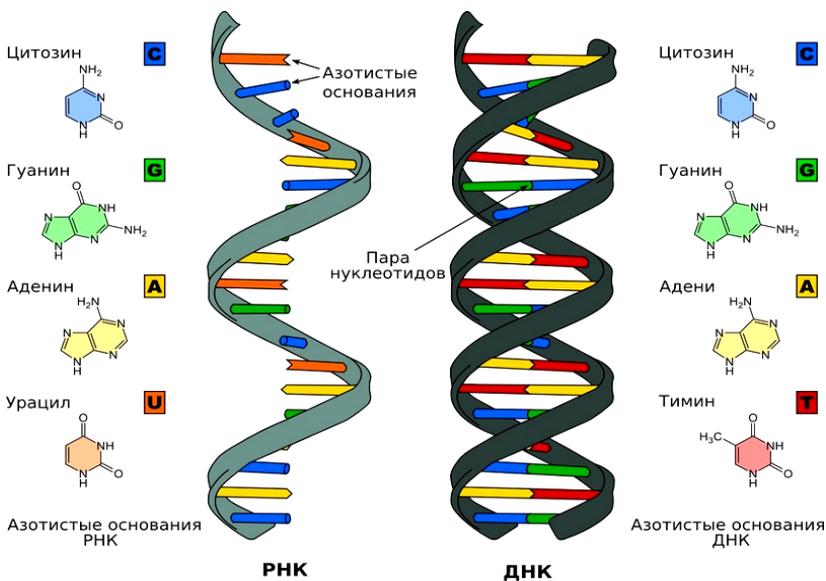


Рис. 1.61. Схематическое строение РНК и ДНК

Размеры двунитевой ДНК определяются числом пар нуклеотидов, и у бактерий оно может варьироваться от 130 тыс. пар оснований до более 14 млн. пар оснований.

Бактериальная хромосома представлена одной двунитевой молекулой ДНК кольцевой формы, имеющей гаплоидный набор генов, ко-

торые кодируют жизненно важные для клетки функции. Наследственная информация в форме последовательности нуклеотидов ДНК задает специфичную последовательность аминокислотных остатков при синтезе молекул белка. Каждому белку соответствует свой ген, т. е. дискретный участок на ДНК, отличающийся числом и специфичностью последовательности нуклеотидов. Совокупность всех генов называется *геномом (генотипом)*, а внешнее проявление генома – *фенотипом*.

В целом количество генов у бактерий не такое большое, как у эукариотических организмов, и редко превышает 5 тыс. Отмечаются некоторые закономерности: у паразитических бактерий их число колеблется в пределах 500–1200 генов, у свободноживущих бактерий – 1500–7500 генов, а у архей – 1500–2700 генов. Меньше число генов у бактерий-паразитов объясняется в основном распадом и потерей генов, которые более не нужны для свободноживущего образа жизни. Так, еще в начале столетия в исследованиях по сравнению геномов возбудителя проказы с предковыми бактериями был доказан процесс распада огромного числа генов. С тех пор неоднократно показывалось, что некоторые бактерии имеют меньший размер генома, чем их предки.

Помимо хромосомы, у некоторых бактерий имеются дополнительные внехромосомные генетические детерминанты, получившие название *плазмид*.

Плазмиды бактерий – это двуниевые молекулы ДНК, расположенные изолированно от бактериального генома. Они представляют собой замкнутые молекулы ДНК, способные к самоподдержанию и воспроизводству. Они локализуются в цитоплазме в свободном состоянии или же соединенными с основной хромосомой. В последнем случае их называют эписомами (*epi* – на, *при*, *soma* – тело). С плазмидами связаны функции, не являющиеся основными для жизнедеятельности бактериальной клетки, но дающие бактерии преимущества при попадании в неблагоприятные условия существования. Фенотипическими признаками, сообщаемыми плазмидами бактериальной клетке, являются, например, устойчивость к антибиотикам, расщепление сложных органических веществ, продукция факторов патогенности и др.

У бактерий наиболее изученными являются половой фактор (F), фактор множественной лекарственной устойчивости (R), плазмиды, контролируемые у бактерий синтез различных факторов вирулентности – энтеротоксина, некротоксина, капсулы и др.

Формы изменчивости микроорганизмов.

Фенотипическая изменчивость. Ключевыми понятиями в генетике

являются *наследственность* и *изменчивость*. Бактерии также способны демонстрировать эти качества. Явление сходства морфологических, биохимических и других особенностей ярко обнаруживается у всех микроорганизмов, несмотря на исключительную интенсивность их размножения, роста и смены нескольких поколений за короткий промежуток времени.

Не меньшее значение в генетике бактерий играет другое ключевое свойство – изменчивость. Изменения в морфологии, культуральных и других биологических свойствах в мире микроорганизмов могут иметь разную природу и зависеть от многих причин. Различают фенотипическую изменчивость наследуемую, связанную с изменением наследственной основы клетки и ее генотипа, а также ненаследуемую, возникающую в результате неоднородности условий развития особей одного поколения и приводящую к изменению фенотипа.

Формами фенотипической изменчивости являются адаптация и модификация, дополнительно также выделяют инволюцию и диссоциацию.

Адаптация – приспособление микроорганизмов к условиям среды. В настоящее время это явление объясняется не изменением в микробной клетке, а преимущественным развитием ранее измененных особей и гибелью неприспособленных, что установлено при действии на микробы антибиотиков. Приспособленные клетки размножаются, а остальные – погибают, т. е. происходит естественный отбор.

Модификация – это изменение микроорганизмов под влиянием условий среды, сохраняющееся на время действия какого-либо фактора внешней среды. Изменяются только фенотипические (внешние) признаки (форма, размеры, цвет колоний). Так, добавление в среду хлорида кальция приводит к укорочению клеток кишечной палочки. Если из среды удалить это вещество, клетки вновь принимают исходную форму.

Инволюция (от лат. *involutio* – изгиб, завиток) – разновидность фенотипической изменчивости, проявляющейся в устойчивом нарушении морфологии микробов. Инволюция отличается от модификации устойчивым характером приобретенного фенотипического изменения. В частности, она связана с возникновением в культуре уродливых форм. Например, при длительном выращивании сальмонелл в мясо-пептонном бульоне (МПБ) появляются шарообразные формы этих микробов. В противоположность этому может быть, наоборот, приобретение палочковидной бактерией филаментной (нитевидной) морфологии.

Диссоциация (от лат. *dissociation* – разъединять) – разновидность фенотипической изменчивости, проявляющейся в нарушении культуральных свойств микроорганизма. Она связана с появлением на плотной питательной среде колоний разного типа у культуры микробов одного вида. Большинство видов бактерий образуют колонии S- (от англ. *smooth* – гладкий) и R- (от англ. *rough* – шероховатый) типов. Для большинства патогенных микробов S-форма колоний является нормой. Лишь для некоторых видов патогенных микробов R-форма бактерий является типичной (возбудители сибирской язвы, туберкулеза, чумы).

Кроме того, бывают O-формы колоний (переходные), которые по своим признакам занимают среднее положение между S- и R-колониями, а также M-формы – слизистые (от англ. *mucoid* – слизеподобный) и некоторые другие.

Генотипическая изменчивость.

Генотипические изменения, в отличие от фенотипических, затрагивают геномную последовательность, поэтому они передаются из поколения в поколение. К их числу относят мутации, а также разновидности комбинативных генотипических изменений.

Мутации – это наследуемые изменения в последовательности отдельных нуклеотидов, которые приводят к появлению микробов с новыми свойствами. Такой ген кодирует белок, отличающийся от исходного свойствами и функциями.

Термин «мутация» введен голландским ученым Хуго де Фризом (1901). Мутации свойственны всем живым существам, в том числе и микроорганизмам. Бактерии с измененными признаками под влиянием мутагенов называют мутантами. Мутагенами могут быть физические, химические и биологические факторы. К мутагенам относятся различные виды радиации, температура, ряд химических соединений (нитраты, нитриты, бромурацил, 2-аминопурин, нитрозогуанидин и др.).

Спонтанные мутации очень редки: примерно одна на 100 тыс. особей. Они характеризуются изменением какого-нибудь одного признака и обычно стабильны. Спонтанные мутации являются следствием ошибок в репликации и репарации ДНК (репарация – восстановление).

Индукцированные, или мутагенные, мутации возникают вследствие воздействия факторов внешней среды. Они встречаются сравнительно часто. Мутагены подразделяются: на физические, химические и биологические. К физическим относят различного рода излучения: ультрафиолетовые, рентгеновские, радиоактивные. Они вызывают поврежде-

ние генетического аппарата, изменение признаков, свойств микробов. Например, таким образом был получен ослабленный штамм АУФ возбудителя листериоза – *Listeria monocytogenes*. Изначально штамм А был выделен из мозга овцы в совхозе «Суховский» Омской области, а затем подвергнут воздействию ультрафиолетовых лучей. В течение долгого времени этот штамм широко используется для вакцинации против листериоза. К химическим мутагенам относят сильнодействующие вещества: отравляющие (иприт), лекарственные (йод, пероксид водорода), кислоты (азотистая) и др. Примером биологических мутагенов может быть ДНК: в связи с тем что многие бактериофаги встраивают свой геном в геном бактерии, интеграция какой-либо генетической информации в бактериальный геном может привести к изменению генотипа. Этот биологический феномен сейчас широко используется в биотехнологической практике при генетическом создании бактерий – продуцентов полезных белков.

Комбинативные изменения представляют собой изменение генетического аппарата бактерий, наступающее в результате обмена или замены части хромосомы (или гена) каким-то внешним (экзогенным) геномным участком. Они появляются в результате трансформации, трансдукции и конъюгации бактериальной ДНК.

Трансформация – это процесс переноса участка генетического материала ДНК (не более 5 % от всего генома бактерии) от клетки-донора в клетку-реципиент. Процесс трансформации может самопроизвольно происходить в природе у некоторых видов бактерий, чаще грамположительных, когда ДНК из погибших клеток захватывается реципиентными клетками. Трансформация часто происходит вследствие усвоения бактериями ДНК из питательной среды, содержащей убитую культуру либо экстракт микроорганизмов иного вида или штамма. Трансформацией переносятся гены, контролирующие синтез капсульного вещества, устойчивость к антибиотикам, синтез ферментов и многие другие свойства.

Конъюгация – это передача генетического материала от клетки-донора к клетке-реципиенту при непосредственном половом контакте клеток. Необходимым условием процесса конъюгации является наличие в клетке-доноре трансмиссивной F-плазмиды (фертильности, плодовитости). Эта плазида способна передаваться от донора к реципиенту, она кодирует синтез половых пилей, образующих конъюгационный мостик между клеткой-донором и клеткой-реципиентом, по которому происходит передача плазмидной и кле-

точной ДНК. В результате такого переноса клетка-реципиент получает донорские свойства.

Трансдукция – передача бактериальной ДНК посредством бактериофага. Бактериофаги представляют собой вирусы, специфичные определенным видам бактерий. В процессе репликации фага внутри бактерий геном фага меняется бактериальной ДНК, а затем при инфицировании другой бактерии фаговая частица переносит этот геномный фрагмент в другую бактерию-реципиент.

Существует два типа трансдукции: общая и специфическая. Первая из них представляет собой перенос бактериофагом фрагмента любой части бактериальной хромосомы, а специфическая трансдукция осуществляет перенос в клетку-реципиент строго определенного участка бактериальной ДНК донора.

Бактерии, в отличие от эукариотических организмов, характеризуются склонностью к эрозии своих геномов. Молекулярная филогенетика еще на ранних этапах своего становления показала, что каждая клада бактерий с размером генома менее 2 млн. пар оснований произошла от предков с гораздо более крупными геномами, что опровергало ранее существовавшую гипотезу о том, что бактерии постоянно развиваются путем последовательного увеличения геномов их предков. Это не означает, что все бактериальные геномы постоянно уменьшаются в размерах и сложности. Хотя у многих типов бактерий размер генома на самом деле уменьшился по сравнению с наследственным состоянием, все еще существует огромное количество бактерий, которые сохранили или даже увеличили размер своих геномов в ходе эволюции. Наиболее характерен *процесс геномной редукции* для бактерий при переходе от свободноживущего или факультативно паразитического жизненного цикла к постоянной паразитической форме существования, полностью зависящей от хозяина. Учитывая, что более 80 % объема бактериального генома (по некоторым оценкам) состоят из нетронутых открытых рамок считывания, а длина гена почти постоянна и составляет около 1 тыс. пар оснований на ген, можно сделать вывод, что небольшие геномы кодируют небольшое разнообразие метаболических способностей. В то время как свободноживущие бактерии, такие как кишечная палочка, сальмонеллы и бациллы, обычно кодируют от 1500 до 6000 белков, облигатно-патогенные бактерии часто имеют всего лишь от 500 до 1000 таких белков.

Ближе к нижнему пределу размера бактериального генома находятся микоплазмы и родственные им бактерии. Молекулярно-

филогенетические исследования показали, что микоплазмы представляют собой микроорганизмы, эволюционно возникшие вследствие редукции геномов вопреки предыдущим гипотезам. Другими примерами являются риккетсии, бруцеллы и возбудитель Лайм-боррелиоза *Borrelia burgdorferi*.

Бактерии имеют больше различий в своих метаболических свойствах, клеточных структурах и образе жизни, чем можно объяснить только точечными мутациями. Например, ни один из фенотипических признаков, отличающих *Escherichia coli* от *Salmonella enterica*, не может быть объяснен точечной мутацией. В отличие от эукариот, которые эволюционируют главным образом за счет модификации существующей генетической информации, бактерии приобрели большую часть своего генетического разнообразия за счет *горизонтального переноса генов*. Это создает весьма динамичные геномы, в которых ДНК может вводиться в хромосому и удаляться из нее.

Горизонтальный перенос генов способствовал диверсификации и видообразованию многих бактерий. У некоторых видов бактерий большая часть латерально перенесенных генов происходит из последовательностей, связанных с плазидами, бактериофагами или мобильными геномными фрагментами (транспозонами).

Приобретение новых биологических качеств бактериями благодаря горизонтальному переносу генов имеет три требования. Во-первых, должен существовать возможный путь принятия донорской ДНК бактерией-реципиентом. Кроме того, полученная последовательность должна быть интегрирована с остальным геномом. Наконец, эти интегрированные гены должны принести пользу бактериальному организму-реципиенту.

Первые два шага могут быть достигнуты с помощью описанных выше механизмов: трансформации, трансдукции и конъюгации.

Несмотря на множество механизмов, опосредующих горизонтальный перенос генов между бактериями, успех этого процесса не гарантирован, если полученная последовательность не будет стабильно сохраняться у реципиента. Устойчивая интеграция ДНК в геном реципиента может поддерживаться посредством одного из многих процессов. Например, одним из них является длительная персистенция (присутствие) внедренного в бактерию геномного участка в виде эписомы, другой механизм предполагает его интеграцию вследствие удачной репарации какого-то двухцепочечного разрыва в структуре ДНК.

1.5. Экология микроорганизмов

Экология – это наука об отношениях организмов и окружающей среды. Термин «экология» образован двумя греческими словами: *oikos* – дом и *logos* – наука. Микробиологическая экология связана со взаимодействием между бактериями и их биотической (биологической) и абиотической средой, а также ролью бактерий в цикле биогеохимических элементов. В целом экология микроорганизмов рассматривает взаимоотношения микроорганизмов друг с другом и с окружающей средой.

Микробиота воздуха.

Микроорганизмы являются непосредственными участниками биосферы, колонизируя все биологические объекты (растения и животных) и контаминируя объекты их обитания. Поскольку ключевые физиологические процессы макроорганизмов (питание и дыхание) обязательно предполагают непосредственный контакт с внешней средой, микробный состав воздуха и воды активно воздействует на макробиообъекты.

Из всех сред воздух не является предпочтительной нишей для микробной колонизации в силу своей олиготрофности. Микроорганизмы в воздухе могут находиться только временно, так как в нем отсутствует необходимая для их жизнедеятельности питательная среда. Загрязнение воздуха микробами происходит из почвы, от животных, людей и растений. Солнечные лучи и высушивание губительно действуют на бактерии, вследствие чего микробиота воздуха менее обильна, чем почвы и воды. В воздухе часто встречаются пигментные сапротрофные бактерии (микрококки, сарцины), споровые палочки (сенная, картофельная и др.), актиномицеты, плесневые и дрожжевые грибы, споры грибов из родов *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium* (чаще в виде спор).

Состав микробиоты воздуха разнообразен и значительно изменяется в зависимости от условий. Чаще она зависит от микробиоты почвы и воды, откуда микроорганизмы попадают с пылью и капельками влаги. Воздух верхних слоев атмосферы, а также горный и морской воздух содержит очень мало микроорганизмов. В населенных местах их значительно больше, особенно в летнее время.

В животноводческих помещениях аэрозоли возникают при кашле, чиханье, быстром перемещении животных. Доказано, что в 1 м³ воздуха содержится до 2 млн. микробных клеток, в том числе патогенных.

В плохо вентилируемых помещениях микробов в 5–6 раз больше, чем в хорошо вентилируемых. Воздух полей, лугов, лесов, водных пространств, находящийся далеко от населенных пунктов, считается более чистым от механических примесей и микроорганизмов. В настоящее время основным источником загрязнения воздуха является антропогенная среда (рис. 1.62). Количество микробов в воздухе зависит от времени года. Максимальное количество микробов обнаруживают в воздухе летом, минимальное – зимой.



Рис. 1.62. Основные источники бактериального загрязнения воздуха

Бактериологическое исследование воздуха осуществляется с использованием седиментационных, аспирационно-фильтрационных методов, основанных на осаждении микроорганизмов из воздуха на поверхности плотных питательных сред или задержке их в жидкой среде путем сифонирования и барботажа. Санитарное состояние воздуха оценивается по микробному числу – количеству микроорганизмов, обнаруженных в 1 м^3 атмосферного воздуха, а в помещениях для животных – по микробному числу и наличию в них санитарно-показательных микробов: *Staph. aureus*, *Str. haemolyticus*, *E. coli*. В воздухе животноводческих помещений не должно быть более 500–1000 бактерий в 1 м^3 .

Воздух может служить фактором передачи респираторных инфекций (ОРИ), гриппа, туберкулеза, дифтерии, стафилококковой инфекции и других заболеваний. Патогенные микроорганизмы выделяются больными животными или бактерионосителями при кашле, чихании и т. п.

Количество микроорганизмов в жилых помещениях зависит от их санитарно-гигиенического состояния. Воздух считается чистым при содержании в 1 м^3 не более 1500 бактерий и 16 стрептококков. В наибольшей степени загрязняется воздух в помещениях при скопле-

нии людей и плохой вентиляции. В воздухе цехов предприятий общественного питания патогенные микроорганизмы должны отсутствовать, общее количество микробов в 1 м³ не должно превышать 100–500 бактерий. Микробная обсемененность воздуха значительно снижается при хорошей работе вентиляции, наличии бактерицидных фильтров для подаваемого воздуха, регулярной влажной уборке помещений.

Микробиота воды.

Вода имеет большое санитарное значение. Она необходима для питания животных, подготовки кормов, приготовления пищи, обработки посуды, мойки, дезинфекции, личной гигиены. Различают морскую, озерную, речную, артезианскую, атмосферную, промышленную, сточную, хозяйственно-бытовую и другие воды. Промышленные воды могут быть разнообразны по химическому составу. Сточные воды кожевенных, шерстеобрабатывающих производств, боен, мясокомбинатов могут нести прямую угрозу загрязненности водоемов патогенными микроорганизмами. Хозяйственно-бытовые сточные воды также опасны в эпидемиологическом и эпизоотическом отношении.

В воде количество микроорганизмов значительно выше, чем в воздухе, так как многие из них способны жить и развиваться в воде. В воде различают *автохтонные микроорганизмы*, т. е. живущие в воде или поступающие из окружающей почвы, а также *аллохтонные микроорганизмы*, поступающие из различных источников загрязнения: выделений людей и животных, сточных вод животноводческих помещений, хозяйственно-бытовых и промышленных вод. Для аллохтонных микробов вода обычно является неблагоприятной олиготрофной средой, однако в некоторых случаях такие микроорганизмы способны натурализоваться при наличии минимального количества питательного субстрата и благоприятной температуры. Например, в умеренных зонах для кишечной палочки вода внешних источников является абсолютно неблагоприятной средой, однако в регионах с тропическим климатом *E. coli* способна существовать и размножаться в воде, меняя свой метаболизм.

Поверхностные воды рек, озер, водохранилищ загрязняются сточными водами населенных пунктов, промышленных предприятий и животноводческих объектов. Микробное загрязнение воды возрастает также после обильных дождей и весенних паводков. Проточные водоемы (реки, каналы) обладают способностью к самоочищению.

Вода, как и почва, является естественной средой обитания для многих видов микроорганизмов всех царств жизни. Разнообразные микроорганизмы обитают как в воде открытых водоемов, так и в грунтовых водах: палочки, кокки, вибрионы, спириллы, спирохеты, различные фотосинтезирующие бактерии, грибы, простейшие, вирусы и плазмиды. Многие виды галофильных бактерий обитают в морских водах. Численность микроорганизмов в воде определяется главным образом содержанием в ней органических веществ, которые под влиянием микроорганизмов подвергаются совершенно таким же превращениям, как и в почве. В 1 мл воды количество микробов может превышать несколько миллионов.

Грунтовые подземные воды чище, так как, просачиваясь через почву, вода подвергается своеобразной фильтрации, в результате которой большинство микробов задерживается в фильтрующем слое. Численность микроорганизмов в воде открытых водоемов подвержена колебаниям и зависит от климатических условий, времени года, а главным образом от степени загрязнения рек, озер и морей сточными и канализационными водами и отходами промышленных, агропромышленных и других предприятий. В реки, озера, моря из прибрежных городов и других населенных пунктов выбрасывается такое количество сточных вод, несущих мириады микробов и содержащих огромное количество органических веществ, что вода не успевает самоочищаться. В результате возникла и сохраняется серьезная глобальная экологическая проблема.

Микробную обсемененность воды выражают *сапробностью*. В водоемах различают следующие зоны в зависимости от степени бактериального загрязнения.

Полисапробная зона – наиболее сильно загрязненная вода, бедная кислородом, богатая органическими веществами. В 1 мл такой воды численность микроорганизмов достигает 1 млн. и более, преобладают *E. coli* и анаэробные бактерии, вызывающие процессы гниения и брожения. Она характеризуется большим содержанием нестойких органических веществ и продуктов их анаэробного распада, в ней отсутствует кислород, но много гниющей массы. Кислород поступает в такую воду только за счет атмосферной аэрации и полностью расходуется на окисление. Такая вода благоприятна для размножения микроорганизмов, имеет высокий уровень бактериального загрязнения. Большая часть микробиоты представлена сапротрофными микроорганизмами: нитчатками бактериями (*Sphaerotilus*), серными бактериями (*Beggiatoa*,

Thiothris), бактериальными зооглеями (*Zoogloea ramigera*), а также простейшими – инфузориями, бесцветными жгутиковыми, олигохетами, водорослями. Воду полисапробной зоны нельзя использовать ни для каких нужд.

Мезосапробная зона – вода, загрязненная умеренно, в ней активно происходит минерализация органических веществ с интенсивными процессами окисления и нитрификации. Содержание микроорганизмов в 1 мл воды – сотни тысяч бактерий, количество *E. coli* значительно меньше, чем в воде полисапробной зоны. Эта зона отличается от полисапробной наличием аэробного распада органических веществ (минерализация), здесь происходят процессы окисления и нитрификации. Количество сапротрофных бактерий определяется десятками и сотнями тысяч в 1 мл. В этой зоне содержатся микроорганизмы, приспособленные к недостатку кислорода и высокому содержанию углекислоты; преобладают растительные организмы с гетеротрофным и миксотрофным питанием. Из микробиоты присутствуют бактериальные зооглеи, нитчатые бактерии, грибы; из водрослей – осциллятории, стигеоклоний, хламидомонасы, эвглены, массово встречаются сидячие инфузории (*Carchesium*), коловратки (*Brachionus*), много окрашенных и бесцветных жгутиковых.

Олигосапробная зона – зона чистой воды, количество микроорганизмов в 1 мл воды – десятки или сотни, не более; *E. coli* отсутствует или встречается в количестве нескольких клеток на 1 л воды. Фактически олигосапробная зона представляет собой практически чистые водоемы, в которых минерализация протекает очень активно. В такой воде имеются очень незначительное количество микробов, она прозрачна и может использоваться для различных нужд. На дне мало детрита, автотрофных организмов и бентосных животных (червей, моллюсков, личинок хищников). Встречаются водоросли *Melosira italica*, *Draparnaldia glomerata* и *Draparnaldia plumosa*, коловратка *Notholea longispina*, ветвусые рачки, личинки поленок, веснянок, моллюск *Dreissena polymorpha*, рыбы стерлядь, голяк, форель.

Постоянными обитателями воды являются следующие микроорганизмы: представители родов *Azotobacter*, *Nitrobacter*, *Pseudomonas*, *Proteus vulgaris*, *Kocuria rosea* (старое видовое название *Micrococcus roseus*) и др. Определить конкретного возбудителя сложно, поэтому санитарную оценку воды производят косвенно, по наличию в ней кишечной палочки (*E. coli*). Питьевая вода считается хорошей, если общее количество бактерий в 1 мл составляет не более 100; сомнитель-

ной – 100–150; загрязненной – 500 и более. Количество микроорганизмов в придонном слое ила озер и рек варьируется в пределах от 100 до 400 млн. на 1 г.

Автохтонная микробиота является решающим фактором в процессе самоочищения водоемов от органических веществ, трупов животных, погибших растений. Аллохтонная микробиота представляет угрозу и возможности заражения людей и животных патогенными микробами. В связи с высокой хозяйственной важностью воды и постоянным ее круговоротом движение микроорганизмов часто повторяет круговорот воды в природе, что дает возможность в некоторых случаях проследить источники бактериальной контаминации (рис. 1.63).

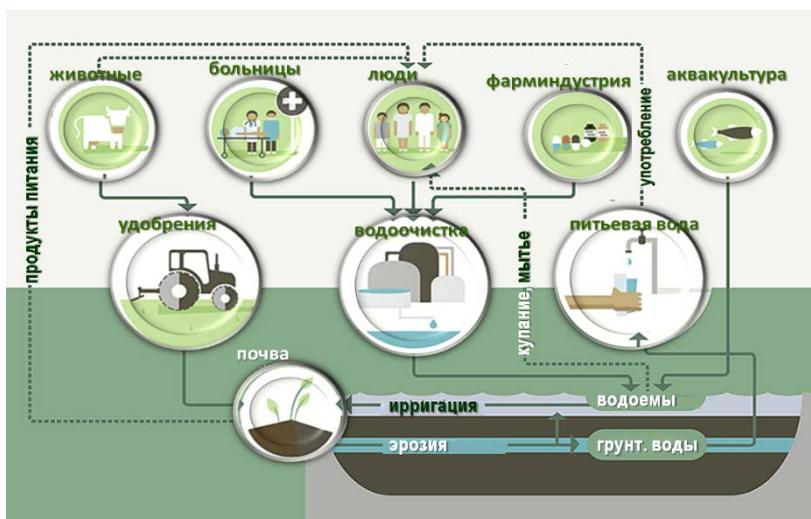


Рис. 1.63. Круговорот воды и пути распространения микроорганизмов в природе

Вода играет исключительно важную роль в эпидемиологии многих инфекционных заболеваний, особенно кишечных. Загрязненная вода – главный источник заражения холерой, дизентерией, сальмонеллезом, брюшным тифом и другими кишечными инфекциями, а также лептоспирозом и нередко туляремией, возбудители которых выделяются вместе с испражнениями больных и носителей и вместе со сточными водами поступают в воду открытых водоемов, а оттуда нередко в питьевую воду. Хотя патогенные бактерии слабо приспособлены к существованию в воде, где на них оказывает неблагоприятное действие

солнечный свет и различные другие факторы, многие из них могут достаточно длительное время сохраняться в водной среде. Более того, в летнее время при наличии в воде органических веществ, щелочном уровне pH и благоприятной температуре некоторые из них могут даже размножаться. Заразиться можно и через лед, в котором патогенные бактерии могут сохраняться в течение нескольких недель и даже месяцев. Многие патогенные микроорганизмы (холерный вибрион, возбудитель туберкулеза и др.) могут сохраняться в воде до нескольких месяцев.

Питьевая вода животным должна поступать только из подземных источников.

1.6. Влияние факторов внешней среды на микроорганизмы. Взаимоотношения в микромире

Влияние физических факторов.

В естественной среде обитания на микроорганизмы оказывают влияние многочисленные факторы физической, химической и биологической природы, поэтому даже при удовлетворении всех потребностей в питательных веществах рост микроорганизмов зависит от определенных условий. Для каждого вида микроорганизмов характерен критический порог их воздействия, превышение которого приводит к инактивации бактерии. В совокупности все эти факторы оказывают различное воздействие на микроорганизмы: бактерицидное действие, приводящее к гибели клетки; бактериостатическое – подавляющее рост и размножение микроорганизмов; мутагенное – приводящее к изменению наследственных свойств микробов.

К числу физических факторов относят температуру, влажность, замораживание, высушивание, давление, различные виды излучений, аэрилизацию, ультразвук и др.

Влажность. Микроорганизмы могут жить и развиваться только в среде с определенным содержанием влаги. Вода необходима для всех процессов обмена веществ микроорганизмов, для нормального осмотического давления в микробной клетке, для сохранения ее жизнеспособности. У различных микроорганизмов потребность в воде не одинакова. Бактерии относятся в основном к влаголюбивым, при влажности среды ниже 20 % их рост прекращается. Для плесеней нижний предел влажности среды составляет 15 %, а при значительной влажности воздуха и ниже. Наиболее чувствительны к высушиванию вегета-

тивные формы микробов (особенно патогенные). Споровые формы микробов в высушенном состоянии не теряют своей жизнеспособности многие годы.

Некоторые микробы очень устойчивы к высушиванию (стрептококки и стафилококк), отдельные бактерии и дрожжи в высушенном состоянии могут сохраняться до месяца и более. Споры бактерий и плесневых грибов сохраняют жизнеспособность при отсутствии влаги десятки, а иногда и сотни лет.

Как отмечалось выше, в зависимости от потребности в воде для роста и жизнедеятельности микроорганизмы относятся к одной из трех групп:

- *гидрофиты* (влаголюбивые);
- *мезофиты* (средневлаголюбивые);
- *ксерофиты* (минимально потребляющие воду).

Большинство бактерий являются гидрофитами.

При определении влияния влажности среды на микроорганизмы широко используется показатель *активности воды*, который обозначается в санитарной микробиологии как a_w (англ. water activity). Фактически он выражает собой степень насыщенности среды или пищевого продукта свободной водой, не связанной с неводными компонентами. Формально активность воды представляет собой соотношение давления паров воды над определенным материалом (пищевым продуктом или средой) к давлению паров над чистой водой. Обычно при насыщении продукта солями увеличивается связывание воды в нем, в результате чего меньшее его количество способно переходить в паробразное состояние, снижая показатель активности воды a_w . Со снижением показателя a_w уменьшается количество доступной для микроорганизмов воды, критически важной для их жизнедеятельности. У чистой воды показатель a_w равняется единице, а в продуктах питания и кормах он всегда ниже единицы, так как в любом случае определенная часть влаги находится в связанном состоянии. Считается, что значение a_w от 0,9 до 1,0 свидетельствует о высокой влажности продукта, продукты со средней влажностью имеют показатель a_w в пределах от 0,9 до 0,6, а показатель a_w ниже 0,6 указывает на низкую влажность продукта.

Контроль этого показателя активности воды издавна использовался как средство сохранения продуктов питания от порчи.

Высушивание используют для консервирования овощей, фруктов (рис. 1.64), лекарственных трав, кормов. При снижении содержания воды в среде рост микроорганизмов замедляется и может совсем прекращаться. Поэтому сухие продукты могут



Рис. 1.64. Сушка фруктов – древний способ сохранения от порчи путем высушивания

храниться значительно дольше продуктов с высокой влажностью. Сушка продуктов позволяет сохранять их при комнатной температуре без охлаждения. Оседание водяных паров из воздуха на поверхность продукта способствует размножению микроорганизмов.

Концентрация соли и сахара. Поваренная соль и сахар издавна используются для повышения стойкости продуктов к микробной порче и лучшей сохранности пищевых продуктов. Концентрации этих веществ в среде тесно связаны с описанным выше показателем активности воды, а также осмотическим давлением. Как отмечалось в предыдущих подразделах пособия, бактерии питаются путем осмоса и диффузии. Осмотическое давление внутри клетки равно примерно давлению 10–20%-ного раствора сахарозы.

Повышение содержания растворенных веществ (соли или сахара) в питательной среде отражается на величине осмотического давления внутри микроорганизмов, вызывает их обезвоживание. При повышении концентрации поваренной соли в субстрате более 3–4 % размножение многих микроорганизмов, в том числе гнилостных, замедляется, при концентрации более 7–12 % – прекращается.

Существуют микроорганизмы, способные расти и размножаться при высокой концентрации солей в среде – это так называемые галофилы, например микрококки, сарцины и стафилококки. Их ферменты активны при повышенном содержании соли. В санитарной микробиологии из числа галофильных бактерий особое значение имеет золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*). Благодаря своей галофильности, он способен сохраняться в продуктах с высоким содержанием соли (ветчины, определенные сорта сыров), а при определенных условиях продуцировать энтеротоксин, обладающий сильным рвотным действием.

Высокие концентрации сахара (выше 55–65 %) прекращают размножение большинства микроорганизмов, это используется при приготовлении из плодов и ягод варенья, джема или повидла. Однако эти продукты тоже могут подвергаться порче в результате размножения осмофильных плесеней или дрожжей.

Свет отрицательно действует на микроорганизмы. Некоторым микроорганизмам свет необходим для нормального развития, но для большинства из них он губителен. Свет вызывает образование в клетке гидроксильных радикалов, которые являются причиной ее гибели. Ультрафиолетовые лучи солнца обладают бактерицидным действием, так как они подавляют репликацию ДНК и РНК, т. е. при определенных дозах облучения приводят к гибели микроорганизмов. Бактерицидные свойства ультрафиолетовых лучей ртутно-кварцевых ламп используют для дезинфекции воздуха, воды, некоторых пищевых продуктов. Инфракрасные лучи тоже могут вызвать гибель микробов за счет теплового воздействия.

Воздействие этих лучей применяют при тепловой обработке продуктов. Сапротрофы более устойчивы к свету, так как они эволюционно адаптированы к нему. Патогенные микробы весьма чувствительны к свету, что имеет санитарное значение.

Облучение. К этой категории физических факторов относят радиоактивные гамма-лучи и рентгеновские лучи, которые часто объединяются под общим термином «ионизирующая радиация». В отличие от ультрафиолетовых лучей, ионизирующая радиация действует на органические молекулы и клетку в целом опосредованно, вызывая образование свободных радикалов и органических перекисей. Эти соединения затем реагируют с нуклеиновыми кислотами и белками клетки, вызывая разрывы цепей ДНК, изменения азотистых оснований, окисление сульфгидрильных групп белков.

Чувствительность микроорганизмов к ионизирующей радиации проявляется в различной степени. Повышенная устойчивость к излучениям отмечена у клостридий ботулизма: *Cl. botulinum* сохраняет жизнеспособность при дозе 1,5 Мрад, *E. coli* – только 0,18 Мрад.

Более устойчивы к излучению грамположительные микробы, менее устойчивы грамотрицательные. Для достижения стерильности в некоторых случаях необходимо излучение дозой 50 кГр. Устойчивы к излучениям вирусы и риккетсии; их устойчивость примерно такая же, как и у спор бацилл. Чем меньше размеры вирусных частиц, тем выше для них летальная доза. Некоторые микробы (например, возбудитель

сибирской язвы, кишечная палочка и др.) приобретают устойчивость к различным видам излучения. После нескольких облучений устойчивость у них повышается в 2 раза и более. Возрастание устойчивости к излучениям зависит также и от среды, в которой выращивались микроорганизмы.

Ионизирующая радиация применяется для стерилизации значительно реже, чем другие привычные виды ее достижения, так как стерилизуемые объекты надо располагать в непосредственной близости от источника излучения. Облучение пищевых продуктов разрешено более чем в 60 странах, причем во всем мире ежегодно обрабатывается около 500 тыс. тонн пищевых продуктов. Режимы обработки, предписывающие необходимые дозы облучения, а также типы продуктов, разрешенные для облучения, сильно отличаются в разных странах. Во многих странах Европейского союза только сушеные травы, специи и приправы могут обрабатываться путем облучения, в то время как в Бразилии разрешена стерилизация радиацией всех продуктов в любой ее дозе. Радиоактивная стерилизация продуктов питания помогает предотвратить их порчу (рис. 1.65).

Во всех странах, где разрешена стерилизация продуктов питания ионизирующей радиацией, это обязательно указывается на упаковке. Международно признанным символом обозначения обработки продукта радиацией является логотип Radura. Тем не менее не во всех странах его использование на

упаковке является обязательным. Например, в странах ЕС это не предусмотрено, а достаточным является наличие текстовой информации на соответствующих языках государств – членов ЕС. В США требуется маркировка облученных продуктов символом Radura с дополнительным письменным указанием «обработано облучением» (рис. 1.66), причем такие требования к маркировке применяются только к продуктам, продаваемым в магазинах, и не распространяются на пищевые продукты в ресторанах или обработанные продукты.



Рис. 1.65. Клубника после недели хранения (необработанная и облученная)

Ультразвук – это высокочастотные (20 кГц и более) механические колебания упругой среды, не воспринимаемые ухом человека. Действуя на культуру микроорганизмов, ультразвук создает большую разницу в давлениях и повреждает клетку. Часть микробов погибает очень быстро, другие подвергаются сильному механическому сотрясению, в результате чего нарушаются физиологические процессы: разжижается и вспенивается цитоплазма, увеличивается ее объем, рывается клеточная стенка, во внешнюю среду выходит содержимое. На принципе кавитации (образование в жидкости пузырьков, заполненных газом) основано использование ультразвука для извлечения токсинов, ферментов, антигенов.



Рис. 1.66. Маркировка на упаковке обработанной радиацией клубники (США)

Устойчивость микроорганизмов к действию ультразвука зависит от их биологических характеристик. Вегетативные клетки более чувствительны, чем споры; кокковые формы погибают медленнее, чем палочковидные. Более крупные клетки микроорганизмов отмирают быстрее, чем мелкие. Чем меньше объект, тем выше его устойчивость к действию ультразвука.

Эффективность действия ультразвука понижается при содержании в среде протеина. Поэтому использование ультразвука для стерилизации молока и других продуктов не всегда дает желаемые результаты. Тем не менее ультразвук применяют для стерилизации пищевых продуктов (молоко, фруктовые соки, вина), изготовления вакцин, мойки и стерилизации стеклянной тары, а также при извлечении внутриклеточных ферментов, токсинов, витаминов, нуклеиновых кислот и других компонентов клеток.

Электрический ток, по-видимому, не оказывает сильного воздействия непосредственно на микроорганизмы. Проходя через среду, ток высокого напряжения может вызвать электролиз некоторых компонентов и образование соединений, которые неблагоприятно влияют на микробы. Электрический ток усиливает биоцидное действие дезинфицирующих веществ, особенно ртутных препаратов. В поле электрического тока происходит диссоциация молекул на ионы, что сокращает срок

действия дезинфицирующих веществ и повышает их эффективность. Электролиз применяют при дезинфекции воды, обеззараживании сточных вод и т. п. При этом губительное действие на микроорганизмы обеспечивается не самим электрическим током, а теми продуктами (кислород, хлор, кислоты), которые образуются в результате его прохождения через среду.

Влияние магнитных полей. У микроорганизмов, как и у других живых существ, установлен магнитотропизм. Движение некоторых из них происходит по магнитному меридиану: в Северном полушарии – на север, в Южном – к противоположному полюсу. Еще в большей степени магнитотропизм выражен у микроскопических грибов, которые могут расти по силовым линиям магнитного поля. Такое явление объясняется наличием особых продуктов биосинтеза, содержащих низкомолекулярные белки-ферменты, в молекулах которых имеются атомы железа с ферромагнитными свойствами.

Микроорганизмы реагируют на любое напряжение геомагнитного поля, что приводит к изменению их морфологических, культуральных и биохимических свойств. Микробные клетки увеличиваются в размерах, образуют длинные нити; на плотных питательных средах могут расти мелкие беспигментные колонии (стафилококки, чудесная палочка). Иногда изменяются обмен веществ, вирулентность, повышается резистентность к антибиотикам и т. д. Следовательно, магнитное поле можно рассматривать как экологический фактор, определяющий течение биологических процессов, способствующий появлению и временному исчезновению инфекционных и других болезней на Земле.

Гидростатическое давление, превышающее 108–110 МПа, вызывает денатурацию белков, инактивацию ферментов, электролитическую диссоциацию, увеличивает вязкость многих жидкостей. Все это неблагоприятно отражается на жизнедеятельности микробов и нередко приводит к их гибели. Среди микроорганизмов имеются и такие (барофильные), которые живут и размножаются при высоких значениях давления, например глубоководные бактерии морей и океанов. Большинство микроорганизмов выдерживает давление около 65 МПа в течение 1 часа.

Действие сотрясений часто вызывает гибель бактерий (но не вирусов). Если поместить культуру бактерий в сосуд со стеклянными шариками и встряхивать, то через некоторое время происходит механическое разрушение клеток. Бактерии разрушаются быстрее, если их

предварительно заморозить. Подобное наблюдается в горных и других быстротекущих реках, благодаря чему вместе с действием лучей солнца и других факторов они очищаются от микробов.

Влияние невесомости. Как известно, запускаемые в космос микроорганизмы переносят невесомость без особых изменений. Например, культура (споры) микроорганизма *Bac. subtilis* на одинаковой среде и при такой же температуре на Земле развивалась быстрее (на 30 %), чем на орбитальной станции «Салют-6». Полагают, что земное тяготение обеспечивает больший контакт клеток в колонии, улучшает условия метаболизма, чего не наблюдается в космосе.

Температура является первичным внешним фактором, влияющим на размножение микроорганизмов и рост микробной популяции, причем температура считается одним из наиболее критических факторов. Это важнейший фактор для развития микроорганизмов. Для каждого вида микроорганизмов характерна минимальная температура, ниже которой их рост не наблюдается, оптимальная температура, при которой микроорганизмы растут с наибольшей скоростью, и максимальная температура, выше которой роста микроорганизмов не происходит. По этому свойству микробы подразделяются на три группы:

1) *психрофилы* – микроорганизмы, хорошо растущие при низких температурах с минимумом при 10–0 °С, оптимумом при 10–15 °С. К психрофилам относят различные микроорганизмы: светящиеся бактерии, некоторые железобактерии, иерсинии, псевдомонады, возбудители паратуберкулеза. В санитарной микробиологии наибольшее значение имеют два вида микроорганизмов, относящихся к группе психрофилов: *Listeria monocytogenes* и *Yersinia enterocolitica*. Оба вида обладают патогенностью при температуре тела животного, однако способны к размножению и накоплению при низких температурах хранения;

2) *мезофилы* – микроорганизмы, для которых оптимум роста наблюдается при температуре 25–35 °С, минимум – 5–10 °С, максимум – 50–60 °С. К мезофилам относят большинство сапротрофов, условно-патогенных и патогенных микробов, например сальмонеллы, эшерихии, возбудитель сибирской язвы и др.;

3) *термофилы* – микроорганизмы, хорошо растущие при относительно высоких температурах с оптимумом для роста при 50–65 °С, максимумом – при температуре более 70 °С. Эти микробы могут обитать в пищеварительном тракте животных, в почвах районов с жарким климатом, в горячих источниках. Они участвуют в процессах само-

нагревания навоза, мусора, зерна, комбикорма, сена. Термофилов, выделяющих тепло, принято называть термогенными. Тепло образуется вследствие разложения органических веществ, при этом выделяются метан и водород, что нередко приводит к самовозгоранию разлагающихся масс.

Большинство микроорганизмов относится к мезофилам, для развития которых оптимальной является температура 25–35 °С. Поэтому хранение пищевых продуктов при такой температуре приводит к быстрому размножению в них микроорганизмов и порче продуктов. Некоторые микробы при значительном накоплении в продуктах способны привести к пищевым отравлениям человека. Патогенные микроорганизмы, т. е. вызывающие инфекционные заболевания, также относятся к мезофилам.

Низкие температуры замедляют рост микроорганизмов, но не убивают их. В охлажденных пищевых продуктах рост микроорганизмов замедляется, но продолжается. При температуре ниже 0 °С большинство микробов прекращает размножаться, т. е. при замораживании продуктов рост микробов останавливается, некоторые из них постепенно отмирают. Установлено, что при температуре ниже 0 °С большинство микроорганизмов впадает в состояние, похожее на анабиоз, сохраняет свою жизнеспособность и при повышении температуры продолжает свое развитие. Это свойство микроорганизмов следует учитывать при хранении и дальнейшей кулинарной обработке пищевых продуктов. Например, в замороженном мясе могут длительно сохраняться сальмонеллы, а после размораживания мяса в благоприятных условиях быстро накапливаются до опасного для человека количества.

Несколько механизмов обеспечивают способность роста бактерий при низкой температуре. Одним из важных механизмов адаптации микроорганизмов к низкой температуре является так называемая гомеовискозная адаптация (греч. *homoiós* – подобный, лат. *viscosus* – клейкий, вязкий). Сохранение оптимальной вязкости клеточных мембран в ответ на изменение (понижение) температуры происходит за счет изменения содержания в них длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот. Таким образом, по мере понижения температуры бактерии синтезируют повышенные количества моно- и диненасыщенных жирных кислот. Другим механизмом адаптации к изменению температуры является синтез белков теплового шока. Многие белки теплового шока представляют собой молекулы-шапероны –

класс веществ, главная функция которых состоит в восстановлении правильной третичной или четвертичной структуры полимерных органических молекул. При воздействии высокой температуры, превышающей максимум выносливости микроорганизмов, происходит их отмирание.

Высокая температура оказывает исключительно губительное воздействие. Бактерицидное действие высокой температуры основано на угнетении ферментов, денатурации белков, нарушении осмотического барьера. Воздействие высокой температуры лежит в основе многих методов термической *стерилизации*. Под этим термином понимают мероприятия, направленные на полное уничтожение всех микробов в стерилизуемом материале (биоматериале от павших или убитых с диагностической целью животных, лабораторной посуде, питательных средах, использованных микробных культурах и др.). Известны различные способы термической стерилизации: прокалывание на огне, кипячение, стерилизация сухим жаром, текучим паром и паром под давлением (автоклавирование), тиндализация, пастеризация и некоторые другие.

В целом бактерии, не обладающие способностью образовывать споры, погибают во влажной среде при нагревании до температуры 60–70 °С через 15–30 минут, 80–100 °С – через несколько секунд или минут. У спор бактерий термоустойчивость значительно выше. Они способны выдерживать температуру 100 °С в течение 1–6 часов, при температуре 120–130 °С споры бактерий во влажной среде погибают через 20–30 минут. Споры плесеней менее термостойки.

Термическая обработка является исторически наиболее давним способом инактивации микроорганизмов в санитарной микробиологии. Тем не менее научные подходы к изучению процессов термической инактивации бактерий обозначились только в начале XX в.

Тепловая кулинарная обработка пищевых продуктов в общественном питании, пастеризация и стерилизация продуктов в пищевой промышленности приводят к частичной или полной (стерилизация) гибели вегетативных клеток микроорганизмов.

При пастеризации пищевые продукты подвергаются минимальному температурному воздействию. В зависимости от температурного режима различают низкую и высокую пастеризацию. Низкая пастеризация проводится при температуре, не превышающей 65–80 °С, не менее 20 минут. Высокая пастеризация представляет собой кратковременное (не более 1 минуты) воздействие на пастеризуемый продукт темпера-

туры выше 90 °С, которое приводит к гибели патогенной неспоронной микрофлоры и в то же время не влечет за собой существенных изменений природных свойств пастеризуемых продуктов. Пастеризованные продукты не могут храниться без холода.

Стерилизация баночных консервов проводится в специальных устройствах – автоклавах – при температуре 110–125 °С в течение 20–60 минут. Стерилизация обеспечивает возможность длительного хранения консервов. Молоко стерилизуется методом ультравысокотемпературной обработки (при температуре выше 130 °С) в течение нескольких секунд, что позволяет сохранить все полезные свойства его.

Влияние химических факторов.

Микробы, как и все живые организмы, чувствительны к факторам среды. Они способны реагировать на малейшие изменения среды перемещением или другими реакциями. При возникновении благоприятных импульсов микробы устремляются к объекту раздражения, неблагоприятные импульсы отталкивают их. Такое явление получило название *хемотаксиса*. Движение бактерий в сторону веществ, действующих на них благоприятно (мясной экстракт, пептон), получило название положительного хемотаксиса (его вызывают вещества-аттрактанты). Движение бактерий от веществ, неблагоприятно действующих на микробные клетки (кислоты, щелочи, красители и др.), называют отрицательным хемотаксисом (к нему приводят сильнодействующие, ядовитые вещества-репелленты).

Все химические факторы, влияющие на бактерии, можно разделить на две категории: водородный показатель (или рН реакция среды) и химические вещества, оказывающее токсическое воздействие на микроорганизмы (дезинфицирующие вещества).

Реакция среды. Жизнедеятельность микроорганизмов зависит от концентрации водородных (H^+) или гидроксильных (OH^-) ионов в субстрате, на котором они развиваются. Для большинства бактерий наиболее благоприятна нейтральная (рН около 7) или слабощелочная среда. Плесневые грибы и дрожжи хорошо растут при слабокислой реакции среды. Высокая кислотность среды (рН ниже 4) препятствует развитию бактерий, однако плесени могут продолжать расти и в более кислой среде. Подавление роста гнилостных микроорганизмов при подкислении среды имеет практическое применение. Добавление уксусной кислоты используется при мариновании продуктов, что позволяет сохранить их. Образующаяся при квашении молочная кислота также подавляет рост гнилостных бактерий.

В зависимости от реакции среды обитания, все микроорганизмы можно разделить на три группы:

ацидофилы – живут в кислой среде (рН 1–5);

алкалофилы – в щелочной (рН 8,5–10,5);

нейтрофилы – в нейтральной среде (рН 6–8).

Большинство же микробов предпочитает среду, концентрация водородных ионов в которой делает ее ближе к нейтральной (рН 6,5–7,5). Оптимальную среду обитания в естественных условиях микроорганизмы создают себе сами.

Знание действия химических веществ на микробы имеет практическое значение, так как многие из них используются для проведения оздоровительных мероприятий в хозяйствах. Наиболее широко распространены из *дезинфицирующих веществ* щелочи, кислоты, хлорсодержащие препараты, фенолы, соли тяжелых металлов. Также к этой категории относят поверхностно-активные вещества, красители, окислители и альдегиды.

Поверхностно-активные вещества (ПАВ) (жирные кислоты, мыла и прочие детергенты) вызывают снижение поверхностного натяжения за счет уменьшения силы притяжения между молекулами, что приводит к нарушению функционирования клеточной стенки и цитоплазматической мембраны. Их иначе также называют *сурфактантами* (сокращение от англ. словосочетания Surface Active Agents, т. е. поверхностно-активные агенты).

Мыла и моющие средства являются наиболее распространенными поверхностно-активными веществами. Мыла имеют как гидрофобную область из жирных кислот, так и гидрофильную область. Гидрофобная область расщепляет липиды, в то время как гидрофильная часть притягивает воду, что способствует удалению жировой фракции. Хотя мыла являются хорошими обезвреживающими агентами, они обладают очень низкой противомикробной активностью, если в них не добавлять противомикробные соединения, такие как триклозан.

Синтетические детергенты, такие как четвертичные аммониевые соединения, представляют собой положительно заряженные органические активные вещества, связанные с ионами аммония. Эти агенты лучше растворимы в воде, чем мыла, и действуют путем разрушения плазматических мембран. Четвертичные аммониевые соединения обладают бактерицидными и фунгицидными свойствами, они инактивируют вирусы с внешней оболочкой, но не эффективны против безоболочечных вирусов, эндоспор или микобактерий. Они также безвредны

для тканей человека, поэтому часто их используют в составе жидкостей для полоскания рта. Примеры таких соединений включают бензалкония хлорид (зефиран) и цетилпиридиния хлорид (цепакол). Поскольку четвертичные аммониевые соединения инактивируются мылом и другими органическими соединениями, а также неэффективны против отдельных микробов, таких как синегнойная палочка, их считают дезинфицирующими средствами низкого уровня активности.

Красители (бриллиантовый зеленый и др.) обладают свойством задерживать рост бактерий. Растворы ряда красителей применяют в качестве антисептических средств, а также вводят в состав некоторых питательных сред для угнетения роста сопутствующей микробиоты.

Спирты свертывают белки микробной клетки.

Кислоты изменяют концентрацию водородных ионов и коагулируют белки. Их применяют как средство уничтожения микробов (карболовая, серная, соляная кислоты) и для создания необходимого значения pH при консервировании продуктов (уксусная, лимонная).

Щелочи гидролизуют коллоидные системы, вследствие чего микробная клетка гибнет.

Фенол, крезол и их производные вызывают коагуляцию микробных белков. Они используются для дезинфекции контаминированного материала в микробиологической практике и инфекционных больницах.

Из химических веществ этой группы наибольшее коммерческое применение получил триклозан. В механизме его действия лежит угнетение фермента енол-ацил протеин редуктазы, который отсутствует в клетке человека. Это вещество широко используется, начиная с 1970-х гг., и к началу нового тысячелетия триклозан и близкое ему соединение триклокарбан можно было найти в 75 % производимого жидкого мыла и 29 % кускового мыла, а по данным на 2014 г. триклозан использовался в более чем 2 тыс. наименований потребительских товаров. Тем не менее в последнее время по причине недоказанной безвредности в некоторых странах от его использования начали отказываться, как минимум, в составе жидкого и твердого мыла.

Соли тяжелых металлов (ртуть, свинец, цинк, золото и др.) коагулируют белки микробной клетки, вызывая их гибель. Ряд металлов (серебро, золото, ртуть и др.) оказывают бактерицидное действие на микроорганизмы в ничтожно малых концентрациях. Например, даже твердые соединения металлов в средах вызывают ингибицию размножения микроорганизмов за счет диффузии мельчайших количеств их солей (рис. 1.67).

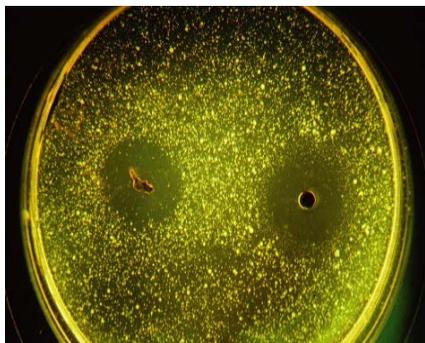


Рис. 1.67. Ингибция роста микроорганизмов тяжелыми металлами

Например, в воде, находящейся в сосудах из серебра, не размножаются бактерии, благодаря бактерицидному действию ионов серебра. Для профилактики бленнореи (воспаление конъюнктивы глаза, вызванное гонококками) новорожденных долгое время применяли 1%-ный раствор нитрата серебра. Коллоидные растворы органических соединений серебра (протаргол, колларгол) используют также в виде мест-

ных антисептических средств. Еще большим бактерицидным действием обладают наночастицы тяжелых металлов размером до 100 нм. На современном этапе их считают наиболее перспективным бактерицидным и вирулицидным средством.

Сильным антимикробным действием обладают препараты ртути. Издавна для дезинфекции применяли бихлорид ртути, или сулему (в разведении 1:1000). Однако она оказывает токсическое действие на ткани макроорганизма, и ее использование в настоящее время сильно ограничено.

Окислители, взаимодействуя с микробными белками, нарушают деятельность ферментов, вызывают денатурацию белков. Активными окислителями являются хлор, озон, которые используют для обеззараживания питьевой воды. Хлорпроизводные вещества (хлорная известь, хлорамин) широко применяют в целях дезинфекции. Окисляющими свойствами обладают перекись водорода, перманганат калия, йод и другие вещества.

Альдегиды в основном убивают вегетативные и споровые формы микроорганизмов. Из их числа чаще используются формальдегид в виде 40%-ного раствора (формалин) для дезинфекции. Формалин блокирует аминогруппы белков микробной клетки и вызывает их денатурацию.

Споры почти не содержат свободной воды, имеют плотную двойную оболочку, поэтому отличаются более высокой устойчивостью к действию химических веществ. Таким образом, действие химических веществ зависит от состава, концентрации, экспозиции, температуры и других факторов.

Влияние биологических факторов.

Микроорганизмы подвержены не только физическим, химическим, но и биологическим воздействиям. В природных условиях микробы существуют в разнообразных ассоциациях. Характер их взаимодействия проявляется либо в форме антагонизма, т. е. угнетения одного вида другим, либо в форме симбиоза, т. е. благоприятного сожительства. К биологическим факторам относят антибиотики, бактериоцины и бактериофаги.

Антибиотики (*anti* – против, *bios* – жизнь) – вещества микробного, животного и растительного происхождения, подавляющие развитие и биохимическую активность чувствительных к ним микробов. Антибиотики могут продуцироваться грибами, актиномицетами, бактериями. Кроме того, существуют антибиотики животного и растительного происхождения, а также синтетические антибиотики, полученные искусственно путем биосинтеза. Большая часть антибиотиков имеет природное происхождение, и их основным продуцентом являются микроорганизмы. Микроорганизмы, находясь в своей естественной среде обитания (в основном в почве), продуцируют антибиотики в качестве средства борьбы за существование с другими микроорганизмами. Наиболее активными продуцентами антибиотиков являются плесневые грибы и актиномицеты. Еще в 1929 г. в Англии А. Флеминг заметил, что случайно выросшая в чашках Петри плесень угнетала рост стафилококков. Тогда стало ясно, что плесень выделяет вещество, угнетающее рост стафилококка. В чистом виде это вещество было выделено английскими химиками Э. Чейном, Г. Флори, Э. Эбрахемом в 1940 г. В СССР пенициллин был получен в 1942 г. З. В. Ермольевой.

К антибиотикам грибного происхождения также относят продуцируемые плесенью рода *Aspergillus* фумигацин и аспергиллин, рода *Mucor* – клавицин, грибами *Cephalosporium acremonium* – цефалоспорин и др. К группе антибиотиков, продуцируемых актиномицетами рода *Streptomyces*, относят стрептомицин, левомицетин, эритромицин, нистатин, неомицин, канамицин, тетрациклин, хлортетрациклин, тилозин, тобрамицин, новобиоцин и др. Около 80 % антибиотиков получено именно из актиномицетов.

К антибиотикам животного происхождения относят вещества, образуемые тканями животных: эритрин, выделяемый из эритроцитов некоторых животных, экмолин, полученный из тканей рыб, лизоцим.

Растения выделяют вещества, названные *фитонцидами*. Фитонциды могут выделять лук, чеснок, хрен, горчица, алоэ, крапива, можже-

вельник, почки березы, листья черемухи и др. Их антимикробное действие обусловлено эфирными маслами, органическими кислотами, смолами. Некоторые фитонциды получены в чистом виде: аллицин – из чеснока, рафанин – из семян редиски, иманин – из зверобоя. Антибиотические вещества, такие как лишенин и усниновая кислота, вырабатываются лишайниками.

В основе механизма действия антибиотиков лежит нарушение состава бактериальной клеточной стенки за счет ингибирования образования пептидогликанового слоя у микроорганизма, либо оно основано на подавлении биосинтеза бактериальной ДНК, РНК или белка.

Антибиотики могут оказывать на микроорганизмы бактерицидное или бактериостатическое действие. Данное свойство зависит от вида антибиотика, его концентрации, чувствительности микроорганизма и других факторов. Бактерицидный эффект предполагает разрушение бактерий. В обычных дозах таким эффектом обладают все антибиотики, блокирующие рост клеточной стенки (пенициллины, цефалоспорины). По отношению к грибам таким эффектом обладают антибиотики типа нистатина или леворина (фунгицидный эффект). Бактериостатический эффект предполагает замедление роста и размножения бактерий под действием антибиотиков. Бактериостатическим действием обладают антибиотики, блокирующие синтез белков и нуклеиновых кислот. В больших дозах бактериостатический эффект этих антибиотиков может перерасти в бактерицидный. Предварительное определение чувствительности микроорганизмов позволяет выбрать наиболее активный антибиотик и затем использовать его в качестве лечебного препарата. Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам проводят методом диффузии в агар или методом серийных разведений.

Одной из главных проблем длительного использования антибиотиков является антибиотикорезистентность микроорганизмов. Она может быть первичной и приобретенной. Первичная резистентность связана с отсутствием мишени у микроорганизма для действия данного антибиотика; приобретенная – с изменением мишени в результате модификаций, мутаций или рекомбинаций. Механизмы резистентности микроорганизмов к антибиотикам и другим химиотерапевтическим препаратам сложны и разнообразны. Чаще всего они связаны со следующими причинами: превращением активной формы антибиотика в неактивную форму путем ферментативной инактивации, утратой проницаемости клеточной стенки для препарата, нарушениями в системе спе-

цифического транспорта препарата в бактериальную клетку, возникновением у микроорганизмов альтернативного пути образования жизненно важного метаболита.

Бактериоцины синтезируются представителями всех семейств и называются по виду бактерий: колицины синтезируются *E. coli*, туберкулоцины синтезируются микобактерией *M. tuberculosis*. Эти вещества угнетают рост и развитие филогенетически родственных бактерий. Группа антибиотиков, продуцируемых бактериями, менее обширна, чем группа грибного и актиномицетного происхождения. Способностью продуцировать антибиотики обладают в большинстве своем сапротрофные бактерии, обитающие в почве.

Бактериофаги. Впервые лизис бактерий под воздействием неизвестного фактора описал Н. Ф. Гамалея в 1898 г. Затем, более подробно, закономерности лизиса бактерий (стафилококков) были описаны английским микробиологом Ф. Туортом в 1915 г. В 1917 г французский ученый Ф. д'Эрель выделил из испражнений выздоравливающего от дизентерии человека особый агент, проходящий через бактериальные фильтры и лизирующий бульонные культуры возбудителя болезни. Ученый утверждал, что фаг представляет собой живое существо, которое было названо бактериофагом (от греч. *phagos* – пожирающий), а феномен лизиса культуры – бактериофагией.

По своей природе бактериофаги являются вирусами бактерий. Бактериофаги широко распространены в природе. Их обнаруживают в почве, воде, экскрементах больных и здоровых животных, человека. Бактериофаги обнаружены более чем у 100 видов бактерий. Их хозяевами являются эшерихии, сальмонеллы, стафилококки, стрептококки, микобактерии, листерии, коринебактерии и др.

Исходя из усредненных особенностей устойчивости различных разновидностей микроорганизмов к воздействиям факторов внешней среды, их можно выстроить по определенному ранжиру (рис. 1.68).



Рис. 1.68. Усредненная резистентность микроорганизмов к воздействиям

Взаимоотношения в микромире.

В природе все связано и взаимозависимо. Живые существа объединены в устойчивые экологические системы – *биоценозы*. Для каждого из них характерны видовое и количественное соотношения популяций, структура, взаимоотношения и другие признаки. Среди разных ценозов (фитоценозы, зооценозы) большое место в природных условиях занимают *микробиоценозы* – сообщества микроорганизмов. Между ними и другими живыми организмами существуют самые разнообразные взаимоотношения. Они могут проявляться в форме симбиоза, комменсализма, метабиоза, сателлизма, синергизма, антагонизма и т. д.

Симбиоз – сожительство двух или более видов, между которыми складываются взаимоотношения, повышающие возможность выживаемости обоих видов. Классическим примером симбиоза может служить сожительство гриба и водоросли (цианобактерии) в лишайнике, а также нахождение аэробов и анаэробов в одной замкнутой среде (в изолированных пустотах в почве и других местах), когда после использования кислорода аэробами создаются благоприятные условия для анаэробов, жизнь которых может протекать без атомарного кислорода. Микробы, находящиеся в клубеньках корней, живут в симбиозе с бобовыми растениями. Целлюлозоразлагающие бактерии в рубце жвачных животных могут служить примером симбиоза микроба и животных.

Комменсализм – неярко выраженная форма сожительства микробов с другими организмами, при этом один организм использует пищу или выделения другого, не принося ему вреда. Комменсалы являются представителями нормальной микрофлоры животных, обитающей в желудочно-кишечном тракте, дыхательных путях, на коже, а также эпифитными микробами растений.

Метабиоз – форма взаимоотношений, при которой один из микробов использует продукты жизнедеятельности другого и тем самым создает благоприятные условия для его развития (сожительство аммонификаторов и нитрификаторов, целлюлозоразлагающих и азотфиксирующих бактерий). Нитрификаторы окисляют продукты жизнедеятельности гнилостных микробов – аммиак, а азотобактер использует органические кислоты, которые накапливаются при разложении клетчатки.

Сателлизм – стимуляция роста одного микроорганизма продуктами жизнедеятельности другого, который затем становится его спутником. Выделяемые азотобактером витамины и другие биологически актив-

ные вещества стимулируют развитие микробов, превращающих органические формы фосфора в неорганические, что, в свою очередь, благоприятно отражается на развитии высших растений. Такое же действие оказывают дрожжи – продукты витаминов группы В – на другие микробы.

Синергизм – одинаковые физиологические процессы разных особей микробной ассоциации, в результате которых происходит увеличение конечных продуктов (увеличение гетероауксина – стимулятора роста растений – при совместном культивировании азотобактера и грибовидной бациллы).

Антагонизм – враждебное взаимоотношение, при котором продукты жизнедеятельности одного микроорганизма губительно действуют на таковые другого. Гнилостные микроорганизмы не могут жить в одной среде с молочнокислыми, так как образуемая молочная кислота понижает рН и подавляет рост алкалофильных организмов. Этот принцип используется в сельском хозяйстве, на нем основаны процессы силосования, квашения, приготовления и сохранения кисломолочных продуктов. Антагонизм между микробами широко распространен в природе. В борьбе с возбудителями разных болезней его использует человек. Применяемые антибиотические вещества имеют специфическое действие. Этим они отличаются от других продуктов жизнедеятельности микробов. Антибиотическими свойствами обладают фитонциды – вещества, обнаруженные во многих растениях и пищевых продуктах (лук, чеснок, редька, хрен, можжевельник, пряности и др.). К фитонцидам относятся эфирные масла, антоцианы и другие вещества. Они способны вызывать гибель патогенных микроорганизмов и гнилостных бактерий.

В яичном белке, рыбной икре, слезах, слюне содержится лизоцим – антибиотическое вещество животного происхождения.

Паразитизм – это такие взаимоотношения между микробами, в результате которых пользу от сожительства получает лишь один организм (паразит), нанося вред другому организму (хозяину), что обычно приводит к гибели последнего.

Установление взаимоотношений в микробактериальной среде также можно проследить в однородном микробиоценозе, когда бактериальная популяция отличается высокой степенью изогенности. Лучше всего эти взаимоотношения иллюстрируются ростом бактерий в статической и непрерывной культурах.

Рост бактерий в статической культуре. При внесении бактерий в питательную среду они обычно растут до тех пор, пока содержание какого-нибудь из необходимых им компонентов среды не достигнет минимума, после чего рост прекращается. Если на протяжении всего времени не прибавлять питательных веществ и не удалять продуктов обмена, то получится статическая бактериальная культура.

Стационарная фаза наступает тогда, когда число клеток перестает увеличиваться. Скорость роста бактерий зависит от концентрации субстрата. Поэтому при уменьшении концентрации субстрата наблюдается снижение скорости роста, переход от экспоненциальной к стационарной фазе роста происходит постепенно. Скорость роста может снижаться и за счет большой плотности бактериальной популяции или из-за накопления токсичных продуктов обмена. В стационарной фазе могут происходить такие процессы, как использование запасных веществ, синтез ферментов, быстрая гибель очень чувствительных клеток. Количество биомассы, достигнутое в стационарной фазе, называют выходом, или урожаем.

Рост в непрерывной культуре. В статической культуре условия все время изменяются: плотность популяции бактерий увеличивается, а концентрация субстрата уменьшается.

Для многих физиологических исследований представляется желательным дать возможность клеткам длительное время находиться в фазе экспоненциального роста при постоянной концентрации субстрата и неизменных прочих условиях. Добиться такого положения можно, многократно перенося клетки на новую питательную среду. Той же цели можно добиться, если в сосуд, содержащий популяцию растущих клеток, непрерывно вводить новый питательный раствор и одновременно удалять из него соответствующее количество бактериальной суспензии. Такой метод положен в основу непрерывного культивирования в хемостатах и турбидостатах.

Основные различия между статической и непрерывной культурами заключаются в следующем:

- 1) статическую культуру можно рассматривать как закрытую систему, которая в своем развитии проходит все фазы роста. Каждый из этих периодов характеризуется определенными условиями. Автоматическое регулирование в статической культуре невозможно;
- 2) непрерывная культура представляет собой открытую систему, которая стремится к равновесию.

1.7. Биогеохимическая деятельность микроорганизмов

Микроорганизмы в круговороте веществ в природе.

Будучи широко распространенными в окружающей среде – воздухе, воде и почве – микроорганизмы принимают участие во многих важных процессах, происходящих в биосфере. Их совокупность составляет круговорот веществ в природе, в том числе усвоение азота из воздуха, процесс утилизации органических отходов жизнедеятельности всех макроорганизмов (растений, животных, человека) и др.

Микроорганизмы активно участвуют в круговороте веществ в природе. Значительную часть органического вещества составляют углерод (до 50 %) и азот (16–18 %). Разложение органических веществ происходит под влиянием ферментов, образуемых различными микроорганизмами. Органические вещества, входящие в состав животного и растительного организмов, используются микробами в качестве источников питания и энергии. Распад органических компонентов до минеральных веществ представляет собой длительный процесс, совершающийся чаще всего в несколько этапов химических превращений, в которых участвуют микроорганизмы. Минеральные вещества затем усваиваются из почвы растениями, где из них вновь формируются органические соединения. Растения же являются источником питания для животных.

В глобальном круговороте веществ наибольшее биологическое значение имеет круговорот углерода и азота. В обоих случаях биотический обмен веществ несравненно меньше абиотического, т. е. неорганического. Например, значительная часть обмена углерода в природе связана с процессами дыхания и фотосинтеза (рис. 1.69).



Рис. 1.69. Глобальный обмен углерода

Роль микробов в поддержании равновесия и круговорота углерода в природе велика. Углерод входит в состав органических соединений, энергия построения которых происходит из фотосинтеза. Клетчатка является наиболее распространенным полисахаридом растительного мира, так как растения на 15–50 % состоят из целлюлозы. После их гибели целлюлоза подвергается разложению, в результате освобождается углерод. Разложение клетчатки происходит в аэробных и анаэробных условиях в почве, водоемах, навозе, желудочно-кишечном тракте травоядных животных. В аэробных условиях клетчатку разлагают актиномицеты и грибы родов *Aspergillus* и *Penicillium*, а также микроорганизмы родов *Cytophaga*, *Cefacicula* и *Cellvibrio*.

В процессе распада целлюлозы происходит сначала ее разложение до олиго- и моносахаридов (часто этот процесс называют засахариванием), а затем углеводы разлагаются в зависимости от типа брожения на спирты, молочную и масляную кислоты, углекислый газ, метан и водород. Анаэробное брожение осуществляется целлюлозоразрушителями: бактерией *Clostridium cellobioparum* и некоторыми другими.

В рубце жвачных животных целлюлоза кормов разлагается до глюкозы, которая затем сбраживается с образованием органических кислот – уксусной, пропионовой, масляной, молочной, муравьиной, янтарной, спиртов и газов (углекислый газ и водород). Разложение целлюлозы в рубце осуществляют кокковидные и палочковидные бактерии: *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavofaciens* и др.

Исключительно важная роль принадлежит микроорганизмам в круговороте азота. Столб воздуха над 1 га земной поверхности содержит до 80 тыс. тонн азота, однако для растений и животных он недоступен по причине прочности тройной связи в атмосферном молекулярном азоте (N₂). Тем не менее в природе существует явление азотфиксации (диазотрофии), представляющее собой процесс восстановления молекулы азота и включения ее в состав биомассы. Этим занимаются в основном прокариотические микроорганизмы.

В геохимических процессах на Земле особая роль принадлежит микроорганизмам, поэтому в *биогеохимии* – науке о химическом составе Земли и геохимических процессах при участии живых организмов – изучение биогеохимической роли микроорганизмов лежит в фокусе исследований. Во всей биогеохимической деятельности микроорганизмов микробиота почвы занимает первостепенное место.

Микробиота почвы.

Почва – это самый верхний рыхлый слой земной коры, покрытый растительностью и обладающий плодородием.

Почва является главным резервуаром и естественной средой обитания микроорганизмов в природе, которые принимают активное участие в процессах формирования и самоочищения почвы, а также в круговороте веществ в природе (азота, углерода, серы, железа и других соединений). Почва формируется из горных пород, разрушающихся под действием ветра, воды, живых организмов, и из органических соединений, образующихся в результате гибели и разложения растений и животных. Разнообразные микроорганизмы почвы обитают в водных и коллоидных пленках, которые как бы обволакивают почвенные частицы. Широко осуществляется передвижение и расселение почвенных подвижных бактерий по гифам грибов, вокруг которых также обнаруживаются микроскопические тонкие водные пленки.

В почвообразовании участвуют три группы организмов: зеленые растения, микроорганизмы и животные, образующие на суше сложные биоценозы. При совместном воздействии организмов в процессе их жизнедеятельности осуществляются важнейшие звенья почвообразования: синтез и разрушение органического вещества, избирательная концентрация биологически важных элементов, разрушение и новообразование минералов, миграция и аккумуляция веществ и другие явления, составляющие сущность почвообразовательного процесса и определяющие формирование главного свойства почвы – плодородия. Вместе с тем функции каждой из этих групп как почвообразователей различны.

Качественный состав микробиоты почвы очень разнообразен: множество видов бактерий (преимущественно спорообразующих), актиномицетов, спирохет, архебактерий, простейших, цианобактерий, микоплазм, грибов, вирусов. Состав и соотношения между различными группами микроорганизмов изменяются в зависимости от вида почвы, способов ее обработки, содержания органических веществ, влаги, климатических условий и многих других причин. Так, в хорошо аэрирующихся песчаных почвах преобладают аэробные микроорганизмы, в глинистых влагоемких почвах, в которые проникновение кислорода затруднено, живут в основном анаэробы. Микроорганизмы почвы способны размножаться при температуре от 25 до 45 °С, термофильные – при более высокой температуре. Чернозем особенно богат микроорганизмами.

В плодородной почве существуют амёбы, грибы, инфузории, бактерии. Наибольшее количество микроорганизмов находится на глубине 5–15 см. На каждый гектар малоплодородной почвы приходится 5–6 т микробной массы, высокоплодородной – до 16 т. Наиболее богаты микроорганизмами возделываемые почвы, беднее – песчаные, лишённые растительности, горные. Содержание микробов в почвах Северного полушария увеличивается с севера на юг. К типичным почвенным микробам относят бациллы и клостридии: *B. subtilis*, *B. mycoides*, *B. pumilus* (син. *B. mesentericus*), *Cl. tetani*, *Cl. perfringens*, *Cl. novyi* и др., составляющие 80–90 % всей микробиоты почвы.

Микроорганизмы находятся в сложном биоценозе, характеризующемся антагонистическими и симбиотическими взаимоотношениями как между собой, так и с растениями. В околокорневой зоне растений бактерий особенно много: они образуют зону интенсивного размножения и повышенной активности, называемую *ризосферой*. Микробиота ризосферной зоны почвы значительно богаче, разнообразнее и отличается специфичностью для каждого вида растений. Микроорганизмы обладают положительным хемотаксисом в отношении корневых выделений растений и, участвуя в процессах минерализации органических соединений (накапливающихся отмерших клеток корней), обеспечивают растения легкоусвояемыми минеральными веществами, веществами типа витаминов и ауксинов, способствующими активизации метаболизма растений. В самой почве идет непрерывная конкуренция за питательный субстрат. Нередко жизнедеятельность одних групп бактерий подавляется действием антибактериальных веществ, или бактериоцинов, выделяемых другими группами.

Количество микроорганизмов в почве достигает нескольких миллиардов в 1 г. Больше всего содержится их в унавоженной почве и почве, подвергающейся обработке (пахоте и аэрации), – до 4,8–5,2 млрд. особей, меньше – в лесной почве, в песках – 1,2–0,9 млрд. особей. Живая масса микроорганизмов в почве на 1 га в среднем составляет около 1000 кг. Численность микроорганизмов подвержена сезонным колебаниям: весной число особей увеличивается, достигая максимума к лету, в разгар лета уменьшается, по-видимому, в результате наиболее активного воздействия солнечных лучей, осенью опять увеличивается и снижается зимой.

Распределение микробов в почве неравномерно. На поверхности и в слое толщиной 1–2 мм относительно мало микробов, несмотря на постоянное обсеменение почвы, что объясняется губительным дей-

ствием ультрафиолетовых лучей солнца и высушивания. Наиболее обильна микробиота в почве на глубине 10–20 см. В этом слое протекают основные биохимические процессы превращения органических веществ, обусловленные жизнедеятельностью разнообразных микроорганизмов, последовательно сменяющих друг друга. В более глубоких почвенных слоях почвы микробиота становится скудной, и на глубине 4–5 м микроорганизмы обнаруживаются в очень малом количестве.

В составе микробиоты почвы принято выделять так называемые физиологические группы микроорганизмов, которые участвуют в различных процессах и на разных этапах постепенного разложения органических веществ.

1. Бактерии-аммонификаторы, являющиеся гнилостными микроорганизмами, вызывают распад и гниение остатков растений, трупов животных, разложение мочевины. В процессе гниения участвуют аэробные бактерии *B. subtilis*, *B. mesentericus*, *Serratia marcescens*, бактерии рода *Proteus*; грибы рода *Aspegillus*, *Mucor*, *Penicillium*; анаэробные клостридии *C. sporogenes*, *C. putrificum*; уробактерии *Urobacillus pasteurii*, *Sarcina ureae*, расщепляющие мочевину.

2. Нитрифицирующие бактерии: *Nitrosomonas* и *Nitrobacter*. Бактерии рода *Nitrosomonas* обладают способностью окислять аммиак (образующийся как результат жизнедеятельности аммонифицирующих бактерий) до азотистой кислоты, образуя нитриты. При деятельности *Nitrobacter* азотистая кислота окисляется до азотной и превращается в нитраты. Нитрифицирующие бактерии были открыты в 1899 г. основателем почвенной микробиологии С. Н. Виноградским, который показал, что процесс нитрификации идет в два этапа и нитрифицирующие бактерии обладают автотрофными свойствами и исключительной специфичностью действия. Значение микробов в процессе нитрификации очень точно охарактеризовано самим С. Н. Виноградским: «Микробы являются главными агентами вызванного жизнью и необходимого для правильной смены жизни круговорота веществ; они являются живыми носителями бесчисленно разнообразных реактивов, можно даже сказать, воплощенными реактивами, без которых немислимы были бы многие из необходимых процессов, составляющих этот круговорот, и нам ясно, что только основные качества живых существ – способности размножения, распространения, приспособления и наследственность – обеспечивают этим процессам должную пластичность, самопроизвольность и неизбежность».

3. Азотфиксирующие бактерии. Клубеньковые и свободноживущие азотфиксирующие бактерии обладают исключительной способностью усваивать из воздуха атмосферный азот и в процессе жизнедеятельности образуют из молекулярного азота белки и другие органические соединения азота, которые используются растениями.

4. Бактерии, расщепляющие клетчатку, вызывающие различные виды брожений, наблюдаемые при разложении микробами органических соединений углерода (молочнокислое, спиртовое, маслянокислое, уксусное, пропионовокислое, ацетонобутиловое и др.).

5. Бактерии, участвующие в круговороте серы, железа, фосфора и других элементов – серобактерии, железобактерии и т. д., разнообразные виды которых осуществляют окисление и восстановление этих соединений в природе.

Микробиота почвы целиком зависит от окружающих условий – влажности, температуры, кислотности, характера и количества питательных веществ, солнечной инсоляции, окислительно-восстановительного потенциала и т. д.

Почвенная микробиота представляет собой довольно динамичную систему. Рассмотрим одну из моделей взаимодействий в почвенной среде (рис. 1.70). Растительные патогены, такие как *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (1), могут проникать через поры листьев (устьица), которые контролируют дыхание и выделение воды (2). В ответ на заражение растения выделяют L-яблочную кислоту (3) из своих корней, которая, в свою очередь, является источником питания для полезной почвенной бактерии *Bacillus subtilis* (4). Эта бактерия выделяет токсины, которые подавляют антимикробную защиту корня (5), но задерживают другие потенциально патогенные микроорганизмы (6), позволяя самой бацилле успешно колонизировать ризосферу.

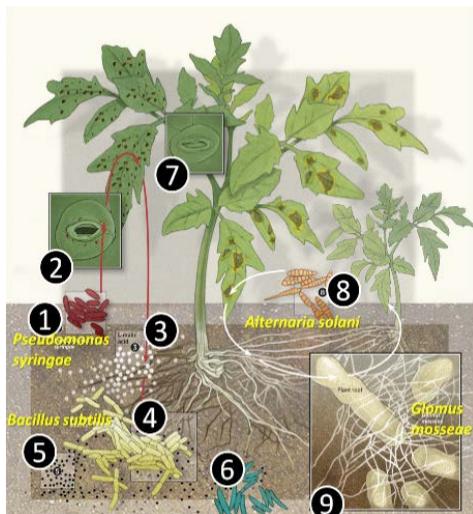


Рис. 1.70. Динамика изменения микробиоты почвы

Колонизация бациллой *B. subtilis* заставляет растение продуцировать абсцизовую кислоту, что приводит к закрытию устьиц (7), помогая предотвратить дальнейшее заражение псевдомонадами. Аналогичным образом, когда растения заражаются плесневым грибом *Alternaria solani* (8), близлежащие растения инициируют свою собственную защиту, воспринимая предупреждающие сигналы, передаваемые между растениями через симбиотическую систему «корень – гриб» в микоризе. Симбиотическая ассоциация грибного мицелия гриба с корнем часто содержит полезный гриб *Glomus mosseae* (9).

1.8. Инфекция и резистентность организма

Общее представление об инфекции и инфекционном процессе.

Инфекционные заболевания были известны человечеству с древнейших времен. Естественно, однако, что у народов глубокой древности не могло быть правильного представления об истинных возбудителях заразных (инфекционных) болезней. Например, греческий ученый Гиппократ высказал предположение о том, что причинами заразных болезней являются ядовитые испарения воздуха – миазмы.

Только с середины XIX в. в результате исследовательских работ основоположников медицинской микробиологии (Л. Пастер, И. И. Мечников, Р. Кох, Д. И. Ивановский и др.) было установлено, что возбудителями инфекционных заболеваний являются определенные виды микроорганизмов, которые получили название болезнетворных патогенных, в отличие от других, существующих в природе неболезнетворных микробов – сапротрофов.

Связь определенных бактерий с конкретными болезнями приписывается идеям немецкого врача Роберта Коха, который вместе со своим коллегой Фридрихом Леффлером разработал четыре критерия, которые доказывают причинную связь между конкретным микробом и данной болезнью. Эти критерии, сейчас известные как постулаты Коха (рис. 1.71), были впервые опубликованы в 1884 г. и до сих пор используются в качестве стандарта для установления этиологической роли патогенов.

Инфекция (от лат. *inficio* – вношу что-либо извне, загрязняю) в собственном смысле этого слова означает заражение, т. е. внедрение в организм и размножение в нем патогенных микробов. Однако «проникновение патогенного микроба в чувствительный организм вовсе не обязательно вызывает соответствующее заболевание» (И. И. Мечников).

В настоящее время этот термин получил более четкое определение.

Инфекция – это характер взаимодействия между болезнетворным микроорганизмом и чувствительным макроорганизмом, выраженный в комплексе патологических и защитно-иммунологических реакций.

Используя вышеприведенное определение, можно сделать вывод, что понятие «инфекция» намного шире понятия «зараженность». Многие бактерии, считающиеся безвредными сапротрофами, в определенных условиях, понижающих резистентность макроорганизма, могут привести к патологическим изменениям. Так, *E. coli* – постоянный обитатель кишечника, попав в почки, мочевой или желчный пузырь, может вызвать в этих органах воспалительный процесс.

Под *инфекционным заболеванием* понимают сложный процесс взаимодействия макро- и микроорганизма, который проявляется в совокупности разнообразных клинических симптомов, возникающих в организме вследствие проникновения, размножения и действия в нем болезнетворных микробов.

В современной микробиологии имеется много данных, свидетельствующих о том, что патогенные микробы произошли от сапротрофных форм в процессе продолжительной эволюции вида. Об этом говорят следующие факты.

В природе существуют микробы-двойники, морфологически и биологически сходные с патогенными микробами, но не обладающие болезнетворными свойствами. Это явление может быть отнесено почти к любому виду патогенных микробов. Например, возбудитель сибирской язвы (*Bacillus anthracis*) генетически сходен с бациллой *Bacillus cereus*, составляя с ней фактически общий генетический континиум.

ПОСТУЛАТЫ КОХА

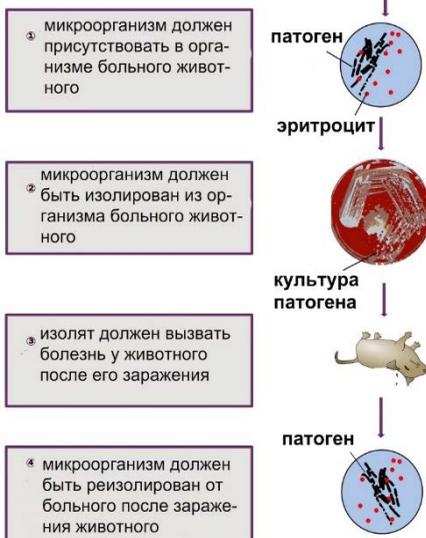


Рис. 1.71. Постулаты Коха в микробиологии

Развитие инфекционного процесса зависит от взаимодействия трех факторов:

- 1) *микроорганизма* – возбудителя заболевания;
- 2) *макроорганизма*;
- 3) *окружающей среды*, которая оказывает влияние на свойства макро- и микроорганизма.

Микробы, способные вызывать заболевания, должны быть *патогенными* и *вирулентными*; макроорганизм должен характеризоваться *чувствительностью*, а окружающая среда должна способствовать различным путям *передачи инфекции* и воздействовать на макроорганизм, содействуя инфекции.

Патогенность возбудителя.

Патогенность – это видовой признак микроорганизма, приобретенный в процессе эволюции и адаптации к животному или человеческому организму и заключающийся в способности оказывать на организм болезнетворное действие, вызывать болезнь; это видовой признак микроба. В качестве патогенных микробов можно привести *Bacillus anthracis*, *Bac. larvae*, *Bac. thuririgiensis*, *Beauveria bassiana*, а непатогенных – *Bac. subtilis*, *Bac. mycoides*, *Sarcina lutea*.

Каждый микроб в момент выделения из инфицированного организма обладает более высокой степенью вирулентности. Попав во внешнюю среду, подвергаясь высыханию, действию света, микробы становятся менее опасными, так как воздействие различных факторов внешней среды понижает вирулентность бактерий.

Различают микроорганизмы *фитопатогенные*, или патогенные для растений, и *зоопатогенные*, или патогенные для животных.

Микроорганизмы одного и того же вида, выделенные из разных мест и обладающие какими-либо особыми свойствами, отличиями, называются *штаммами*.

Разные штаммы одного и того же вида патогенного микроба могут обладать разной способностью вызывать болезнь. От одних штаммов болезнь возникает при заражении небольшим количеством микробов, а от других – только от больших количеств. Такое различие в степени патогенности микроба называется *вирулентностью*.

Вирулентность – это свойство микроба проникать в ткани макроорганизма, жить, размножаться и распространяться в них, противостоять тем неблагоприятным влияниям, которые оказывают на него биологические реакции организма, и выделять различные токсичные вещества, которые обуславливают клиническую картину инфекционного заболевания.

Вирулентность – индивидуальное качество, определяется минимальной смертельной (летальной) дозой (LD), так как у хозяев различных патогенов существуют большие различия в индивидуальной восприимчивости к патогенному микробу.

Вирулентность микробов изменчива. Она может повышаться, может снижаться.

Факторы вирулентности.

1. Капсула и капсулообразование. У бактерий, способных к капсулообразованию, эта внешняя мембрана играет существенное значение для патогенности. В целом она определяет приспособляемость патогенных микроорганизмов к неблагоприятным условиям жизни в организме животных и человека, в частности, она противостоит фагоцитозу. Капсулу или капсульное вещество содержат многие бактерии, например возбудитель европейского гнильца (*Strptococcus pluton*), микробы септицемии, гафниоза.

2. Литические ферменты. Некоторые энтомопатогенные микробы, например грибы *Aspergillus flavus*, *Beauveria bassiana*, *Isaria farinosa*, выделяют фермент хитиназу, расщепляющую хитин и позволяющую им размножаться на покровах насекомых. Некоторые микроорганизмы, такие, например, как стрептококки, выделяют фермент гиалуронидазу, разрушающую ткани. Стафилококки выделяют ДНК-азу и многие другие ферменты. Все гистолитические ферменты способствуют инвазии патогена за пределы воспалительного очага. Наиболее мощными продуцентами токсинов являются клостридии.

3. Токсины, вызывающие некроз тканей и в дальнейшем гибель организма. Высокой токсигенностью обладают кристаллы в процессе спорообразования *Bacillus thuringiensis*. Возбудитель сибирской язвы продуцирует мощный некротоксин, вызывающий некроз тканей.

4. Антибиотические вещества, подавляющие рост других микроорганизмов. Так, *Bacillus larvae* выделяет антибиотик, тормозящий развитие других микробов. *Chromobacterium prodigiosum* выделяет антибиотик продиозин, также задерживающий рост других бактерий.

Чувствительность и резистентность макроорганизма.

Устойчивость организма к воздействию физических, химических и биологических патогенных факторов, способных вызвать заболевание, называется *резистентностью*. Различают неспецифическую и специфическую резистентность.

Неспецифическая резистентность обеспечивается барьерными функциями, фагоцитозом и содержанием в организме особых биологически активных, бактерицидных веществ-комплементов: лизоцима, пропердина, интерферона.

Специфическая резистентность организма обусловлена видовыми и индивидуальными особенностями организма при воздействии на него как активной (введение вакцин или анатоксинов), так и пассивной (введение иммунных сывороток) иммунизации против возбудителей инфекционных заболеваний.

Частным проявлением специфической резистентности является *иммунитет* (лат. *immunitas* – освобождение, избавление) – невосприимчивость организма к специфичным инфекционным агентам (вирусам, бактериям, грибкам, простейшим и продуктам их жизнедеятельности, а также к тканям и веществам (например, ядам растительного и животного происхождения)), распознаваемым иммунной системой как агенты с чужеродными антигенными свойствами. Появление и накопление в организме клеток, отличающихся антигенной специфичностью, также вызывает иммунную реакцию. Механизмы иммунитета обеспечивают постоянство состава собственных антигенов индивидуума. Иммунная система не только осуществляет защиту организма от разнообразных инфекционных и неинфекционных чужеродных агентов, но и участвует в регуляции функциональной, пролиферативной и репаративной активности клеток разных органов и систем организма.

Состояние иммунитета обеспечивают как наследуемые, так и индивидуально формируемые механизмы, которые позволяют не только распознавать и разрушать чужеродные агенты, но и запоминать их антигенную структуру. В зависимости от свойств антигенов, вызывающих иммунный ответ организма, принято различать противобактериальный, противовирусный, противоопухолевый, трансплантационный, противопаразитарный, антитоксический и другие виды иммунитета. Иммунную реакцию против собственных антигенов называют аутоиммунной.

Существуют разные классификации видов и форм иммунитета. Это обусловлено значительным разнообразием защитных факторов и механизмов иммунитета, которыми обладает организм. Приведем наиболее простую классификацию видов и форм иммунитета:

1) *естественный иммунитет*:

- а) врожденный (или видовой);
- б) приобретенный;
- в) пассивный иммунитет новорожденных;
- г) местный иммунитет органов и тканей;

2) *искусственный иммунитет*:

- а) активный, возникающий после вакцинации;
- б) пассивный, возникающий при введении в организм лечебных сывороток или иммуноглобулинов.

Естественный врожденный (или видовой) иммунитет является наиболее прочной формой невосприимчивости организма, которая обусловлена врожденными, биологическими особенностями данного вида. Например, человек не болеет чумой рогатого скота, куриной холерой, рожей свиней. Животные, наоборот, невосприимчивы к заболеваниям человека, например к гонорее, сифилису, дифтерии, холере. Эти свойства невосприимчивости к тем или иным заболеваниям передаются потомству по наследству. Врожденный (видовой) иммунитет является следствием естественной невосприимчивости тканей организма к паразитированию определенных микробов. Большое значение в естественной невосприимчивости имеют биохимические процессы, происходящие в клетке. Врожденный иммунитет неспецифичен, так как действителен против возбудителей различных заболеваний независимо от их серотипа, патотипа и т. д. Однако он не абсолютен и может быть снижен при охлаждении, перегревании, авитаминозах и т. п.

Приобретенный иммунитет возникает после того, как макроорганизм перенес инфекционную болезнь, поэтому его называют также постинфекционным. Приобретенный иммунитет индивидуален, потомству не передается. Он специфичен, так как предохраняет организм только от перенесенной болезни. Длительность постинфекционного иммунитета различна.

При одних заболеваниях, например чуме, туляремии, коклюше, кори, эпидемическом паротите, он пожизненный. Повторные заболевания возможны крайне редко. Длительный приобретенный иммунитет возникает также после заболевания брюшным тифом, холерой, ветряной оспой, дифтерией, сыпным тифом, сибирской язвой. При некоторых инфекциях продолжительность приобретенного иммунитета невелика, и организм может несколько раз болеть одной болезнью.

При большинстве инфекционных заболеваний развитие невосприимчивости к данному возбудителю идет параллельно с освобождением организма от возбудителя, и после выздоровления организм освобождается от возбудителя. Иногда эту форму иммунитета называют стерильной. Существует также нестерильный, или инфекционный, иммунитет, который заключается в том, что невосприимчивость организма к повторному заражению связана с наличием в нем того же возбудителя. Как только организм освобождается от него, животное снова становится восприимчивым к данному инфекционному заболеванию.

Различают антибактериальный иммунитет, при котором защитные реакции организма направлены на уничтожение микробов, и анитоксический, при котором происходит обезвреживание токсичных продуктов микроорганизмов. Особенно большое значение анитоксический им-

мунитет имеет при столбняке, ботулизме, дифтерии, при которых экзотоксины возбудителей поражают различные органы и системы.

Пассивный иммунитет новорожденных также является естественной формой иммунитета. Он обусловлен передачей особых веществ – антител – из организма матери плоду через плаценту или через молоко матери новорожденному. Продолжительность такого иммунитета невелика (всего несколько месяцев), но роль его очень важна. Обычно младенец, обладающий таким иммунитетом, маловосприимчив к заражению и заболеваниям в первые несколько месяцев жизни.

Местный иммунитет как отдельная форма иммунитета был выделен А. М. Безредкой, который считал, что существует местная невосприимчивость различных органов и тканей к возбудителю. Современные достижения иммунологии во многом подтверждают правомерность теории местного иммунитета Безредки, однако механизмы возникновения местного невосприимчивости тканей намного сложнее, чем он предполагал.

Искусственный иммунитет. Его создают в организме искусственно, чтобы предупредить возникновение инфекционной болезни, а также используют для лечения. Различают *активную* и *пассивную* формы искусственного иммунитета.

Активный искусственный иммунитет создают у человека или животного при введении ему препаратов, которые получают из убитых или ослабленных микробов (вакцины) либо обезвреженных токсинов возбудителей (анатоксины). Продолжительность активного искусственного иммунитета при использовании вакцин из живых ослабленных микробов и анатоксинов составляет 3–5 лет, а в случае применения вакцин из убитых микробов – до 1 года.

Пассивный искусственный иммунитет возникает при введении в организм человека или животного специальных защитных веществ, которые получили название *иммунных антител*. Они содержатся в сыворотках переболевших людей. Антитела (иммунные сыворотки) можно получить, специально иммунизируя (заражая) животных определенными видами возбудителей.

Пассивный искусственный иммунитет сохраняется недолго, около месяца, до тех пор, пока существуют антитела в организме. Затем антитела разрушаются и выводятся из организма.

Деление иммунитета на различные виды и формы весьма условно. Как при врожденном, так и при приобретенном иммунитете защиту организма осуществляют одни и те же системы, органы и ткани. Их функция направлена на то, чтобы поддерживать в организме определенное постоянство внутренней среды, которое можно обозначить как нормальное состояние.

Раздел 2. САНИТАРНАЯ И ЧАСТНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

2.1. Микробиота навоза и сточных вод животноводческих объектов

Навоз и его значение в сельском хозяйстве.

Навоз – экскременты животных, перемешанные с соломой, торфом и опилками. Состав и удобрительные свойства навоза зависят от вида животных, корма, подстилки, системы уборки и хранения.

В навозе содержится много органических соединений, поэтому он является благоприятной средой для развития различных микроорганизмов. Содержание бактерий в навозе может достигать до огромных величин, особенно при благоприятных условиях (аэрация, температура). В навозе всегда находятся микроорганизмы, принимающие участие в почвообразовательных процессах, такие как аммонифицирующие, нитрифицирующие, денитрифицирующие, клетчаткоразлагающие или целлюлозоразлагающие, азотфиксирующие, актиномицеты, плесневые грибы. Кроме перечисленных микроорганизмов, в навозе всегда есть представители нормальной микробиоты желудочно-кишечного тракта животных, такие как кишечная палочка, энтерококки, большая группа молочнокислых бактерии, клостридии. Следовательно, с навозом в почву попадает огромное количество полезных микроорганизмов, что значительно усиливает микробиологические процессы в ней. Навоз приобретает свойства органического удобрения благодаря жизнедеятельности микробов. Состав навоза непостоянен, он зависит от соотношения в нем твердых и жидких выделений, количества и качества корма, вида животных и других факторов.

Различают навоз: *жидкий*, *полужидкий* и *твердый* (чаще с подстилочным материалом). Жидкий навоз получается при гидравлическом методе уборки помещения (влажностью до 93 %). Полужидкий (пастообразный) навоз с влажностью до 85 % получается при содержании крупного рогатого скота и свиней без подстилки. Для получения твердого навоза животных содержат на подстилке из соломы или сфагнового торфа, влажность такого навоза равна 70–80 %.

Предупредить потери ценных веществ в навозе и частично обезвредить его можно путем правильного хранения. Существует несколько способов хранения навоза: под скотом, плотный (анаэробный), рыхло-плотный (аэробно-анаэробный) и рыхлый (аэробный).

Хранение навоза под скотом. При таком способе хранения навоз уплотняется, в его массе создаются анаэробные условия, вследствие чего исключаются бурные процессы жизнедеятельности бактерий, способствующих потере азота, благодаря чему в навозе сохраняется большое количество ценных веществ. Но при таком способе хранения навоза в воздухе помещений накапливаются аммиак и другие газы, которые раздражают слизистые оболочки животных. Неубранный навоз может быть источником бактериальных и вирусных возбудителей.

Плотное (анаэробное) хранение навоза. Навоз укладывают в специально отведенном месте – навозохранилищах, плотно в штабеля шириной 3–4 м, высотой до 2 м, произвольной длины.

Сверху навоз герметизируют слоем торфа или земли толщиной 10–15 см. При этом создаются анаэробные условия, в которых медленно развиваются микробиологические процессы и происходит незначительное повышение температуры (до 25–35 °С). При такой укладке навоз перепревает только через 7–8 месяцев.

При *рыхло-плотном (аэробно-анаэробном) хранении* навоз в штабеле вначале укладывают рыхлым слоем, чтобы создать аэробные условия, при которых идут интенсивные микробиологические процессы. Температура повышается до 50–60 °С, и навоз уплотняется. Через несколько дней следующий слой навоза снова укладывается рыхло до высоты штабеля 2 м. При этом азота теряется больше, чем при плотном способе хранения навоза.

При *рыхлом (аэробном) хранении* навоза создаются аэробные условия, что способствует бурному развитию микробиологических процессов. Аммонификаторы разлагают белковые вещества до аммиака, используемого аэробными нитрифицирующими бактериями, которые окисляют его до нитритов и нитратов, т. е. создают пищу для денитрификаторов. При создании анаэробных условий в глубоких слоях навоза денитрификаторы восстанавливают соли азотистой и азотной кислот до молекулярного азота, который улетучивается. Благодаря деятельности последних за 3–4 месяца хранения в таком навозе сохраняется 30–40 % органических веществ.

Микробиологические процессы интенсивно протекают на поверхности при достаточной аэрации. В глубоких слоях перепревание навоза идет медленно. В разогретой массе температура достигает 70–80 °С, что приводит к гибели и сапротрофных и патогенных форм бактерий.

При интенсивно протекающих микробиологических процессах происходят потери азота и фосфора.

Микробный состав навоза и фекалий.

Микробный состав навоза и фекалий определяется в первую очередь микробиотой желудочно-кишечного тракта. Ее композиция имеет некоторые вариации у разных организмов и может сильно отличаться у разных видов животных, но можно выявить некоторые закономерности. В первую очередь кишечная микробиота имеет существенные различия у разных групп животных в зависимости от типа пищеварения. По этому качеству животных подразделяют на *травоядных* (*жвачные* животные и *нежвачные*, у которых основная ферментация субстрата корма происходит в задних отделах кишки, или ферментерах задней кишки), *плотоядных* и *всеядных*.

Кроме того, на кишечную микробиоту влияют не только рацион и тип питания, но и филогенетика хозяина, при этом у травоядных животных отмечается самая разнообразная микробиота.

У молодняка животных кишечная микробиота наиболее пластичная, но уже в раннем возрасте анаэробные микроорганизмы начинают заселять кишечный тракт по мере снижения концентрации кислорода в кишечнике аэробными бактериями. В старом возрасте происходит обратная тенденция: отмечается уменьшение числа строгих анаэробов и увеличение числа факультативных анаэробов (стрептококки, стафилококки, энтерококки, энтеробактерии).

Микроорганизмы отделов *Bacillota* и *Bacteroidetes* преобладают в микробиоте всех травоядных животных, составляя более 80 % общей кишечной микробиоты. Хотя их соотношение меняется от животного к животному, но этот показатель считается главным фактором, влияющим на состояние здоровья позвоночных. Соотношение представителей отделов *Bacillota* и *Bacteroidetes* для ферментеров задней кишки и моногастричных животных обычно менее 2. Для жвачных животных этот показатель достигает 3:1.

Доминирование бактерий отдела *Bacillota* в микробиоте травоядных животных также нашло отражение в преобладающих таксонах: класс *Clostridia* > отряд *Clostridiales* > семейство *Ruminococcaceae* > род *Sporobacter*. Однако имеются некоторые исключения. Например, актинобактерии были идентифицированы как доминантный тип микробиоты у кроликов. Преобладание микроорганизмов этого отдела в микробиоте кроликов отражается во всех таксономических категориях более низкого уровня: отдел *Actinobacteria* > отряд *Bifidobacteriales* > семейство *Bifidobacteriaceae* > род *Bifidobacterium*.

У многих моногастричных животных и людей представители рода *Bifidobacterium* (бифидобактерии) (рис. 2.1) являются одними из



Рис. 2.1. Бифидобактерии в кишечном содержимом

наиболее распространенных колонизаторов кишечника с самого раннего возраста, сохраняются на протяжении всей взрослой жизни в более низкой относительной численности с дальнейшим снижением у старых организмов. Определенные штаммы бифидобактерий используются в качестве пробиотиков. Положительные свойства пробиотиков включают защиту организма от патогенов, модуляцию иммунной системы хозяина, снаб-

жение питательными веществами и витаминами, а также различные другие полезные действия. Бифидобактерии колонизируют кишечник и тем самым обеспечивают защиту от патогенов. Механизмы желудочно-кишечной защиты пробиотических бактерий от инфекции включают модуляцию барьерной функции кишечного эпителия. Производство внеклеточных оболочек, таких как экзополисахарид, некоторыми таксонами бифидобактерий позволяет им преодолевать желудочно-кишечную ферментацию и сохраняться в кишечнике в течение длительного времени. Считается, что пробиотики становятся мощным инструментом для изменения состава микробиома кишечника и приносят пользу здоровью хозяина разными способами.

Бифидобактерии метаболизируют различные сложные углеводы, которые через конечные продукты метаболизма также обеспечивают хозяина питательными веществами. Такое метаболическое поведение отражает важность использования углеводов как часть колонизации и персистенции бифидобактерий в кишечнике. Еще одной особенностью бифидобактериального метаболизма, имеющей потенциально важные последствия для здоровья организма, является выработка ими витаминов.

На уровне бактериальных родов преобладающим представителем в фекальной микробиоте животных с однокамерным желудком является *Treponema*. Роды *Ruminococcus*, *Sporobacter* и *Treponema* являются доминирующими родами в задней кишке лошадей, кроликов, ослов и некоторых других животных.

Особенно большое разнообразие бактериальных родов отмечено в микробиоте жвачных животных. Их пищеварительный тракт и его микробиота эволюционировали, чтобы разлагать потребляемый волокнистый растительный материал. Многие бактериальные роды, которые ассоциированы с рубцовым пищеварением, участвуют в первую очередь в переваривании растительных полисахаридов. К таковым относят роды *Ruminococcus*, *Prevotella*, *Butyrivibrio* и *Alistipes*. Дополнительно у некоторых наземных травоядных животных в ферментации растительных полисахаридов участвуют представители родов *Anaerotruncus*, *Roseburia*, *Oscillibacter*, *Bacteroides*, *Coprococcus* и *Blautia*.

В целом из числа всех бактериальных родов, составляющих кишечную микробиоту, наиболее изучено значение комменсальных клостридий (рис. 2.2). Эти бактерии играют важную роль в метаболическом питании колоноцитов, высвобождая бутират в качестве конечного продукта ферментации. Короткоцепочечные жирные кислоты (ацетат, пропионат и бутират) как продукты ферментации компонентов корма, которые не усваиваются



Рис. 2.2. *Clostridium tertium*
в кишечном содержимом

полностью в тонком кишечнике, обеспечивают высокую долю в общей энергии у травоядных животных, особенно жвачных. У моногастричных животных и человека короткие жирные кислоты, в частности бутират, участвуют в энергетическом обмене в меньшей степени, однако они являются предпочтительным источником энергии для колоноцитов, оказывая значительное влияние на функциональное состояние кишечника. Фактически у таких животных слизистая оболочка кишечника поглощает 95 % бутирата, продуцируемого бутирогенными бактериями, но его содержания в портальной крови обычно не обнаруживается вследствие быстрого использования клетками толстого кишечника. Кроме того, как оказалось, бутират оказывает влияние на экспрессию некоторых генов, увеличивая апоптоз трансформированных клеток, что в конечном итоге предотвращает появление новообразований в кишечнике. Также клостридии кишечника, особенно с β -глюкуронидазной активностью, участвуют в продукции свободных катехоламинов –

главным образом эпинефрина (адреналина) и дофамина. Эти вещества оказывают системное воздействие на состояние организма, в том числе его психоэмоциональную подвижность.

Навоз как фактор распространения возбудителей инфекционных болезней.

Вопрос утилизации и обеззараживания навоза и сточных вод в промышленном животноводстве актуален до настоящего времени. Проблема приобрела не только медико-ветеринарное, хозяйственное, но и экологическое значение.

Больные животные и микробоносители, не имеющие явных признаков болезней, чрезвычайно опасны как выделители патогенных (болезнетворных) микробов во внешнюю среду.

Пути выделения возбудителей инфекционных болезней разнообразны. Это зависит от характера болезни, ее патогенеза, а также от соответствующего вида пораженных животных. Существуют инфекционные болезни, при которых возбудители выделяются преимущественно с фекалиями. К ним относятся: бруцеллез, колибактериоз, сальмонеллез, паратуберкулез, инфекционная энтеротоксемия овец, дизентерия свиней, вирусная диарея, чума крупного рогатого скота, вирусный гастроэнтерит свиней, классическая и африканская чума, рожа, ботулизм, столбняк, некробактериоз, листериоз и др. Возбудитель из организма животного может выделяться с мочой, попадать в навоз и сточные воды при таких заболеваниях, как бруцеллез, лептоспироз, листериоз, ящур, болезнь Ауески, чума крупного рогатого скота, классическая чума, рожа свиней и др.

Существует ряд болезней, при которых возбудитель из организма животного выделяется во внешнюю среду другими путями, например через легкие или с истечениями из половых органов, но может также попасть в навоз и сточные воды. К числу таких болезней следует отнести: туберкулез, пастереллез, оспу, кампилобактериоз.

Навоз от больных животных содержит возбудителей инфекционных болезней и является для них защитной средой от воздействия неблагоприятных факторов, поэтому в нем они сохраняются длительное время: вирус ящура – 168 дней, бруцеллы – 120 дней, возбудитель туберкулеза – более 7 месяцев, паратуберкулезного энтерита – до 11 месяцев, возбудитель рожи свиней сохраняется в моче до 203 дней, в фекалиях – до 94 дней, в шерсти – до 194 дней, некробактериоза в моче – до 15 дней, в фекалиях животных – до 50 дней. Возбудители дерматомикозов (микроспоры, трихофитии), содержащиеся в пораженных

волосах, сохраняют патогенность в навозе более 8 месяцев. В связи с этим эпизоотическая роль навоза, как фактора передачи при некоторых инфекционных болезнях животных, остается одной из главных проблем.

Обеззараживание навоза.

Обеззараживание навоза и сточных вод обеспечивает защиту окружающей среды, человека и животных от болезнетворных микроорганизмов.

Под обеззараживанием навоза (помета) понимается уничтожение в них возбудителей инфекционных (дезинфекция) и инвазионных (дезинвазия) болезней.

При выборе обеззараживающих средств, методов и режимов обеззараживания исходят из эпизоотической ситуации на объектах животноводства и контаминации навоза (помета) определенными видами возбудителей болезней, степени их устойчивости и опасности для животных и человека.

Выбор средств, методов и режимов осуществляется применительно к различной структуре навоза, помета, степени разбавления их технологическими водами.

В зависимости от технологии содержания животных получают навоз, содержащий подстилочные материалы, именуемый как подстилочный навоз (влажностью 68–85 %), полужидкий (влажностью 86–92 %), жидкий (влажностью более 97 %).

Удаление, обработку, хранение, транспортирование и использование навоза, помета и навозных стоков осуществляют с учетом требований охраны окружающей среды от загрязнений и исключения распространения возбудителей инфекционных и инвазионных болезней, в том числе социально опасных (зоонозов).

Сооружения для обеззараживания, хранения и подготовки к использованию навоза располагают за пределами ограждений ферм и птицефабрик на расстоянии не менее 60 м от животноводческих и 200 м от птицеводческих зданий. Расстояние от площадки для складирования подстилочного навоза, компоста и твердой фракции до животноводческого здания должно быть не менее 15 м и до молочного блока – не менее 60 м.

Территорию сооружений ограждают изгородью высотой 1,5 м, защищают многолетними лесонасаждениями (ширина лесозащитной полосы – не менее 10 м), благоустраивают, озеленяют, освещают, устраивают в ней проезды и подъездную дорогу с твердым покрытием шириной 3,5 м.

Навоз от изоляторов и карантинных помещений собирают и хранят в отдельных карантинных емкостях, которые следует размещать на собственном внутреннем дворе изолятора или карантина. Дезинфекцию, дезинвазию, транспортировку и утилизацию такого навоза осуществляют в соответствии с действующими нормативными документами.

Для выяснения эпизоотической ситуации на животноводческих и птицеводческих предприятиях предусматривают нахождение на их территории всех видов навоза и помета не менее 6 суток. Продолжительность периода эпизоотии принимают до 45 суток с начала ее возникновения.

Для карантинирования подстилочного навоза, твердой фракции и помета сооружают хранилища секционного типа с твердым покрытием, для карантинирования других видов навоза и его жидкой фракции – емкости секционного типа. Если в течение 6 суток не зарегистрированы инфекционные болезни у животных, навоз, помет и стоки транспортируют для дальнейшей обработки и использования.

В зависимости от эпизоотической ситуации навоз и помет обеззараживают одним из способов: *биологическим* (длительное выдерживание), *химическим* (аммиаком или формальдегидом) и *физическим* (термическая обработка или сжигание).

Биологический метод обеззараживания навоза предусматривает длительное выдерживание, биотермическую обработку, анаэробное сбраживание и аэробное окисление.

Естественное биологическое обеззараживание подстилочного и бесподстилочного навоза и 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 и пометом, укрывают торфом, опилками или обеззараженной массой навоза и помета толщиной 10–20 см.

Навоз, обсемененный микобактериями туберкулеза, обеззараживают выдерживанием в течение 2 лет.

Подстилочный навоз с влажностью до 75 % обеззараживают биотермическим методом путем рыхлой укладки его в бурты высотой до 2,5 м, шириной по основанию до 3,5 м и произвольной длины.

Биотермический метод обеззараживания навоза основан на создании в штабелях навоза высокой температуры, которая и оказывает губительное действие на возбудители инфекционных болезней живот-

ных. Высокую температуру создают термофильные микроорганизмы, размножающиеся в штабелях навоза при условии поступления воздуха в толщу штабеля с определенной влажностью навоза. Для создания аэробных условий навоз в штабелях укладывают рыхло, не допуская его утрамбовывания.

Однако следует учитывать, что процессы самонагрева в зимнее время возможны только в штабеле, сложенном из свежего, незамерзшего навоза, при использовании более толстого по сравнению с летним слоем покрытия.

При температуре воздуха ниже 0 °С для активизации биотермического процесса в незамерзшем и замерзшем навозе используют острый пар (горячую воду) или свежий навоз, добавляемый в штабель. Навоз в штабелях прогревают, пропуская острый пар (горячую воду) через нагревательные регистры или батареи, которые размещают в основании штабеля.

На бетонированной площадке бурт располагают на влагопоглощающие материалы (торф, измельченная солома, опилки, обеззараженный навоз и др.) слоем 35–40 см и ими же укрывают боковые поверхности слоем 15–20 см.

При отсутствии типового навозохранилища для укладки навоза в земле выкапывают яму (глубиной около 25 см) и утрамбовывают в ней слой глины толщиной 15–20 см, сверху укладывают незараженный навоз слоем 50–60 см. На него накладывают зараженный навоз.

Началом срока обеззараживания подстилочного навоза и твердой фракции жидкого навоза считают день повышения температуры в средней трети бурта на глубине 1,5–2,5 м до 50–60 °С. Время выдерживания буртов в теплое время года составляет 2 месяца, в холодное – 3 месяца.

При отсутствии активных термобиологических процессов и невозможности подъема температуры выше 40 °С подстилочный помет, твердую фракцию навоза и компост для обеззараживания выдерживают при контаминировании вегетативными возбудителями инфекций в течение 12 месяцев, а при туберкулезе – до 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) в необходимом соотношении и укладки их в бурты.

Для предотвращения рассеивания возбудителей инфекционных болезней переукладка буртов не производится.

При возникновении инфекционных болезней, вызванных спорообразующими возбудителями особо опасных инфекций, запрещается обработка навоза и помета. Подстилочный навоз и осадки отстойников сжигают; полужидкий, жидкий навоз и навозные стоки подвергают термическому обеззараживанию.

Навоз и помет влажностью до 75 % допускается обеззараживать в аэробных биоферментаторах при температуре ферментации 60–70 °С и экспозиции 7–10 суток. Внесение в компост инокулята из термофильных микроорганизмов в количестве 1,0 млн/г обрабатываемой массы сокращает сроки обеззараживания до 4–7 суток.

Обеззараживание жидкого навоза и бесподстилочного помета от неспорообразующих возбудителей инфекционных болезней допускается осуществлять в метантенках (биореакторах).

Химический метод обеззараживания навоза основан на окислении ферментов бактериальных клеток. Обеззараживающим действием обладают многие химические реагенты, наиболее распространенными из которых являются аммиак, формалин, хлоросодержащие вещества.

Жидкий (до разделения на фракции), полужидкий навоз, помет, загрязненные неспорообразующими возбудителями, обеззараживают жидким аммиаком (остротоксичное сильнодействующее ядовитое вещество третьей группы, подгруппы А, четвертого класса опасности). Температура кипения аммиака равна 33,4 °С. Он хорошо растворяется в воде с выделением тепла. Смесь с воздухом при концентрации аммиака по объему 15–28 % взрывоопасна. Жидкий аммиак доставляют в автоцистернах. После перемешивания навоза аммиак подают непосредственно из цистерны по шлангу, заканчивающемуся специальной иглой, опущенной на дно емкости. Иглу перемещают в навозохранилище через каждые 1–2 м, для того чтобы всю массу обработать аммиаком. Затем емкость укрывают полиэтиленовой пленкой или на поверхность навоза наносят масляный альдегид слоем 1–2 мм. Обеззараживание достигается при расходе 30 кг аммиака на 1 м³ массы навоза и экспозиции от 3 до 5 суток. После этого навоз рекомендуется вносить внутрипочвенным методом или под плуг.

Обеззараживание жидкого навоза, илового осадка от возбудителей инфекционных и инвазионных болезней безводным аммиаком можно проводить в любое время года, так как процесс сопровождается экзотермической реакцией, усиливающей обеззараживание.

Работы по обеззараживанию навоза проводят подготовленные специалисты в противогазах (ПШ-1, ПШ-2).

Жидкий навоз, контаминированный неспорообразующими патогенными микроорганизмами (кроме микробактерий туберкулеза), можно обеззараживать также формальдегидом.

Физический метод. К физическим методам относятся обеззараживание навоза ультрафиолетовым облучением, ультразвуком, ионизирующим излучением, электрогидравлическим способом и обработка в электромагнитном поле постоянного и переменного токов различной частоты.

Сжигание навоза – наиболее надежная мера борьбы с инфекцией, так как вместе с навозом уничтожается и возбудитель инфекции. Однако ряд недостатков снижает возможность применения этого метода. Навоз является ценным удобрением, и уничтожение его нецелесообразно; кроме того, для сжигания навоза требуется большое количество топлива.

На некоторых железнодорожных дезпромывочных станциях существуют специальные печи для сжигания навоза.

Подстилку, выделения и навоз от животных, больных и подозрительных по заболеваниям сибирской язвой, эмфизематозным карбункулом, сапом, инфекционной анемией, бешенством, инфекционной энтеротоксемией, энцефалитом, эпизоотическим лимфангитом, браздотом, чумой крупного рогатого скота, африканской чумой лошадей, паратуберкулезным энтеритом, а также навоз, находящийся вместе с навозом, подстилкой и выделениями от указанных животных, сжигают.

Подстилочный навоз, мусор, не представляющие удобрительной ценности для сельскохозяйственных угодий, из хозяйств, неблагополучных по туберкулезу, бруцеллезу и другим инфекционным болезням, также сжигают.

Помет подвергают термической сушке в пометосушильных установках барабанного типа с прямоточным и противоточным движением сырья.

Обеззараживание помета в прямоточных установках достигается при температуре входящих газов 800–1000 °С, выходящих – 120–140 °С и экспозиции не менее 30 минут.

Микробиота навозных стоков.

На животноводческих комплексах и крупных фермах на промышленной основе преимущественно применяют бесподстилочное содержание животных и получают большое количество полужидкого и жидкого навоза, содержащего 85–90 % воды. Навозные стоки создают по-

стоянную угрозу загрязнения и заражения внешней среды территории ферм и территории вблизи них. Кроме того, жидкие навозные стоки могут служить причиной распространения инфекционных и инвазионных болезней сельскохозяйственных животных и человека, так как в них отмечается большая выживаемость патогенных микроорганизмов. В жидком навозе жизнеспособность возбудителя рожи свиней сохраняется в течение 92 дней летом и 157 дней осенью и зимой, бруцеллеза – 108 дней летом и 174 дней осенью и зимой, туберкулеза – 457 дней, ящура – 42 дней летом и до 192 дней зимой.

Удобрение полей и спуск необеззараженных стоков в водоемы обуславливает заражение почвы, воды и растений патогенными возбудителями и яйцами гельминтов.

Под обеззараживанием навозных стоков понимают уничтожение возбудителей болезней и снижение токсичности навозной массы (индола, скатола и др.), а также устранение запаха.

Для обеззараживания жидких навозных стоков используют механические, физические, химические, биологические и комбинированные способы обработки. Для обеззараживания навозных стоков, содержащих возбудители (и их споры) инфекционных болезней, используют термические способы. Разработаны мобильные установки, которые в поточном режиме термическим способом при температуре 130 °С, давлении 0,2 МПа и экспозиции 10 минут обеззараживают навозные стоки, жидкую фракцию и осадок из отстойников. Из химических средств для обеззараживания жидкого навоза наиболее эффективными являются формальдегид, негашеная известь, тиазон, аммиак и др.

На свиноводческих комплексах мощностью 54–250 тыс. голов, имеющих в составе очистных сооружений двухступенчатую биохимическую обработку и биологические пруды, обеспечивается глубокая очистка стоков от органических веществ.

Наиболее эффективный способ обеззараживания навозных стоков – биологический с использованием одновременной аэробной и анаэробной обработки.

На крупных животноводческих комплексах применяют механизмы и установки для переработки навозных стоков на специальных станциях. Здесь навозные стоки осаждают, после чего осветленную жидкость летом используют для орошения, а зимой – на полях фильтрации. Следует отметить, что проблема обработки, обеззараживания и использования жидкого навоза остается еще недостаточно разрешенной.

Сточные воды, их очистка и обеззараживание.

Сточными водами называются жидкие отбросы промышленных и сельскохозяйственных предприятий, фекальные стоки людей и животных, лечебно-санитарных и ветеринарных учреждений, жилых домов, бань и др.

Наиболее загрязненными и опасными в санитарно-эпидемиологическом и эпизоотологическом отношении являются хозяйственно-фекальные и навозные сточные воды. Сточные воды мясокомбинатов, боен и убойных пунктов, кожевенных и шерстеперерабатывающих предприятий, утилизационных заводов, биофабрик и ряда ветеринарных объектов (клиник, изоляторов и т. п.), а также животноводческих помещений (навозная жижа) содержат большое количество органических веществ, микроорганизмов, в том числе и возбудителей инфекционных и инвазионных болезней.

В настоящее время особую трудность представляет очистка жиросодержащих сточных вод, загрязнения которых носят многофазовый характер (в виде плавающей пленки, эмульсии и раствора) и поэтому требуют применения различных по принципу действия очистительных мероприятий.

Систематическое загрязнение поверхностных водоемов сточными водами, содержащими в своем составе жиры, является одним из наиболее серьезных факторов возникновения опасных природных ситуаций. В отношении водоемов эта проблема осложняется еще и сезонностью использования природных вод населением, так как процесс самоочищения вод от жировых соединений приходится на теплый период года. Лишь со второй половины весны (в зависимости от географического положения водоема) накопившиеся жировые загрязнения начинают окисляться водными бактериями благодаря повышению температуры воды, солнечной радиации и свободному поступлению кислорода воздуха через поверхность контакта воды и воздуха, ранее закрытую льдом.

Однако именно в этот период к ранее накопленным загрязнениям в водоемы начинают интенсивно поступать новые порции загрязняющих веществ с талыми и ливневыми водами, содержащими жировые соединения.

Имеется немало достоверно установленных фактов возникновения инфекционных болезней в результате распространения возбудителей с инфицированными сточными водами и навозом. Особенно часто эти случаи регистрировали при возникновении ящура, классической чумы

свиней, сибирской язвы, бруцеллеза. Попадая со сточными водами в естественные водоемы (реки), микроорганизмы вызвали вспышки болезни в животноводческих хозяйствах, отстоящих далеко вниз по течению от первичного эпизоотического очага.

При возникновении инфекционных болезней среди животных посредством инфицированного жидкого навоза контаминируется возбудителями обширная территория окружающей среды, что приводит к распространению инфекции в регионе. Например, попадая в реку, возбудители инфекций могут переноситься с потоком воды на расстояние 200 км.

Регулирование спуска сточных вод входит в обязанность санитарного надзора, а также ветеринарно-санитарного надзора. Навозные стоки ферм, лечебно-санитарных и ветеринарных учреждений обязательно подлежат очистке и обеззараживанию до поступления в водоем.

Ветеринарные объекты должны быть оборудованы канализацией для отведения сточных вод.

Сточные воды от изоляторов, карантинных, убойно-санитарных пунктов, ветеринарных лабораторий и амбулаторий должны собираться отдельной канализационной сетью и перед выпуском их в общую сеть (ветеринарного объекта, фермы, поселка и т. п.) подвергаться обеззараживанию.

Ливневые стоки с выгульных площадок, загрязненные навозом, собираются системой открытых лотков в водонепроницаемые емкости для последующей утилизации.

Манеж-приемная, помещение для лечебных процедур и ветеринарных обработок животных, вскрывочная, утилизационная, а также помещения для убоя, дезинфекции транспортных средств и тары, обработки спецодежды и содержания животных должны быть оборудованы трапами для отвода жидкости.

В целях предотвращения загрязнения подземных вод следует предусматривать мероприятия в соответствии с Методическими указаниями по разработке нормативов предельно допустимых вредных воздействий на подземные водные объекты и предельно допустимых сбросов вредных веществ в подземные водные объекты.

Очистка сточных вод проводится механическими, химическими и биологическими способами. *Механическая очистка* проводится рядом последовательно расположенных сооружений (решетки, сита, отстойники и пр.), конструкция которых рассчитана на задержание различных фракций взвеси. *Химические способы* применяют для очистки

сточных вод некоторых химических и банно-прачечных предприятий. *Биологическая очистка* протекает по типу аэробного окислительного процесса, в котором участвуют органические вещества сточной воды, микроорганизмы и кислород воздуха (поля фильтрации, поля орошения, биологические фильтры, аэрофильтры, биологические пруды, аэротенки).

Из очистительных сооружений только правильно эксплуатируемые поля орошения и фильтрация на 98–99 % освобождают сточные воды от неспорogenous микроорганизмов. Все остальные способы очистки сточных вод хотя и снижают первоначальное содержание микробов, но не устраняют опасность заражения водоемов. Поэтому санитарные правила по спуску сточных вод предусматривают дезинфекцию их до поступления в водоемы, если эти воды создают опасность распространения инфекций.

В первую очередь необходимо обеззараживать сточные воды боен, убойных пунктов, кожевенных, шерстеперерабатывающих и утилизационных заводов, а также биофабрик, ветеринарных клиник и т. п. При обеззараживании сточных вод, зараженных особо устойчивыми возбудителями (сибирская язва и др.), эффективным является *термический метод*.

Наиболее перспективным направлением работ в области совершенствования существующих систем обработки жиросодержащих отходов является разработка комбинированных систем, позволяющих объединять эффективные технологические решения по очистке жировых веществ различных видов в едином производственном цикле.

Диспергированные жировые загрязнения (в основном крупно- и среднедисперсные частицы), находящиеся во взвешенном состоянии, отделяют от сточной воды в процессе физико-механической обработки (жироулавливанием, флотацией) и выводят из очистных сооружений на иловые площадки. Жировые вещества, находящиеся в мелкодисперсном, коллоидном и растворенном состоянии, подвергаются аэробным биологическим методам обработки, в процессе которых реализуются биохимические процессы их окисления микроорганизмами активного ила.

Для обеззараживания сточных вод химическим методом применяют хлорную известь, газообразный хлор и др. Количество препарата устанавливают по результатам бактериологического исследования сточной воды.

Производственные сточные воды дезинфицируют одним из следующих методов:

- путем кипячения вод вместе с осадком (в закрытой емкости с узким отверстием в крышке для выхода пара) в течение 2 часов;
- путем смешивания вод (без отстаивания и коагулирования) с сухой хлорной известью (содержащей 25 % активного хлора) при выдержке 6 часов;
- путем добавления раствора хлорной извести из расчета 0,2 % активного хлора при выдержке 6 часов. Предварительно производственные воды очищают от взвешенных частиц коагулированием с последующим отстаиванием.

Дозы хлорной извести для дезинфекции производственных сточных вод уточняют в органах санитарного и ветеринарного надзора для каждого отдельного предприятия в зависимости от физико-химического состава этих вод.

Продезинфицированные воды спускают в общую канализацию. При отсутствии канализации эти воды вывозят в закрытых емкостях в места, отведенные органами санитарного надзора. Осадок (отстой) сжигают.

2.2. Микробиология кормов

Ризосферная микробиота.

Прикорневая и корневая система растений обсеменена большим количеством различной микробиоты. Ризосфера – это узкая область почвы или субстрата вокруг корней растений, на которую непосредственно влияют корневые выделения и связанные с ними почвенные микроорганизмы, известные как корневой микробиом.

Первое упоминание о ризосфере относится к 1904 г., когда немецкий ученый Лоренц Гильтнер методом посева обнаружил повышенное содержание микроорганизмов в прикорневой зоне ряда травянистых растений и высказал предположение о связи этого явления с жизнедеятельностью корней. Л. Гильтнер предложил термин «ризосфера» (от греч. *rhiza* – корень) для обозначения той части почвы, которая непосредственно примыкает к корням растения и в которой концентрируются микроорганизмы.

Обнаружение в 1926 г. советским ученым С. П. Костычевым азотобактера (неклубеньковой азотфиксирующей бактерии) в прикорневой зоне табака, а также публикацию 1938 г. о влиянии высших растений на микроорганизмы ризосферы можно рассматривать как одни из первых работ в области изучения ризосферы.

Для микробиоты ризосферы характерно наличие грамотрицательных бактерий родов *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Agrobacterium*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Xantomonas* и др., грамположительных бактерий рода *Bacillus*, актинобактерий родов *Nocardia*, *Micromonospora*, *Streptomyces* и др., микроскопических грибов родов *Penicillium*, *Gliocladium*, *Talaromyces*, *Humicola* и др. В корневой зоне (ризосфере) имеется большое количество отмирающих корневых остатков, являющихся питательным субстратом для сапротрофной почвенной микробиоты. Эти бактерии относятся к гнилостным, как и некоторые представители кишечной группы, встречающиеся в корневой зоне растений. Кроме них ризосфера содержит значительное количество гетероферментативных молочнокислых бактерий. Количество спорообразующих бактерий становится значительным лишь после отмирания корневой системы. Из плесневых грибов преобладают *Penicillium*, *Fusarium*.

Населяющие ризосферу бактерии образуют с корневой системой растений прочные ассоциации и формируют специфические ризосферные бактериальные сообщества, включающие микроорганизмы трех групп: собственно сами ризосферные микроорганизмы, ассоциированные с корневой системой грибы, а также азотфиксирующие бактерии (рис. 2.3). Такие взаимоотношения характеризуются термином «ассоциативные бактерии». Локализованные на поверхности корней микроколонии бактерий покрыты муцигелем (слизистым слоем полисахаридной природы, образуемым на корнях и корневых волосках растений), который защищает клетки и колонию в целом от неблагоприятных условий.

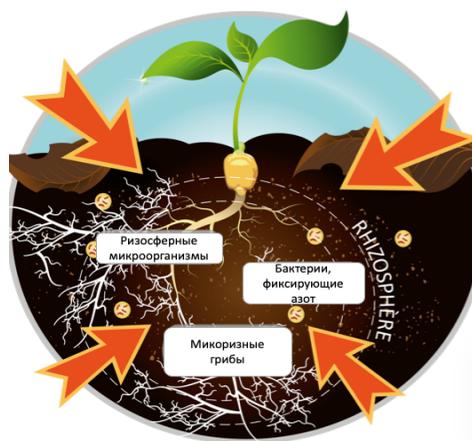


Рис. 2.3. Ризосферная микробиота

Развитие растений сопровождается изменениями состава корневых экссудатов и корневых ризодепозитов, что отражается на ризосферных бактериях. В корневой зоне молодых растений доминируют грамотри-

цательные бактерии родов *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Azotobacter* и др., которые по мере старения растений сменяются грамположительными – бактериями рода *Bacillus* и актинобактериями родов *Mycobacterium*, *Streptomyces*. По сути, бактерии, питающиеся корневыми экссудатами, заменяются на бактерии-гидролитики (образующие гидролитические ферменты), разлагающие корневой опад, старые корешки, микробную биомассу. Что касается количественного содержания бактерий, то ризосферный эффект увеличивается после прорастания семени и достигает максимума в период цветения и плодоношения растений.

Эпифитная микробиота растений.

Некоторые бактерии и микроскопические грибы, обитающие в прикорневой зоне растений, постепенно переходят на наземную часть растущего растения и расселяются на ней. На поверхности растений способна существовать лишь определенная группа микроорганизмов, получившая название *эпифитной*. В эту группу входят аммонификаторы, маслянокислые бактерии, молочнокислые бактерии, бактерии группы кишечной палочки (БГКП) и представители других физиологических групп микроорганизмов.

Как правило, микроорганизмы *Pantoea agglomerans* и *Pseudomonas fluorescens* представляют около 40 % всей эпифитной микробиоты. Кроме того, встречаются молочнокислые стрептококки и палочки, сенная и картофельная бациллы (*Bacillus mesentericus*), флюоресцирующие бактерии, протей (*Proteus vulgaris*), сарцины, актиномицеты, плесени и дрожжи. Другие члены эпифитного сообщества включают членов родов *Xanthomonas*, *Acinetobacter*, *Serratia*, *Lactobacillus*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium* и неопознанные азотфиксаторы.

Доминирующий в эпифитной микробиоте микроорганизм *Pantoea agglomerans* (по ранней номенклатуре *Erwinia herbicola*) (рис. 2.4) является природным конкурентом в отношении патогенных для растений микроорганизмов. Например, такое заболевание, как бактериальный ожог плодовых культур (рис. 2.5), вызываемое бактерией *Erwinia amylovora*, обычно встречается в садах на грушах и яблоках.

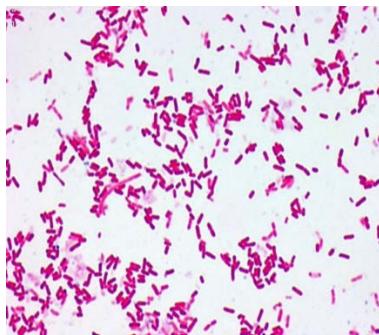


Рис. 2.4. *Pantoea agglomerans*

После контакта с этим возбудителем *Pantoea agglomerans* производит антибиотические вещества, которые токсичны для патогенной эрвинии.

Экологические факторы, влияющие на рост и распространение *Pantoea agglomerans*, включают зимнее охлаждение, воздействие солнечного света и качественную циркуляцию воздуха. В связи с этим для благополучия плодоносящих деревьев, таких как яблони и груши, важен период охлаждения. Кроме того, поскольку *Pantoea agglomerans* является аэробной бактерией, для выживания ей требуется определенный уровень движения воздуха.

В своем большинстве эпифитные бактерии имеют палочковидную форму, они граммотрицательны, пигментированы и являются активными ферментерами.

Как правило, большинство эпифитных бактерий не вредят растению, на котором они обитают, но в некоторых случаях они могут причинять вред ему. Ярким примером являются бактерии, которые способствуют образованию кристаллов льда. Такие места кристаллизации служат очагами образования льда на растениях при температуре, значительно превышающей норму замерзания растительной культуры. Некоторые штаммы обычных эпифитов, такие как *Pseudomonas fluorescens*, обладают потенциалом образования кристаллов льда. Некоторые штаммы *Pseudomonas syringae* и *Pantoea agglomerans* также проявляют признаки зародышеобразования льда, причем первый из них также известен как патогенный микроорганизм. Также было обнаружено, что представители рода *Xanthomonas* активны в этом отношении.

Эпифитная микробиота представлена главным образом безвредными сапротрофами, однако при скашивании растений они могут интенсивно размножаться, вызывая гнилостные и бродильные процессы, приводящие к порче и разложению корма. Для предотвращения этих процессов растительные корма консервируют. Наиболее эффективным способом консервирования скошенной травы, зерна и других кормов является сушка. В высушенном сене приостанавливаются все микро-



Рис. 2.5. Бактериальный ожог на яблоне

биологические процессы, многие микробы постепенно отмирают в процессе хранения, и преобладающей микробиотой сена становятся споровые формы бактерий.

В отличие от других микробов эпифиты хорошо переносят действие фитонцидов, солнечного излучения и питаются веществами, выделяемыми растениями. Находясь на поверхности растений, эпифиты не повреждают и не проникают в ткани здорового растения. Большая роль в этом процессе принадлежит естественному иммунитету и бактерицидным веществам, которые выделяют растения. Все растения выделяют фитонциды, которые влияют на физиологические процессы микробов.

Микробиота травяных кормов.

Микробиологические процессы при приготовлении сена.

Взаимоотношения между микробами и скошенными растениями.

После скашивания растений нарушается проницаемость клеток, разрушаются бактерицидные вещества, которые препятствовали проникновению микробов в их ткани. Активизируются все микроорганизмы, находившиеся на поверхности растений: гнилостные, маслянокислые, молочнокислые бактерии и плесневые грибы и др. Микроорганизмы, и в первую очередь грибы, при интенсивном их развитии снижают качество корма и его питательную ценность. Под действием грибов *Aspergillus* и *Penicillium* гидролизуются жиры, затем углеводы и белки, в корме накапливаются различные продукты их распада, резко изменяющие запах и вкус корма, среди них органические жирные кислоты, аммиак и пептоны. Эти процессы особенно активно протекают при высокой влажности и температуре.

В глубинных слоях корма развиваются анаэробные бактерии, а на поверхности – аэробные бактерии и плесневые грибы. В результате их жизнедеятельности происходит разложение составных частей корма, что приводит к потере питательных веществ и порче его. Корм приобретает гнилостный запах, волокна легко разрываются, их консистенция становится мажущейся. Такой корм плохо поедается животными и может вызвать кормовые отравления.

Микробиота сухих кормов. Сено представляет собой один из традиционных видов корма. Сушка – это старый и наиболее распространенный способ консервирования зеленой массы и других кормов (зерно, солома). Суть этого процесса заключается в том, что при сушке микробиологические процессы в корме приостанавливаются из-за удаления из него свободной воды, которая составляет большую часть имеющейся в корме влаги. Так, если в свежей траве содержится

70–80 % влаги, то в сене – всего 12–16 %. Оставшаяся в корме вода представляет собой связанную форму и не может поддерживать развитие микроорганизмов. Таким образом, задача сушки состоит в удалении избыточной воды из корма с наименьшей потерей органических веществ. При сушке число жизнедеятельных микроорганизмов, находящихся на поверхности кормов, постепенно уменьшается, но тем не менее в них всегда можно найти большее или меньшее число эпифитной и сапротрофной микробиоты, попавшей из воздуха и почвы. Размножение сапротрофной микробиоты в результате повышения влажности приводит к заметному повышению температуры. Такое повышение температуры, связанное с жизнедеятельностью микроорганизмов, получило название *термогенеза*.

После высушивания в сене сохраняется большое количество эпифитной микробиоты, но так как нет условий для размножения микроорганизмов, то они находятся в анабиотическом состоянии. При попадании воды на высушенное сено деятельность микроорганизмов начинает активизироваться, что приводит к повышению температуры до 40–50 °С и выше. При самонагревании растительной массы происходит четко выраженная смена микробиоты. Сначала в греющейся массе размножаются мезофильные бактерии. С повышением температуры на смену им приходят термофилы, способные развиваться при температуре до 75–80 °С. Обугливание растительной массы начинается при температуре около 90 °С, при которой микроорганизмы прекращают свою деятельность, а дальнейшие процессы протекают химическим путем. Образуются горючие газы – метан и водород, которые адсорбируются на пористой поверхности обуглившихся растений, вследствие чего может произойти самовоспламенение. Воспламенение происходит лишь при наличии воздуха и недостаточном уплотнении растительной массы.

Микроорганизмы используют не всю энергию потребленных ими питательных веществ, избыток энергии выделяется в окружающую среду главным образом в виде тепла. Чем выше температура согревающегося корма, тем ниже его качество. Но не всегда явление термогенеза вредно. В северных районах, где мало тепла и высокая влажность, его используют для приготовления бурого сена.

Приготовление бурого сена распространено в тех районах, где в связи с климатическими условиями затруднена сушка сена. Для просушивания корма применяют не солнечную энергию, а тепло, выделяемое в результате жизнедеятельности микроорганизмов, развивающихся в растительной массе. Скошенную и хорошо провяленную траву склады-

вают в небольшие копны, затем в стога и скирды. Так как в растительной массе еще содержится свободная вода, в ней начинают размножаться микроорганизмы, выделяется тепло, которое и досушивает растения. Через месяц при угасании микробиологических процессов происходит охлаждение растительной массы, которая может храниться длительное время. Сено, приготовленное таким образом, теряет естественную окраску, становится бурым, но охотно поедается животными.

Микробиология силосования кормов.

Термин «силос» (исп. *silos*) очень древнего происхождения, на испанском языке означает «яма» для хранения зерна (в настоящее время утратил свое первоначальное значение). Такие зернохранилища были распространены на побережье Средиземного моря. Еще за 700 лет до нашей эры землевладельцы Греции, Турции, Северной Африки широко использовали такие ямы для хранения зерна. Со временем этот принцип был использован для консервирования зеленой массы.

Силосование – сложный микробиологический и биохимический процесс консервирования сочной растительной массы.

Суть силосования заключается в том, что в результате сбраживания растительных углеводов ферментами молочнокислых бактерий в силосуемой массе накапливается *молочная кислота*, обладающая 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. Следует использовать для силосования растения, содержащие достаточное количество легкосилосующихся *углеводов* (кукуруза, подсолнечник, зеленый овес, луговые злаки), или добавлять их в несилосующиеся растения.

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

3. Силосуемая масса должна иметь оптимальную *влажность*, равную 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, составляющая 25–30 °С. При такой температуре идет нормальный процесс заквашивания корма с неболь-

шими потерями питательных веществ. Готовый силос получается умеренно кислый, желто-зеленого цвета, с приятным специфическим запахом.

Известны два способа силосования: холодный и горячий.

Холодный способ силосования характеризуется тем, что созревание силоса происходит при температуре 25–30 °С. При таком способе силосования измельченную растительную массу плотно укладывают в траншею, а сверху изолируют ее от воздуха для создания анаэробных условий, при которых развитие гнилостных бактерий и плесневых грибов подавляется. Непременным условием получения высококачественного корма является быстрая изоляция силосуемой массы от воздуха, поэтому продолжительность заполнения траншеи зеленой массой не должна превышать 3–4 дней. Для предотвращения самосогревания (термогенеза) необходимо укладывать измельченную зеленую массу быстро и непрерывно, при постоянном уплотнении ее.

При *горячем способе силосования* зеленую массу укладывают рыхло, слоем 1,0–1,5 м на 1–2 дня, затем укладывают второй слой такой же толщины, как и первый. При доступе кислорода в растительной массе развиваются энергичные микробиологические процессы, в результате чего температура корма поднимается до 45–50 °С. Нижний слой растений, размягченный высокой температурой, спрессовывается под тяжестью нового слоя корма. Это вызывает удаление воздуха из нижнего слоя, поэтому аэробные процессы прекращаются и температура начинает снижаться. Последний верхний слой утрамбовывают и плотно прикрывают для защиты от воздуха. Перегретый силос имеет коричневый цвет, запах яблок или ржаного хлеба, хорошо поедается животными. Однако кормовая ценность силоса, приготовленного горячим способом, значительно ниже, чем приготовленного холодным способом.

Процесс силосования растительной массы можно условно разделить на три фазы.

Первая фаза силосования называется *фазой смешанной микрофиты*. В растительной массе начинается бурное развитие эпифитной микрофиты (гнилостной, молочнокислой, маслянокислой, микроскопических грибов, дрожжей), внесенной с кормом. Продолжительность первой фазы зависит от качества корма, плотности укладки, температуры окружающей среды, но чаще фаза смешанной микрофиты бывает кратковременной.

Во *вторую фазу – фазу главного брожения* – основную роль играют молочнокислые бактерии, выделяющие молочную кислоту.

При оптимальном содержании сахара в растительной массе интенсивное молочнокислое брожение приводит к образованию значительного количества органических кислот (в основном молочной), которые необходимы для подкисления корма до уровня рН 4,2–4,4. В начале этой фазы размножаются кокки, затем, по мере нарастания кислотности, им на смену приходят кислотоустойчивые молочнокислые палочки. Молочная кислота обладает антимикробными свойствами, поэтому большинство гнилостных бактерий погибает, но спорообразующие формы в виде спор могут длительное время сохраняться в силосованном корме.

Третья фаза (конечная) связана с постепенным отмиранием возбудителей молочнокислого брожения в созревающем силосе. Молочная кислота при накоплении в большой концентрации становится вредной и для молочнокислых палочек, которые наряду с оставшимися кокками начинают отмирать. Таким образом, количество бактерий в корме уменьшается и процесс силосования подходит к естественному завершению.

Биохимизм микробиологических процессов при силосовании.

Основным фактором при силосовании является молочная кислота. Бактерии, вырабатывающие эту кислоту, представляют собой большую разнообразную группу, в которую входят как кокковидные, так и палочковидные формы. Их часто объединяют в общую внетаксономическую группу – *молочнокислые бактерии*. Микроорганизмы этой группы представляют собой грамположительные, ацидорезистентные, обычно неспорообразующие оксидазо- и каталазонегативные палочки или кокки, которые имеют сходные метаболические и физиологические характеристики.

Молочнокислые бактерии (МКБ) характеризуются, прежде всего, способностью образовывать различные изомеры молочной кислоты при ферментации глюкозы. Продуцируемая ими молочная кислота может различаться по способности «вращать свет», в результате чего выделяют правовращающие (D) и левовращающие (L) ее изомеры либо выделяют рацемические составы, представляющие собой смесь обеих стереоформ, т. е. обозначаемые как DL. Эта характеристика связывает МКБ с ферментацией пищевых продуктов, поскольку подкисление среды препятствует росту микроорганизмов порчи.

По специфике конечных продуктов брожения молочнокислые бактерии делят на две основные группы: гомоферментативные и гетероферментативные.

Гомоферментативные – бактерии, образующие из сбраживаемых ими углеводов в основном молочную кислоту и лишь следы различных побочных продуктов. Типичные представители этой группы – молочнокислые стрептококки и молочнокислые палочки. При таком брожении получается продукт с приятным кислым вкусом и запахом.

Гетероферментативные – бактерии, образующие, кроме молочной кислоты, значительное количество побочных продуктов (этилового спирта, уксусной кислоты, углекислого газа). Среди них имеются кокковые и палочковидные формы.

Для развития всех молочнокислых бактерий в растительной массе должны быть легкоусвояемые углеводы. Способность вырабатывать молочную кислоту изменяется у одного и того же вида микроорганизмов в зависимости от многих факторов, в том числе и от качества питательного субстрата.

При сбраживании пентоз в конечных продуктах брожения будет всегда больше уксусной кислоты, чем при сбраживании, например, гексоз – глюкозы или фруктозы. 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.

В состав эпифитной микрофиты растительного сырья входят также и микроскопические грибы, маслянокислые бактерии, кишечная палочка, которые при нарушении технологического процесса могут активизироваться и вызывать нежелательные процессы.

Нежелательны для процесса силосования и *маслянокислые бактерии*, являющиеся строгими анаэробами. В процессе жизнедеятельности они используют сахар, молочную кислоту, некоторые аминокислоты. Это сопровождается гнилостным распадом белка, накоплением масляной кислоты и других вредных для организма животных побочных продуктов. Наличие масляной кислоты является индикатором гнилостного разложения белка при слабом нарастании в силосе содержания молочной кислоты.

Из-за исключительной важности молочнокислых бактерии в изготовлении силосованных кормов рассмотрим более подробно их биологические характеристики.

Молочнокислые бактерии и их значение.

Основные микроорганизмы, относимые к группе молочнокислых бактерий (МКБ), принадлежат к порядку *Lactobacillales* следующих родов: *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus* и *Streptococcus*, а также второстепенные микроорганизмы из родов *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Sporolactobacillus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* и *Weissella*.

Экология МКБ связана с растениями (кукуруза, подсолнечник, капуста), мясом и молочными продуктами. Пищевые продукты, производство которых сопряжено с молочнокислым брожением, включают колбасу, вина, пиво, молочнокислые продукты, квашеные капусту и огурцы.

Гомоферментные МКБ представлены следующими родами: *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* и *Lactobacillus*. Большинство из них способны размножаться при высокой концентрации соли. Микроорганизмы рода *Enterococcus* также являются гомоферментными молочнокислыми бактериями со способностью роста в среде с содержанием 6,5 % натрия хлорида, но могут расти при температурном диапазоне от 10 до 45 °С.

Основными представителями гомоферментных МКБ являются лактобациллы, в частности вид *Lactobacillus acidophilus* (рис. 2.6). Лактобациллы являются самым многочисленным и разнообразным родом в группе молочнокислых бактерий, а сам этот вид широко распространен в природе, является компонентом нормальной микрофлоры ротовой полости и кишечника, а также влагилища млекопитающих. Некоторые его штаммы обладают пробиотическими свойствами и нашли широкое коммерческое применение при получении йогуртов и ацидофилина. Хотя пробиотики безопасны при пероральном применении, существует небольшой риск проникновения жизнеспособных бактерий из желудочно-кишечного тракта в кровотока, что может вызвать неблагоприятные последствия для здоровья.



Рис. 2.6. *Lactobacillus acidophilus*
(цифровая шкала – 11 мкм)

Микроорганизмы рода *Lactococcus* ранее относились к роду *Streptococcus*, поэтому у них много общих фенотипических черт. Они хоть

и продуцируют только молочную кислоту в результате ферментации углеводов, их гомоферментный характер может быть изменен путем корректировки условий окружающей среды, таких как показатель pH, концентрация глюкозы и наличие ограниченных питательных веществ.

Лактококки обычно используются в молочной промышленности при производстве кисломолочных продуктов, таких как сыры. Их можно использовать в заквасочных культурах в виде монокультуры или в смешанных культурах с другими молочнокислыми бактериями, такими как *Lactobacillus* и *Streptococcus*. Их основным назначением в ферментации молока является его быстрое подкисление, что предотвращает рост бактерий порчи, а также лактококки играют роль во вкусе конечного продукта.

Типичным видом лактококков считается *Lactococcus lactis* (рис. 2.7), который широко используется при получении таких продуктов, как сливочное масло и сыр. Кроме того, этот вид стал первым генетически модифицированным микроорганизмом, который применялся в схемах лечения людей и животных.

Другой представитель гомоферментных МКБ – бактерии рода *Pediococcus* (рис. 2.8), отвечающие за процесс ферментации квашеной капусты, при котором углеводы свежей капусты сбраживаются до молочной кислоты, что придает квашеной капусте кислый вкус и качества хорошей сохранности.

Гетероферментные молочнокислые бактерии включают бактерии рода *Leuconostoc* и подгруппу, представленную бактериями рода *Betabacteria*. Первые из них продуцируют D-лактат, а бетабактерии продуцируют DL-лактат.

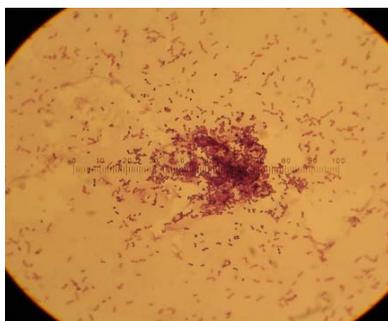


Рис. 2.7. *Lactococcus lactis*

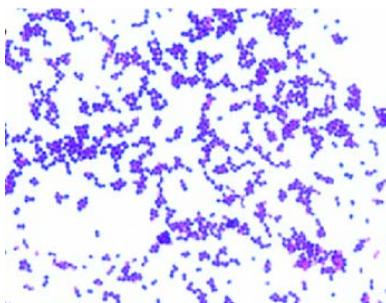


Рис. 2.8. *Pediococcus acidilactici*

Представители рода *Leuconostoc* также широко распространены в природе, включая растительную среду. Основным видом этого рода является *Leuconostoc mesenteroides* (рис. 2.9), который с бактериями рода *Pediococcus* участвует в таких процессах, как квашение капусты и засол огурцов. Также лейконостоки участвуют в процессе ферментации кефира.

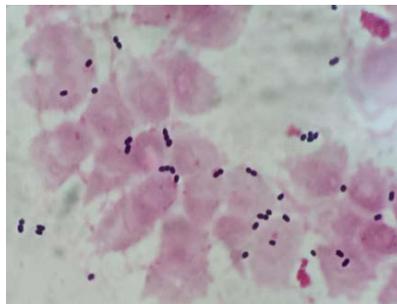


Рис. 2.9. *Leuconostoc mesenteroides* в биоматериале

Ассоциация листерий и силоса.

Правильно приготовленный силос не должен содержать никаких патогенных микроорганизмов, поскольку кисломолочная ферментация является губительной абсолютно для всех патогенов. Тем не менее существует один опасный микроорганизм, способный к размножению при низких показателях pH – *Listeria monocytogenes*. Листерии могут присутствовать и затем накапливаться в плохо ферментированном силосе (с показателем pH выше 5,0–5,5) и в аэробных карманах консервированных кормов при неплотной их закладке. В связи с этим скормливание силосованных кормов может приводить к заражению крупного рогатого скота опасным заболеванием пищеварительного тракта – листериозом.

Листериоз представляет собой бактериальную инфекцию, вызванную микроорганизмом *Listeria monocytogenes*, который встречается во всем мире у различных животных, а также у человека. Еще на ранних этапах изучения болезни было замечено, что заболеваемость листериозом увеличивается в стадах после начала сезона силосного кормления. По большому счету, наблюдаемые сезонные колебания заболеваемости листериозом вместе с увеличением тяжести заболевания и числа пораженных животных можно объяснить растущей популярностью и широким использованием силоса в качестве корма для животных в последнее столетие. Неслучайно, вспышки листериоза у жвачных животных ранее часто назывались «силосной болезнью», поскольку они тесно связаны со скормливанием животным испорченного силоса.

В правильно приготовленном корме количество листерий не повышается: только в пределах нескольких сантиметров поверхности silосного пласта аэробная среда обеспечивает подходящие условия для роста этой бактерии, тогда как более глубокие анаэробные условия silосования и ферментация природных сахаров приводят к подкислению и ингибирующей среде.



Рис. 2.10. Заготовка травяного silоса в рулоны

Очень интересная экологическая особенность листерии была прослежена в странах, где наравне с традиционной закладкой silоса широко используется silос в рулонах (рис. 2.10), так как этот вид корма также благоприятствует росту листерий.

У крупного рогатого скота применение этого вида корма приводит к заболеваемости экзотической формой листериоза, называемой «silосный глаз». Она представляет собой болезненное изъязвление, плохо поддающееся лечению. Эта форма листериоза возникает потому, что животное имеет тенденцию просовывать голову в центр корма, в результате чего контактированные листериями стебли могут попасть в глаз.

Микробиология сенажного корма.

Сенаж – это разновидность консервированного корма, получаемого из провяленных трав, главным образом бобовых, убранных в начале бутонизации.

Перспективным способом консервирования различных трав, и в первую очередь клевера и люцерны, является приготовление из них так называемого сенажа.

Технология приготовления сенажа включает следующие операции: скашивание, плющение и закладка провяленной травы в хранилище. Получить доброкачественный сенаж и до минимума сократить его потери при хранении можно только при закладке корма в капитальные хранилища – траншеи или же в рулоны, упакованные стрейч-пленкой. От степени герметизации хранилища зависит сохранность и качество сенажа, так как при доступе воздуха начинаются гнилостные процессы, приводящие к порче корма.

В отличие от обычного силоса, сохранность которого обуславливается накоплением органических кислот до значения рН 4,2–4,4, *консервирование сенажа достигается за счет физиологической сухости исходного сырья, сохраняемого в анаэробных условиях*. Если влажность консервируемой массы будет в пределах 40–50 %, то она хорошо ферментируется и даже при дефиците углеводов получается корм высокого качества. При этом рН корма может быть довольно высоким – около 5. Это объясняется тем, что гнилостные бактерии обладают меньшим осмотическим давлением, чем молочнокислые бактерии. При подсушивании корма в нем приостанавливаются гнилостные процессы, но продолжают действовать возбудители молочнокислого брожения. На этом основано приготовление сенажа, когда несколько подсушенную массу закладывают в специальную траншею, как при холодном силосовании.

Сенаж по своим свойствам ближе к зеленой массе, чем обычный силос. Это пресный корм, его кислотность соответствует величине рН 4,8–5,0, в нем почти полностью сохраняется сахар, в то время как в силосе он превращается в органические кислоты.

При указанной влажности растений интенсивно развиваться может лишь плесень. Плесени являются строгими аэробами, поэтому непременным условием приготовления сенажа является надежная изоляция его от воздуха. Оставшийся в консервируемой массе воздух быстро используется на дыхание еще живыми клетками растений, и все свободное пространство между частицами измельченного корма заполняется углекислым газом.

Таким образом, 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.

Тем не менее технология приготовления сенажа основана не только на физических, но и на микробиологических процессах, которые протекают медленнее, чем при приготовлении силоса. В силосе максимальное количество микроорганизмов накапливается уже к 7-му дню, а в сенаже их численность достигает максимума только на 15-й день, т. е. молочнокислое брожение в сенаже протекает значительно слабее, чем при силосовании, и зависит от влажности и вида консервируемого сырья. Поэтому показатель рН в сенаже выше, чем в силосе, и колеб-

летя от 4,4 до 5,6. Количество молочнокислых микроорганизмов в сенаже в 4–5 раз меньше, чем в силосе. В связи с этим в сенаже по сравнению с силосом содержится больше неиспользованного сахара. Так, если в силосе весь сахар превращается в органические кислоты, то в сенаже сохраняется около 80 % сахара. В результате создания неблагоприятных условий для развития микробиоты в консервируемом корме, исключения утечки сока и механических потерь листьев и соцветий при заготовке и хранении сенажа общие потери питательных веществ в сенаже не превышают 13–17 %. Сенаж совмещает в себе положительные качества сена и силоса.

Микробиота зерновых кормов.

На поверхности зерна и семян любой культуры находится большое количество микроорганизмов. Основной источник микробиоты зерновой массы – почва, чрезвычайно богатая микроорганизмами. Определенное количество микроорганизмов попадает на поверхность растений с пылью и насекомыми. Их становится еще больше при уборке и обмолоте, из-за того что микроорганизмы скапливаются на шероховатой поверхности зерна.

На поверхности зерна и семян различных культур содержится разное количество микроорганизмов. Семена бобовых менее насыщены ими, чем зерновки злаковых. В зерне и зерновых продуктах обычно присутствуют бактерии, дрожжи, актиномицеты и грибы. Их видовой состав и количество зависят от климатических условий формирования и условий хранения зерна и зернопродуктов. Микробиота продуктов переработки зерна определяется ее составом в зерне и способом переработки.

Микроорганизмы, населяющие зерно и зернопродукты, по образу жизни и воздействию на зерно подразделяются на три группы: сапротрофные (сапрофитные), фитопатогенные и патогенные для животных и человека.

Сапротрофные (сапрофитные) микроорганизмы – это организмы, которые не паразитируют на растениях, так как живут за счет выделений клеток зерна, поэтому получили название эпифитных и относятся к микроорганизмам, населяющим здоровые растения и зерно. Прочие сапротрофные микроорганизмы для развития нуждаются в органических веществах, которые они добывают из зерна, частично или полностью разрушая и изменяя его химический состав, снижая его питательную ценность.

Сапротрофные микроорганизмы представлены бактериями, дрожжами, плесневыми грибами и актиномицетами.

В составе микобиоты (грибная микобиота) свежееубранной зерновой массы всегда находится то или иное количество спор микроскопических грибов, получивших название плесневых. Это грибы, которые формируют развитый субстратный мицелий. Многие плесени выделяют микотоксины, которые вместе с гидролитическими ферментами подавляют рост конкурирующих микроорганизмов.

Плесневые грибы не образуют определенной таксономической или филогенетической группы, но их можно обнаружить в отделах *Zygomycota*, *Deuteromycota* и *Ascomycota*. Наиболее часто к группе плесневых грибов относят следующие роды: *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Alternaria*.



Рис. 2.11. Плесневый гриб *Aspergillus*

Аспергиллы распознают по черному цвету воздушного мицелия.

Плесневые грибы родов *Mucor* и *Rhizopus* представлены совершенными грибами. Они имеют сходную морфологию: их мицелий несептирован, бесполое размножение происходит за счет спорангиоспор, находящихся в спорангиях (рис. 2.12). Эти грибы распознают по белому цвету воздушного мицелия.

Рассмотрим основные характеристики наиболее важных из них.

Плесневые грибы рода *Aspergillus* представляют собой несовершенные грибы, их мицелий построен из септированных гифов, размножение осуществляется с помощью конидий, располагающихся на плодовом теле в виде лейки (рис. 2.11) (отсюда название грибов этого рода – *леечная плесень*). Ас-



Рис. 2.12. Плесневый гриб *Mucor*



Рис. 2.13. Плесневый гриб *Penicillium*



Рис. 2.14. Плесневый гриб *Fusarium*

Плесневые грибы рода *Penicillium* имеют сходную морфологию с аспергиллами, однако их конидии на плодовом теле расположены в виде кисти руки. Пенициллы распознают по зеленоватому цвету воздушного мицелия (рис. 2.13).

Плесневые грибы родов *Fusarium* и *Acremonium* представляют собой несовершенные грибы. Имеют септированный мицелий, размножаются преимущественно с помощью микро- и макроконидий: первые из них овальные, собраны в характерные головки (рис. 2.14), в то время как макроконидии веретенообразной, серповидной или ланцетовидной формы с поперечными перегородками. У фузариев воздушный мицелий, помимо белого цвета, также характерного для акремониев, может быть пигментно окрашен в

бурый, розовый или фиолетовый цвет, что является важным морфологическим свойством.

При благоприятных условиях (повышенной влажности и температуре) находящиеся на зерне споры плесневых грибов прорастают, образуют мицелий и органы спороношения. Развитие плесневых грибов в зерновой массе всегда сопровождается потерями сухих веществ, снижением качества или порчей зерна. Разрушается органическое вещество зерна; плесени образуют продукты распада, обладающие специфическим неприятным запахом, цвет и вкус зерна также изменяются. Все плесневые грибы не требовательны к условиям окружающей среды.

Фитопатогенные микроорганизмы не влияют на сохранность зерновой массы. Однако наличие в партиях зерна признаков поражения фитопатогенными микроорганизмами учитывают при общей оценке их качества и последующем использовании.

Широко распространены микозы. Это головня, спорынья и фузариозы хлебных злаков.

Головня – это многоклеточные грибы преимущественно родов *Ustilago* и *Tilletia*, характеризующиеся образованием большого количества хламидоспор в виде черной порошкообразной массы, в результате чего растения выглядят как бы покрытыми сажей или обугленными (отсюда название для грибов этой группы). Головневые грибы относятся к отделу *Basidiomycota*. Они могут вызывать заболевания и инфицировать широкий круг хозяев однодольных и двудольных растений, чаще злаков и сельскохозяйственных культур. Экономически важные растительные культуры-хозяева головневых грибов включают кукурузу, ячмень, пшеницу, овес и кормовые травы. В основе их патогенного действия лежит то, что они захватывают репродуктивную систему растений, образуя галлы, которые темнеют и лопаются (рис. 2.15), выпуская грибковые хламидоспоры, которые заражают другие растения поблизости. Прежде чем произойдет заражение, головни должны пройти успешное спаривание с образованием дикариотических гифов. Основным представителем головневых грибов является *Ustilago maydis*, который часто поражает кукурузу.



Рис. 2.15. Примеры злаковых растений, пораженных головней

Спорынья представляет собой болезнь преимущественно ржи, вызываемую грибами спорыньи рода *Claviceps*. Самый известный представитель этой группы – *Claviceps purpurea*.

Этот гриб растет на ржи и родственных растениях и производит алкалоиды, которые могут вызывать отравление у людей и других млекопитающих после употребления зерен, загрязненных его плодовой структурой (так называемый склероций спорыньи). Склероций развивается при заражении спорой гриба рода *Claviceps* соцветия цветущей травы или злака. Для заражения необходимо, чтобы спора гриба имела доступ к рыльцу; следовательно, растения, зараженные спорыньей, в основном представляют собой перекрестно опыляемые виды с раскрытыми цветками, такие как рожь (пшеница более устойчива) (рис. 2.16, справа). Осенний и зимний период гриб переживает на земле, где формирует небольшой мицелий в форме шляпочного минигриба.



Рис. 2.16. Спорынья рода *Claviceps*

преимущественно через повреждения от града или массового налета насекомых.

Фузариоз початков является наиболее широко распространенным заболеванием кукурузы, особенно в районах с повышенной влажностью. В этих районах поражается до 50–60 % посевов кукурузы. На поверхности початков кукурузы в конце молочной – начале восковой спелости появляется бледно-розовый налет гриба, в условиях повышенной влажности воздуха образование налета можно наблюдать и на обертках пораженных початков (рис. 2.17).

Зерновые культуры восприимчивы к заражению фузариозом с периода цветения и до уборки. Симптомы заболевания проявляются в виде обесцвечивания колосковых чешуй с последующим развитием налета мицелия розово-оранжевой или красновато-кирпичной окраски (рис. 2.18) (морфология мицелия плесневого гриба рода *Fusarium* рассмотрена выше). Инфицирование колоса приводит к заражению зерна. Заболеванию подвержены практиче-

Фузариозная гниль – самое распространенное грибковое заболевание початков кукурузы и колосьев злаковых. У кукурузы болезнь вызывается грибом *Fusarium verticillioides* (ранее известным как *F. moniliforme*); для зерновых культур возбудителями фузариоза являются *F. graminearum* (фузариоз колоса), *F. avenaceum*, *F. solani*, *F. culmorum*. Инфекция проникает



Рис. 2.17. Розовато-белый плесневый гриб *Fusarium verticillioides*



Рис. 2.18 Фузариоз злаковых культур

ски все зерновые культуры Европы. Оно значительно снижает качество урожая, меняя химический состав зерна. Разлагаются важнейшие макроэлементы зерна: белок, клетчатка, крахмал.

Фузариозом также могут быть поражены продукты переработки зерна (рис. 2.19). Например, мука из зараженного зерна опасна для здоровья человека, а комбикорма и прочие зерновые продукты – для животных, так как некоторые виды фузариев продуцируют вторичные метаболиты – микотоксины.



Рис. 2.19. Зерно пшеницы, пораженное фузариозом

Пораженные фитопатогенными микроорганизмами зерна могут стать ядовитыми, поэтому их

количество в партиях зерна ограничивается государственными стандартами. Наличие фитопатогенных микроорганизмов в зерновой массе необходимо учитывать и для правильного размещения зерна, и при его отпуске.

Микроорганизмы, патогенные для животных и человека, могут быть косвенным источником распространения некоторых инфекций. Это – возбудители заболеваний только для человека или только для животных. Встречаются микроорганизмы, патогенные как для человека, так и для животных. К их числу относятся возбудители бруцеллеза, туберкулеза и некоторых других болезней. Патогенные микроорганизмы распространяются от больных людей и животных или бактерионосителей. Почва также может быть источником опасных заболеваний. Переносчиками инфекций служат и грызуны.

Микроорганизмы оказывают отрицательное воздействие в первую очередь на качество зерна при хранении. Вследствие их жизнедеятельности снижаются масса сухого вещества зерна, его жизнеспособность, технологические и товарные показатели качества, питательная ценность. В некоторых случаях зерно становится ядовитым.

Под действием микроорганизмов изменяются, прежде всего, основные показатели свежести зерна: цвет, блеск, запах и вкус. Изменение цвета зерна сопровождается образованием запахов разложения, обусловленных развитием микроорганизмов. Результатом накопления в зерне продуктов активной жизнедеятельности плесеней, прежде всего грибов рода *Penicillium* spp., являются плесневый и затхлый запахи.

Затхлый запах относится к одному из недопустимых дефектов зерна. Хлебоприемные предприятия не принимают затхлое зерно, так как плесневелый запах трудно или совсем не удаляется из зерна и при его переработке передается муке, крупе, печеному хлебу и другим изделиям. Затхлому запаху сопутствуют неприятный вкус зерна, увеличение титруемой кислотности, а также содержания аминосоединений и аммиака. Повышение показателя титруемой кислотности зерна при хранении свидетельствует о снижении его свежести. Необходимо отметить, что плесневый и затхлый запахи в партиях зерна с повышенной влажностью могут появиться очень быстро – уже через несколько суток хранения.

Развитие плесневых грибов в зерне в период хранения может сопровождаться образованием микотоксинов.

При хранении микробиота зерновых масс может изменяться в зависимости от их состояния и условий хранения. На состояние микробиоты зерновой массы влияют следующие основные факторы: ее общая средняя влажность и влажность отдельных компонентов (основного зерна, примесей и воздуха в межзерновом пространстве), температура зерновой массы, степень ее аэрации, целостность и состояние покровных тканей зерна, количество и видовой состав примесей и др.

Влажность зерновой массы – важнейший фактор, определяющий стойкость ее при различных условиях хранения. Одной из основных причин плохой сохранности зерновых масс с повышенной влажностью является доступность их воздействию микроорганизмов. Наличие в семенах всех культур большого запаса различных питательных веществ делает каждое семя при содержании в нем определенного минимума влаги благоприятной средой для активного развития многих микроорганизмов.

Низшая граница влажности зерна, при которой становится возможным развитие плесневых грибов в зерновой массе различных культур, приближается к величине критической влажности. Граница критической влажности семян злаковых находится в пределах 12–15 %. Эти уровни критической влажности зерна и семян соответствуют относительной влажности воздуха 60–65 %.

Таким образом, правильно организованное хранение зерновой массы в сухом состоянии надежно защищает ее от активного развития микроорганизмов, предотвращает потери массы и снижение качества зерна за счет микробиологического фактора.

Температура зерновой массы определяет возможность жизнедея-

тельности микроорганизмов. Это вызвано тем, что она влияет на интенсивность различных процессов в теле микроба и на активность ферментов, участвующих в них. При повышении температуры интенсивность процессов увеличивается, а при снижении – замедляется.

Повышение температуры зерновой массы свыше оптимальной снижает жизнеспособность микроорганизмов, а температура выше 40–50 °С приводит к их гибели (за исключением термофилов). Однако использование высоких температур для стерилизации зерна неприемлемо, так как эти температуры губительны для самого зерна.

Пониженные температуры тормозят развитие микроорганизмов, но не приводят к их гибели. Консервирующее действие пониженных температур, при которых заметно замедляется жизнедеятельность микроорганизмов, наблюдается при 8–10 °С. При этих условиях в партии зерна с невысокой влажностью развитие плесневых грибов задерживается.

Охлаждение зерновой массы до отрицательных температур лишь приостанавливает рост микроорганизмов. Они не гибнут даже при температуре –20 °С. При отогревании микроорганизмы вновь начинают размножаться. Однако охлаждение зерновой массы – полезное мероприятие, которое используют для защиты зерна от активного воздействия микроорганизмов и сохранения его качества.

Доступ воздуха в зерновую массу может лимитировать жизнедеятельность микроорганизмов. Так как микробиота зерновой массы состоит в основном из аэробных микроорганизмов, их жизнедеятельность при недостатке кислорода в воздухе межзернового пространства прекращается.

При доступе воздуха, благоприятной влажности и температуре в зерновой массе активно развиваются микроорганизмы, прежде всего плесневые грибы. Такая закономерность в развитии микробиоты зерновой массы имеет большое практическое значение, и ее используют для обоснования режима хранения зерна без доступа воздуха.

Покровные ткани предохраняют зерно от воздействия микроорганизмов. Некоторые сапрофиты не способны разрушить клетчатку и проникнуть внутрь зерна. Кроме того, жизнеспособные зерна, обладая иммунитетом, препятствуют проникновению паразита в глубь организма. Поэтому микроорганизмы развиваются прежде всего на битых, поврежденных и утративших жизнеспособность зернах.

2.3. Микробиота молока

Молоко – это секрет молочной железы, оно представляет собой пищевой и кормовой продукт с высокой питательной ценностью, поскольку оно содержит все необходимые питательные ингредиенты, такие как минералы, белки, жиры и лактоза. Согласно исследованиям, состав микробиоты молока может в значительной степени влиять на качество молока.

Здоровое коровье молоко долгое время считалось стерильным, но недавние исследования показали наличие микробиоты в молоке из здоровых долей молочной железы. Наиболее распространенными бактериальными таксонами в коровьем молоке являются представители родов *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Cutibacterium*, *Propionibacterium*, *Bacteroides*, *Corynebacterium* и *Enterococcus*. С другой стороны, обнаружение, например, псевдомонад (род *Pseudomonas*) однозначно указывает на контаминацию.

Здоровая молочная железа считается стерильной средой, особенно у животных раннего возраста с неповрежденными сосками до первого колострогенеза и начала секреции молока. К первому отелу и после начала доения молочная железа становится функционально открытой системой, имеющей непосредственную связь с окружающей средой. В связи с этим предполагается наличие естественного сообщества микробов в молочной железе, так называемой *молочной микробиоты*. Коллективный генетический или видовой состав микробиоты обычно называют *молочным микробиомом*.

Микробиом молочной железы и микробиом молока можно считать очень сходными, при этом происхождение микроорганизмов в молоке может быть из верхних отделов молочной железы, хотя многие из этих бактерий мигрируют из дополнительных точек доступа – поверхности вымени и окружающей среды. Тем не менее вопрос о происхождении микробиоты молока часто остается без ответа. Отдельные бактерии, присутствующие в молоке, попадают в него во время доения, а также из эндогенных источников через пока еще гипотетический энтеромаммарный путь (из кишечника с кровью в молочную железу). Кроме того, ретроградный поток обратно в молочные протоки может возникать во время сосания или механического доения.

Определенные бактериальные виды будут составлять «естественный» (здоровый) микробиом коровьего молока. Так, кутибактерии (чаще в литературе используют более привычное название этого рода

до их переименования – пропионибактерии) практически всегда присутствуют во всех здоровых долях вымени, а на видовом уровне вид *Cutibacterium acnes* наиболее распространен в большинстве проб молока от здоровых коров.

Таким образом, в сыром молоке даже при соблюдении санитарно-гигиенических условий его получения обычно обнаруживается некоторое количество бактерий. При несоблюдении условий доения молоко может быть обильно обсеменено большим числом микроорганизмов из-за контаминации микробами, находящимися на поверхности вымени, попадающими из протоков молочной железы, с рук доильщиков, с доильной аппаратуры и посуды, из воздуха и т. д. Экспериментальные данные показывают, что в сборном молоке, отобранном непосредственно на фермах, общее количество бактерий колеблется от $4,6 \cdot 10^4$ до $1,2 \cdot 10^6$ в 1 см^3 .

Динамика изменения молочной микробиоты.

Микробиота свежего молока разнообразна. В нем обнаруживают бактерии молочнокислые, маслянокислые, группы кишечной палочки, гнилостные и энтерококки, а также дрожжи. Среди них имеются микроорганизмы, способные вызывать различные пороки молока, например прогоркание, посторонние привкусы и запахи, изменение цвета (посинение, покраснение), тягучесть. Могут встречаться и возбудители различных инфекционных заболеваний (дизентерии, брюшного тифа, бруцеллеза, туберкулеза и др.) и пищевых отравлений (золотистый стафилококк, сальмонеллы).

В дальнейшем при хранении молока количество содержащихся в нем микроорганизмов и соотношение между отдельными их видами изменяются. Характер этих изменений зависит от температуры и продолжительности хранения, а также от первоначального состава микробиоты молока.

В свежем молоке содержатся бактерицидные вещества – *лактенины*, которые в первые часы после дойки задерживают развитие в молоке бактерий, а многие из них гибнут. Промежуток времени, в течение которого сохраняются бактерицидные свойства молока, называют *бактерицидной фазой*. Бактерицидность молока со временем снижается и тем быстрее, чем больше в молоке бактерий и выше его температура.

Свежесцеженное молоко имеет температуру около $35 \text{ }^\circ\text{C}$. При температуре $30 \text{ }^\circ\text{C}$ бактерицидная фаза молока с небольшой исходной обсемененностью продолжается до 3 часов, при $20 \text{ }^\circ\text{C}$ – до 6, при $10 \text{ }^\circ\text{C}$ – до 20, при $5 \text{ }^\circ\text{C}$ – до 36, при $0 \text{ }^\circ\text{C}$ – 48 часов. При одной и той же температу-

ре выдержки бактерицидная фаза будет значительно короче, если молоко обильно обсеменено микробами. Так, в молоке с исходной бактериальной обсемененностью 10^4 в 1 см^3 бактерицидная фаза при температуре 3–5 °С длится 24 часа и более, а при содержании в 1 см^3 10^6 бактерий – только 3–6 часов. Чтобы удлинить бактерицидную фазу молока, необходимо его как можно скорее охладить до температуры 4–6 °С.

По окончании бактерицидной фазы начинается размножение бактерий, и оно происходит тем быстрее, чем выше температура хранения молока. Если молоко сохранять при температуре выше 8–10 °С, то уже в первые часы после бактерицидной фазы в нем начинают развиваться различные бактерии. Этот период называется *фазой смешанной микробиоты*.

К концу этой фазы развиваются в основном молочнокислые бактерии, в связи с чем начинает повышаться кислотность молока. По мере накопления молочной кислоты развитие других бактерий, особенно гнилостных, подавляется. Некоторые из них даже отмирают, и происходит рост молочнокислых бактерий – *фаза молочнокислых бактерий*; молоко при этом сквашивается (рис. 2.20).



Рис. 2.20. Микроскопическая картина свернувшегося молока с преимущественным размножением лактобацилл (обозначены стрелкой)

При дальнейшем хранении молока с увеличением концентрации молочной кислоты подавляется развитие и самих молочнокислых бактерий, число их начинает снижаться. В первую очередь отмирают молочнокислые стрептококки. Молочнокислые палочки менее чувствительны к кислотности среды и отмирают медленнее. В дальнейшем может происходить рост дрожжей и плесеней. Эти микроорганизмы используют молочную кислоту и образуют щелочные продукты распада белка; кислотность молока снижается, снова в нем могут развиваться гнилостные бактерии.

В молоке, сохраняемом при температуре ниже 10–8 °С, молочнокислые бактерии почти не размножаются, что способствует развитию (хотя и медленному) холодоустойчивых (психрофильных) бактерий, чаще рода *Pseudomonas*, способных вызывать разложение белков и жира; при этом молоко приобретает горький вкус.

Для сохранения молока в свежем виде его охлаждают на молочной ферме или сборном пункте до температуры 6–4 °С и в охлажденном состоянии доставляют на перерабатывающие молокозаводы. Молоко очищают от механических загрязнений, пастеризуют или стерилизуют, охлаждают, разливают во фляги, бутылки или другую тару и направляют на реализацию.

Основным показателем оценки качества сырого молока является его общая бактериальная обсемененность. Раньше она определялась косвенным методом – по редуктазной пробе, т. е. по времени восстановления индикатора (метиленовой сини или резазурина), внесенного в пробу молока. Метод основан на том, что бактерии выделяют в среду анаэробную дегидрогеназу (по старой терминологии – редуктазу) – фермент, обладающий восстановительными свойствами. Чем больше в молоке бактерий, больше фермента, тем скорее восстанавливается индикатор; при этом меняется его окраска.

Чтобы снизить неблагоприятное воздействие микробиоты на качество молока, прибегают к различным вариантам его обработки. Самый простой способ термической обработки – кипячение, однако оно резко изменяет вкусовые свойства молока. В связи с этим разработаны более щадящие методы термообработки молока, которые отличаются методологией процесса и качеством конечного продукта. Кроме того, стерилизация обязательна в отношении оборудования и для подготовки молочного сырья к дальнейшей переработке.

Наиболее часто используемым видом термообработки молока является пастеризация. Ее цель заключается в уничтожении в молоке болезнетворных бактерий и более полном снижении общей обсемененности сапротрофными бактериями. Эффективность пастеризации молока зависит от количественного и качественного состава его микробиоты, главным образом от количества термостойких бактерий. Питьевое молоко пастеризуют при температуре 76 °С с выдержкой 15–20 секунд. Режим пастеризации молока, используемого для изготовления кисломолочных продуктов, более жесткий.

При пастеризации сохраняется некоторое количество вегетативных клеток термофильных и термостойких бактерий, а также бактериальные споры. В остаточной микробиоте молока обнаруживаются главным образом молочнокислые стрептококки фекального происхождения (энтерококки), в небольших количествах – споровые палочки и микрококки.

Стерилизованное молоко может храниться длительное время, не подвергаясь микробной порче, так как в процессе стерилизации его микробиота уничтожается. Большое значение имеют бактериальная чистота предназначенного для стерилизации молока, и особенно содержание спор; некоторые из них могут при стерилизации сохраниться и вызвать порчу молока при хранении.

Микробиота молока при патологиях вымени.

Молочная микробиота от здоровых животных содержит вполне определенную и часто стабильную композицию микроорганизмов, но при различных патологиях она подвергается серьезным изменениям.

Клиническое проявление характеризуется физическими изменениями железы, которые приводят к ухудшению качества молока и уменьшению его объема. При субклиническом мастите визуальные симптомы и признаки отсутствуют, но во всех случаях мастита отмечается существенное изменение микробиоты молока.

В молоке коров с острым катаральным маститом наблюдаются существенные различия в составе микробиома по сравнению с молоком от здоровых коров. В первую очередь отмечается появление прямых возбудителей мастита (которые будут рассмотрены в подразделе 2.12). Помимо этого, при клиническом мастите в молоке отмечается значительное увеличение численности бактерий родов *Cutibacterium*, *Blautia*, *Clostridium sensu stricto 2* (клубки в узком смысле слова генетической линии 2), *Staphylococcus*, *Streptococcus* и *Microbacterium*.

При субклиническом мастите отмечается лишь увеличение относительной численности родов *Staphylococcus* и *Streptococcus*. Увеличение относительной численности родов *Staphylococcus* и *Microbacterium* может быть ранним признаком патологии вымени. Рассмотрим основных представителей молочной микробиоты, содержание которых подвержено изменениям в маститном молоке.

Род *Cutibacterium* (ранее известный как *Propionibacterium*) (рис. 2.21) обычно является одной из доминирующих при маститах культивируемых групп бактерий. Кутибактерии присутствуют на всех поверхностях слизистых оболочек животных и человека, в том числе в пищеварительном тракте. Эти места колонизации

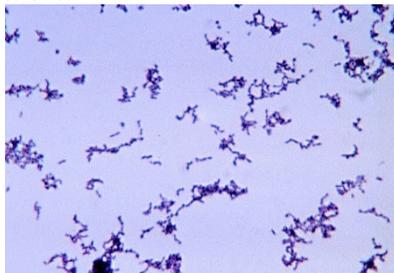


Рис. 2.21. *Cutibacterium acnes*

являются важным источником кутибактерий для микробиоты молочной железы. При мастите эти микроорганизмы всегда обнаруживаются в молоке.

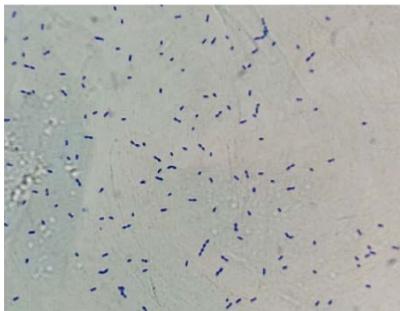


Рис. 2.22. Морфология *Blautia producta*

Бактерии рода *Blautia* (рис. 2.22) представляют собой анаэробы, они генетически родственны кластридиям. Они в основном рассматриваются как компонент кишечной микробиоты и, будучи пробиотическими микроорганизмами, способны облегчать воспалительные и метаболические патологии за счет стимуляции иммунных клеток. Также они известны своей антибактериальной активностью про-

тив специфических патогенных возбудителей. Увеличение их количества в молоке коров с острым катаральным маститом обычно коррелирует с течением воспалительного процесса и активацией Т-клеточного иммунитета.

Также в маститной микробиоте молока отмечается значительное увеличение численности рода *Colidextribacter*. Известен только один представитель этого рода. Он обладает анаэробными свойствами и имеет грамтрицательную клеточную стенку, впервые выделен из толстой кишки и идентифицирован лишь в 2016 г.

Еще одним изменением микробиоты в процессе развития мастита является увеличение количества бактерий рода *Clostridium*. Известно, что род *Clostridium* включает протеолитические и патогенные анаэробные микроорганизмы. Ранее бактерии этого рода были выделены из почвы, нижних отделов пищеварительного тракта некоторых животных, человеческих фекалий, клинических образцов биоматериала, включая кровь, плевральную жидкость и ткани легких при легочных инфекциях. Известно, что представители этого рода ответственны за возникновение газовой гангрены. Встречаются они и в составе смешанных инфекций. Важным является то, что кластридии обладают относительной патогенностью и играют значительную роль в развитии мастита у крупного рогатого скота.

Увеличение количества бактерий рода *Paeniclostridium* (рис. 2.23) также является значимым в молоке коров с острым катаральным маститом. Эти близкородственные кластридиям бактерии широко распространены в природе, особенно в желудочно-кишечном тракте и вагинальной слизи, и обладают разнообразными физиологическими особенностями. Ранее они

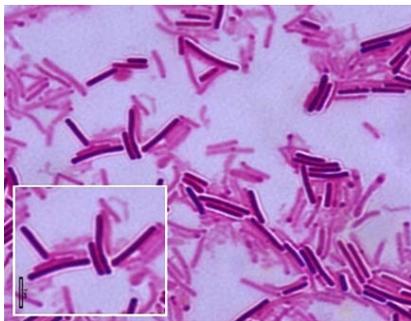


Рис. 2.23. *Paeniclostridium sordelli*

самостоятельно не рассматривались и считались частью многочисленной группы кластридий. Некоторые виды пэниклостридий часто обнаруживаются в ранах, чаще в сочетании с другими анаэробными и аэробными микроорганизмами. Вирулентность этих бактерий для животных обусловлена β -токсином, обладающим высокой биологической активностью и специфичностью. Эти микроорганизмы часто выделяют при заболеваниях, симптомы которых характерны для других кластридиозов.

Представители рода *Bifidobacterium* (рис. 2.24) являются пробиотическими микроорганизмами, оказывающими благоприятное воздействие на организм хозяина. В связи с этим наличие бифидобактерий

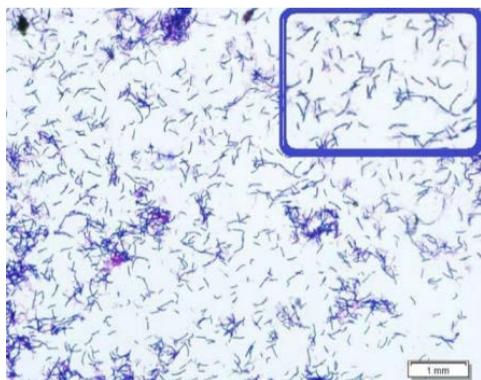


Рис. 2.24. Бактерии *Bifidobacterium*

считается одним из маркеров «здоровой микрофлоры» вымени. Ранее предполагалось, что количество этих бактерий может быть снижено у коров с патологией вымени. Однако многие исследования указывают на обратную тенденцию: в молоке коров с острым катаральным маститом количество бифидобактерий значительно увеличивается.

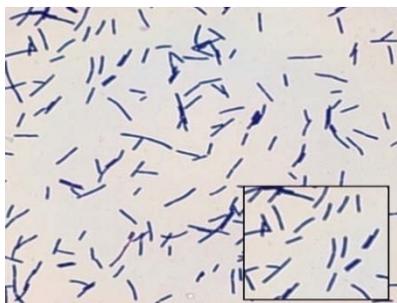


Рис. 2.25. Бактерии рода *Lactobacillus*

рода *Turicibacter*. Эти микроорганизмы присутствуют в рубце и фекалиях крупного рогатого скота, в кишечнике свиней, крыс и насекомых, а также в сточных водах, молочных продуктах и цельном молоке. Поскольку известен только один вид (*Turicibacter sanguinis*), физиологическое разнообразие всего этого рода неизвестно.

Помимо перечисленных микроорганизмов, значительное увеличение количества бактерий рода *Microbacterium* наблюдается в молоке на самых ранних этапах патологии вымени. Микробактерии – грамположительные, неспорообразующие палочковидные бактерии (рис. 2.26). Представители этого рода могут быть изолированы из самых разных сред, включая почву, насекомых, клинические образцы человека, морскую среду, растения, молочные продукты и т. д., но часто их выделяют из молока от инфицированных коров, хотя пока мало что известно о патогенности этих бактерий. Тем не менее их повышенное количество в молоке имеет корреляцию со сниженными удоями.



Рис. 2.26. Бактерии *Microbacterium*

Молоко как фактор передачи инфекционных заболеваний.

Патогенные микробы в молоко попадают от больных животных, из окружающей среды во время его транспортирования или переработки. Микробы, передаваемые через молоко, делят на две группы. В первую группу входят возбудители *зооантропонозов* – болезней, общих для животных и человека. К ним относятся туберкулез, бруцеллез, ящур

и др. Во вторую группу входят возбудители *антропонозов* – болезней, которые передаются от человека человеку. Технологов животноводческой отрасли должны интересоваться в первую очередь зооантропонозы.

Туберкулез – хроническая болезнь, возбудитель вместе с молоком выделяется во внешнюю среду. В такой среде микобактерии сохраняются до 10 дней, а в сливочном масле в холоде – до 300 дней, в сырах – до 200 дней. При туберкулезе вымени происходит изменение свойств молока: оно становится зеленовато-желтоватым с хлопьями. Такое молоко подвергают кипячению и используют животным при откорме.

Бруцеллез – хроническая болезнь. В охлажденном молоке бруцеллы сохраняются до 8 дней, в замороженном – до 60, в сквашенном – до 4, в сливках – до 10, в сливочном масле – 40–60, в сырах – до 40 дней. Бруцеллы чувствительны к высокой температуре: при 65 °С они погибают через 15 минут, при 70 °С – через 5 минут. Молоко от больных животных пастеризуют при температуре 70 °С в течение 30 минут.

Ящур – острая сильноконтагиозная болезнь. Вирус ящура в свежем молоке сохраняется до 12 часов, в охлажденном – до 2 недель. Молоко от больных ящуром животных пастеризуют при температуре 80 °С в течение 30 минут или кипятят в течение 5 минут. Обеззараженное молоко перерабатывают в топленое масло или используют на корм животным.

Сальмонеллезы – острые желудочно-кишечные болезни, вызываемые сальмонеллами и их токсинами, которые вместе с молоком могут попадать в организм человека. Источниками загрязнения молока сальмонеллами являются больные животные, корма, вода, а также обслуживающий персонал. Люди, переболевшие сальмонеллезом, могут оставаться длительное время бактерионосителями.

Основным возбудителем туберкулеза человека является *Mycobacterium tuberculosis*, который ответственен за подавляющее число случаев инфекции. Тем не менее у людей также возможно развитие зоонозного туберкулеза, вызываемого *M. bovis* – специфическим возбудителем туберкулеза крупного рогатого скота. До момента широкомасштабного внедрения пастеризации молока в 1960-х гг. зоонозный туберкулез часто отмечался среди людей.

Вид *M. bovis* близко родственен микобактерии человеческого туберкулеза и поэтому относится к единой группе филогенетически очень тесно связанных микобактерий, которые в совокупности называют «комплекс *Mycobacterium tuberculosis*».

Диапазон хозяев *M. bovis* считается самым широким. Эта микобактерия представляет собой грамположительную палочку с закругленными

краями. Из-за высокого содержания липидов микобактерии медленно воспринимают анилиновые красители, и поэтому для их окраски применяют специальные методы: Циля – Нильсена (рис. 2.27) и др.



Рис. 2.27. *Mycobacterium bovis* в чистой культуре

Само по себе молоко является более эффективным средством инфицирования пищевыми патогенами по сравнению с другими пищевыми продуктами. Во-первых, молекулы молочного жира способствуют эмульгированию и защищают *M. bovis* от разрушения. Во-вторых, жидкий характер этого продукта обеспечивает минимально возможную экспозицию кислой среды желудка на бактерии. Миграция патогенов через слизистую оболочку

кишечника облегчается быстрым всасыванием питательных веществ.

Выживание *M. bovis* в непастеризованном молоке и молочных продуктах, приготовленных из него, зависит от температуры и длительности хранения. Снижение обоих показателей является причиной большей сохранности микробов в молоке и молочных продуктах, так как приводит к замедленному снижению показателя pH. Чаще всего в силу социокультурных особенностей людей употребление непастеризованного молока связано с его хранением при комнатной температуре по причине отсутствия как пастеризационного оборудования, так и холодильников.

При комнатной температуре каждые 12 часов хранения приводят почти к двукратному снижению концентрации *M. bovis* в непастеризованном молоке.

Обычно при длительных сроках хранения молоко подвергается естественной ферментации. В частности, в Африке среди племен зулу и кхоса широкое употребление имеет кисломолочный продукт амаси, который получают путем сквашивания непастеризованного молока в высушенных и выдолбленных тыквах-лагенариях (рис. 2.28).



Рис. 2.28. Южноафриканский кисломолочный продукт амаси

Полный цикл ферментации амаси требует от 3 до 8 дней, что сопровождается значительным снижением концентрации микобактерий. Однако обычная практика добавления свежего молока в почти готовый продукт в дополнение к его получению в летние месяцы (холодный сезон года в южном полушарии) приводит к заражению людей, в особенности детей, для которых этот продукт является традиционно предпочтительным. В жаркие зимние месяцы, когда температура в жилищах зулусов достигает выше 33 °С, амаси практически не содержит микобактерии спустя 3 дня хранения.

Также опасным инфекционным агентом, который может передаваться с молоком, являются бруцеллы (род *Brucella* в семействе *Brucellaceae*). Человек обычно считается экологическим тупиком для бруцелл, несмотря на единичные случаи передачи между людьми.

Хотя каждый вид бруцелл связан с определенным хозяином из числа животных, такая ассоциация не является исключительной. Из всех животных наибольшее распространение бруцеллез имеет среди мелкого рогатого скота (возбудитель *Brucella melitensis*). Этот вид животных и, соответственно, микроорганизм являются наиболее частым источником и наиболее опасной причиной заражения человека бруцеллезом.

Бруцеллы представляют собой грамтрицательные, неподвижные овоидные коккобактерии с частичной кислотоустойчивостью, выявление которой используется при их микроскопии. При окраске по Граму единичные клетки могут удерживать кристалливиолет, поэтому приобретать вид грамположительных кокков (рис. 2.29).

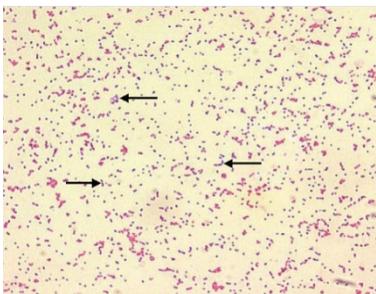


Рис. 2.29. Микроорганизмы *Brucella*

Во многих регионах в силу культурных традиций козье молоко употребляется без предварительной пастеризации либо используется в сыром виде для изготовления мягких сыров, являющихся практически идеальной средой для сохранения жизнеспособных бруцелл. Инфекционная доза для человека крайне низка, поэтому передача бруцеллеза человека легко осуществляется при употреблении непастеризованного молока.

Бруцелла может сохранить свою жизнеспособность в течение 1–2 месяцев в свежем сыре, 4 месяца в сливочном масле, 1 месяц в

мороженом и 6 месяцев в сливках, но микроорганизм не сохраняется в йогурте. Считается, что возбудитель не передается с сыром возрастом более 3 месяцев.

Пастеризация молока является эффективным средством для уничтожения бруцелл и микобактерий туберкулеза, что предотвращает заражение людей, однако она не всегда практикуется в некоторых сообществах из-за давних культурных традиций, предубеждений или общего недопонимания опасности употребления сырого молока.

2.4. Микробиота молочных продуктов

К основным молочным продуктам относят кисломолочные продукты, сливочное масло, маргарин, сыры.

Кисломолочные продукты играют большую роль в питании человека, так как, кроме пищевой ценности, они имеют диетическое, а некоторые – лечебное значение. Они усваиваются лучше, чем цельное молоко, и значительно быстрее.

По сравнению с молоком кисломолочные продукты обладают повышенной стойкостью при хранении. Они являются, кроме того, неблагоприятной средой для развития многих патогенных бактерий. Это обусловлено их повышенной кислотностью и содержанием антибиотических веществ, вырабатываемых некоторыми молочнокислыми бактериями. Так, наиболее частыми микроорганизмами заквасок являются некоторые подвиды молочнокислого лактококка: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* и *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (эти два микроорганизма ранее относились к роду стрептококков, поэтому они часто в литературе прописываются по старой номенклатуре как *Streptococcus lactis* и *Streptococcus cremoris* соответственно). Эти молочнокислые бактерии оказывают антагонистическое действие на возбудителя стафилококковой интоксикации и другие патогенные бактерии.

Качество и специфические свойства кисломолочных продуктов во многом зависят от направленности и интенсивности протекающих при их выработке микробиологических процессов. Решающее значение имеет нормальное течение молочнокислого брожения.

В условиях промышленной переработки молока при изготовлении различных кисломолочных продуктов его предварительно пастеризуют, а затем заквашивают специально подобранными заквасками из чистых или смешанных культур молочнокислых бактерий.

Применение заквасок микроорганизмов с известной биохимической активностью позволяет получить продукт с определенными хи-

мическими и органолептическими свойствами, избежать развития случайных микроорганизмов, нарушающих нормальное течение молочно-кислого брожения (что бывает при самопроизвольном сквашивании молока), и обеспечивает высокое качество готовой продукции.

Большое значение имеет активность используемой закваски и качество молока. Иногда происходит замедленное сквашивание молока вследствие пониженного содержания в нем сухих веществ, витаминов, наличия антибиотиков, используемых при лечении коров.

Потерю активности закваски в молоке может вызывать бактериофаг.

Микробиота жидких кисломолочных продуктов.

В состав закваски для изготовления *простокваши обыкновенной*, *сметаны* и *творога* входят мезофильные гомоферментативные молочнокислые лактококки: *L. lactis* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris* (далее *L. cremoris*) (рис. 2.30) и ароматообразующий лактококк *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* биовар *diacetylactis* (далее *L. diacetylactis*).

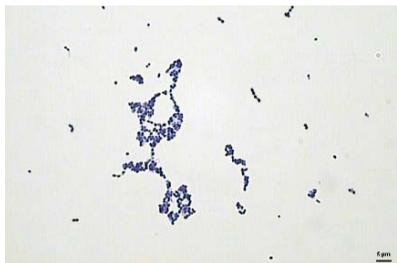


Рис. 2.30. *Lactococcus lactis*

При изготовлении творога, кроме закваски, применяют сычужный фермент, который активизирует процесс.

При производстве сметаны используют смесь двух заквасок мезофильного лактококка *L. lactis* и термофильного стрептококка *S. thermophilus* в равных количествах.

При хранении этих продуктов в них могут развиваться дрожжи, уксуснокислые бактерии и плесени, попадающие в продукт извне (с производственного оборудования, рук и одежды рабочих, из воздуха). При этом появляются дефекты вкуса и запаха продуктов, а также другие виды порчи. При развитии дрожжей, сбраживающих молочный сахар, может происходить вспучивание продукта (за счет газообразования) и проявляться спиртовой привкус. Одним из распространенных дефектов сметаны, и особенно свежего творога, является излишняя кислотность, обусловленная развитием термофильных молочнокислых палочек. Творог нередко ослизняется в результате развития слизиобразующих рас молочнокислых стрептококков. При интенсивном развитии уксуснокислых бактерий появляется тягучесть сгустка.

Среди плесеней основным возбудителем порчи кисломолочных продуктов является молочная плесень (*Geotrichum candidum* (рис. 2.31), или *Oidium lactis* по ранней номенклатуре), растущая на поверхности продукта в виде толстой, бархатистой пленки кремового цвета. При этом ощущается прогорклый вкус продукта, посторонний неприятный запах, так как этот гриб обладает высокой протеолитической и липолитической способностью.

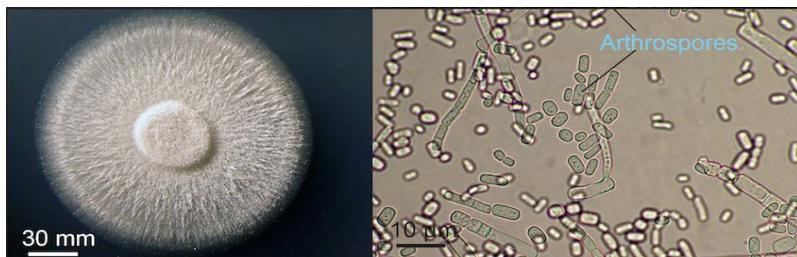


Рис. 2.31. Макро- и микроскопический вид *Geotrichum candidum* (пример дрожжеподобного штамма)

Для изготовления *болгарской простокваши* (йогурта) используется симбиотическая закваска, содержащая термофильный молочнокислый стрептококк (*Streptococcus thermophilus*) и болгарскую палочку (*Lactobacillus bulgaricus*) (рис. 2.32) в определенном соотношении. Болгарская палочка обогащает аромат простокваши, а термофильный стрептококк смягчает ее вкус.

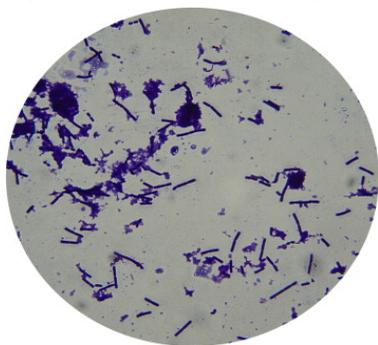


Рис. 2.32. Микрофотография йогурта: *S. thermophilus* и *L. bulgaricus*

Близкой к болгарской простокваше по способу приготовления является южная простокваша.

Ацидофильная простокваша – продукт также близкий к болгарской простокваше, но в состав закваски, кроме термофильного молочнокислого стрептококка, входит ацидофильная палочка (*Lactobacillus acidophilus*). Для получения необходимой консистенции продукта используют слизеобразующие и не образующие слизи расы ацидофильной палочки.

Ацидофильные продукты имеют лечебное значение. Ацидофильная палочка способна вырабатывать антибиотические вещества, подавляющие развитие многих гнилостных бактерий и возбудителей кишечных инфекций. Ацидофильное молоко и ацидофильную пасту готовят на закваске ацидофильной палочки в определенном соотношении слизистых и неслизистых рас. Для ацидофилина применяют смесь трех заквасок: закваски ацидофильной палочки, закваски для творога и кефирной закваски в соотношении 1:1:1.

В состав закваски для *ряженки* входят термофильный молочнокислый стрептококк (*Streptococcus thermophilus*) и в небольшом количестве болгарская палочка. Ряженка вырабатывается из смеси молока и сливок. Смесь перед заквашиванием нагревается до температуры 95 °С в течение 2–3 часов, в результате чего приобретает цвет и вкус теплого молока.

Имеются и другие кисломолочные продукты, которые изготавливают на так называемых естественных заквасках – молоко заквашивается сгустком (остатком) предыдущей выработки. В этом сгустке находятся специфические активные молочнокислые бактерии, часто еще и дрожжи. Примером могут служить различные национальные молочнокислые напитки, например чал, мацони, курунга, айран.

Готовая кисломолочная продукция контролируется на наличие бактерий группы кишечной палочки по бродильному титру и на наличие посторонней незаквасочной микрофлоры (микроскопически). Бродильный титр кисломолочных напитков (кефира, йогурта, ряженки) должен быть не ниже 0,3 см³.

Традиционный айран изготавливается из коровьего молока с добавлением воды и соли. Вместо коровьего иногда используют козье или овечье молоко. Изготавливается с использованием закваски болгарской палочки и *Streptococcus thermophilus*. Айран обычно содержит 94 % воды, 1,2–1,5 % жира, 1,7 % белка и 0,75 % молочной кислоты.

Болгарский айран имеет более высокую кислотность (до 1,16 %). В качестве первоначальной закваски используется сычуг убитого новорожденного теленка. Для этого сычуг солят и высушивают. После получения айрана становится возможным в дальнейшем использовать в качестве закваски уже изготовленный айран.

Микрофлора кисломолочных продуктов со спиртовым брожением (кефир и кумыс).

При выработке *кефира* используют не чистые культуры микроорганизмов, а естественную симбиотическую грибковую закваску – па-

стерилизованное молоко, сквашенное так называемым кефирными зернами. В таком продукте, помимо основного молочнокислого, происходит также и спиртовое брожение.

Кефирные зерна, инициирующие ферментацию, первоначально создаются в результате аутоагрегации бактерий *Lactobacillus kefiranofaciens* и *Kazachstania turicensis*. В этих кефирных зернах можно обнаружить сложное и весьма изменчивое симбиотическое сообщество, которое может включать уксуснокислые бактерии (такие как *Acetobacter aceti* и *A. rasens*), дрожжи (такие как *Candida kefir* и *Streptomyces cerevisiae*) и ряд видов лактобацилл (род *Lactobacillus*). Несмотря на преобладание различных микробов, в кефирных зернах всегда присутствуют лактобациллы.

Кефирные зерна имеют неправильную форму, складчатую или бугристую поверхность, упругую консистенцию (рис. 2.33). Их размер составляет от 1–2 мм до 3–6 см и более. При микроскопировании наблюдается тесное переплетение палочковидных бактерий, которые образуют как бы остов (stromu), удерживающий в себе остальные микроорганизмы.

Эта бактерия является гетероферментативной молочнокислой палочкой, принимающей участие в процессе сквашивания кефира.

Основная роль в процессе сквашивания и созревания кефира принадлежит мезофильным гомо- и гетероферментативным молочнокислым стрептококкам и дрожжам.

Кефир является, таким образом, продуктом комбинированного брожения: молочнокислого и спиртового. Содержание спирта может быть до 0,2–0,6 %. Образующийся углекислый газ придает продукту освежающий вкус. Выпускаемый промышленностью кефир массового потребления содержит алкоголя очень мало – сотые доли процента.

В кефире иногда появляется запах сероводорода. Причина этого дефекта окончательно не выяснена. Возбудителем его, по-видимому, являются гнилостные бактерии.

Кумыс готовят из кобыльего молока. Приготовление кумыса, как и кефира, основано на молочнокислом и спиртовом брожениях.



Рис. 2.33. Кефирные зерна, симбиоз бактерий и дрожжей

Кобылье молоко отличается более высоким содержанием лактозы, растворенных азотистых соединений и витаминов, особенно витамина С, но в нем меньше жира.

В состав закваски входят термофильные молочнокислые бактерии (болгарская и ацидофильная палочки) и дрожжи, сбраживающие лактозу и обладающие антибиотической активностью. Спиртовое брожение протекает активно; количество спирта достигает 2,0–2,5 %. В зависимости от продолжительности сквашивания и степени созревания получают кумыс разной степени кислотности и с различным содержанием спирта. В настоящее время готовят кумыс и из коровьего молока.

Микробиота плотных жиросодержащих кисломолочных продуктов.

Сливочное масло – один из важнейших продуктов переработки молока. Его вырабатывают из пастеризованных сливок. Количество бактерий в них обычно невелико – от сотен до нескольких тысяч в 1 см³. Это главным образом споровые палочки и микрококки. При выработке масла в него попадают микроорганизмы из маслоизготовителей и другой производственной аппаратуры, воздуха и воды, применяемой для промывки масла. Количество и видовой состав микроорганизмов в сливочном масле зависят от вида масла и способов его изготовления.

Сладкосливочное масло содержит разнообразную микробиоту. Она состоит из остаточной микробиоты пастеризованных сливок и различных посторонних микроорганизмов, попавших в масло извне в процессе его выработки. Это преимущественно споровые и бесспоровые палочковидные бактерии и микрококки, среди которых встречаются способные расщеплять молочный жир и белки.

При положительной температуре хранения сладкосливочного масла количество микроорганизмов в нем увеличивается и тем быстрее, чем выше температура. При температуре 15 °С уже через 5 дней число бактерий в 1 г достигает десятков миллионов преимущественно из-за развития молочнокислых бактерий. При низкой положительной температуре (5 °С) бактерии развиваются медленнее и растут главным образом не молочнокислые, а посторонние – протеолитические спороносные и неспороносные палочки, а также микрококки и дрожжи.

Кислосливочное масло изготавливают из пастеризованных сливок, заквашенных чистыми культурами молочнокислых лактококков (*L. lactis* и *L. cremoris*). В состав закваски вводят также ароматообразующие лактококки (*Lactococcus diacetylactis*). Кислосливочное масло по сравнению со сладкосливочным содержит значительно больше бактерий, главным образом молочнокислых, присутствуют в нем и дрожжи.

Наиболее распространенным пороком сливочного масла является его плесневение, особенно при хранении в условиях повышенной влажности воздуха. Плесени развиваются главным образом на поверхности масла в виде пятен разной окраски. Иногда масло плесневеет внутри, если в нем имеются пустоты, образующиеся при неплотной набивке масла. Плесневение чаще вызывают *Geotrichum candidum*, грибы рода *Penicillium*, реже родов *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium*.



Рис. 2.34. Культура *Cladosporium cladosporioides*

Плесневый гриб кладоспориум (*Cladosporium cladosporioides*) чаще других развивается внутри масла в виде черных точек из-за пигментированного (рис. 2.34) мицелия, особенно при наличии даже очень малых пустот, так как этот гриб способен расти при ограниченном содержании в среде кислорода. Плесени, многие виды которых расщепляют молочный белок и жир, вызывают глубокие изменения, проявляющиеся в осаливании и прогоркании, развитии в

масле гнилостного или других неприятных запахов и привкусов.

Стойкость масла повышается, если непосредственно после выработки его охладить до возможно более низкой температуры. При хранении сливочного масла при температуре -12°C отмирает значительное количество микроорганизмов. При этой температуре масло сохраняется в течение 1–9 месяцев в зависимости от вида.

Рекомендуется длительное хранение сливочного масла при температуре от -20 до -30°C . При хранении масла в пленочной упаковке его микробиота постепенно снижается, а в упакованном в пергамент масле она сохраняется на исходном уровне.

Маргарин молочный имеет микробиоту двух типов: заквасочную, применяемую для сквашивания молока, входящего в состав маргарина, и постороннюю – незаквасочного происхождения.

Заквасочная микробиота представлена гомо- и гетероферментативными молочнокислыми лактококками (*L. lactis*, *L. cremoris*, *L. diacetylactis*) с определенной кислото- и ароматообразующей активностью. Продукты брожения этих стрептококков в основном и определяют органолептические достоинства маргарина.

Посторонняя микробиота маргарина разнообразна, она состоит из микроорганизмов сырья и микроорганизмов, попавших в ходе технологического процесса извне.

При порче маргарина может происходить его прогоркание, повышение кислотности, плесневение. Для защиты от микробной порчи вводят в продукт бензойную и сорбиновую кислоты и их соли.

Микробиота сыра.

Сыр представляет собой ценный по вкусовым и питательным свойствам продукт переработки молока. Свойства сыра – вкус, аромат, консистенция, рисунок – формируются в результате сложных биохимических процессов, основная роль в которых принадлежит микроорганизмам. Большое влияние на качество готового продукта оказывает также сырье – молоко, и прежде всего его чистота, т. е. степень обсемененности нежелательными для сырделия микроорганизмами.

На протяжении всех технологических этапов производства сыра в сырной массе происходит накопление молочнокислых бактерий, которые становятся основной микробиотой сыра. В небольшом количестве встречаются и другие микроорганизмы: гнилостные, БГКП, маслянокислые, пропионовокислые, а также дрожжи.

При созревании твердых сыров типа «Голландский» основная роль принадлежит мезофильным молочнокислым лактококкам (*L. lactis*, *L. cremoris*, *L. diacetylactis*). Некоторое значение имеют и мезофильные молочнокислые палочки.

В микробиоте созревающих сыров типа «Швейцарский» преобладают термофильные молочнокислые палочки, преимущественно сырная палочка (*Lactobacillus helveticus*) (рис. 2.35), которым принадлежит ведущая роль в молочнокислом процессе. Основная функция культуры *L. helveticus* – предотвращение вкуса горечи и придание орехового привкуса конечному продукту.

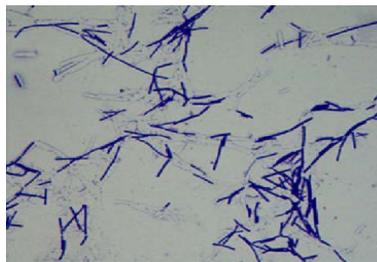


Рис. 2.35. *Lactobacillus helveticus*

При производстве сыра «Эмменталь» *L. helveticus* используется в сочетании с культурой пропионибактерий (род *Propionibacterium*), которая отвечает за образование отверстий («глаза») за счет производства углекислого газа.

В созревании сыра принимают участие также термофильные стрептококки, а также мезофильные молочные бактерии. После того как

молочный сахар будет сброжен, развитие молочнокислых бактерий прекращается, и они начинают постепенно отмирать.

Развиваются в созревающих сырах (особенно в «Швейцарском») также пропионовокислые бактерии. Они сбрасывают молочную кислоту с образованием пропионовой и уксусной кислот и углекислого газа.

При созревании твердых сыров, особенно в начальной стадии процесса, могут активно развиваться бактерии группы кишечной палочки, а в конце созревания – маслянокислые. Их рост сопровождается обильным выделением углекислого газа и водорода, при этом получается неправильный рисунок сыра и даже происходит его вспучивание.

Порча твердых сычужных сыров чаще проявляется в плесневении. Развиваются обычно грибы рода *Penicillium*, встречаются и другие (*Alternaria*, *Cladosporium*). Грибы рода *Oospora* вызывают изъязвление корки. Эта плесень солеустойчива.



Рис. 2.36. Порча корки сыра плесенью *Chrysosporium sulfureum*

Еще один плесневый гриб, вызывающий поверхностную порчу сыра, – это *Chrysosporium sulfereum*, который обычно встречается только в сырах с натуральной коркой (рис. 2.36). Гриб растет на сырах, где уже выросли другие грибы, а это означает, что он обычно появляется на старых сырах после сопутствующего роста другой плесени, такой как *Penicillium* и

Scopulariopsis (рис. 2.37). Этот гриб предпочитает прохладную температуру хранилищ и складов.

Частое мытье сыров с коркой предотвращает заселение многими другими видами плесени. Сыры с созревающей коркой не выдерживаются достаточно долго, чтобы не допустить появления на них плесени.

Одним из источников контаминирования сыров плесенью являются камеры для созревания и хранения сыров. Воздух, стены и стеллажи обсеменены плесенью. Кроме выполнения общих требований к содержанию камер хранения, хороший эффект дает озонирование.



Рис. 2.37. Плесень рода *Scopulariopsis*

При выработке мягких, плесневых сыров, кроме молочнокислых бактерий, большое значение имеют плесени, которыми специально заражают сыры. Своеобразие вкуса этих видов сыров обусловлено изменением не только молочного сахара и белковых веществ, но и молочного жира, расщепляемого плесенями с образованием летучих жирных кислот.



Рис. 2.38. Белая плесень *Penicillium candidum* на поверхности сыра

которое выделяет ферменты, способствующие созреванию. Помимо плесеней, на поверхности сыра развиваются дрожжи.

В созревании сыра «Рокфор» (рис. 2.39) участвует гриб *Penicillium roqueforti*.

Penicillium roqueforti – широко распространенный в природе сапротрофный гриб рода *Penicillium*,

В производстве сыра «Закусочный» используют (для опрыскивания поверхности) *Penicillium candidum* и *P. camemberti*. Эти два вида плесени рода *Penicillium* также используются для изготовления сыров «Бри» и «Камамбер». Они образуют на поверхности съедобное войлокообразное белое покрытие (рис. 2.38),



Рис. 2.39. Поверхность среза сыра «Рокфор»

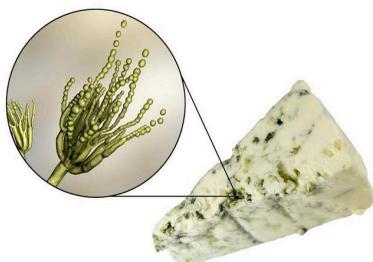


Рис. 2.40. Морфология конидионосца гриба *Penicillium roqueforti*

может быть выделен из почвы, разлагающихся органических веществ и растений. Основное промышленное применение этого гриба – производство сыров с плесенью. Этот гриб не образует видимых плодовых тел. Важной особенностью данного вида является образование бесполовых спор характерной кистевидной конфигурации (рис. 2.40).

Споры гриба вносят внутрь сырной массы. Для создания благоприятных условий роста гриба сыр-

ную головку прокалывают по всей толще. В созревании сыра положительную роль играет и поверхностная микробиота, в состав которой входят дрожжи, микрококки и палочковидные бактерии.

Плавленные сыры вырабатывают главным образом из зрелых сыров. Их микробиота в основном представлена спороносными бактериями (*Bacillus subtilis*, *B. simplex*), встречаются также молочнокислые бактерии (палочки и стрептококки), сохранившиеся при плавлении сыра. Количество бактерий в этих сырах сравнительно невелико – несколько тысяч клеток в 1 г. При холодильном хранении (до 5 °С) существенных изменений микробиоты не наблюдается в течение длительного времени.

Наиболее опасными, вызывающими вспучивание сыров являются маслянокислые бактерии (рис. 2.41).



Рис. 2.41. Вспучивание головки сыра

Основным видом порчи этих сыров является плесневение. Во избежание этого вида порчи в сыры вводят антибиотик.

2.5. Микробиота мяса и виды его порчи, вызываемые микробами

Микробиота свежего мяса и пути его контаминации.

Мясо представляет собой ценный пищевой продукт, а говядина является одним из наиболее часто потребляемых видов мяса во всем мире. Однако мясные продукты всегда скоропортящиеся. Микроорганизмы могут стать причиной порчи мясных продуктов и пищевых отравлений. Поскольку мясо богато питательными веществами и имеет высокое содержание воды, микроорганизмы из технологической среды могут легко колонизировать его. Даже при хранении в холодильных установках психрофильные бактерии могут размножаться в мясе, тем самым увеличивая риск его порчи. Кроме того, зафиксированы вспышки токсикоинфекций у людей, вызванные контаминацией говяжьего мяса опасными патогенами *Escherichia coli* O157 и *Salmonella* spp., несмотря на поддержание высокого уровня гигиены производства.

Известны два пути обсеменения микроорганизмами органов и тканей животных – эндогенный и экзогенный.

Эндогенное обсеменение микроорганизмами может происходить при жизни животного и после убоя.

Прижизненное эндогенное обсеменение микроорганизмами наблюдается у животных, больных инфекционными болезнями. Распространение возбудителя по органам и тканям зависит от вида инфекции, ее течения и состояния организма больного животного. У здоровых животных прижизненное эндогенное микробное обсеменение органов и тканей происходит также при ослаблении естественной сопротивляемости (резистентности) организма под влиянием различных неблагоприятных (стрессовых) факторов: утомления, голодания, переохлаждения или перегревания, травм и пр.

При нормальном состоянии защитных сил животных стенка кишечника представляет собой почти непреодолимое препятствие для микроорганизмов. В результате снижения сопротивляемости создаются благоприятные условия для проникновения микроорганизмов из кишечника через лимфатические и кровеносные сосуды в органы и ткани, в том числе и мышцы. При этом могут проникать не только сапротрофы (постоянные обитатели кишечного тракта), но и некоторые патогенные бактерии (например, сальмонеллы), носителями которых нередко являются сельскохозяйственные животные.

В обсеменении микроорганизмами большое значение имеют травмы.

Посмертное эндогенное обсеменение начинается сразу после обескровливания животного, так как в этом случае стенка кишечника становится легко проницаемой для микроорганизмов. Следовательно, необходимо как можно быстрее удалять кишечник из брюшной полости.

Сразу после убоя животного мясо имеет значение рН, близкое к нейтральному. С развитием посмертного окоченения начинается образование молочной кислоты из гликогена и реакция становится кислой. При этой реакции задерживается развитие гнилостных микроорганизмов. В мышцах утомленных или больных животных гликогена содержится меньше, поэтому такое мясо портится быстрее.

Экзогенное обсеменение мяса происходит во время убоя животных и при последующих операциях разделки туш. Источниками экзогенного обсеменения могут служить кожные покровы животных, содержащее их желудочно-кишечного тракта, воздух, вода, оборудование, транспортные средства, инструменты, руки, одежда и обувь работников, имеющих контакт с мясом. Любые контаминирующие бактерии на разделочном ноже вскоре будут обнаружены на мясе в различных частях туши. Микроорганизмы могут попадать в глубокие слои мышц

при обескровливании туши. В это время создается отрицательное давление и, пока работает сердце, кровь засасывается в перерезанные вены и разносится по всей туше, а загрязнение крови происходит от шкуры.

Наряду со случайными сапротрофными бактериями на тушу могут попадать патогенные микроорганизмы (в основном сальмонеллы) – чаще всего они происходят из желудочно-кишечного тракта, но также из среды самого убойного цеха. В глубинных слоях мышц микроорганизмов содержится меньше, чем на поверхности.

Видовой состав поверхностной микробиоты мяса разнообразен и случаен. Обсеменение туш происходит из разных источников, включая окружающую среду и оборудование, с которым мясо контактирует во время убоя и переработки, но шкура убойного животного остается важным источником заражения.

Среди бактерий, выявляемых на мясе, часто обнаруживаются кокковые формы (микрококки и стафилококки), палочковидные неспоровые грамотрицательные микроорганизмы родов *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Salmonella*, бактерии группы кишечной палочки и грамположительные микроорганизмы – лактобациллы, микобактерии, спорообразующие грамположительные палочковидные микробы и др.

Среди плесневых грибов, обнаруживаемых на мясе, наиболее часто можно выявить такие виды, как представители родов *Penicillium*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Thamnidium*. Дрожжи и дрожжеподобные грибы обычно представлены родами *Torulopsis*, *Rhodotorula* и др.

Обнаруживаемые на мясе микроорганизмы развиваются при разной температуре.

Среди мезофильных микроорганизмов на мясе можно обнаружить грамположительные и грамотрицательные бесспоровые и спорообразующие палочковидные бактерии, кокковые формы.

Микробиота охлажденного мяса.

Мясо охлаждают при температуре 0...–1 °С, относительной влажности воздуха 95–98 % и скорости циркуляции воздушных потоков 2 м/с.

Мясо и мясные продукты считают охлажденными, если температура в их толще (на глубине не менее 6 см) достигает 0–4 °С, а переохлажденными (подмороженными) – при –2 °С ± 1 °С.

Поверхность туш, направленных на охлаждение, может загрязняться различными микроорганизмами еще в убойно-разделочном цехе.

Во время охлаждения и хранения на поверхности охлажденного мяса неоспоримое преимущество получают *психрофильные микроорганизмы*. Скорость их развития и размножения зависит от ряда факторов. Так, например, на сухой поверхности мяса микроорганизмы развиваются менее интенсивно, чем на увлажненной. Увеличение температуры и влажности воздуха в помещениях камер охлаждения также приводит к повышению интенсивности развития и размножения микробиоты. При нарушениях режимов процесса охлаждения (слишком медленном) значительный рост численности микроорганизмов отмечается не только на поверхности, но и в глубоких слоях туш, куда проникают подвижные формы микроорганизмов, содержащиеся на поверхности мяса и в лимфатических узлах.

Состав микробиоты на поверхности охлажденного мяса разнообразен: от 2 до 40 % обычно составляют различные кокковые формы, молочнокислые палочки, спорообразующие аэробные и анаэробные микроорганизмы; 15–45 % общего количества приходится на бесцветные бактерии из родов *Pseudomonas* и *Achromobacter*, 4–20 % – на пигментные бактерии.

На поверхности мяса при его охлаждении и хранении можно выделить опасные для здоровья потребителей микроорганизмы, такие, как сальмонеллы, патогенные стафилококки и стрептококки, спорообразующие виды – *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* и др.

На охлажденном мясе по мере увеличения сроков его хранения в аэробных условиях более преобладающими становятся палочковидные неспоровые грамотрицательные аэробные бактерии. Наиболее активными считаются микробы из родов *Pseudomonas* и *Achromobacter*, которые являются одними из основных микроорганизмов порчи мяса.

Хранение охлажденного мяса в анаэробных условиях (без доступа кислорода в вакуумной упаковке, в атмосфере азота) сопровождается размножением палочковидных неспоровых грамположительных бактерий из родов *Lactobacillus* и *Microbacterium*. Значительное место в микробиоте охлажденного мяса занимают плесневые грибы и дрожжи.

Микроорганизмы из рода *Achromobacter* развиваются и размножаются на поверхности мяса при доступе воздуха, образуя при сильном поражении налет серовато-белого цвета.

Лактобациллы обычно разлагают углеводы с образованием кислоты. Они могут вызвать позеленение мяса и мясных продуктов, особенно при хранении без доступа кислорода. На поверхности продукта рост молочнокислых палочек проявляется в виде слизи и может быть обнаружен невооруженным глазом.

Микробиота мороженого и размороженного мяса.

Считается, что низкие температуры сами по себе не вызывают гибели микроорганизмов, вместе с тем при хранении происходит отмирание значительной части неспорových форм микробов. Причиной такого явления может быть, с одной стороны, разрушение клеток микроорганизмов под действием кристаллов льда, образующихся как вне, так и внутри клетки, а с другой – старение микробов при хранении продукции. Большую роль в отмирании микроорганизмов играет и изменение pH среды.

Разные виды микробов неодинаково реагируют на воздействие холода. Неспоровые и вегетативные формы спорových бактерий отмирают быстрее, чем споры. Наиболее устойчивыми к воздействию низких температур считаются кокковые формы бактерий, плесени и дрожжи.

Скорость отмирания микроорганизмов зависит от условий замораживания и хранения продукта. Так, например, бактерии при температуре от -5 до -12 °C погибают быстрее, чем при температуре $-18...-20$ °C. При хранении замороженного мяса при температуре $-18...-20$ °C содержание мезофильных и психрофильных микроорганизмов может снижаться до 10 %, нередко даже до долей процента. Однако полного отмирания бактерий практически не наблюдается.

На поверхности мяса, замороженного в парном виде, содержится меньше микробиоты по сравнению с мясом, замороженным в охлажденном состоянии, потому что в процессе предварительного охлаждения количество микроорганизмов увеличивается.

На степень микробного загрязнения поверхности размороженного мяса оказывают влияние нарушение технологических режимов оттаивания, ухудшение санитарно-гигиенических условий.

Микробиота упакованного в модифицированной атмосфере мяса.

В последнее время среди покупателей сохраняется и продолжает расти тенденция приобретения в розничной торговле упакованного мяса, а не покупка неупакованного мяса в мясных лавках. Свежее мясо, например говядина и продукты из говядины, упаковываются в среде с модифицированной атмосферой и высоким содержанием кислорода и углекислого газа (соотношение $O_2:CO_2$ составляет $>70 \text{ \%} : >20 \text{ \%}$). Такая атмосфера способна сохранить уровень оксимиоглобина, ответственного за желаемый ярко-красный цвет. Кроме того, существуют вариации модифицированной атмосферы упаковки. Например, в Норвегии добавление около 1 % монооксида углерода в модифицирован-

ной атмосфере широко используется производителями благодаря своим стабилизирующим цвет и антибактериальным свойствам. Однако в США и ЕС использование с этой целью угарного газа запрещено. Белое мясо, например мясо домашней птицы, обычно упаковывается в модифицированной атмосфере при соотношении $N_2:CO_2$, составляющем 70 %:30 %.

Помимо сохранения желательного красного цвета оксимиоглобина, кислород ингибирует строгие анаэробы, например клостридии. В то время как высокий уровень кислорода должен стимулировать развитие аэробов, углекислый газ подавляет их аэробный респираторный рост. Механизмы такого подавления включают прямое ингибирование бактериальных ферментов и изменение функции клеточных мембран, внутриклеточного pH и физико-химических свойств белков у микроорганизмов.

Еще одним широко используемым в настоящее время методом упаковки мяса для увеличения срока его хранения является вакуумная



Рис. 2.42. Вакуумное упакование мяса

скин-упаковка. Однако темно-пурпурный цвет говядины (рис. 2.42), упакованной под вакуумом, вызванный образованием дезоксимиоглобина, принимается не всеми потребителями, а уровень остаточного кислорода, превышающий 0,15 %, в продукте может даже вызвать потемнение. Отсутствие кислорода в среде упаковки может способствовать развитию строгих анаэробов.

Помимо модифицированной атмосферы, низкая температура хранения является еще одним серьезным селективным препятствием, определяющим состав и динамику микробиоты хранимого мяса. Модифицированная атмосфера и холодильное хранение оказывают селективное воздействие на бактерии, вызывающие порчу.

В целом упакованное в модифицированной атмосфере мясо имеет уникальные микробиологические характеристики. Автохтонные контаминанты упакованного мяса возникают во время убоя из шкур и кишечника убойных голов, а поступление аллохтонных контаминантов происходит из экологических ниш, например из среды бойни, перерабатывающих предприятий и от работников во время транспортировки, а также первичной и вторичной переработки мяса.

Фракция микроорганизмов, которая в селективных условиях становится доминирующей и вызывает порчу упакованного мяса, представляет собой так называемые эфемерные или специфические микробы.

В мясе, хранящемся в аэробных условиях, различные психротолерантные виды псевдомонад и энтеробактерий являются доминирующими микроорганизмами порчи. В мясе, упакованном в модифицированной атмосфере или в вакууме, факультативно аэробные психротрофные молочнокислые бактерии, особенно виды *Lactobacillus* spp., *Carnobacterium* spp., *Leuconostoc* spp., а также *Serratia* spp. вместе с бактерией *Brochothrix thermosphacta* изолируются наиболее часто. В мясе, упакованном под вакуумом, причиной порчи и вздутия упаковки являются грамотрицательная бактерия *Shewanella putrefaciens* и строгие анаэробные клостридии.

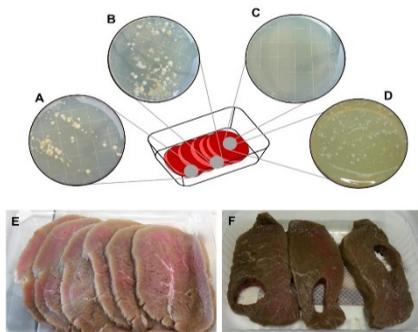


Рис. 2.43. Микробиота упакованного в модифицированной среде мяса

На рис. 2.43 представлено пространственное распределение микробиоты на говяжьих стейках, определяемое с помощью контактных пластин. Инкубированные контактные пластины из случайного розничного образца (А–С) показывают микробную контаминацию исключительно снаружи говяжьего стейка (А, В), но не на поверхности среза (С). Порча по краям говяжьего стейка в форме образования зеленого пятна (Е)

имеет аллохтонную природу (происходит из материала упаковки). Контактные пластины из образца партии испорченного стейка показали равномерное распределение бактерий на поверхности (D) и однородное зеленое изменение цвета (F).

Виды микробиологической порчи (пороки) мяса.

Порча продуктов питания представляет собой процесс изменения их качественных показателей. Чаще всего порча продуктов определяется по факту изменения их органолептических свойств, однако под этим термином подразумевают весь комплекс нарушений показателей качества, в том числе определяемых лабораторными тестами.

Порча продуктов является метаболическим процессом, при котором они становятся нежелательными для употребления человеком в пищу. Сами по себе испорченные продукты могут оставаться безопас-

ными после поедания, т. е. не способными вызывать заболевание. Согласно некоторым суждениям экологов, продукция микробами отталкивающих неприятных запахов является всего лишь эволюционным механизмом конкуренции за питательный ресурс. Химические вещества выделяются различными микроорганизмами, присутствующими в продуктах. В испорченном продукте питания состав микробиоты часто очень динамичен. Некоторые микроорганизмы, такие как молочнокислые бактерии и плесени, выделяют соединения, ингибирующие конкурентов микробного сообщества. Микроорганизмы порчи часто являются обычными обитателями почвы, воды или кишечного тракта животных.



Рис. 2.44. Ослизнение мяса

Ослизнение мяса вызывается различными микроорганизмами: лактобациллами, бактериями из рода *Pseudomonas*, дрожжами, микрококками и др. (рис. 2.44) Ослизнение – это сложный процесс, происходящий на поверхности продукта и сопровождающийся образованием налета различного цвета (серый, зеленоватый) с неприятным запахом. Начальный

процесс ослизнения отмечается невооруженным глазом, когда содержание микробов достигает 10^7 – 10^8 на 1 см^2 , а сильно выраженный – до 10^{10} на 1 см^2 . Ослизнение мяса возникает при повышении температуры и влажности.

Плесневение мяса вызывается микроскопическими плесневыми грибами и сопровождается их большим скоплением в продукте с появлением специфического белого, серого или серо-зеленого налета плесени и запаха. Плесени более активно прорастают на мясе в неблагоприятных для размножения бактерий условиях: при повышенной кислотности, пониженной температуре (даже на замороженном мясе), после обработки продукции антибиотиками тетрациклинового ряда (рис. 2.45).



Рис. 2.45. Плесневение мяса

На поверхности мяса после убоя животных и разделки туш почти постоянно присутствуют микроскопические грибы, наиболее часто обнаруживаются представители родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Cladosporium* и др.

Плесени, выделенные из мяса, иногда опасны для здоровья людей и животных. Среди плесневых грибов рода *Aspergillus*, содержащихся на поверхности говядины, могут быть токсичные штаммы, но они выделяются довольно редко.

Изменение цвета мяса при хранении происходит обычно в результате увеличения количества микроорганизмов. Красное окрашивание мяса появляется при развитии чужеродной палочки. Голубоватый, коричневатый, зеленоватый цвета продукта вызываются микроорганизмами из рода *Pseudomonas*, позеленение мясных продуктов – бактериями *Lact. viridescens*, размножающимися при низкой температуре (рис. 2.46).



Рис. 2.46. Изменение цвета мяса

Свечение мяса отмечают при наличии на его поверхности фотобактерий (род *Photobacterium*). В этом случае мясо после зачистки пораженных участков направляют на промышленную переработку.

Гниение мяса – это сложный процесс, характеризующийся расщеплением белковых веществ под воздействием протеолитических ферментов микробного происхождения. Наряду с белками в процессе гниения распадаются также жиры и углеводы. Гнилостные процессы сопровождаются появлением неприятного запаха и разложением мяса.

Обычно гнилостное разложение начинается под воздействием аэробной или факультативно анаэробной микрофлоры. Анаэробные формы микроорганизмов позднее вовлекаются в процесс и вызывают соответствующие изменения в глубоких слоях мяса.

К протеолитическим аэробным микроорганизмам относятся *Bacillus subtilis* (сенная палочка), *Bac. mesentericus* (картофельная палочка), *Bac. mycoides*, бактерии из рода *Escherichia coli* и др. Особенно сильно выраженными протеолитическими свойствами обладают бактерии рода *Proteus*. Среди анаэробов, участвующих в процессе гниения, следует отметить *Clostridium perfringens*, *Cl. sporogenes*, *Bacillus putrefaction* и др.

2.6. Микробиота пищевого яйца

Яйцо представляет собой ценный пищевой продукт, который люди употребляли с доисторических времен. Оно обладает многими ценными пищевыми качествами, однако при неправильном хранении или несоблюдении технологии получения яйца могут быстро портиться и стать причиной опасных инфекционных болезней.

Куриное яйцо имеет три защитные оболочки от проникновения микроорганизмов: внешний восковидный слой, собственно оболочка и подскорлуповая оболочка. Кроме того, внутри яйца имеется фермент лизоцим, обладающий бактерицидным действием в отношении грамположительных бактерий. Лизоцим представляет собой антибактериальное вещество.

Свежеснесенные яйца от здоровой птицы не содержат микробов и могут оставаться длительное время стерильными, так как обладают невидимой глазом защитной оболочкой от микроорганизмов – *кутикулой*. Но во время хранения она разрушается, открывая ворота для проникновения микробов. Число пор на 1 см² скорлупы достигает 100 и более (рис. 2.47).



Рис. 2.47. Микроскопическая структура скорлупы куриного яйца

Некоторые бактерии, особенно подвижные грамотрицательные микроорганизмы, могут проникать через поры яичной скорлупы, способствует этому влажная оболочка. Наиболее опасным является проникновение внутрь яйца сальмонелл, в результате чего оно становится опасным для употребления.

Существует два пути обсеменения яйца микробами – это эндогенный и экзогенный.

Эндогенное обсеменение происходит в яичнике и яйцевоме больших несушек. Наиболее часто яичники инфицированных кур-несушек могут быть источником опасного микроорганизма *Salmonella enterica*, содержащегося в желтке. Попадание в желток опасных микроорганизмов чаще происходит до снесения яйца.

Экзогенное обсеменение происходит через поры скорлупы при содержании микробов на ее поверхности или в окружающей среде. Источниками внешней контаминации цельных яиц обычно являются

птичий помет, гнездовой материал, корма, воздух помещения и оборудование. Поверхность яиц может содержать различные типы бактерий, а именно представителей родов *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Micrococcus* и *Bacillus*, а также *E. coli*. Мытье яиц помогает снизить уровень бактериальной контаминации.

На скорость проникновения микробов в яйцо оказывают влияние температура и влажность воздуха, степень свежести яиц, инаktivация лизоцима, подвижность микробов и т. д.

Виды порчи яиц.

Яйца могут подвергаться различным видам порчи. Большинство микроорганизмов, вызывающих порчу яиц, – это плесень или аэробные бактерии, а иногда и анаэробные.

Наиболее часто порча яиц вызвана грамотрицательными подвижными палочками: *Pseudomonas*, *Proteus*, *Alcaligenes*, *Aeromonas* и колиформными бактериями. Основным микробом порчи яиц считается *Proteus vulgaris*, который вызывает порок, связанный с изменением цвета желтка в черный цвет из-за продукции сероводорода (рис. 2.48); в меньшей степени этот порок вызывается другой бактерией – *Pseudomonas melanovogenes*.



Рис. 2.48. Порча яйца, вызванная действием *Proteus vulgaris*

Рассмотрим более подробно основные виды порчи яиц.



Рис. 2.49. Зеленая гниль яйца, вызванная *Pseudomonas fluorescens*

Гниение яиц. Это процесс разложения яичного белка протеолитическими ферментами микробов. В зависимости от вида микроба, вызывающего гниение, различают следующие виды гниения яиц.

Зеленая гниль (рис. 2.49) появляется в результате проникновения в яйцо микробов рода *Pseudomonas*. Псевдомонады образуют зеленый пигмент, который придает окраску содержимому яйца. Этот порок воз-

никает в результате экзогенного проникновения через скорлупу штаммов *Pseudomonas fluorescens*.

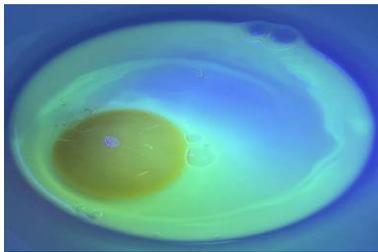


Рис. 2.50. Люминесценция содержимого яйца *Pseudomonas fluorescens*

тура самого яйца, приводит к всасыванию загрязненной воды через скорлупу остывающего яйца.

Черная гниль (рис. 2.51) появляется при размножении *Proteus vulgaris* и некоторых представителей рода *Pseudomonas*. Протеи часто являются представителями кишечной микрофлоры птиц, поэтому фекальное загрязнение может привести к проникновению этих бактерий внутрь яйца. Содержимое яйца разжижается и принимает коричневатый или черный оттенок.

Образовавшиеся газы часто разрывают скорлупу, а содержимое выливается на соседние яйца и загрязняет их.



Рис. 2.51. Черная гниль яиц



Рис. 2.52. Красная гниль яйца, вызванная ростом *Serratia marcescens*

Ранние стадии гниения невозможно обнаружить при обычном просвечивании, но зеленый пигмент демонстрирует сильную флуоресценцию в ультрафиолетовом свете (рис. 2.50). Проникновение псевдомонад через скорлупу облегчается использованием холодной воды для мытья яиц. Доказано, что погружение яиц в промывную воду более низкой температуры, чем температура

Красная гниль яйца развивается при размножении в нем микроорганизма *Serratia marcescens* (рис. 2.52). Этот вид гнили начинается с внутренней поверхности оболочки яйца, поскольку контаминация серратиями исключительно внешняя. Температура инкубации оказывала заметное влияние на контаминацию яиц бактерией *S. marcescens*.

Смешанная гниль вызывается *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, аэробными бациллами, протейями и другими микробами. При этом изменяется консистенция белка (разжижается) и его окраска. Чаще всего он становится серым и издает гнилостный запах.

Плесневение яиц. Из почвы и с загрязненных предметов на поверхность скорлупы яйца попадают плесневые грибы и актиномицеты.

При низких положительных температурах и повышенной влажности споры грибов прорастают и проникают в поры скорлупы, а затем на подскорлуповые оболочки (рис. 2.53). Наиболее благоприятные условия они находят вблизи воздушной камеры. При овоскопии пораженных яиц видны темные пятна – колонии грибов. В последующем гифы грибов пронизывают белок, образуя разветвленную сеть, и с помощью ферментов разжижают его. Среди грибов чаще обнаруживают плесневые грибы родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* и др. В местах развития плесневых грибов гнилостная микрофлора обычно отсутствует.



Рис. 2.53. Плесневение яиц

Среди грибов чаще обнаруживают плесневые грибы родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* и др. В местах развития плесневых грибов гнилостная микрофлора обычно отсутствует.

Предотвращение развития микрофлоры при хранении яиц.

Длительное хранение яиц даже при отсутствии в них микробов приводит к изменению их содержимого.

Консервирование яиц. Яйца, предназначенные для длительного хранения, консервируют. Существуют физические и химические методы консервирования яиц. Из физических методов применяют высушивание и замораживание.

Высушивание яичной массы проводят путем распыления в дисковых сушилках. В яичном порошке содержится 5–9 % воды. В таких условиях развитие микробов не происходит, но они могут оставаться жизнеспособными длительное время. Наряду с сапротрофами в яичный порошок попадают и возбудители инфекционных болезней. Среди них бывают и сальмонеллы, которые сохраняются в яичном порошке в течение 4–9 месяцев.

Замораживают содержимое только доброкачественных яиц. Белок и желток смешивают, фильтруют, разливают в жестяные банки, которые запаивают. Полученную замороженную смесь хранят при темпе-

ратуре $-5...-10^{\circ}\text{C}$. В меланже могут содержаться *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *Bac. mesentericus* и другие микробы, которые попадают из окружающей среды. В процессе хранения часть микробов погибает. Оставшиеся живые микробы после размораживания яичной смеси быстро размножаются. Среди них находят представителей рода *Salmonella*. Поэтому перед разбиванием яйца его поверхность очищают, дезинфицируют.

Химические способы обработки яиц для хранения преследуют цель предотвратить попадание микроорганизмов через поры скорлупы (рис. 2.54). Для этого используют растворы химических соединений, которые не изменяют вкус и качество яиц.

Инфекции, передаваемые через яйцо.

Пищевые яйца, несмотря на свою исключительную важность в питании людей, могут становиться источником заражения человека опасными инфекциями, так как через этот пищевой продукт передаются инфекции, общие для человека и птицы. Яйца птицы, особенно водоплавающей, часто служат источником заражения туберкулезом и сальмонеллезом. Сальмонеллез представляет собой одну из самых опасных пищевых токсикоинфекций человека. Контаминация яиц опасными бактериальными патогенами происходит обоими возможными путями: как эндогенным, так и экзогенным.

Наибольшую санитарную актуальность имеют сальмонеллы, которые широко обнаруживаются в яйцах водоплавающих животных, особенно утиных, но нередко они присутствуют в куриных яйцах. Попавшие в яйцо сальмонеллы беспрепятственно размножаются, так как лизоцим на них не действует. Наиболее благоприятная часть яйца для развития сальмонелл – желток.

Для полного уничтожения возбудителей туберкулеза и сальмонеллеза, а также других инфекций куриные, утиные и гусиные яйца рекомендуется выдерживать в кипящей воде в течение 14 минут.



Рис. 2.54. Обработка яиц для хранения

2.7. Микробиота рыбы

Онтология микробиоты рыб.

Мясо рыбы по химическому составу близко к мясу млекопитающих. Все виды рыбы богаты белковыми и небелковыми азотистыми соединениями, а содержание жира в них зависит от типа и сезона. Мягкие ткани рыбы содержат много белков, жира и воды, но более рыхлая консистенция мяса рыбы способствует быстрому распространению микроорганизмов.

Мышечная ткань рыбы является стерильной, но чешуйки, жабры и кишечник содержат значительные количества микроорганизмов. Микробная популяция рыбы и рыбных продуктов сильно различается и зависит от уровня загрязнения и температуры воды. В сырье могут присутствовать бактерии многих групп, а также вирусы и простейшие: такое рыбное сырье может иметь от 10^3 до 10^8 КОЕ на 1 г продукта.

Кожа, жабры и желудочно-кишечный тракт признаны основными путями проникновения микроорганизмов внутрь рыбы.

На поверхности чешуи, жабрах свежевывловленной морской рыбы обнаруживается микробиота, типично представленная родами *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*) и некоторыми другими. Кроме того, водные обитатели морской среды могут содержать бактерии родов *Alteromonas*, *Flavobacterium*, *Enterococcus*, *Micrococcus*, колиформные бактерии и патогены, такие как *Vibrio vulnificus*, *Shigella* spp. и *Clostridium botulinum* типа E.

Пресноводные рыбы обычно содержат бактерии родов *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus* и колиформные бактерии. Рыба и моллюски, собранные из воды, загрязненной фекалиями человека и животных, могут содержать представителей родов *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium perfringens*, *Vibrio cholera*, вирус гепатита А и норовирус, т. е. опасные патогены человека.

Слизистый слой *эпителиа кожи* обеспечивает механический и химический защитный барьер организма рыбы от внешней среды и патогенных микроорганизмов. Эпидермальная слизь содержит иммуноглобулины, дефенсины, лизоцим, лектиноподобные агглютинины и разнообразные антимикробные пептиды, обеспечивающие широкий спектр антимикробной активности. Кроме того, благодаря своей вязкой природе слизь может связывать и улавливать микробы, а высокая скорость ее секреции может эффективно удалять микробы с поверхности эпидермиса. Однако слизистая оболочка также может быть местом

адгезии для микробов, и многие виды бактерий хорошо приспособлены к уклонению от иммунологических факторов рыбной слизи. Компоненты эпидермальной слизи могут метаболизироваться некоторыми микробами в мутуалистических отношениях между рыбой и кожной микробиотой.

Из числа опасных для человека патогенов контактного заражения на внешнем слизистом слое рыб с большой частотой обнаруживается *Erysipelothrix rhusiopathiae* – агент рожи, однако геномотипы рожистой палочки, обнаруживаемые в морской и наземной средах, не идентичны.

Жабры поддерживают высокие популяции широкого спектра видов и родов бактерий. Из-за непрерывного потока воды, проходящего через жабры, этот орган представляет собой трудную среду обитания для микробов, поэтому микробная колонизация ограничивается защищенными участками, такими как щели между глоточными дугами и пластинками. Тем не менее микробные сообщества на жабрах обычно имеют тот же численный порядок, что и на коже рыб, но ниже, чем в желудочно-кишечном тракте. Видовое представительство обычно аналогично таковому кожной микробиоты рыб.

Кишечная микробиота рыб.

Кишечник содержит сложный консорциум микробов, которые играют решающую роль в развитии и здоровье хозяина как на локальном, так и на системном уровне. Это сообщество состоит из вирусов, простейших, дрожжей и представителей архей и бактерий. Все эти микроорганизмы можно отнести к одной из двух групп в зависимости от их местоположения и проживания в желудочно-кишечном тракте. Одна группа, аллохтонная микробиота, проходит через просвет с кормом или пищеварением и в значительной степени является временной, а другая группа, автохтонная микробиота, живет в непосредственной близости от тканей хозяина на слизистой оболочке или в слое слизи, поэтому являясь резидентной.

Вирусы являются обычными компонентами микробиома кишечника рыб, особенно у морских видов, поскольку океаны содержат в общей сложности 10^{30} вирусных частиц и могут включать до 10^8 частиц в 1 мл. Учитывая обилие бактерий, присутствующих в желудочно-кишечном тракте рыб, бактериофаги являются обычными компонентами данной микробиоты. Так, бактериофаги вибриона *Vibrio parahaemolyticus* были выделены из пищеварительного тракта многих видов рыб.

Археи были обнаружены в образцах фекалий или кишечника многих видов рыб. Их разнообразие незначительное.

Дрожжи являются универсальными компонентами микробиоты желудочно-кишечного тракта рыб. Обычно дрожжи желудочно-кишечного тракта рыб относятся к отделам *Ascomycota* или *Basidiomycota*. Виды *Metschnikowia zobelii*, *Candida tropicalis* и *Trichosporon cutaneum* являются доминирующими дрожжами у некоторых видов морских рыб, а дрожжи *Debaryomyces hansenii*, кандиды, *Saccharomyces cerevisiae* и *Leucosporidium* spp. доминируют в кишечнике радужной форели.

Бактерии обычно являются доминирующими микроорганизмами, присутствующими в желудочно-кишечном тракте рыб. Бактериальные сообщества в желудочно-кишечном тракте рыб разнообразны, включают до 1000 представителей и присутствуют в количествах до 10^{11} клеток на 1 г фекального материала.

Микробиота свежей рыбы.

Степень поверхностного обсеменения рыбы зависит от окружающей среды, географического положения водоема, времени года, орудий лова и вида рыбы. Например, в свежей морской рыбе, выловленной тралом, содержится в 10–100 раз больше бактерий, чем в свежельвленной на удочку рыбе. Причиной является завихрение морского грунта (ила) при буксировке трала.

На поверхности свежельвленной морской рыбы содержится больше всего бактерий семейства *Alcaligenaceae* (по ранней классификации *Achromobacteriaceae*), которые составляют 60 % всей микробиоты. Менее 10 % всей естественной микробиоты на поверхности рыб приходится на следующие роды: *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Vibrio*, *Corynebacterium*, *Bacillus*. Некоторые из них способны вызывать болезни поверхностных покровов у рыб (рис. 2.55).

Микробиота пресноводных рыб в Беларуси и средней полосе России в первую очередь состоит из психрофильных микроорганизмов родов *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Micrococcus*.



Рис. 2.55. Куламентарноз чавычи, вызванный *Flavobacterium columnare*

Внутренние воды часто загрязнены сточными водами, поэтому пресноводные рыбы могут быть носителями патогенных для человека микроорганизмов, чаще всего сальмонелл и стафилококков. Кроме того, в процессе переработки на рыбу могут попадать стафилококки, так как они составляют 40 % микробиоты рук и носоглотки человека. На рыбе могут быть патогенные для нее микроорганизмы, которые безопасны для человека, но могут также встречаться и опасные.

Среди всех бактериальных родов особенно часто ассоциированы с рыбными продуктами *Pseudomonas*. Так, псевдомонада *Pseudomonas enteritis* является причиной пищевых отравлений у жителей тихоокеанского побережья и Японского моря, употребляющих моллюсков каракатицы. Бактерия *Ps. putida*, часто обнаруживаемая в продуктах рыбопереработки, продуцирует нейротоксин тетродотоксин.

Микробиота замороженной и соленой рыбы.

Обычно при замораживании погибает 60–90 % микробиоты свежей рыбы, но такие бактерии, как *Pseudomonas*, микрококки, лактобациллы и фекальные стрептококки, более устойчивы к замораживанию. Хорошо переносят замораживание споры бактерий, дрожжи и грибы.

В замороженной рыбе все также обнаруживаются опасные для человека микроорганизмы (*E. coli*, стафилококки, сальмонеллы, возбудитель ботулизма) в случае их изначального присутствия в свежей рыбе, либо иногда отмечается дополнительная внешняя контаминация. Чтобы получить замороженную рыбу, благополучную с точки зрения санитарии, для замораживания следует использовать свежую рыбу, обработанную при строгом соблюдении санитарно-гигиенических требований.

Посол – один из старейших способов сохранения рыбы. Консервирующее действие посола обусловлено высокой осмотической активностью раствора соли и снижением водной активности (a_w) среды. Соль тормозит размножение бактериальных клеток и влияет на их биохимическую активность.

У соленой рыбы при хранении могут появляться различные дефекты. Некоторые из них обусловлены развитием микроорганизмов. Аэробные бактерии, из-за которых появляется так называемый *фуксин* (красный слизистый налет с неприятным запахом), являются одним из примеров. При этом пороке соленая рыба под воздействием солелюбивых аэробных спорообразующих и пигментообразующих микробов при благоприятных условиях покрывается красноватым налетом.

Солеустойчивые микрококки, образующие красный пигмент, и галлофильные коричневые плесени также вызывают порок соленой рыбы. При поражении плесенью на поверхности рыбы появляются пятна и полосы коричневого цвета. Этот дефект называется *ржавлением*. Коричневые плесени при температуре ниже 5 °С не развиваются.

Слабосоленая сельдь может подвергаться под влиянием развития аэробных, холодо- и солеустойчивых бактерий *омылению*. При этом поверхность рыбы покрывается грязновато-белым мажущимся налетом с гнилостным запахом. В соленой сельди могут выживать и токсигенные бактерии: сальмонеллы, золотистый стафилококк, палочка ботулизма.

Маринование – один из способов консервации, основанный на помещении консервируемого продукта в специальную среду (маринад), как правило, кислую и жидкую. Применяется для предварительной обработки продукта, а также для длительного хранения продукта.

Рыбу маринуют в маринаде, содержащем 6 % уксуса и 13 % поваренной соли при рН 2,8. Содержание микроорганизмов на рыбе при мариновании значительно уменьшается – в 10–1000 раз. Погибают в основном грамотрицательные психрофильные микроорганизмы, сальмонеллы и стафилококки, но выживают лактобациллы и бактериальные споры.

Основными возбудителями порчи маринованной рыбы являются гетероферментативные молочнокислые бактерии *Lentilactobacillus buchneri* и *Levilactobacillus brevis*. В результате жизнедеятельности бактерий выделяется газ, что приводит к бомбажу банок.

Копчение используется человеком с давних пор. Существует два вида копчения: горячее и холодное.

Перед горячим копчением рыбу солят, затем обрабатывают в копильной печи при температуре 85–95 °С. Копчение способствует уменьшению содержания влаги в мясе рыбы на 30 %. Внутри рыбы температура должна подняться до 65 °С в течение 30 минут. Такая температура гарантирует уничтожение психрофильных и мезофильных микроорганизмов, особенно патогенных. Практически после обработки дымом мясо рыбы становится стерильным еще и потому, что в дыме содержится целый ряд веществ, обладающих бактерицидными свойствами. Химические вещества дыма не проникают внутрь мяса рыбы.

Холодное копчение производится дымом при температуре 18–26 °С в течение 2–4 суток. При этом происходит удаление воды и проникновение составных частей дыма в мясо рыбы.

Рассмотрим виды порчи копченой и вяленой рыбы.

Влажное гниение (рис. 2.56) – это процесс порчи рыбы, происходящий из-за психрофильных бактерий, которые вызывают изменения в мышечной ткани копченой рыбы: она становится влажной, липкой, издает острый гнилостный запах.

Сухое гниение рыбы (рис. 2.57) вызывают микрококки и аэробные спорообразующие бактерии, сохранившие жизнеспособность во время копчения, дрожжи и сарцины. Рыба приобретает матовый оттенок, мышечная ткань становится рыхлой.

Плесневение (рис. 2.58) наиболее часто встречается на поверхности рыбы, возбудителями являются плесневые грибы, которые попадают на рыбу как во время копчения, так и после него.

Отравления копченой рыбой могут возникнуть из-за содержания на ней сальмонелл, чаще всего сальмонеллой серовара *Typhimurium*. Отравления может вызывать также *Clostridium botulinum* – возбудителем ботулизма. Реже бывают отравления копченой рыбой, вызываемые *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*. Стафилококки чаще всего обнаруживают в рыбе холодного копчения.



Рис. 2.56. Влажное гниение копченой рыбы



Рис. 2.57. Сухое гниение вяленой рыбы



Рис. 2.58. Плесневение вяленой рыбы

2.8. Возбудители кормовых токсикозов

Микроорганизмы, находясь на поверхности растительной массы, зерна и других продуктов, образуют метаболиты, различные по составу и действию на организм животных. Количество таких продуктов зависит от субстрата и ряда других факторов. В таких условиях чаще развиваются плесневые грибы, многие из которых образуют ядовитые вещества – *микотоксины*. Известно большое количество грибов, которые продуцируют токсичные продукты метаболизма.

Микотоксикозы – незаразные болезни, вызываемые микотоксинами жизнедеятельности грибов, паразитирующих на растениях до скармливания их животным.

Выделено более 300 микотоксинов, продуцируемых представителями 350 видов микроскопических грибов, однако практическое значение как загрязнители кормов имеют лишь 20.

Среди них наиболее распространены и опасны для здоровья животных и человека афлатоксины В₁, В₂, G₁, G₂, М₁ (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. 2.59).

До недавнего времени при определении микотоксикозов основное внимание уделяли возбудителю, поскольку образующий им токсин, его структура и свойства часто были неизвестны. Болезнь называли по продуценту токсина.

В настоящее время с использованием современных методов исследования представилась возможность выделить микотоксины в чистом виде, идентифицировать их, более детально изучить их свойства и действие на организм. В связи с этим микотоксикозы стали называть по их истинной причине – микотоксинам, поскольку гриб, не содержащий токсин, может быть безвредным для животных. Ниже приведено описание некоторых наиболее часто встречающихся и изученных микотоксинов и их продуцентов.

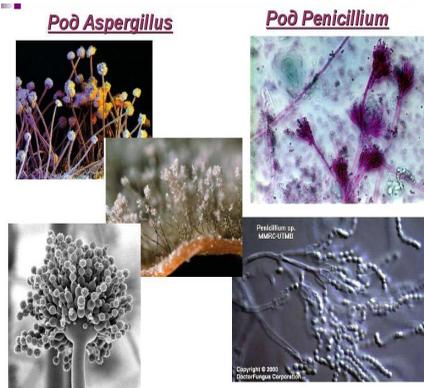


Рис. 2.59. Плесневые грибы – продуценты микотоксинов

Микотоксин *зеараленон* (токсин Ф-2, или ферментативное экстрагенное вещество – ФЭВ) представляет собой белое кристаллическое вещество. Впервые (1927 г.) вызванный им микотоксикоз был зарегистрирован после скармливания животным кукурузы и злаков, пораженных плесневым грибом рода *Fusarium*. Затем эту болезнь обнаружили в ряде стран Европы, а также в США, Канаде, Австралии, Японии.

Зеараленон – это единственный микотоксин, который имитирует действие гормона эстрогена и активирует его рецепторы в клетках. В высоких дозах он вызывает неправильное развитие половых органов у свиней. Свиньи являются наиболее восприимчивыми животными и страдают эстрогенизмом и вульвовагинитом при воздействии высоких доз зеараленона. Токсин присутствует во многих зерновых продуктах.

Наиболее чувствительны к зеараленону свиньи, цыплята, индейки, из лабораторных животных – крысы, мыши, морские свинки. Зеараленон безвреден для человека.

Некоторые производные зеараленона (зеараланол) менее токсичны, не обладают тератогенными, канцерогенными, иммунодепрессивными свойствами и нашли применение в качестве стимуляторов роста крупного рогатого скота и овец. Зеараленон как загрязнитель обнаружен не только в кукурузе, но и в других зерновых. Из пораженного корма был выделен микотоксин Ф-2. Его производные также в основном оказывают влияние на матку, яичники, тестикулы и молочные железы.

Основным продуцентом зеараленона является *Fusarium graminearum*, а также *F. moniliforme* и *F. tricinctum*.

Фузариумы распространены повсеместно. Они поражают хлебные и кормовые злаки, бобовые культуры, различные плоды. Фузариоз злаков обуславливает бесплодие колоса или образование в колосе щуплого, легковесного зерна. Наибольшее количество зеараленона образует *F. graminearum* на зерне кукурузы при влажности 25–30 % и температуре около 30 °С.

Трихотеценовые микотоксины представляют собой большую группу вторичных метаболитов различных представителей дейтеромицетов (несовершенные грибы рода *Fusarium* и др.). Выделено и изучено более 150 таких метаболитов. Из них в качестве природных загрязнителей кормов идентифицированы следующие: токсин Т-2, ниваленол, диоксиниваленол, диацетоксисцирпенол. Они характеризуются антибиотической, фунгицидной и цитостатической активностью.

Трихотецены – бесцветные кристаллические, химически стабильные соединения. Они обладают способностью ингибировать синтез белка и вызывать общие цитотоксические эффекты.

Все трихотецены устойчивы при хранении, выдерживают кипячение с органическими растворителями. Они образуются при разной температуре. Трихотецены высокотоксичны, они вызывают некроз кожи, геморагии во внутренних органах и мышцах, разрушают клетки тимуса, селезенки, яичника, семенников.

После попадания в организм животного микотоксин Т-2 быстро распределяется в его органах и тканях: желудочно-кишечном тракте, печени, мышцах, почках. Он поражает клетки тимуса, костного мозга, лимфатических узлов. Ингибирует синтез белка. Поражает сердечно-сосудистую и нервную системы. Микотоксин Т-2 нарушает функции Т- и В-лимфоцитов.

Поедание зараженных кормов вызывает у животных угнетение, нарушение координации движения, наблюдаются саливация и рвота, а при остром течении болезни – и смерть. При затяжном течении болезни поражаются ротовая полость и прилегающие ткани, развивается язвенный стоматит. У птицы микотоксин вызывает некроз слизистой оболочки ротовой полости, разрушение костного мозга и другие явления, нарушает функции нервной системы.

Продуценты микотоксина Т-2. Трихотецены были открыты в 1942 г. в Оренбурге во время Второй мировой войны, когда около 100 тыс. человек (при смертности 60 %) начали страдать и умирать от непонятной пищевой токсической алейкии – смертельного заболевания. Считается, что заболевание появилось из-за употребления зараженного хлеба и вдыхания плесени через зараженное сено. Виновником были токсины грибов *Fusarium sporotrichioides* и *Fusarium poae*, являющиеся активными продуцентами токсина Т-2.

В целом грибы рода *Fusarium* являются наиболее часто упоминаемыми и одними из самых распространенных грибов, продуцирующих трихотецены. Впервые микотоксин Т-2 был выделен в 1972 г. из гриба *F. tricinctum*, который развивался на кукурузе, явившейся причиной гибели крупного рогатого скота.

Афлатоксины – вторичные метаболиты аспергилловых грибов. Название «афлатоксины» образовано от сочетания слов *Aspergillus, flavus* и *toxins*. Особое внимание они привлекли после 1960 г., когда появились вспышки болезней неизвестной этиологии среди домашней птицы в Великобритании, Кении, Уганде и других странах.

Афлатоксины представляют собой сильные гепатотропные яды. Кроме того, они обладают канцерогенными, тератогенными и мутагенными свойствами.

Наиболее токсичен из метаболитов аспергилловых грибов афлатоксин В1. Афлатоксины являются сильными иммунодепрессантами: подавляют клеточный и гуморальный иммунитет, оказывают канцерогенное действие на печень, подавляют синтез нуклеиновых кислот и белка.



Рис. 2.60. Развитие мицелия *Aspergillus flavus* на кукурузе

Продуцентами афлатоксинов являются плесневые грибы *Aspergillus flavus* и *Aspergillus parasiticus*, которые развиваются на пшенице, кукурузе (рис. 2.60), ячмене, просе, сое, рисе, горохе, подсолнечнике, за исключением холодных северных районов. *A. flavus* начинает продуцировать афлатоксины уже на 2-е сутки роста культуры, а к 10-м суткам образование ядовитых веществ достигает максимума.

Конидии гриба *A. flavus* могут сохраняться до 5 лет на хорошо высушенной кукурузе, а его токсины в таком продукте были выявлены даже после 10-летнего хранения.

Охратоксины – группа микотоксинов, по структуре являются изокумаринами. Впервые они были выделены из культуры плесневого гриба *Aspergillus ochraceus*, откуда и получили свое название. Охратоксины, продуцируемые аспергилловыми грибами, чаще встречаются в южных странах, пеницилловые – в северных. Известно несколько охратоксинов: А, В, С, D. Как загрязнители кормов чаще встречаются охратоксин А и реже В.

Охратоксин А представляет собой бесцветное кристаллическое вещество, слабо растворимое в воде, но хорошо растворимое в хлороформе, этаноле, ацетоне, растворах щелочей. Он термостабилен – выдерживает температуру выше 100 °С, но чувствителен к действию света и воздуха. Микотоксин может содержаться в зерне пшеницы, ржи, ячменя, овса и других злаковых культур. Охратоксин А в кормовом зерне и пищевых продуктах был обнаружен в ряде стран Европы,

Азии, Америки. Сопутствующим микотоксином охратоксина А бывает цитринин.

Охратоксин В – аналог охратоксина А, но менее токсичный (в 50 раз), чем охратоксин А.

Охратоксины относятся к кислым микотоксинам. В ультрафиолетовых лучах охратоксин А флуоресцирует зеленым светом, охратоксин В – голубым. Эти вещества в основном поражают почки, но патологоанатомические изменения наблюдаются также в желудочно-кишечном тракте, печени, лимфоидной ткани. Они обладают тератогенными свойствами.

Основные продуценты охратоксинов – *Aspergillus ochraceus*

(рис. 2.61) и *Penicillium viridicatum*.

Продуцировать охратоксины способны и другие аспергилловые и пеницилловые грибы. Аспергилловые грибы образуют охратоксины при температуре 12–37 °С, пеницилловые – при температуре 16–24 °С. Основными продуцентами охратоксинов в странах с холодным и умеренным климатом (Скандинавия, Канада, Россия) являются *P. viridicatum* и другие пеницилловые грибы.



Рис. 2.61. Конидиальные головки *Aspergillus ochraceus*

Токсигенные грибы *P. viridicatum* кроме охратоксинов образуют цитринин, *A. ochraceus* – пеницилловую кислоту.

Максимальное количество охратоксина А, образуемое на кукурузе, составляет 0,9 г/кг, охратоксина В – 0,05 г/кг. Охратоксин А и цитринин обнаруживали также в кукурузном силосе.

Охратоксин А не представляет большой опасности для жвачных животных, поскольку в рубце происходит частичная детоксикация данного микотоксина. К охратоксину А более чувствительны телята. Токсин может выделяться с молоком и мочой. В молоке он появляется на 4–5-й день после скармливания его коровам в количестве до 1 г в сутки.

2.9. Микробиота пчел и продуктов пчеловодства

Онтология нормальной микробиоты пчел и их патобиота.

Apis mellifera – медоносная пчела, является хорошо известным модельным организмом для изучения микробиоты. Последняя представляет собой достаточно простой микробиом, состоящий лишь из небольшого числа фило типов микроорганизмов и связанных с ними бактериальных видов, независимо от географического местоположения исследуемого организма пчелы.

В кишечнике медоносной пчелы *Apis mellifera* микробиота специализирована, она встречается только в кишечнике и в улье. Ее становление совпало с формированием пчелиной социальности. Социальность обеспечивает постоянство состава микробиоты. Пчелы живут большими группами и заглатывают бактерии, которые содержатся в экскрементах, внутри улья, в корме, получаемом от рабочих пчел.

Все типы микробиоты, связанной с медоносными пчелами, можно разделить на несколько групп: кишечные симбиотические бактерии и грибы (которые демонстрируют различия как между стадиями жизни, так и между кастами пчел), микробиота поверхности тела (изучена лишь частично), нормальные микроорганизмы улья в нескольких экологических нишах (медовые соты, расплодные соты, слагающие их воск, прополис и маточное молочко) и патосфера пчелы (т. е. специфические возбудители болезней). При исследовании медоносных пчел микробиота кишечника является наиболее изучаемой частью.

Формирование микробиоты 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 микробное сообщество неустойчиво. У юной пчелы, только вышедшей из куколки, кишечник чист, и бактерии появляются там в первые дни жизни, до того, как пчелы покинут улей. Микробиота поселяется главным образом в тонкой и толстой кишке, 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 и др.), которые для пчел являются неперевариваемыми и потенциально токсичными.

У пчелиных маток и трутней микробиота беднее. У трутней она сходна с микробиотой рабочих пчел, в ней много лактобацилл.

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

Патобиота медоносных пчел включает более 20 групп вирусов, преимущественно из семейств *Dicistroviridae* и *Iflaviridae*. Также несколько патогенных бактерий: *Melissococcus*, *Paenibacillus* и *Spiroplasma*, но наиболее опасны для пчел грибы рода *Aspergillus*.

Микробиота пищеварительной системы пчел.

По сравнению с другими животными микробиота кишечника медоносной пчелы имеет очень простой состав. Большинство бактерий обитает в прямой и подвздошной кишке, 98 % их популяции принадлежит к 9 таксонам (12 видов), но только 5 видов составляют основу кишечной микробиоты пчел: *Snodgrassella alvi*, *Gilliamella apicola*, *Bifidobacterium asteroides* и 2 линии *Lactobacillus*. Менее многочисленные группы представлены видами *Frischella perrara*, *Bartonella apis*, *Bombella apis* и *Commensalibacter* sp.

Существуют различия между микробными сообществами в разных отделах желудочно-кишечного тракта пчел. Желудки рабочих пчел практически лишены бактерий. Их подвздошная и прямая кишка гораздо более заселены и содержат почти 95 % общей бакбиомассы.

В микробиоценозе зобика пчел доминируют бактерии *Bombella apis* и *Lactobacillus kunkeei*, однако общая бактериальная биомасса этого органа невелика, при этом вид *Bombella apis* почти полностью обнаружен в медоносных пчелах и маточном молочке, тогда как *L. kunkeei* обнаружена в цветочных ценозах.

Средняя кишка (желудок) у пчел также содержит лишь небольшое количество бактерий, при этом микробное сообщество постепенно меняется на своем протяжении. *Snograssella alvi* – основной микробный вид кишечной микробиоты пчел, распространяется в этой части пищеварительной системы равномерно, тогда как биомасса *Gilliamella apicola* обнаруживается ближе к привратнику желудка. Эти два вида бактерий характеризуются перекрестной ферментативной активностью и хорошо передаются при контакте между пчелами или с их экскрементами, но они не обнаруживаются в ульях медоносных пчел, поэтому их не следует передавать при трофоллаксисе. Кроме того, в этой части пищеварительной системы можно встретить бактерию *Bombella apis*.

Привратник (пилорус) характеризуется локальной колонизацией *Snograssella alvi* и неосновным видом *Frischella perrara*. Колонизация

бактерией *F. perrara* обеспечивает образование пищеварительного струпа и вызывает некоторые иммунные реакции у пчелы.

Подвздошная кишка (илеум) пчелы имеет самое разнообразное микробное сообщество в своих инвагинациях и просвете. В просвете можно обнаружить *S. alvi*, а на стенках – *G. apicola*, где они образуют биопленкоподобные слои. Представители основных групп *Lactobacillus* Firm-4 (геномной линии 4) и Firm-5, более широко представленные в прямой кишке, можно обнаружить и в подвздошной кишке. Эти штаммы отличаются большим разнообразием и имеют разные метаболические взаимодействия со своими хозяевами. Лактобациллу *Lactobacillus kunkeei* можно встретить только в составе кишечного микросообщества медоносных пчел из-за ее непереносимости к концентрациям атмосферного кислорода.

В прямой кишке содержится больше фирмикутов и актинобактерий, чем протеобактерий. В прямой кишке часто встречаются *Lactobacillus* филотипов 5 и 4, а также *Bifidobacterium asteroides*. Высокая степень разнообразия бифидобактерий обусловлена наличием различных штаммов или даже нескольких их видов. Большинство из них встречаются только в кишечнике медоносных пчел, но некоторые штаммы могут переносить кислород. В частности, в прямой кишке можно обнаружить множество неосновных бактерий, в том числе *Bartonella apis*, *Commensalibacter* spp., некоторые другие идентифицированные и несколько неопознанных видов.

Общая характеристика микробиоты пищеварительной системы пчелы представлена на рис. 2.62.

Основные и некоторые другие кишечные бактерии являются частью иммунной системы пчел. Виды лактобацилл, включая филотип Firm-5, продемонстрировали устойчивость к патогенному действию возбудителя американского гнильца *Paenibacillus larvae*, а также некоторые другие иммунные функции. Биопленки, продуцируемые *G. apicola* и *S. alvi*, представляют собой защитный слой от паразитарной инвазии. Неосновной вид бактерий *Bombella apis* защищает ульи от грибкового заражения, а вид *F. perrara* также может иммунизировать пчел.

В отличие от микробиоты млекопитающих, кишечное сообщество медоносных пчел лишено архей и эукариот. Иногда во время зимовки некоторые грибы обнаруживаются в подвздошной и прямой кишке. Количество культивируемых грибов на организм пчелы составляет менее 10^4 клеток, а бактериальных клеток – 10^8 .

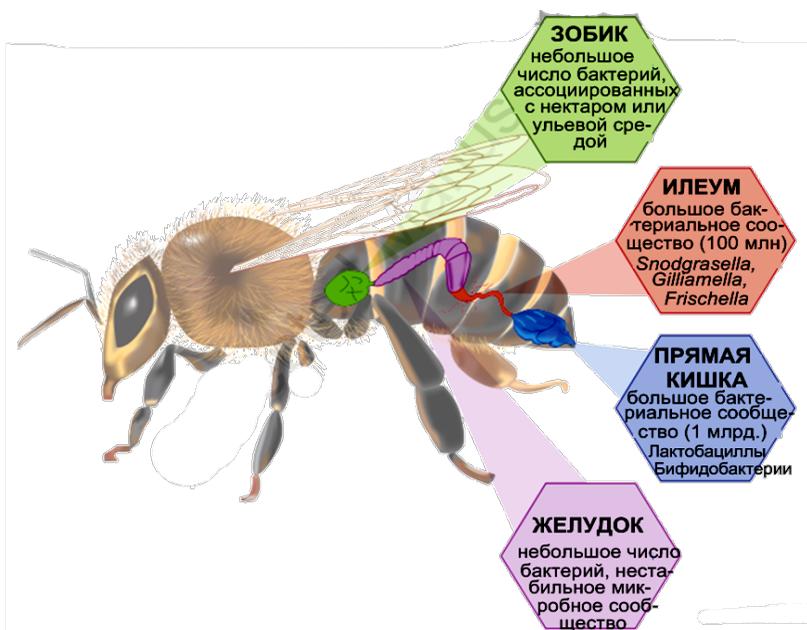


Рис. 2.62. Характеристика кишечной микрофлоры пчел

Микробиота продуктов пчеловодства.

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

Совокупность микроорганизмов, обитающих в меде, разделяют на микробиоту меда первичную – микроорганизмы, попадающие в мед из нектара и пыльцы и постоянно в нем присутствующие (осмофильные дрожжи, споры низших грибов, споры бактерий), и вторичную – микроорганизмы, попадающие в мед при обработке и хранении. Микробиота меда зависит от его ботанического происхождения, условий обработки и хранения. Обычно в 1 г меда содержится в среднем около 1000 микроорганизмов, но при неправильном хранении меда их количество может значительно увеличиться, особенно дрожжей и плесневых грибов.

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

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

В мёде могут также обнаруживаться споры возбудителя ботулизма – тяжелейшей пищевой нейропаралитической интоксикации, которая характеризуется поражением нервной системы.

Ботулотоксин-продуцирующие клостридии – группа бактерий, способных продуцировать сильнейший нейротоксин, вызывающий ботулизм. К этой группе относят клостридии нескольких видов, однако большинство случаев клинического ботулизма вызвано бактерией *Clostridium botulinum*. Токсин поражает теплокровных животных и рыб.

Все ботулотоксин-продуцирующие клостридии – это спорообразующие, грамположительные анаэробные бактерии, которые размножаются только при отсутствии кислорода. Размер спор *Clostridium botulinum* незначительно превышает поперечник бактерии, в результате чего сам микроорганизм имеет вид барабанной палочки (рис. 2.63).



Рис. 2.63. *Clostridium botulinum*

Ботулотоксин-продуцирующие бактерии предпочитают размножаться в разлагающемся субстрате. Продуцируемый ими токсин является белком по природе и термолабильным нейротоксином по своей активности. Болезнь возникает вследствие поглощения продуцированного во внешней среде ботулотоксина и последующего блокирования нейронов, активность которых не может быть восстановлена терапевтическими средствами. В редких случаях возможно продуцирование ботулотоксина непосредственно в кишечнике, однако у взрослого организма такое практически невозможно вследствие колонизационной резистентности кишечной микробиоты.

2.10. Микробиота кожевенно-мехового сырья

Влияние прижизненных болезней на качество шкур и кожи.

Одной из основных причин снижения качества шкур и кожи является наличие у животного кожных паразитарных и бактериально-вирусных инфекций. Клещи являются наиболее частой причиной получения недоброкачественного сырья для кожевенного производства. Определенная степень местного повреждения возникает там, где клещ прикрепляется, вставляя челюсти и гипостому, после чего кожа в месте повреждения покрывается рубцами и теряет текстуру. Повреждения, вызванные иксодовыми клещами, ограничиваются чаще эпидермисом и верхней частью дермы. Чесотка, вызванная клещами родов *Demodex*, *Sarcoptes* и *Chorioptes*, приводит к более глубокому уровню повреждений.

Дерматозы шкур крупного рогатого скота, вызываемые простейшими в связи с нарушениями зоогигиенических требований к содержанию, кормлению и уходу за животными, а также параметров микроклимата, оказывают серьезное влияние на качество выделанной кожи.

Микозный дерматит крупного рогатого скота, или стрептотрихоз крупного рогатого скота, приводит к сильным повреждениям шкур и значительным экономическим потерям их качества.

Коровья и свиная оспа вызывают глубокое воспаление и повреждение шероховатой поверхности кожи. Оспа овец и коз характеризуется генерализованным течением. Вирус вызывает воспаление эпидермиса и дермы. Для нодулярного дерматита крупного рогатого скота характерны кожные узелки (бугры) и развитие экссудативных кожных бляшек.

Наиболее важной бактерией, наносящей вред животным в течение жизни, является дерматофильная палочка *Dermatophilus congolensis*. Дерматофильная инфекция, или кожный стрептотрихоз, вызванная этой бактерией, представляет собой хронический экссудативный дерматит, характеризующийся образованием струпуев. *D. congolensis* представляет собой факультативно анаэробный актиномицет. Имеет две морфологические формы – нитчатые гифы и подвижные зооспоры.

Другие бактерии действуют как вторичные инфекционные агенты при первичном поражении демодекозом крупного рогатого скота и у различных других животных. Так, бактерии *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus* и *Streptococcus pyogenes* связаны с вторичными поражениями при демодекозной чесотке.

Микробиота кожевенного сырья.

Обе стороны кожевенного материала содержат бактерии. Если на внешней поверхности нередко находятся бактерии, которые присутствовали там до момента убоя, то на обратной (обращенной к подкожной клетчатке) находятся бактерии, которые удерживались барьерной функцией кожи до убоя животного.

Известно, что шкура крупного рогатого скота является источником микробного загрязнения. Бактерии, часто выделяемые с поверхности шкуры животного, – это кишечная палочка, сальмонеллы и кампилобактерии. Тем не менее эти микроорганизмы не являются кожными обитателями, так как только высокая влажность поверхности связана с наличием на ней колиформных бактерий.

Наиболее типичная микробиота, присутствующая на поверхности шкур и кожи на бойне, представлена в основном грамположительными неспорообразующими палочками (в первую очередь коринебактериями *Corynebacterium* spp. и кутибактериями *Cutibacterium* spp.), а также грамположительными кокками. Из числа последних наиболее распространенными являются стафилококки: *Staphylococcus xylosus*, *Staph. sciuri* и *Staph. cohnii*. Также нередко идентифицируются *Staph. simulans*, *Staph. hyicus*, *Staph. epidermidis*, *Staph. saprophyticus*, *Staph. hominis*, *Staph. warneri*, *Staph. aureus* и *Staph. haemolyticus*. Из других кокков самым распространенным на поверхности шкур и кожи является *Micrococcus varians*.

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 разными. Источником микробной контаминации могут быть самые разнообразные объекты: навоз, почва, вода, воздух, предметы обработки. Среди контаминантов встречаются шаровидные и палочковидные формы микробов, грибы, аэробы, анаэробы – все они неспецифичны в качестве нормальных кожных колонизаторов и в последующем могут вызывать процесс микробного разложения кожевенного сырья.

Из микроорганизмов, выделенных из засоленных шкур и кожи, преобладают стафилококки, микрококки, бациллы и коринебактерии, так как все они относятся к категории галофильной микробиоты. Галофильные бактерии растут в соли, а крайне галофильные – при концентрации соли 20 % и выше. Стафилококки и микрококки в этом плане

рекордсмены и растут при концентрации соли 5–15 %; солетолерантность бактерий рода *Bacillus* может быть даже чуть выше, чем у стафилококков и микрококков (2–25 % соли). Коринебактерии растут при 9%-ной концентрации натрия хлорида. Энтерококки, а также родственные им аэрококки также относятся к категории галофильных микроорганизмов. Другими галофильными бактериями являются моракселлы и *Acitrobacter lwoffii*, выдерживающие концентрацию соли до 4 %.

Микробиологическая порча кожевенно-мехового сырья.

Кожевенно-меховое сырье, будучи производным организма животного, подвержено микробиологической порче. Выделяют следующие виды порчи кожевенно-мехового сырья: гниение, плесневение, образование солевых пятен.

Гниение. Этот вид порчи состоит из трех последовательных этапов. На первом этапе видимых изменений кожевенно-мехового сырья не происходит. 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



Рис. 2.64. Гниение кожи

зеленоватый оттенок, появляется запах аммиака, происходит ослабление связи волоса с дермой, волосы кожи легко выпадают из волосяных сумок. На третьем этапе загнивания происходит разложение собственно кожи (рис. 2.64): она меняет цвет, становится дряблой и ослизлой, почти полностью выпадают волосы, ощущается запах аммиака и сероводорода, кожа легко поддается разрыву.

При гниении кожи наблюдается постепенная смена видового состава микрофлоры. Гнилостный процесс начинается с развития гнилостных (аммонифицирующих) микроорганизмов. Впоследствии в процесс активно включаются аэробные бактерии. В результате совместной жизнедеятельности микроорганизмов процесс разложения углубляется, проходя ряд последовательных реакций. На последнем этапе загнивания в процесс разрушения включаются анаэробные бактерии.

Плесневение. Процесс обычно начинается со стороны мездры, образующиеся пятна постепенно распространяются по поверхности всей шкуры и могут заразить соседние. Возбудители данного вида порчи – плесневые грибы родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Trichoderma*. Порок кожи, вызванный распространением плесневых грибов, называется «мушинные пятна» (рис. 2.65).



Рис. 2.65. Плесневение шкуры

Образование солевых пятен. Этот вид порчи кожевенно-мехового сырья обычно возникает на мокросоленых шкурах. Считается, что солевые пятна возникают в результате развития галофилов. Солевые пятна развиваются с маленьких, величиной с просяное зернышко (рис. 2.66) и со временем образуют крупные пятна желтого цвета, которые проникают внутрь шкуры и снижают качество.



Рис. 2.66. Солевые пятна на шкуре

Чтобы предотвратить данный порок, посол кожевенного сырья следует проводить при температуре ниже 10 °С и влажности не выше 85 %, а к общему объему используемой соли добавлять 5 % кальцинированной соды. Кроме того, следует помнить, что для посола кожевенного сырья предпочтительнее использовать каменную соль в связи с ее невысокой обсемененностью микроорганизмами.

Большое народно-хозяйственное 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. Активными разрушителями шерстяных волокон являются следующие виды микробов: стрептомицеты *Streptomyces globisporus*, спорообразующие бактерии рода *Bacillus* и плесневые грибы родов *Penicillium* и *Aspergillus*.

Выделяют несколько *видов пороков шерстяного волокна*:

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

В целях недопущения порчи шерстяного волокна его рекомендует хранить в тюках, а также на деревянных брусках в хорошо вентилируемых сухих помещениях.

Кожевенное сырье как фактор заражения сибирской язвой.

Сибирская язва, возбудителем которой является бактерия *Bacillus anthracis*, всегда рассматривалась как одна из самых опасных болезней.

Часто заражение людей сибирской язвой происходило при контакте со шкурами или шерстью животных, поэтому первоначально она называлась болезнью сортировщиков шерсти. Она была опасной промышленной болезнью, связанной с текстильной промышленностью. Когда было установлено, что эта профессиональная болезнь является формой сибирской язвы, основное внимание в ее профилактике было сосредоточено на методах химической дезинфекции и организации санитарии труда в кожевенной промышленности.

Возбудитель сибирской язвы, бактерия *Bacillus anthracis*, относится к группе *Bacillus cereus*, объединяющей шесть родственных бактерий. Бактерия *B. anthracis* представляет собой наиболее мономорфный организм с минимальными генетическими вариациями. *B. anthracis* – крупная грамположительная палочка (рис. 2.67), часто располагающаяся в виде длинных нитей (рис. 2.68).



Рис. 2.67. Морфология *Bacillus anthracis* (окраска по Граму)

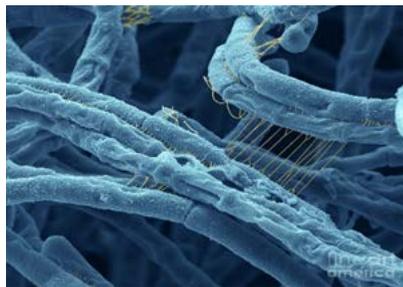


Рис. 2.68. Вегетативные клетки *Bacillus anthracis*

Важной особенностью бациллы сибирской язвы является образование спор. Споры овальной, округлой формы, располагаются центрально или субтерминально (рис. 2.69). При температуре ниже 12 °С и выше 42 °С, а также в живом организме или не вскрытом трупe споры не образуются.

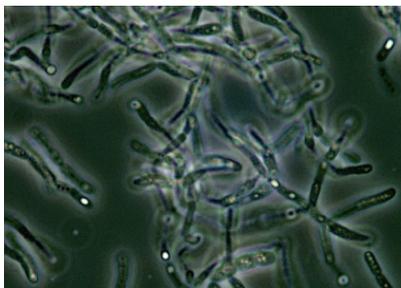


Рис. 2.69. Эндоспоры *B. anthracis* (споры в виде светлых образований)

В 1913 г. было продемонстрировано, что загрязнение шкур животных кровью является главным фактором возникновения сибирской язвы. Сама по себе кровь служит клеевым агентом, обеспечивающим прикрепление спор сибирской язвы к кожевенному сырью. Последующая отмывка кожи успешно удаляла остатки грунта, но споры возбудителя оставались в прикрепленном состоянии.

Многочисленные случаи болезни привели к разработке «правил Бредфорда», которые в 1897 г. стали законом для работников кожевенной промышленности, после чего частота ингаляционного заражения сибирской язвой среди сортировщиков шкур значительно снизилась.

Экология *B. anthracis* тесно связана с почвой. Период полураспада спор в ней принято считать 100 лет.

Сибирская язва поражает многие виды животных и человека. Протекает в нескольких формах, которые определяются способом заражения: септическая, кишечная, легочная, карбункулярная, кожная (рис. 2.70) и ангинозная (у свиней).



Рис. 2.70. Форма сибирской язвы человека – самая распространенная (до 95 % случаев)

2.11. Микробиота тела животных

Микробиота тела животных.

Микробы имеют тесную ассоциацию с организмом всех животных. Изначально организм рождается свободным от бактерий, а потом в течение первых дней жизни происходит колонизация тела.

Колонизация определяется как неограниченное по времени существование определенной микробиоты в макроорганизме без повторной интродукции (попадания). Микробы проникают в организм млекопитающего из воздуха, воды, корма или от других животных. Многие из них обитают в организме млекопитающего, не нанося ему вреда, а другие даже необходимы для нормальной жизнедеятельности. Иногда в организм млекопитающего попадают патогенные микроорганизмы, которые способны вызвать развитие заболевания.

Тело животного представляет для микроорганизмов целый мир с множеством экологических ниш. В естественных условиях организм любого животного населен большим количеством микроорганизмов. Среди них могут быть случайные колонизаторы, но для многих видов бактерий тело животного является основным или единственным местом их обитания. Для животного микроорганизмы – важный экологический фактор, определяющий многие стороны его эволюционных изменений.

Организм и его нормальная микробиота составляют единую экологическую систему: она служит своеобразным «экстракорпоральным органом», играющим важную роль в жизнедеятельности животного. Ткани и органы, не сообщающиеся с внешней средой, стерильны. Будучи биологическим фактором защиты, нормальная микробиота является тем барьером, после прорыва которого индуцируется включение неспецифических механизмов защиты.

Микробиота кожи млекопитающего связана с колонизацией ее поверхности большим числом разнообразных бактерий. Поскольку кожа и внешние ткани находятся в постоянном контакте с окружающей средой, бактерии легко их колонизируют. Обычно на коже преобладают грамположительные бактерии. Большинство бактерий, обитающих на коже и волосах, являются либо комменсалами, либо мутуалистами. Например, некоторые кожные бактерии препятствуют размножению патогенных бактерий. Нередко кожные бактерии являются безвредными, но некоторые могут представлять опасность для здоровья, прежде всего золотистый стафилококк *Staphylococcus aureus* – условно-патогенные.

На кожных покровах микроорганизмы подвержены действию бактерицидных факторов сального секрета. В подобных условиях живут преимущественно *St. epidermidis*, микрококки, сарцины, аэробные и анаэробные дифтероиды.



Рис. 2.71. Морфология *Cutibacterium acnes*

Бактерии вида *Cutibacterium* (ранее *Propionibacterium*) *acnes* (рис. 2.71) обнаруживаются глубоко в волосяных фолликулах и порах кожи, где они являются представителями нормальной микробиоты кожи и обычно не вызывают никакой патологии. Повышенная выработка кожного сала гиперактивными сальными железами или закупорка фолликула могут вызвать рост и размножение бактерий *C. Acnes*.

Микроорганизмы рода *Corynebacterium* (рис. 2.72) представляют собой отдельную группу актинобактерий. Род коринебактерий включает патогенные и непатогенные виды.

Бактерия *Staphylococcus epidermidis* (рис. 2.73) обычно является безвредным обитателем кожи, который редко вызывает патологию поверхностных тканей у здоровых людей. Эти бактерии образуют толстый барьер в виде биопленки, представляющей собой слизистое вещество, которое защищает бактерию от антибиотиков, химических веществ и других факторов.



Рис. 2.72. Морфология *Corynebacterium tuberculoστεaricum*

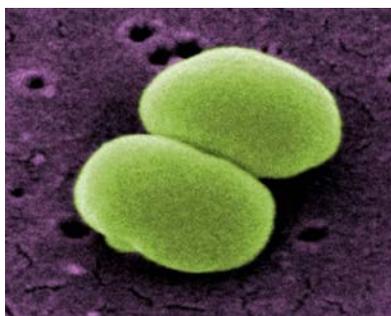


Рис. 2.73. *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus aureus (золотистый стафилококк) (рис. 2.74) является распространенным кожным обитателем, который обнаруживается

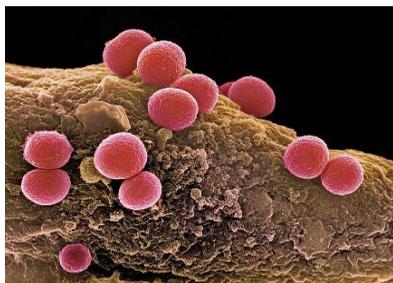


Рис. 2.74. Золотистый стафилококк *Staphylococcus aureus* на коже

также в полости носа и дыхательных путях. Хотя некоторые штаммы золотистого стафилококка безвредны, метициллин-резистентные штаммы этого микроорганизма могут вызвать серьезные проблемы для здоровья животного и человека. *Staphylococcus aureus* наиболее часто распространяется в результате физического контакта, так как практически всегда присутствует на поверхности кожи. При нарушенной

целостности кожи может вызвать развитие гнойной инфекции. С санитарной точки зрения золотистый стафилококк представляет серьезную опасность, так как способен продуцировать энтеротоксин, обладающий сильным рвотным эффектом.

Грамположительные бактерии *Streptococcus pyogenes* (рис. 2.75) колонизирует участки кожи и гортань. Обычно колонии *Str. pyogenes* существует на этих участках тела, не вызывая никакой патологии. Однако этот микроорганизм может проявлять патогенные свойства у макроорганизма с нарушенной иммунной системой. Кроме того, этот микроорганизм вызывает ряд инфекций, которые варьируются от умеренных до опасных.



Рис. 2.75. Колония *Streptococcus pyogenes* на поверхности кожи

На *коже вымени* могут обитать все микробы из почвы, воздуха, навоза и т. д. Микробиота конъюнктивы содержит только небольшое количество микроорганизмов: стафилококки, стрептококки, сарцины, микрококки, микоплазмы, актиномицеты, дрожжи, плесневые грибы.

На *слизистой мочеполовых органов* обнаруживают стафилококки, стрептококки, микрококки, дифтероиды, кислотоустойчивые микобактерии. Матка, яичники, семенники, мочевого пузыря в нормальном физиологическом состоянии стерильны.

Дыхательные пути у новорожденных животных не содержат микробов. У взрослых особей микробиота респираторного тракта представлена в основном стафилококками, стрептококками, микрококками.

Микробиота желудочно-кишечного тракта млекопитающих.

Из всех участков наиболее обильной является микробиота желудочно-кишечного тракта, в особенности толстого кишечника (у жвачных животных – также рубца). Она сильно отличается в зависимости от анатомического положения того или иного отдела желудочно-кишечного тракта. Микробиоту пищеварительного тракта принято делить на факультативную (временную) и облигатную (постоянную), представленную молочнокислыми палочками, молочнокислыми стрептококками, кишечной палочкой.

Микробиота верхнего отдела желудочно-кишечного тракта. Микробиота полости рта очень разнообразна. В ротовой полости обнаружено более 100 видов микроорганизмов: диплококки, стафилококки, сарцины, микрококки, дифтероиды, анаэробы и аэробы, спирохеты, грибы, дрожжи, целлюлозоразрушающие микробы. Разнообразие микробов в ротовой полости зависит от кормов и способов их приготовления, воды, вида животных. Микробиота пародонтального кармана (пространства между десной и зубным корнем) в основном представлена анаэробными микроорганизмами.

Микробиота желудка относительно бедна по количественному и качественному составу. Желудочный кислый сок бактерицидно действует на микробы, хотя в желудке выживают споровые бактерии типа *B. subtilis*, кислотоустойчивые микобактерии *Myc. bovis*, *Myc. avium*, молочнокислые бактерии, актиномицеты, энтерококки. При заболевании желудка в его содержимом могут присутствовать гнилостные бактерии, дрожжи и плесневые грибы. В желудке свиньи находятся молочнокислые микробы, различные кокки, сбраживающие углеводы, дрожжи, спорообразующие аэробы, *Cl. perfringens*.

У жвачных животных в желудке и преджелудках обнаруживается много гнилостных микроорганизмов, возбудителей различных типов брожений. С кормом в рубец попадает много почвенных микробов и эпифитной микробиоты: содержится она преимущественно в вегетативной форме в количестве от 1 тыс. до 10 млн. микробных клеток в 1 мл содержимого рубца. Очень важны для пищеварения целлюлозоразрушающие микробы: *Ruminococcus flavefaciens*, *R. albus*, *Clostridium cellobioparum*, *Cl. cellulolyticum* и др. Эти микроорганизмы с помощью фермента целлюлазы разрушают целлюлозу до глюкозы, которая легко

усваивается организмом животного. Пектиновые вещества расщепляет *Paenibacillus macerans*. Стрептококки и энтерококки (*Ent. faecalis*) сбраживают крахмал и глюкозу с образованием молочной кислоты. Пропионовокислые бактерии сбраживают лактаты с образованием пропионовой кислоты, частично масляной и уксуснокислой, продуцируют витамины группы В. Микробы, заселяющие рубец, расщепляют белки, нитраты, мочевины, синтезируют все витамины, за исключением А, Е, D.

Микробиота тонкого отдела кишечника наиболее бедна в силу высокой перистальтики и высокой активности пищеварительных гидролитических ферментов. В двенадцатиперстной и тощей кишках ослабляется деятельность целлюлозных микробов и чаще всего присутствуют устойчивые к желчи энтерококки, ацидофильные, споровые микробы *Cl. perfringens*, актиномицеты, *E. Coli*.

Микробиота толстого кишечника. В отличие от тонкого кишечника, в котором относительно мало бактерий, большая часть кишечной микробиоты находится в толстом отделе кишечника. Так, в 1 г содержимого толстой кишки взрослого животного культивируется приблизительно 10^{11} бактерий. Дистальная подвздошная кишка и толстая кишка содержат наибольшее количество микробов с приблизительной плотностью 10^{12} микроорганизмов на 1 г (сухой массы) фекалий. В толстой кишке наиболее численно преобладающие организмы относятся к двум группам строгих анаэробов: бактероиды (род *Bacteroides*) и клостридии (род *Clostridium*). Другими ее постоянными обитателями являются энтерококки, стафилококки, актиномицеты, ацидофилы, термофилы, споровые формы, дрожжи, плесени, гнилостные бактерии. Обилие микробиоты толстого кишечника объясняется наличием больших объемов переваренного корма. В ряде случаев в толстом кишечнике обнаруживают патогенные микроорганизмы – возбудители столбняка, сибирской язвы, рожи, пастереллеза, сальмонеллеза и других инфекций.

Как правило, в каждом отделе кишечника выделяют четыре разновидности микробиоценоза. Первый тип микробного сообщества преимущественно находится на поверхности эпителиальных клеток: многие патогенные бактерии, в том числе патогенные штаммы *E. coli*, колонизируют именно это место посредством прикрепления к строго определенным рецепторам.

Вторым местом обитания микроорганизмов является глубокий слизистый слой крипт подвздошной, слепой и ободочной кишок: на этом

участке обитают в основном подвижные спиралевидные бактерии, в том числе бактерии родов *Borrelia*, *Treponema* и *Spirillum*.

Третьим участком микробной колонизации является слизистый слой, покрывающий эпителиальные клетки по всему кишечнику: комменсальные бактерии и непатогенные штаммы *E. coli* обитают именно в этом микроместообитании слепой и ободочной кишки млекопитающих вместе с резидентными (местными) микробами, видовой состав которых может включать до 500 культивируемых видов.

Микробиота всех трех микробиотических сообществ в конечном счете попадает в четвертое местообитание – просвет кишечной трубки, где живые и погибшие бактерии вместе с перевариваемым кормом формируют кишечное содержимое. Многие бактерии, включая кишечную палочку, не обладают способностью размножения в кишечном содержимом, поэтому в этом микробиоценозе они находятся в пассивном состоянии и будут выведены из организма с фекалиями.

При нарушении состава микробиоты развивается дисбактериоз, в кишечнике поселяются условно-патогенные микроорганизмы и даже возбудители кишечных инфекций, поэтому работники предприятий общественного питания должны сдавать анализ на бактерионосительство. С целью профилактики инфекционных заболеваний и пищевых отравлений необходимо тщательно мыть руки перед приготовлением пищи, перед едой, после посещения туалета или работы с деньгами.

Видовой состав микробиоты рубца жвачных.

У жвачных животных, специализирующихся на растительном питании, микроорганизмы способствуют ферментации и разложению растительных полимеров путем секреции различных ферментов. Как следствие, рубец жвачных животных 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 расщепление кормов и синтез важных органических соединений для организма животного также осуществляют различные виды дрожжей, актиномицетов и простейших. Инфузорий в 1 мл может быть от 200 тыс. до 2 млн.

Общий микробный консорциум рубца сложен с точки зрения функциональности и идентификации таксонов, однако совместное взаимодействие различных бактерий обеспечивает полное расщепление проглоченной клетчатки.

Клеточная стенка растений состоит из гемицеллюлозного матрикса с внедренными в него целлюлозными волокнами. Первоначальная деградация этого матрикса осуществляется особым таксоном бактерий, секретирующим целлюлозолитические ферменты. В целом бактерии способствуют большей части активности ксиланазы и эндоглюканазы в рубце. Эти ферменты разлагают целлюлозу на более мелкие олиго-, дисахариды, на которые затем воздействуют другие микроорганизмы.

К целлюлозолитическим бактериям первого порядка относятся руминококки (рис. 2.76): *Ruminococcus flavefaciens* и *Ruminococcus albus*, а также *Fibrobacter succinogenes*. Также присутствует в меньшем количестве, по сравнению с вышеуказанными микроорганизмами, бактерия *Butyrivibrio fibrisolvens*. Помимо них, другие некультивируемые бактерии также могут воздействовать на суб-

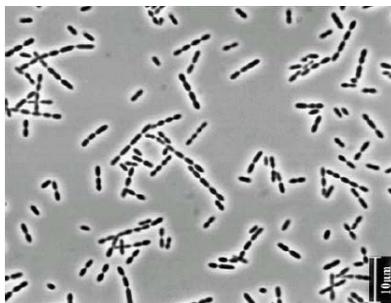


Рис. 2.76. Бактерии рода *Ruminococcus*

страт, разрушая целлюлозные волокна. Некоторые бактерии из рубца, такие как *Cellulosilyticum ruminicola*, также обладают способностью продуцировать лигноцеллюлозолитические ферменты.

С другой стороны, иногда отмечается совместное ингибирование микробов рубца, что приводит к снижению эффективности ферментного расщепления целлюлозы. Обнаружено, что оно является действием бактериоцинов, секретируемых как часть механизма микробной конкуренции за субстрат. Например, руминококки *R. flavefaciens* и *R. albus* секретируют бактериоцины, конкурируя между собой за целлюлозу. Нецеллюлозолитические бактерии также секретируют бактериоцины и, как предполагается, являются жесткими конкурентами за различные субстраты в среде рубца.

Видовой состав рубцовых микроорганизмов со временем претерпевает изменения. В молочный период в рубце у телят преобладают лактобациллы и определенные виды протеолитических бактерий. Полное становление рубцовой микробиоты завершается при переводе животных на кормление грубыми кормами. У взрослых жвачных животных видовой состав рубцовых бактерий более постоянен, существенным образом не изменяется в зависимости от кормления, времени года и ряда других факторов. Имеют наиболее важное в функциональном от-

ношении значение следующие виды бактерий: *Bacteroides succinogenes*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminococcus flavefaciens*, *R. albus*, *Eubacterium* (ранее *Cillobacterium*) *cellulosolvens*, *Ruminiclostridium cellobioparum* 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 также выделены *Lactobacillus amylophilus*, *Xylanibacter ruminicola* и другие бактерии. В расщеплении крахмала большое участие принимают определенные виды инфузорий.

Основными продуктами брожения являются уксусная, янтарная, муравьиная кислоты, углекислый газ и в некоторых случаях сероводород. Утилизация в рубце жвачных животных 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) используется 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, предшественник жира молока, источник энергии для животных. Пропионат и бутират используются животными для синтеза углеводов.

В содержимом рубца также 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 следующие виды: *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 образова-

нием 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 использует сульфиды при наличии в среде цистина, метионина или гомоцистеина.

Микробиота органов дыхания и мочеполовой системы.

Верхние отделы дыхательных путей несут высокую микробную нагрузку – они анатомически приспособлены для осаждения бактерий из выдыхаемого воздуха. Помимо обычных негемолитических и зеленящих 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 сапротрофная микробиота: *Staphylococcus saprophiticus*, бактерии родов *Micrococcus*, *Bacillus*, коринеформные бактерии, негемолитические стрептококки, грамтрицательные кокки.

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

Сапротрофные микроорганизмы чаще выделяются из дыхательных путей нормально развитых животных, чем слабо развитых. В носовой полости обнаруживается наибольшее число сапротрофов и условно-

патогенных микроорганизмов. Они представлены стрептококками, стафилококками, сарцинами, пастереллами, энтеробактериями, коринеформными бактериями, грибами рода *Candida*, псевдомонадой *Ps. aeruginosa* и бациллами. Трахея и бронхи заселены аналогичными группами микроорганизмов. В легких обнаружены отдельные группы кокков (бета-гемолитические, *S. aureus*), микрококки, пастереллы, *E. coli*.

При снижении иммунитета у животных (особенно у молодняка) микробиота органов дыхания проявляет патогенные свойства.

Микробиота мочеполовой системы. 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*, *Tolulopsis* и *Geotrichum*. В наружных отделах доминирует *Mycobacterium smegmatis*.

В целом микробные популяции половых путей отличаются на своем протяжении: матка, яичники, семенники, мочевой пузырь в норме стерильны, а во влажной микробиоте самок преобладают бактерии родов *Lactobacillus* и *Bacteroides*. У здоровой самки плод в матке стерильно до момента начавшихся родов. Сама матка обладает уникальным микробиомом, особенно во время беременности, когда содержимое шейки матки изолируется от содержимого влагалища из-за образования пробки слизистой шейки матки в этот период.

Основными обитателями влагалища являются лактобациллы (род *Lactobacillus*), обладающие выраженным антагонизмом к другим микробам. При нормальном физиологическом состоянии мочеполовых путей микробиота (стрептококки, молочнокислые бактерии) обнаруживается только в их нижних отделах. При гинекологических заболеваниях нормальная микробиота изменяется.

У коров есть бактерии, населяющие матку еще до отела, и в течение 20 минут после отела формируется уникальный микробиом эндометрия, причем он одинаков у коров с эндометритом и без него, по крайней мере до второго дня после отела. Микробиом коров, у которых развивается метрит, имеет более высокую относительную численность микроорганизмов отделов *Bacteroidetes* и *Fusobacteria* и более низкую относительную численность представителей отделов *Proteobacteria* и *Tenericutes*. Кроме того, в половых путях разных видов животных, в том числе крупного рогатого скота, присутствует смесь бактерий, простейших, грибов и вирусов. Хотя инфекция матки,

как правило, вызывается смешанными бактериальными инфекциями, к основным вовлеченным микробным патогенам относятся *Trueperella pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum*, бактерии родов *Bacteroides* и *Prevotella*.

Роль нормальной микробиоты.

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

Нормальная микробиота – неспецифический стимулятор иммунной системы, а отсутствие нормального микробного биоценоза вызывает многочисленные нарушения в иммунной системе. Нормальная кишечная микробиота играет огромную роль в метаболических процессах организма. Другая важная роль микробиоты была установлена после того, как были получены безмикробные животные. Кратко рассмотрим основные функциональные роли нормальной микробиоты.

Антигенная стимуляция. Антиген представителей нормальной микробиоты вызывает образование антител в низких титрах. Они преимущественно представлены иммуноглобулинами IgA, выделяющимися на поверхность слизистых оболочек. Иммуноглобулины IgA составляют основу местной невосприимчивости к проникающим возбудителям и не дают возможности комменсалам проникать в глубокие ткани.

Обеспечение всасывания. Метаболизм некоторых веществ включает печеночную экскрецию в просвет кишечника с последующим возвратом в печень; подобный кишечно-печеночный круговорот характерен для некоторых половых гормонов и солей желчных кислот. Эти продукты экскретируются в форме глюкуронидов и сульфатов, не способных в этом виде к обратному всасыванию. Всасывание обеспечивают кишечные бактерии, вырабатывающие глюкуронидазы и сульфатазы.

Обмен витаминами и минеральными веществами. Общеизвестным фактом является ведущая роль нормальной микробиоты в обеспечении организма ионами Fe^{2+} , Ca^{2+} , витаминами К, D, группы В, никотиновой, фолиевой и пантотеновой кислотами. Кишечные бактерии принимают участие в инаktivации 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 микробиоты тела на организм складывается из следующих факторов. Во-первых, нормальной микробиоте

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, микрофлора 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 выполняет роль дополнительного ферментного аппарата, расщепляя клетчатку и другие трудно перевариваемые составные части корма.

Нарушение видового состава нормальной микрофлоры 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.

2.12. Наиболее распространенные инфекционные заболевания животных

Любая болезнь животных наносит большой экономический ущерб промышленному животноводству. Рассмотрим некоторые наиболее распространенные инфекционные болезни животных.

Бактериальные болезни.

Туберкулез (лат. *Tuberculosis*) – это хронически протекающее, инфекционное заболевание животных и человека. Характеризуется образованием туберкулов, специфических гранул казеозного характера, внешне похожих на узелки. Большой восприимчивостью к возбудителю отличаются: крупный рогатый скот, свиньи; из птиц – куры; из пушных зверей – норки. Менее восприимчивы козы, собаки, утки, гуси. Редко болеют овцы, кошки, лошади.

Возбудитель заболевания – микобактерии *Mycobacterium tuberculosis* и *M. bovis*. Болезнь известна с древних времен, а возбудитель в 1882 г. открыл Р. Кох. С тех пор его называют палочкой Коха.

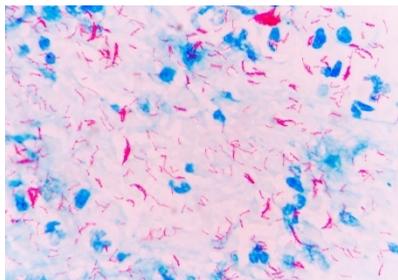


Рис. 2.77. Морфология *M. tuberculosis* (окраска по Цилю – Нильсену)

Микобактерия – это палочка, иногда согнутая под углом или принимающая форму зерна. Факультативный анаэроб, неподвижный, не образующий спор, кислотоустойчивый. Окрашивается фуксином в красный цвет (рис. 2.77) и не обесцвечивается при воздействии раствором серной кислоты.

Микобактерии очень устойчивы во внешней среде благодаря липидной оболочке. В мокроте сохраняет жизнеспособность до 10 месяцев, в навозе – до 7 месяцев, в почве – более 4 лет, в трупах крупного рогатого скота патогенность сохраняется до 12 месяцев. В продуктах, полученных от инфицированных животных, возбудитель сохраняется: в замороженном мясе – до 12 месяцев; в молоке – 20 суток; в сливочном масле – 1 год.

Нагревание до температуры 80 °С убивает микобактерии через 30 минут, кипячение – через 3–5 минут. 5%-ный раствор карболовой кислоты убивает их через 12 часов, 5%-ный раствор хлора – через 3 часа.

Источником инфекции являются больные животные или обслуживающий персонал. Микобактерия выделяется с молоком, мокротами, фекалиями, спермой. Больные животные подвергают заражению помещения, пастбища, места водопоя, выгульные дворы. При этом фактором передачи служат корма, подстилка, вода, навоз.

Инкубационный период заболевания может длиться от нескольких недель до нескольких месяцев. Крупный рогатый скот чаще поражается с задействованием в процесс легких, лимфатических узлов, вымени, печени. Животное теряет массу тела, при этом аппетит может быть сохранен, наблюдается кашель, при аускультации – четкие хрипы в легких.

У больных коров изменяется органолептика молока, оно становится желтым, водянистым, содержит сгустки. При микроскопии находят возбудителя.

Пораженные участки вымени атрофированы, бугристы, деформированы. Кожа и шерсть крупного рогатого скота теряют эластичность и блеск. Свиньи реагируют профузными поносами, быстро теряют массу тела. Козы и овцы болеют без специфических признаков, отмечается медленная потеря массы тела. Куры при сохранении аппетита теряют массу тела. Становятся малоподвижными, вялыми. Яйценоскость снижается.



Рис. 2.78. Положительная реакция на симультанную пробу

сельскохозяйственных животных, вызываемое патогенными штаммами бактерии *Escherichia coli*. Патология проявляется профузным поносом, явлением септицемии и интоксикации, нервной клиникой и обезвоживанием.

Возбудитель относится к патогенным штаммам кишечной палочки. Распространение возбудителя повсеместное – он является облигатным обитателем кишечника животных и человека, но вызывают колибактериоз у телят, поросят и птицы только патогенные типы. Колибактериоз относится к факторным болезням – развитию способствует понижение резистентности, нарушение кормления и условий содержания.

Бактерия *Escherichia coli* – грамотрицательная палочка (рис. 2.79), спор не образует, жгутики и капсулы имеют некоторые штаммы. Представляет собой факультативный анаэроб. В организме продуцирует экзо- и эндотоксины.

Для сельскохозяйственных животных лечение туберкулеза не разработано, они подлежат убою. При установлении диагноза хозяйство объявляется неблагополучным. Реагирующие на биопробу животные сдаются на убой (рис. 2.78).

Колибактериоз – остро протекающее заболевание многих видов молодняка



Рис. 2.79. Морфология *E. coli*

Бактерии *Escherichia coli* сохраняют устойчивость до 2 месяцев в почве и до 30 дней в навозе.

Колибактериозу подвержены любые животные, но наиболее восприимчивым является молодняк в возрасте до месяца. Это заболевание у телят обычно регистрируется до 10-дневного возраста (рис. 2.80). Обычно болезнь развивается без внешнего заноса – источником становятся другие больные животные, а также переболевшие телята и взрослые коровы.

Ведущую роль в развитии болезни играет иммунитет. Пониженная резистентность, отсутствие молозива, нарушение кормления, сквозняки и сырость в помещении и другие причины способствуют развитию патологии.

Сальмонеллезы – инфекционные болезни молодняка животных, характеризующиеся при остром течении лихорадкой и поносом, а при хрони-



Рис. 2.80. Внешние признаки при колибактериозе



Рис. 2.81. Теленок больной сальмонеллезом

ческим – воспалением легких (рис. 2.81).

В 1885 г. Сальмон и Смит выделили из трупов свиней первого представителя сальмонелл. В честь исследователя именовали бактерии сальмонеллами, а заболевания – сальмонеллезами.

Бактерии рода сальмонелл принадлежат к семейству *Enterobacteriaceae*. Патогенным является только один вид – *Salmonella enterica*, однако он делится на несколько подвидов и огромное число сероваров, названия которых часто прописываются как видовые, но без курсива.

Представители сальмонеллезной группы морфологически неотличимы. Все они маленькие палочки с закругленными концами, окрашиваются анилиновыми красками, грамтрицательны. Спор и капсул не образуют, подвижные (рис. 2.82).

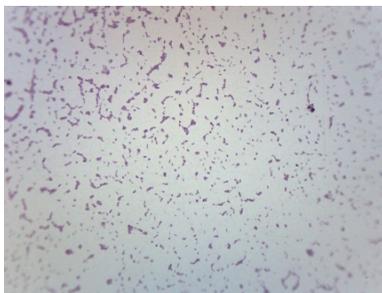


Рис. 2.82. Морфология *S. typhi* – возбудителя сальмонеллеза

Источником возбудителя сальмонеллеза являются больные и переболевшие животные. Взрослые животные тоже могут быть сальмонеллоносителями, выделяя возбудителя с молоком и калом. Больной молодняк выделяет возбудителя с фекалиями, мочой, слюной. Выделения больных животных могут загрязнять корма, воду, подстилку, пол, стены, предметы ухода, которые становятся впоследствии основными факторами передачи сальмонелл.

В почве, навозе, воде сальмонеллы сохраняются до 9–10 месяцев, переносят замораживание более 4–5 месяцев; нагревание до температуры 70–75 °С выдерживают в течение 15–30 минут. формальдегида Инфицированные помещения обеззараживают раствором в течение 1 часа.

Ботулизм (*Botulismus*) – тяжелая кормовая интоксикация (редко токсикоинфекция), характеризующаяся поражением центральной нервной системы и проявляющаяся параличами глотки, языка, нижней челюсти и резким ослаблением тонуса скелетной мускулатуры. К токсину ботулизма восприимчив и человек (рис. 2.83).

До открытия возбудителя болезни термин «ботулизм» был синонимом отравления колбасой (от лат. *botulus* – колбаса).

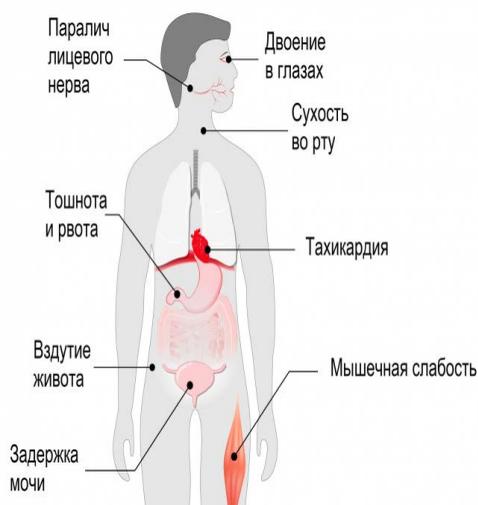


Рис. 2.83. Симптомы ботулизма у человека

В 1895 г. был раскрыт секрет заболевания. Микроб был назван *B. botulinus*.

Заболевание встречается редко, но характеризуется высокой летальностью (90 %) и поэтому наносит большой экономический ущерб хозяйствам. Ботулизмом болеют многие виды животных и птицы.

Возбудитель болезни – ботулотоксин клостридии *Clostridium botulinum*. Сам микроорганизм представляет собой полиморфную с закругленными краями, анаэробную, спорообразующую, слабо подвижную палочку. Споры овальные, располагаются обычно на концах палочки, которая из-за этого приобретает форму теннисной ракетки (рис. 2.84). Известно шесть токсинотипов, каждый тип вырабатывает свой специфический токсин, который нейтрализуется только сывороткой, полученной от гипериммунизации животных токсином данного типа.



Рис. 2.84. *Cl. botulinum* и ее споры (обозначена стрелкой)

Микроб не размножается в кормах при кислой реакции (рН 3–4) и при концентрации поваренной соли выше 10 %.

Основной патогенетический фактор болезни – ботулотоксин. Токсин, попавший вместе с кормом в организм животного, обнаруживается в крови, в тонких и толстых кишках, в желчи и печени, в моче, а иногда и в мозге. Токсин после проникновения начинает оказывать токсическое действие на нервные окончания во многих органах и тканях. Отмечается нарушение координации, развиваются параличи глотки, языка, сердца и других органов. Ботулинический токсин действует также непосредственно на периферические нервы, нарушая передачу импульсов из нервных центров по двигательным нервным волокнам.

Инкубационный период, в зависимости от количества поступившего в организм животного токсина, колеблется от нескольких часов до 20 суток. Чаще всего заболевание наступает через 1–3 дня после приема животным токсичного корма. Тяжесть и длительность болезни зависит от количества и силы попавшего в организм токсина. Продолжительность вспышки ботулизма обычно бывает 8–12 дней, а максимальное выделение больных – в первые 3 дня.

Профилактика заболевания очень важна. При заготовке и хранении кормов не допускается загрязнение их частицами земли, трупами гры-

зунов, птичьим пометом. Влажные, испорченные, заплесневелые корма нельзя скармливать животным. При заготовке силоса и сенажа следует строго соблюдать технологические требования.

Стрептококкоз – инфекционное заболевание, сопровождающееся при остром течении у поросят лихорадкой, общей слабостью и множественными кровоизлияниями на коже, а при хроническом течении – поражением легких, суставов (рис. 2.85), образованием гнойных абсцессов в различных органах у животного. У свиноматок стрептококкоз сопровождается абортми, развитием послеродового сепсиса, эндометрита и мастита.



Рис. 2.85. Поражение сустава поросенка, вызванное микробом рода *Streptococcus*

Впервые в мире стрептококк выделил и определил Л. Пастер в 1880 г., а описал О. Розенбах в 1889 г. Болезни, вызываемые стрептококками, распространены повсеместно в природе.

Стрептококкозы вызывают микроорганизмы рода *Streptococcus*, включающего в себя более 20 видов. Это грамположительные, круглые или овоидные (ланцетовидные) кокки размером до 2 мкм, расположенные парами или цепочками разной длины, спор не образуют. Большинство видов не имеет капсул, неподвижные, каталазоотрицательные, аэробы и факультативные анаэробы. Хорошо растут на обычных питательных средах, особенно содержащих сыворотку крови или кровь животных. Устойчивость стрептококков невысокая. В высушенных белках (кровь, мокрота) при комнатной температуре сохраняются до 2 месяцев, нагревание до температуры 70–80 °С инактивирует их за 20 минут, кипячение убивает моментально. Из дезинфицирующих средств наиболее эффективными являются 20%-ный раствор свежесжженной извести, 0,5%-ный раствор формалина и хлорсодержащие препараты.

Стрептококкоз свиней относится к так называемым факторным инфекциям, т. е. таким, на возникновение, распространение и интенсивность течения которых в значительной степени влияют факторы окружающей среды (условия содержания).

Наиболее восприимчивы к стрептококкозу новорожденные поросята, у которых болезнь протекает остро, сопровождаясь септициемией. Маточное поголовье свиней во время супоросности и после родов также восприимчиво к болезни.

Микроорганизм *Str. suis* (рис. 2.86) представляет собой патогенную и комменсальную бактерию, не принадлежащую к числу бета-гемолитических стрептококков. Данный микроб в сильной степени ассоциирован со свиньями, которые являются для него естественным хозяином. У этого вида животных он чаще не вызывает клинических изменений, присутствуя главным образом в миндалинах, однако при заражении человека может развиваться очень тяжелое системное поражение, вызванное действием стрептококкового токсина. Эта инфекция представляет серьезную опасность для ветеринарных работников, занимающихся экспертизой туш свиней.



Рис. 2.86. *Streptococcus suis*

Первичным источником стрептококкоза на комплексах являются стрептококкозы свиноматки, большие маститом и эндометритом, а также животные, являющиеся скрытыми носителями стрептококков.

На неблагополучных по стрептококкозу комплексах необходимо проводить ветеринарно-санитарные мероприятия, направленные на ликвидацию источника возбудителя болезни, факторов его передачи и укрепление естественной устойчивости организма животных. Больных метритами свиноматок нужно своевременно выбраковывать.

Вирусные болезни.

Бешенство (Rabies) – зооантропонозное заболевание, проявляющееся поражением центральной нервной системы, имеющее летальный исход. Экспериментально болезнь легко может быть вызвана у всех млекопитающих. Чаще всего заболевание регистрируется у лис, являющихся резервуаром вируса, волков, собак, кошек, реже – у сельскохозяйственных животных. К заболеванию особенно восприимчив младняк.

Патогенность вируса находится в прямой зависимости от его экологии. Бешенство отнесено к природно-очаговым заболеваниям, заносимым в популяцию домашних животных дикими зверями.

Заболевание известно еще со времен античности. Первое упоминание о нем датируется более чем за 30 лет до нашей эры в трудах Демокрита. Само слово *rabies* переводится как «создавать неистовство».

Возбудитель данного заболевания представляет собой крупный однопочечный РНК-содержащий вирус из рода *Lyssavirus* (в переводе с греч. *lyssa* – ярость, бешенство). Имеет пулевидную форму (рис. 2.87). Вирус имеет в своем составе гликопротеиновую оболочку и спиральный рибонуклеокапсид с небольшими выступами на поверхности.

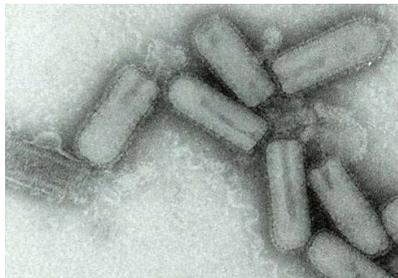


Рис. 2.87. Вирус бешенства

Инфицированное животное выделяет огромное количество вируса вместе с секретом слюнных желез. Вне организма животного вирус способен сохранять свою вирулентность в течение суток. Устойчивость во внешней среде не характерна. Лучший консервант для вируса бешенства – это низкие температуры. Процесс гниения инактивирует вирус в трупе за 2 недели. Для инактивации пригодны обычные дезинфицирующие средства. Температура 100 °С моментально приводит к гибели вируса.

Диагностика проводится в лаборатории путем посмертного исследования головного мозга. Лечение бешенства отсутствует. Инфицированное животное подлежит уничтожению. Профилактика заболевания – вакцинация.

Лейкоз крупного рогатого скота – это хроническая инфекционная, медленно протекающая болезнь опухолевой природы. Болезнь сопровождается поражением органов кроветворной системы, появлением повышенного количества лимфоцитов в крови, иногда опухолеобразным поражением органов и тканей организма. Заболевание проявляется в виде увеличенных лимфоузлов у животных.

Возбудитель – вирус лейкоза крупного рогатого скота рода *Deltaretrovirus* семейства *Retroviridae* (рис. 2.88). Во внешней среде вирус малоустойчив. При температуре 76 °С вирус инактивируется за 16 секунд, кипячение убивает вирус мгновенно. Он быстро обеззараживается 2–3%-ными растворами едкого натра, 3%-ным раствором формальдегидами, 2%-ным раствором хлора и т. д.

В развитии болезни различают четыре стадии: инкубационную, серологическую, гематологическую и опухолевую. Источником инфекции является зараженное животное на всех стадиях течения болезни. Передается с инфицированными лимфоцитами. Возможны пренатальный (от матери к плоду), постнатальный (при совместном содержании инфицированных и здоровых животных) и комбинированный пути передачи

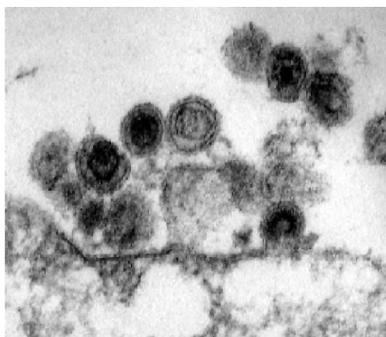


Рис. 2.88. Вирионы BLV на поверхности лейкоцита

вируса. Передача вируса происходит через кровь, молоко, биологические жидкости, предметы, содержащие лимфоидные клетки животного, а также сперму больных лейкозом быков, но чаще всего заражение происходит в результате трансмиссии компонентов крови в другой организм (при использовании нестерильных игл) либо при выпаивании молока. Заразившись однажды, животное остается инфицированным пожизненно.

Для этого заболевания не существует лечения. Тестирование и удаление зараженных животных из стада являются одним из методов борьбы с заболеванием.

Молоко, полученное из неблагополучных по лейкозу хозяйств, не допускается в свободную реализацию.

Для лейкоза характерна длительность инкубационного (скрытого) периода от 2 до 6 лет. В этот период лейкоз определяется в ветеринарных лабораториях серологическими и вирусологическими исследованиями. В сельскохозяйственных предприятиях, КФХ, ЛПХ исследования на лейкоз проводят 2 раза в год (весной и осенью).

Мастит и его характеристика.

Мастит – наиболее распространенное воспалительное заболевание молочной железы крупного рогатого скота, выявляемое по увеличению количества соматических клеток или видимым отклонениям в состоянии молока.

Мастит у дойного скота – в настоящее время актуальная проблема в молочной отрасли животноводства. Для правильной профилактики этого заболевания и его лечения необходимо знать, какие патогены являются причиной.

Мастит у коров можно разделить на три категории в зависимости от степени воспаления паренхимы вымени: клинический, субклинический и хронический.

Клинический мастит характеризуется видимыми аномалиями коровьего молока, в отличие от субклинической формы, при которой изменяются только показатели удоя и количества соматических клеток в молоке. Средняя продолжительность мастита составляет 12 дней, но в хронических случаях он может продолжаться более чем 300 дней. Переход острого мастита в хроническую форму возникает при отсутствии лечения.

Клинический мастит приводит к изменению органолептических свойств, химического состава и внешнего вида молока, снижению уровня молочной продуктивности и возникновению кардинальных признаков воспаления (боль, отек и покраснение, с повышением температуры или без таковой в инфицированных молочных железах). Это легко визуально обнаружить при осмотре животного.

Что касается обнаружения *субклинического мастита*, то это более сложная задача, потому что клинические признаки чаще отсутствуют и не являются очевидными. Диагностика субклинического мастита является проблемой в молочном животноводстве и в ветеринарной практике. Субклиническая форма встречается в 15–40 раз чаще, чем клиническая форма, обычно предшествует клинической форме и имеет хроническое течение. Таким образом, экономически он более актуален из-за более высокой частоты встречаемости, оставаясь при этом клинически незаметным.

Причины возникновения скрытых маститов разнообразны. В сельскохозяйственных предприятиях скрытые маститы наиболее часто возникают при несоблюдении операторами машинного доения правил доения коров, при неправильном запуске коров, при несоблюдении курса лечения маститных животных. При скрытом мастите происходит расстройство функции молочной железы, клинически проявляющееся гипогалактией и изменением биохимических свойств молока. Объективным показателем здорового вымени у коровы является количество содержащихся в молоке соматических клеток.

Известно более 130 возбудителей, вызывающих мастит у крупного рогатого скота, которые можно разделить на две группы: контагиозные и экологические патогены.

Контагиозные (инфекционные) маститные агенты хорошо приспособлены к паразитизму и выживанию внутри организма хозяина, пере-

даются от коровы к корове в основном в процессе доения; они могут легко передаваться от животного животному в стаде.

Экологические патогены более приспособлены к выживанию вне организма животного. Они являются частью нормальной микробиоты среды содержания коровы непосредственно вне ее организма. Заражение экологическими стрептококками из объектов окружающей среды происходит во время и между дойками, во время сухостойного периода или перед отелом. Их негативное воздействие в основном связано с их обилием в окружающей среде. Экологические мастогены проникают в вымя при открытом сосковом канале сразу после доения или в результате повреждения, так как основным источником таких агентов является окружающая среда.

Контагиозные патогены включают такие микроорганизмы, как *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, различных представителей родов *Mycoplasma* и *Corynebacterium bovis*.

Среди экологических возбудителей мастита наиболее часто выделяемыми являются стрептококки (род *Streptococcus*), отличные от вида *S. agalactiae*.

Микробиологические возбудители мастита.

Большинство случаев мастита имеет инфекционное происхождение, т. е. вызывается микроорганизмами. Чаще всего это бактерии, но иногда могут быть микроскопические грибы, вирусы и даже водоросли. Наиболее опасными возбудителями мастита у коров считаются стафилококки и стрептококки. Особого внимания заслуживают *Streptococcus agalactiae* и *Staphylococcus aureus*. Эти возбудители относятся к группе условно-патогенных бактерий, которые в норме обнаруживаются в организме животного и становятся причиной заболевания только в определенных условиях (снижение иммунитета, длительное воздействие стрессовых факторов и т. д.). Также в пробах маститного молока выявляются энтеробактерии, коринебактерии, псевдомонады, пастереллы, бациллы, микоплазмы. Они попадают в организм животного из внешней среды.

По статистическим данным, основными возбудителями мастита у коров в Республике Беларусь в большинстве случаев являются стрептококки и стафилококки, реже кишечная палочка и синегнойная палочка.

Стрептококки находятся в авангарде бактериальных изолятов при мастите и ответственны за 25–50 % глобальных случаев этой патологии у коров в мире.

Среди мастогенных стрептококков наиболее актуальными видами являются *S. uberis*, *S. agalactiae* и *S. dysgalactiae* подвида *dysgalactiae*. Другие стрептококковые патогены, которые редко связаны с маститом крупного рогатого скота, включают такие виды, как *S. canis*, *S. lutei* и *S. equinus*.

Помимо бактерий рода *Streptococcus*, основной вклад в развитие мастита у крупного рогатого скота также вносят микроорганизмы рода *Staphylococcus*.

Золотистый стафилококк S. aureus в основном связан с клинической инфекцией, которая носит персистирующий (длительный) характер и может легко рецидивировать. Этот микроорганизм считается кожным обитателем человека и животных, и его преимущественное нахождение характерно для носовой полости. У людей передние отделы носовых ходов (ноздри) являются преобладающим местом колонизации, хотя *S. aureus* может присутствовать на других участках тела, таких как кожа кистей или промежностей. Большинство штаммов золотистого стафилококка обладают ассоциацией с человеком, а штаммы, ассоциированные с животными так или иначе связаны с человеческими штаммами.

Колонизация стафилококком происходит в наружной области соскового протока. Первым этапом инфекционного процесса является загрязнение кончика соска стафилококком. После прохождения соскового канала *S. aureus* может получить доступ к просвету молочной железы, который всегда содержит молоко, даже сразу после завершения доения. При распространении за пределы соскового канала даже небольшого количества бактерий (менее 100 клеток) достаточно для инициации мастита в здоровой железе с вероятностью более 95 %. По этой причине считается, что состояние канала соска играет большую роль в защите молочной железы, причем даже здоровое вымя очень восприимчиво к стафилококковой инфекции.

Как только стафилококки попадают в просвет молочной железы, они там быстро размножаются. Через несколько часов уровень обсеменения может достигать нескольких тысяч КОЕ/мл молока. Иногда наблюдается временная задержка в два или три дня, прежде чем бактерии начинают выделяться с молоком, что может быть связано с особыми условиями размножения микроорганизма.

Далее в патогенезе стафилококкового мастита наступает адгезия микроорганизма к эпителиальным клеткам молочной железы в цистернах и протоках. Золотистый стафилококк лучше прилипает к участкам

микрповреждений в эпителии, которые обнажают белки ткани и внеклеточного матрикса, для которых этот микроорганизм имеет несколько адгезинов.

Следующей стадией патогенеза может быть интернализация (внутриклеточное проникновение) *S. aureus* в эпителий молочной железы, что может частично объяснить персистентный и хронический характер течения стафилококкового мастита.

На более позднем этапе инфекционного процесса *S. aureus* может быть организован в микроколонии, которые образуют биопленку. Воспалительные и иммунные реакции, вызванные колонизацией и инвазией молочной железы, привлекают различные типы лейкоцитов (моноциты и лимфоциты) в очень большом количестве. Эти клетки продуцируют медиаторы, которые отвечают за клинические симптомы, а их антибактериальная эффективность определяет течение инфекции.

Исследования видового состава возбудителей мастита у коров приводят к обнаружению и других патогенов, не относящихся к числу стрептококков или стафилококков. Так, при исследовании большого количества проб молока от больных маститом коров из разных хозяйств Республики Беларусь из выделенных микроорганизмов действительно преобладали *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus* spp., в том числе и *Streptococcus agalactiae*, но также встречалась *E. coli* (бактерия группы кишечной палочки), а другие микроорганизмы выделялись в единичных случаях.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Асонов, Н. Р. Микробиология : учеб. / Н. Р. Асонов. – 4-е изд., перераб. и доп. – М. : Колос, 2001. – 351 с.
2. Дуктов, А. П. Микробиология : учеб. пособие / А. П. Дуктов, И. В. Зубовская. – Минск : РИВШ, 2023. – 228 с.
3. Дуктов, А. П. Микробиология. Курс лекций : учеб.-метод. пособие / А. П. Дуктов, И. А. Ходырева. – Горки : БГСХА, 2022. – 235 с.
4. Дуктов, А. П. Микробиология. Курс лекций : учеб.-метод. пособие / А. П. Дуктов. – Горки : БГСХА, 2018. – 162 с.
5. Дуктов, А. П. Микробиология. Курс лекций : учеб.-метод. пособие / А. П. Дуктов, Г. В. Воронцов. – Горки : БГСХА, 2017. – 136 с.
6. Дуктов, А. П. Микробиология. Общая микробиология. Практикум : учеб.-метод. пособие / А. П. Дуктов, В. И. Бородулина. – Горки : БГСХА, 2021. – 171 с.
7. Дуктов, А. П. Микробиология. Практикум : учеб.-метод. пособие / А. П. Дуктов. – Горки : БГСХА, 2019. – 171 с.
8. Дуктов, А. П. Микробиология. Частная микробиология. Практикум : учеб.-метод. пособие / А. П. Дуктов, И. А. Ходырева, Л. А. Шамсуддин. – Горки : БГСХА, 2021. – 144 с.
9. Микробиология : учеб. / А. П. Дуктов, Н. А. Садомов, А. А. Бахарев [и др.]. – Тюмень : ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья, 2024. – 442 с.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
Раздел 1. ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ.....	5
1.1. Микробиология как наука. Систематика, классификация и номенклатура микроорганизмов.....	5
1.2. Морфология и химический состав микроорганизмов и вирусов.....	23
1.3. Физиология микроорганизмов.....	53
1.4. Генетика микроорганизмов.....	70
1.5. Экология микроорганизмов.....	78
1.6. Влияние факторов внешней среды на микроорганизмы. Взаимоотношения в микромире.....	84
1.7. Биогеохимическая деятельность микроорганизмов.....	104
1.8. Инфекция и резистентность организма.....	110
Раздел 2. САНИТАРНАЯ И ЧАСТНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ.....	117
2.1. Микробиота навоза и сточных вод животноводческих объектов.....	117
2.2. Микробиология кормов.....	132
2.3. Микробиота молока.....	155
2.4. Микробиота молочных продуктов.....	166
2.5. Микробиота мяса и виды его порчи, вызываемые микробами.....	176
2.6. Микробиота пищевого яйца.....	185
2.7. Микробиота рыбы.....	190
2.8. Возбудители кормовых токсикозов.....	196
2.9. Микробиота пчел и продуктов пчеловодства.....	201
2.10. Микробиота кожевенно-мехового сырья.....	206
2.11. Микробиота тела животных.....	212
2.12. Наиболее распространенные инфекционные заболевания животных.....	223
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК.....	237

Учебное издание

Дуктов Александр Петрович
Корочкин Рудольф Борисович

МИКРОБИОЛОГИЯ

Учебно-методическое пособие

Редактор *Н. А. Матасёва*
Технический редактор *Н. Л. Якубовская*

Подписано в печать 20.05.2025. Формат 60×84¹/₁₆. Бумага офсетная.
Ризография. Гарнитура «Таймс». Усл. печ. л. 13,95. Уч.-изд. л. 13,08.
Тираж 100 экз. Заказ .

Белорусская государственная сельскохозяйственная академия.
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/52 от 09.10.2013.
Ул. Мичурина, 13, 213407, г. Горки.

Отпечатано в Белорусской государственной сельскохозяйственной академии.
Ул. Мичурина, 5, 213407, г. Горки.